

REPUBLIQUE DU CAMEROUN

*Paix – Travail – Patrie*

UNIVERSITE DE YAOUNDE I

FACULTE DES SCIENCES

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

UNITE DE RECHERCHE ET DE FORMATION  
DOCTORALE EN CHIMIE ET APPLICATIONS



REPUBLIC OF CAMEROON

*Peace – Work – Fatherland*

THE UNIVERSITY OF YAOUNDE I

FACULTY OF SCIENCE

POSTGRADUATE SCHOOL FOR SCIENCES,  
TECHNOLOGY AND GEOSCIENCES

DOCTORALE RESEARCH UNIT FOR  
CHEMISTRY AND APPLICATIONS

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

**Isolement et caractérisation des constituants chimiques des  
feuilles de deux plantes de la famille des Rubiaceae :  
*Tricalysia atherura* N. Hallé et *Tricalysia oligoneura* K.  
Schum; Evaluation de leurs activités sur certaines  
parasitoses (paludisme et leishmaniose)**

Thèse présentée en vue de l'obtention du diplôme de Doctorat /Ph.D en Chimie

Par :

**DJIKAM SIME Gwladys**

Matricule: 12T0039

*Master en Chimie Organique*



Devant le jury composé ainsi qu'il suit :

Président : **NDOM Jean Claude, Pr., U. Yaoundé I**

Rapporteurs : **PEGNYEMB Dieudonné Pr., U. Yaoundé I**

**NGONO BIKOBO Dominique, MC., U. Yaoundé I**


Membres : **KOUAM FOGUE Siméon, Pr., U. Yaoundé I**

**ATCHADE Alex de Théodore, Pr., U. Yaoundé I**

**MKOUNGA Pierre, Pr., U. Yaoundé I**

**DJIOGUE Sefirin, MC., U. Yaoundé I**

*Année 2024*

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

**ANNÉE ACADEMIQUE 2022/2023**

(Par Département et par Grade)

**DATE D'ACTUALISATION 31 MAI 2023**

**ADMINISTRATION**

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

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

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

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

**Chef Division Administrative et Financière** : NDOYE FOE Florentine Marie Chantal, *Maître de Conférences*

**Chef Division des Affaires Académiques, de la Recherche et de la Scolarité DAARS** : AJEAGAH Gideon AGHAINDUM, *Professeur*

**1- DÉPARTEMENT DE BIOCHIMIE (BC) (43)**

N°	NOMS ET PRÉNOMS	GRADE	OBSERVATIONS
1.	BIGOGA DAIGA Jude	Professeur	En Poste
2.	FEKAM BOYOM Fabrice	Professeur	En Poste
3.	KANSCI Germain	Professeur	En Poste
4.	MBACHAM FON Wilfred	Professeur	En Poste
5.	MOUNDIPA FEWOU Paul	Professeur	<i>Chef de Département</i>
6.	NGUEFACK Julienne	Professeure	En Poste
7.	NJAYOU Frédéric Nico	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 FOFÉ F. M. C.	Maître de Conférences	<i>Chef DAF / FS</i>
13.	DJUIDJE NGOUNOUE Marceline	Maître de Conférences	En Poste
14.	DJUIKWO NKONGA Ruth Viviane	Maître de Conférences	En Poste
15.	EFFA ONOMO Pierre	Maître de Conférences	<i>VD/FS/Univ Ebwa</i>
16.	EWANE Cécile Annie	Maître de Conférences	En Poste
17.	KOTUE TAPTUE Charles	Maître de Conférences	En Poste
18.	LUNGA Paul KEILAH	Maître de Conférences	En Poste
19.	MBONG ANGIE M. Mary Anne	Maître de Conférences	En Poste
20.	MOFOR née TEUGWA Clotilde	Maître de Conférences	<i>Doyen FS / UDs</i>
21.	NANA Louise épouse WAKAM	Maître de Conférences	En Poste
22.	NGONDI Judith Laure	Maître de Conférences	En Poste
23.	TCHANA KOUATCHOUA Angèle	Maître de Conférences	En Poste

24.	AKINDEH MBUH NJI	Chargé de Cours	En Poste
25.	BEBEE Fadimatou	Chargée de Cours	En Poste
26.	BEBOY EDJENGUELE Sara Nathalie	Chargé de Cours	En Poste
27.	DAKOLE DABOY Charles	Chargé de Cours	En Poste
28.	DONGMO LEKAGNE Joseph Blaise	Chargé de Cours	En Poste
29.	FONKOUA Martin	Chargé de Cours	En Poste
30.	FOUPOUAPOUOGNIGNI Yacouba	Chargé de Cours	En Poste
31.	KOUOH ELOMBO Ferdinand	Chargé de Cours	En Poste
32.	MANANGA Marlyse Joséphine	Chargée de Cours	En Poste
33.	OWONA AYISSI Vincent Brice	Chargé de Cours	En Poste
34.	Palmer MASUMBE NETONGO	Chargé de Cours	En Poste
35.	PECHANGOU NSANGOU Sylvain	Chargé de Cours	En Poste
36.	WILFRED ANGIE ABIA	Chargé de Cours	En Poste

37.	BAKWO BASSOGOG Christian Bernard	Assistant	En Poste
38.	ELLA Fils Armand	Assistant	En Poste
39.	EYENGA Eliane Flore	Assistante	En Poste
40.	MADIESSE KEMGNE Eugénie Aimée	Assistante	En Poste

41.	MANJIA NJIKAM Jacqueline	Assistante	En Poste
42.	MBOUCHE FANMOE Marceline Joëlle	Assistante	En Poste
43.	WOGUIA Alice Louise	Assistante	En Poste

**2- DÉPARTEMENT DE BIOLOGIE ET PHYSIOLOGIE ANIMALES (BPA) (52)**

1.	AJEAGAH Gideon AGHAINDUM	Professeur	<i>DAARS/FS</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.	DZEUFIET DJOMENI Paul Désiré	Professeur	En Poste
6.	ESSOMBA née NTSAMA MBALA	Professeure	<i>CD et Vice Doyen/FMSB/UIYI</i>
7.	FOMENA Abraham	Professeur	En Poste
8.	KEKEUNOU Sévilor	Professeur	En Poste
9.	NJAMEN Dieudonné	Professeur	En Poste
10.	NJIOKOU Flobert	Professeur	En Poste
11.	NOLA Moïse	Professeur	En Poste
12.	TAN Paul VERNYUY	Professeur	En Poste
13.	TCHUEM TCHUENTE Louis Albert	Professeur	<i>Inspecteur de service / Coord.Progr./MINSANTE</i>
14.	ZEBAZE TOGOUET Serge Hubert	Professeur	En Poste

15.	ALENE Désirée Chantal	Maître de Conférences	<i>Vice Doyen/ Uté Ebwa</i>
16.	BILANDA Danielle Claude	Maître de Conférences	En Poste
17.	DJIOGUE Séfirin	Maître de Conférences	En Poste
18.	GOUNOUE KAMKUMO Raceline épouse FOTSING	Maître de Conférences	En Poste
19.	JATSA BOUKENG Hermine épouse MEGAPTCHE	Maître de Conférences	En Poste
20.	LEKEUFACK FOLEFACK Guy B.	Maître de Conférences	En Poste
21.	MAHOB Raymond Joseph	Maître de Conférences	En Poste

22.	MBENOUN MASSE Paul Serge	Maître de Conférences	En Poste
23.	MEGNEKOU Rosette	Maître de Conférences	En Poste
24.	MOUNGANG Luciane Marlyse	Maître de Conférences	En Poste
25.	NOAH EWOTI Olive Vivien	Maître de Conférences	En Poste
26.	MONY Ruth épouse NTONE	Maître de Conférences	En Poste
27.	NGUEGUIM TSOFAK Florence	Maître de Conférences	En Poste
28.	NGUEMBOCK	Maître de Conférences	En Poste
29.	TAMSA ARFAO Antoine	Maître de Conférences	En Poste
30.	TOMBI Jeannette	Maître de Conférences	En Poste

31.	ATSAMO Albert Donatien	Chargé de Cours	En Poste
32.	BASSOCK BAYIHA Etienne Didier	Chargé de Cours	En Poste
33.	ETEME ENAMA Serge	Chargé de Cours	En Poste
34.	FEUGANG YOUMSSI François	Chargé de Cours	En Poste
35.	FOKAM Alvine Christelle épouse KENGNE	Chargée de Cours	En Poste
36.	GONWOUO NONO Legrand	Chargé de Cours	En Poste
37.	KANDEDA KAVAYE Antoine	Chargé de Cours	En Poste
38.	KOGA MANG DOBARA	Chargé de Cours	En Poste
39.	LEME BANOCK Lucie	Chargée de Cours	En Poste
40.	MAPON NSANGO Indou	Chargé de Cours	En Poste
41.	METCHI Donfack Mireille Flaure épouse GHOU MO	Chargée de Cours	En Poste
42.	MVEYO NDANKEU Yves Patrick	Chargé de Cours	En Poste
43.	NGOUATEU KENFACK Omer Bébé	Chargé de Cours	En Poste
44.	NJUA Clarisse YAFI	Chargée de Cours	<i>Chef Div. Uté Bamenda</i>
45.	NWANE Philippe Bienvenu	Chargé de Cours	En Poste
46.	TADU Zephyrin	Chargé de Cours	En Poste
47.	YEDE	Chargé de Cours	En Poste
48.	YOUNOUSSA LAME	Chargé de Cours	En Poste

49.	AMBADA NDZENGUE GEORGIA ELNA	Assistante	En Poste
-----	------------------------------	------------	----------

50.	KODJOM WANCHE Jacguy Joyce	Assistante	En Poste
51.	NDENGUE Jean De Matha	Assistant	En Poste
52.	ZEMO GAMO Franklin	Assistant	En Poste

### 3- DÉPARTEMENT DE BIOLOGIE ET PHYSIOLOGIE VÉGÉTALES (BPV) (34)

1.	AMBANG Zachée	Professeur	<i>Chef de Département</i>
2.	DJOCGOUE Pierre François	Professeur	En Poste
3.	MBOLO Marie	Professeur	En Poste
4.	MOSSEBO Dominique Claude	Professeur	En Poste
5.	YOUMBI Emmanuel	Professeur	En Poste
6.	ZAPFACK Louis	Professeur	En Poste

7.	ANGONI Hyacinthe	Maître de Conférences	En Poste
8.	BIYE Elvire Hortense	Maître de Conférences	En Poste
9.	MAHBOU SOMO TOUKAM. Gabriel	Maître de Conférences	En Poste
10.	MALA Armand William	Maître de Conférences	En Poste
11.	MBARGA BINDZI Marie Alain	Maître de Conférences	<i>DAAC /UDla</i>
12.	NDONGO BEKOLO	Maître de Conférences	En Poste
13.	NGALLE Hermine BILLE	Maître de Conférences	En Poste
14.	NGODO MELINGUI Jean Baptiste	Maître de Conférences	En Poste
15.	NGONKEU MAGAPTCHE Eddy L.	Maître de Conférences	<i>CT / MINRESI</i>
16.	TONFACK Libert Brice	Maître de Conférences	En Poste
17.	TSOATA Esaïe	Maître de Conférences	En Poste
18.	ONANA JEAN MICHEL	Maître de Conférences	En Poste

19.	DJEUANI Astride Carole	Chargé de Cours	En Poste
20.	GONMADGE Christelle	Chargée de Cours	En Poste
21.	MAFFO MAFFO Nicole Liliane	Chargée de Cours	En Poste
22.	NNANGA MEBENGA Ruth Laure	Chargée de Cours	En Poste
23.	NOUKEU KOUAKAM Armelle	Chargée de Cours	En Poste

24.	NSOM ZAMBO Epse PIAL Annie Claude	Chargée de Cours	<i>En détachement/UNESCO MALI</i>
25.	Godswill NTSOMBOH NTSEFONG	Chargé de Cours	En Poste
26.	KABELONG BANAHOU Louis-Paul- Roger	Chargé de Cours	En Poste
27.	KONO Léon Dieudonné	Chargé de Cours	En Poste
28.	LIBALAH Moses BAKONCK	Chargé de Cours	En Poste
29.	LIKENG-LI-NGUE Benoit C	Chargé de Cours	En Poste
30.	TAEDOUNG Evariste Hermann	Chargé de Cours	En Poste
31.	TEMEGNE NONO Carine	Chargé de Cours	En Poste

32.	MANGA NDJAGA Jude	Assistant	En Poste
33.	DIDA LONTSI Sylvere Landry	Assistant	En Poste
34.	METSEBING Blondo-Pascal	Assistant	En Poste

#### 4- DÉPARTEMENT DE CHIMIE INORGANIQUE (CI) (29)

1.	GHOGOMU Paul MINGO	Professeur	<i>Ministre Chargé de Mission PR</i>
2.	NANSEU NJIKI Charles Péguy	Professeur	En Poste
3.	NDIFON Peter TEKE	Professeur	<i>CT MINRESI</i>
4.	NENWA Justin	Professeur	En Poste
5.	NGAMENI Emmanuel	Professeur	<i>Doyen FS Univ.Ngaoundere</i>
6.	NGOMO Horace MANGA	Professeur	<i>Vice Chancellor/UB</i>
7.	NJOYA Dayirou	Professeur	En Poste
8.	UPHIE CHINJE Florence	Professeur	<i>Recteur Univ.Ngaoundere</i>

9.	ACAYANKA Elie	Maître de Conférences	En Poste
10.	EMADAK Alphonse	Maître de Conférences	En Poste
11.	KAMGANG YOUBI Georges	Maître de Conférences	En Poste
12.	KEMMEGNE MBOUGUEM Jean C.	Maître de Conférences	En Poste

13	KENNE DEDZO GUSTAVE	Maître de Conférences	En Poste
14	MBEY Jean Aime	Maître de Conférences	En Poste
15	NDI NSAMI Julius	Maître de Conférences	<i>Chef de Département</i>
16	NEBAH Née NDOSIRI Bridget NDOYE	Maître de Conférences	<i>Sénatrice/SENAT</i>
17	NJIOMOU C. épouse DJANGANG	Maître de Conférences	En Poste
18	NYAMEN Linda Dyorisse	Maître de Conférences	En Poste
19	PABOUDAM GBAMBIE AWAWOU	Maître de Conférences	En Poste
20	TCHAKOUTE KOUAMO Hervé	Maître de Conférences	En Poste
21	BELIBI BELIBI Placide Désiré	Maître de Conférences	<i>Chef Service/ ENS Bertoua</i>
22	CHEUMANI YONA Arnaud M.	Maître de Conférences	En Poste
23	KOUOTOU DAOUDA	Maître de Conférences	En Poste

24.	MAKON Thomas Beauregard	Chargé de Cours	En Poste
25.	NCHIMI NONO Katia	Chargée de Cours	En Poste
26.	NJANKWA NJABONG N. Eric	Chargé de Cours	En Poste
27.	PATOUOSSA ISSOFA	Chargé de Cours	En Poste
28.	SIEWE Jean Mermoz	Chargé de Cours	En Poste

29.	BOYOM TATCHEMO Franck W.	Assistant	En Poste
-----	--------------------------	-----------	----------

#### 5- DÉPARTEMENT DE CHIMIE ORGANIQUE (CO) (37)

1.	Alex DE THEODORE ATCHADE	Professeur	<i>Vice-Doyen / DPSAA</i>
2.	DONGO Etienne	Professeur	<i>Vice-Doyen/FSE/UIYI</i>
3.	NGOUELA Silvère Augustin	Professeur	<i>Chef de Département UDS</i>
4.	PEGNYEMB Dieudonné Emmanuel	Professeur	<i>Directeur/ MINESUP/ Chef de Département</i>
5.	WANDJI Jean	Professeur	En Poste
6.	MBAZOA née DJAMA Céline	Professeure	En Poste



7.	AMBASSA Pantaléon	Maître de Conférences	En Poste
8.	EYONG Kenneth OBEN	Maître de Conférences	En Poste
9.	FOTSO WABO Ghislain	Maître de Conférences	En Poste
10	KAMTO Eutrophe Le Doux	Maître de Conférences	En Poste
11	KENMOGNE Marguerite	Maître de Conférences	En Poste
12	KEUMEDJIO Félix	Maître de Conférences	En Poste
13	KOUAM Jacques	Maître de Conférences	En Poste
14	MKOUNGA Pierre	Maître de Conférences	En Poste
15	MVOT AKAK CARINE	Maître de Conférences	En Poste
16	NGO MBING Joséphine	Maître de Conférences	<i>Chef de Cellule MINRESI</i>
17	NGONO BIKOBO Dominique Serge	Maître de Conférences	<i>Chef service (SAARP)/ MINESUP</i>
18	NOTE LOUGBOT Olivier Placide	Maître de Conférences	<i>DAAC/Uté Bertoua</i>
19	NOUNGOUE TCHAMO Diderot	Maître de Conférences	En Poste
20	TABOPDA KUATE Turibio	Maître de Conférences	En Poste
21	TAGATSING FOTSING Maurice	Maître de Conférences	En Poste
22	TCHOUANKEU Jean-Claude	Maître de Conférences	<i>Doyen /FS/ UYI</i>
23	YANKEP Emmanuel	Maître de Conférences	En Poste
24	ZONDEGOUMBA Ernestine	Maître de Conférences	En Poste

25	MESSI Angélique Nicolas	Chargé de Cours	En Poste
26	NGNINTEDO Dominique	Chargé de Cours	En Poste
27	NGOMO Orléans	Chargée de Cours	En Poste
28	NONO NONO Éric Carly	Chargé de Cours	En Poste
29	OUAHOUE WACHE Blandine M.	Chargée de Cours	En Poste
30	OUETE NANTCHOUANG Judith Laure	Chargée de Cours	En Poste
31	SIELINOU TEDJON Valérie	Chargé de Cours	En Poste
32	TCHAMGOUE Joseph	Chargé de Cours	En Poste
33	TSAFFACK Maurice	Chargé de Cours	En Poste
34	TSAMO TONTSA Armelle	Chargée de Cours	En Poste

35	TSEMEUGNE Joseph	Chargé de Cours	En Poste
36	MUNVERA MFIFEN Aristide	Assistant	En Poste
37	NDOGO ETEME Olivier	Assistant	En Poste

**6- DÉPARTEMENT D'INFORMATIQUE (IN) (22)**

1.	ATSA ETOUNDI Roger	Professeur	<i>Chef de Division MINESUP</i>
2.	FOUDA NDJODO Marcel Laurent	Professeur	<i>Inspecteur Général/ MINESUP</i>

3.	NDOUNDAM René	Maître de Conférences	En Poste
4.	TSOPZE Norbert	Maître de Conférences	En Poste

5.	ABESOLO ALO'O Gislain	Chargé de Cours	<i>Chef de Cellule MINFOPRA</i>
6.	AMINO HALIDOU	Chargé de Cours	<i>Chef de Département</i>
7.	DJAM Xaviera YOUH - KIMBI	Chargé de Cours	En Poste
8.	DOMGA KOMGUEM Rodrigue	Chargé de Cours	En Poste
9.	EBELE Serge Alain	Chargé de Cours	En Poste
10	HAMZA Adamou	Chargé de Cours	En Poste
11	JIOMEKONG AZANZI Fidel	Chargé de Cours	En Poste
12	KOUOKAM KOUOKAM E. A.	Chargé de Cours	En Poste
13	MELATAGIA YONTA Paulin	Chargé de Cours	En Poste
14	MESSI NGUELE Thomas	Chargé de Cours	En Poste
15	MONTHE DJIADEU Valery M.	Chargé de Cours	En Poste
16	NZEKON NZEKO'O ARMEL JACQUES	Chargé de Cours	En Poste
17	OLLE OLLE Daniel Claude Georges Delort	Chargé de Cours	<i>Sous-Directeur ENSET Ebolowa</i>
18	TAPAMO Hyppolite	Chargé de Cours	En Poste

19	BAYEM Jacques Narcisse	Assistant	En Poste
20	EKODECK Stéphane Gaël Raymond	Assistant	En Poste

21	MAKEMBE. S. Oswald	Assistant	En Poste
22	NKONDOCK. MI. BAHANACK.N.	Assistant	En Poste

**7- DÉPARTEMENT DE MATHÉMATIQUES (MA) (33)**

1.	AYISSI Raoult Domingo	Professeur	<i>Chef de Département</i>
----	-----------------------	------------	----------------------------

2.	KIANPI Maurice	Maître de Conférences	En Poste
3.	MBANG Joseph	Maître de Conférences	En Poste
4.	MBEHOU Mohamed	Maître de Conférences	En Poste
5.	MBELE BIDIMA Martin Ledoux	Maître de Conférences	En Poste
6.	NOUNDJEU Pierre	Maître de Conférences	<i>Chef Service des Programmes &amp; Diplômes/FS/UYI</i>
7.	TAKAM SOH Patrice	Maître de Conférences	En Poste
8.	TCHAPNDA NJABO Sophonie B.	Maître de Conférences	<i>Directeur/AIMS Rwanda</i>
9.	TCHOUNDJA Edgar Landry	Maître de Conférences	En Poste

10	AGHOUKENG JIOFACK Jean Gérard	Chargé de Cours	<i>Chef Cellule MINEPAT</i>
11	BOGSO ANTOINE Marie	Chargé de Cours	En Poste
12	CHENDJOU Gilbert	Chargé de Cours	En Poste
13	DJIADEU NGAHA Michel	Chargé de Cours	En Poste
14	DOUANLA YONTA Herman	Chargé de Cours	En Poste
15	KIKI Maxime Armand	Chargé de Cours	En Poste
16	LOUMNGAM KAMGA Victor	Chargé de Cours	En Poste
17	MBAKOP Guy Merlin	Chargé de Cours	En Poste
18	MBATAKOU Salomon Joseph	Chargé de Cours	En Poste
19	MENGUE MENGUE David Joël	Chargé de Cours	<i>Chef Dpt /ENS Université d'Ebolowa</i>
20	MBIAKOP Hilaire George	Chargé de Cours	En Poste

21	NGUEFACK Bernard	Chargé de Cours	En Poste
22	NIMPA PEFOUKEU Romain	Chargée de Cours	En Poste
23	OGADOA AMASSAYOGA	Chargée de Cours	En Poste
24	POLA DOUNDOU Emmanuel	Chargé de Cours	<i>En stage</i>
25	TCHEUTIA Daniel Duviol	Chargé de Cours	En Poste
26	TETSADJIO TCHILEPECK M. Eric.	Chargé de Cours	En Poste

27	BITYE MVONDO Esther Claudine	Assistante	En Poste
28	FOKAM Jean Marcel	Assistant	En Poste
29	GUIDZAVAI KOUCHERE Albert	Assistant	En Poste
30	MANN MANYOMBE Martin Luther	Assistant	En Poste
31	MEFENZA NOUNTU Thiery	Assistant	En Poste
32	NYOUMBI DLEUNA Christelle	Assistante	En Poste
33	TENKEU JEUFACK Yannick Léa	Assistant	En Poste

#### 8- DÉPARTEMENT DE MICROBIOLOGIE (MIB) (24)

1.	ESSIA NGANG Jean Justin	Professeur	<i>Chef de Département</i>
2.	NYEGUE Maximilienne Ascension	Professeure	<i>VICE-DOYEN / DSSE</i>

3.	ASSAM ASSAM Jean Paul	Maître de Conférences	En Poste
4.	BOUGNOM Blaise Pascal	Maître de Conférences	En Poste
5.	BOYOMO ONANA	Maître de Conférences	En Poste
6.	KOUITCHEU MABEKU Epse KOUAM Laure Brigitte	Maître de Conférences	En Poste
7.	RIWOM Sara Honorine	Maître de Conférences	En Poste
8.	NJIKI BIKOÏ Jacky	Maître de Conférences	En Poste
9.	SADO KAMDEM Sylvain Leroy	Maître de Conférences	En Poste

10	ESSONO Damien Marie	Chargé de Cours	En Poste
11	LAMYE Glory MOH	Chargé de Cours	En Poste
12	MEYIN A EBONG Solange	Chargée de Cours	En Poste

13	MONI NDEDI Esther Del Florence	Chargée de Cours	En Poste
14	NKOUDOU ZE Nardis	Chargé de Cours	En Poste
15	TAMATCHO KWEYANG Blandine P.	Chargée de Cours	En Poste
16	TCHIKOUA Roger	Chargé de Cours	<i>Chef de Service de la Scolarité</i>
17	TOBOLBAÏ Richard	Chargé de Cours	En Poste

18	NKOUÉ TONG Abraham	Assistant	En Poste
19	SAKE NGANE Carole Stéphanie	Assistant	En Poste
20	EZO'O MENGO Fabrice Télésfor	Assistant	En Poste
21	EHETH Jean Samuel	Assistant	En Poste
22	MAYI Marie Paule Audrey	Assistante	En Poste
23	NGOUE NAM Romial Joël	Assistant	En Poste
24	NJAPNDOUNKE Bilkissou	Assistant	En Poste

**9. DEPARTEMENT DE PYSIQUE(PHY) (43)**

1.	BEN- BOLIE Germain Hubert	Professeur	En Poste
2.	DJUIDJE KENMOE Epse ALOYEM	Professeure	En Poste
3.	EKOBENA FOU DA Henri Paul	Professeur	<i>Vice-Recteur. Uté Ngaoundéré</i>
4.	ESSIMBI ZOBO Bernard	Professeur	En Poste
5.	HONA Jacques	Professeur	En Poste
6.	NANA ENGO Serge Guy	Professeur	En Poste
7.	NANA NBENDJO Blaise	Professeur	En Poste
8.	NDJAKA Jean Marie Bienvenu	Professeur	<i>Chef de Département</i>
9.	NJANDJOCK NOUCK Philippe	Professeur	<i>Chef cellule /MINRESI</i>
10.	NOUAYOU Robert	Professeur	En Poste
11.	SAIDOU	Professeur	<i>Chef de centre/IRGM/MINRESI</i>
12.	TABOD Charles TABOD	Professeur	<i>Doyen FS/Univ/Bda</i>

13.	TCHAWOUA Clément	Professeur	En Poste
14.	WOAFO Paul	Professeur	En Poste
15.	ZEKENG Serge Sylvain	Professeur	En Poste

16.	BIYA MOTTO Frédéric	Maître de Conférences	<i>DG/HYDRO Mekin</i>
17.	BODO Bertrand	Maître de Conférences	En Poste
18.	ENYEGUE A NYAM épse BELINGA	Maître de Conférences	En Poste
19.	EYEBE FOUDA Jean sire	Maître de Conférences	En Poste
20.	FEWO Serge Ibraïd	Maître de Conférences	En Poste
21.	MBINACK Clément	Maître de Conférences	En Poste
22.	MBONO SAMBA Yves Christian U.	Maître de Conférences	En Poste
23.	MEL'I Joelle Larissa	Maître de Conférences	En Poste
24.	MVOGO ALAIN	Maître de Conférences	En Poste
25.	NDOP Joseph	Maître de Conférences	En Poste
26.	SIEWE SIEWE Martin	Maître de Conférences	En Poste
27.	SIMO Elie	Maître de Conférences	En Poste
28.	VONDOU Derbetini Appolinaire	Maître de Conférences	En Poste
29.	WAKATA née BEYA Annie Sylvie	Maître de Conférences	<i>Directeur/ENS/UYI</i>
30.	WOULACHE Rosalie Laure	Maître de Conférences	En Poste

31.	ABDOURAHIMI	Chargé de Cours	En Poste
-----	-------------	-----------------	----------

32.	AYISSI EYEBE Guy François Valérie	Chargé de Cours	En Poste
33.	CHAMANI Roméo	Chargé de Cours	En Poste
34.	DJIOTANG TCHOTCHOU Lucie Angennes	Chargée de Cours	En Poste
35.	EDONGUE HERVAIS	Chargé de Cours	En Poste
36.	FOUEJIO David	Chargé de Cours	<i>Chef Cell. MINADER</i>
37.	KAMENI NEMATCHOUA Modeste	Chargé de Cours	En Poste
38.	LAMARA Maurice	Chargé de Cours	En Poste
39.	OTTOU ABE Martin Thierry	Chargé de Cours	<i>Directeur Unité de production des réactifs/IMPM</i>
40.	TEYOU NGOUPO Ariel	Chargé de Cours	En Poste
41.	WANDJI NYAMSI William	Chargé de Cours	En Poste
42.	NGA ONGODO Dieudonné	Assistant	En Poste
43.	SOUFFO TAGUEU Merimé	Assistant	En Poste

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

1.	BITOM Dieudonné-Lucien	Professeur	<i>Doyen / FASA /UDs</i>
2.	NDAM NGOUPAYOU Jules-Remy	Professeur	En Poste
3.	NDJIGUI Paul-Désiré	Professeur	<i>Chef de Département</i>
4.	NGOS III Simon	Professeur	En Poste
5.	NKOUMBOU Charles	Professeur	En Poste
6.	NZENTI Jean-Paul	Professeur	En Poste
7.	ONANA Vincent Laurent	Professeur	<i>Chef de Département/Uté. Eb.</i>
8.	YENE ATANGANA Joseph Q.	Professeur	<i>Chef Div. /MINTP</i>

9.	ABOSSOLO née ANGUE Monique	Maître de Conférences	<i>Vice-Doyen / DRC</i>
10.	BISSO Dieudonné	Maître de Conférences	En Poste
11.	EKOMANE Emile	Maître de Conférences	<i>Chef Div./Uté Ebolowa</i>

12.	Elisé SABABA	Maitre de Conférences	En Poste
13.	FUH Calistus Gentry	Maître de Conférences	<i>Sec. d'Etat/MINMIDT</i>
14.	GANNO Sylvestre	Maître de Conférences	En Poste
15.	GHOGOMU Richard TANWI	Maître de Conférences	<i>Chef de Div. /Uté Bertoua</i>
16.	MBIDA YEM	Maitre de Conférences	En Poste
17.	MOUNDI Amidou	Maître de Conférences	<i>CT/MINIMDT</i>
18.	NGO BIDJECK Louise Marie	Maître de Conférences	En Poste
19.	NGUEUTCHOUA Gabriel	Maître de Conférences	<i>CEA/MINRESI</i>
20.	NJILAH Isaac KONFOR	Maître de Conférences	En Poste
21.	NYECK Bruno	Maître de Conférences	En Poste
22.	TCHAKOUNTE Jacqueline épouse NUMBEM	Maître de Conférences	<i>Chef. Cell /MINRESI</i>
23.	TCHOUANKOUE Jean-Pierre	Maître de Conférences	En Poste
24.	TEMGA Jean Pierre	Maître de Conférences	En Poste
25.	ZO'O ZAME Philémon	Maître de Conférences	<i>DG/ART</i>

26.	ANABA ONANA Achille Basile	Chargé de Cours	En Poste
27.	BEKOA Etienne	Chargé de Cours	En Poste
28.	ESSONO Jean	Chargé de Cours	En Poste
29.	EYONG John TAKEM	Chargé de Cours	En Poste
30.	MAMDEM TAMTO Lionelle Estelle, épouse BITOM	Chargée de Cours	En Poste
31.	MBESSE Cécile Olive	Chargée de Cours	En Poste
32.	METANG Victor	Chargé de Cours	En Poste
33.	MINYEM Dieudonné	Chargé de Cours	<i>Chef Serv./Uté Maroua</i>
34.	NGO BELNOUN Rose Noël	Chargée de Cours	En Poste
35.	NOMO NEGUE Emmanuel	Chargé de Cours	En Poste
36.	NTSAMA ATANGANA Jacqueline	Chargée de Cours	En Poste
37.	TCHAPCHET TCHATO De P.	Chargé de Cours	En Poste
38.	TEHNA Nathanaël	Chargé de Cours	En Poste
39.	FEUMBA Roger	Chargé de Cours	En Poste
40.	MBANGA NYOBE Jules	Chargé de Cours	En Poste



---

41.	KOAH NA LEBOGO Serge Parfait	Assistant	En Poste
42.	NGO'O ZE Arnaud	Assistant	En Poste
43.	TENE DJOUKAM Joëlle Flore, Epse KOUANKAP NONO	Assistante	En Poste

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

NOMBRE D'ENSEIGNANTS					
DÉPARTEMENT	Professeurs	Maîtres de Conférences	Chargés de Cours	Assistants	Total
BCH	8 (01)	15 (11)	13 (03)	7 (05)	<b>43 (20)</b>
BPA	14 (00)	16 (09)	18 (03)	4 (02)	<b>52 (14)</b>
BPV	6 (01)	12 (02)	13 (07)	3 (00)	<b>34 (10)</b>
CI	8 (02)	15 (04)	5 (01)	1 (00)	<b>29 (07)</b>
CO	6 (01)	18 (04)	11 (04)	2 (00)	<b>37 (09)</b>
IN	2 (00)	2 (00)	14 (01)	4 (00)	<b>22 (01)</b>
MAT	1 (00)	8 (00)	17 (00)	7 (01)	<b>33 (01)</b>
MIB	2 (01)	7 (03)	8 (04)	7 (00)	<b>24 (08)</b>
PHY	15 (00)	15 (04)	11 (01)	2 (00)	<b>43 (05)</b>
ST	8 (00)	17 (01)	15 (04)	3 (01)	<b>43 (06)</b>
<b>Total</b>	<b>70 (06)</b>	<b>125 (38)</b>	<b>125 (28)</b>	<b>40 (09)</b>	<b>359 (80)</b>

Soit un total de

**360 (81)** dont :

- Professeurs
- Maîtres de Conférences
- Chargés de Cours
- Assistants

**70 (06)**  
**125 (38)**  
**125 (28)**  
**40 (09)**

() = Nombre de Femmes **81**

# **DEDICACES**

Je dédie cette thèse à mes adorables enfants,

**Leroy Ryan LONFO SIME et Noemie Ketsia LONFO MAGUELOUNG.**

Et à ma grand-mère feu

**Jacqueline DJIKAP.**

# REMERCIEMENTS

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

Je tiens à exprimer ma profonde gratitude au Professeur **Dieudonné Emmanuel PEGNYEMB**, Chef de Département de Chimie Organique, Responsable du Laboratoire de Pharmacochimie des Substances Naturelles et superviseur de ce travail, pour m'avoir accepté dans son équipe de recherche et facilité mon intégration.

Toute ma reconnaissance à mon Directeur de thèse, le Professeur **Dominique NGONO BIKOBO** pour l'accueil qu'il m'a réservé depuis mon Master, pour l'aide fournie et les connaissances qu'il a su me transmettre. Je le remercie également pour sa disponibilité et la qualité de ses conseils qui m'ont laissé une large part d'autonomie dans ce travail tout en m'aiguillant sur des pistes de réflexion riches et porteuses.

Je voudrais remercier très chaleureusement le Professeur **Muhammad IQBAL CHOUDHARI**, Directeur de Recherche à ICCBS à Karachi (Pakistan), pour m'avoir accueilli au sein du laboratoire 212 à (*Hej*) Center (Hussain Ebrahim Jamal) par le biais de la bourse TWAS. Je vous remercie également pour m'avoir permis d'effectuer ce travail dans les meilleures conditions.

J'exprime également ma profonde et respectueuse gratitude aux Professeurs : **Joséphine NGO MBING**, **Olivier NOTE**, **Thierry NDONGO**, **Auguste ABOUEM**, **Le doux KAMTO** et le Docteur **Mc Jésus KINYOK** pour leurs encouragements et leurs précieux conseils qui m'ont été bénéfiques tout au long de ce travail.

Mes vifs remerciements aux aînés de laboratoire : les Docteurs, **Gaétan BAHIYA**, **Angélique Nicolas MESSI**, **Line SIMO**, **Norbert MBABI**, **Éric TIAM**, **Lin Marcellin AMBASSA MESSI**, **Marius BALEMAKEN MISSI**, **Guy Roland EBEDE**, **André Néhémie BITOMBO** et **Jeanne Louise NKOT** pour leur gentillesse, leur disponibilité, leur encouragement et les moments agréables que nous avons passés ensemble.

Je tiens à remercier vivement les Docteurs **Atia-tul-WAHAB**, **Rabia FAROOQ**, **Shella NUHZAT**, **FAROOQ** et Monsieur **SOHAIL** du laboratoire 212 *Hej* Center à ICCBS

au Pakistan, pour avoir facilité mon adhésion au sein du laboratoire. Sans vous, les analyses des composés isolés n'auraient pas pu être effectives.

Merci à mes amis et promotionnaires : **Jean Faustin ATANGANA, Aurore Merveilles BELLA BELINGA, Larissa KOM, Paul SEKE et Yolande NGUIMBOUS** qui ont toujours été là pour moi. Nous avons traversé des moments difficiles et même lorsque je désespérais, votre soutien inconditionnel et vos encouragements me permettaient de ne point abandonner.

J'adresse également mes remerciements à tous mes aînés et cadets du Laboratoire de Pharmacochimie des Substances Naturelles : **Fred ZOUA, Alexis Bienvenu NAMA, Emmanuel BIAN, Merveille DONGMO, Daniella NTOMI DJIPMENIE, Alette BEKOU FOSSO, Bertrand TADJOUTSAP, Rachelle DEGOU MOUOBOUO et Zouberou LAMANJE NJOYA** pour leur compagnie et pour les moments d'échanges que nous avons partagés.

Je tiens à remercier les bénéficiaires comme moi de la bourse TWAS, avec qui nous avons effectué un séjour de recherche à Karachi, au Pakistan : Dr **Faustine DONGMO, Mr Hassana YAYA, Phalonne TINGUEP et Bernie MAFFO.**

Je ne saurais oublier :

Mes parents chéris, Mr **Dagobert SIME** et Mme **Madeleine KOMBOU** épouse **SIME**, pour leur soutien constant et leurs encouragements.

Mon bien aimé, mon compagnon **Joel Aimé LONFO SOTEZO** pour sa sollicitude, ses précieux conseils et encouragements. Trouve dans ce document, une récompense et mes sincères remerciements pour ton soutien moral et financier.

Mes frères et sœurs, **Eluge SIME NGANSOP, Leonette SIME NOUTCHIE, Hermann SIME NANA, Franck Manuel DJOMO** et tous les membres de ma famille, pour leurs encouragements et leurs prières.

Mon amie **Adrienne Carole ZAMBOU** pour son soutien moral, ses conseils et son assistance inconditionnelle.

A toutes celles et ceux qui de près ou de loin m'ont soutenu et dont les noms n'ont pas été mentionnés ici, merci à vous.

# TABLE DE MATIERES

DEDICACES .....	xviii
REMERCIEMENTS .....	xix
LISTE DES ABREVIATIONS ET SYMBOLES.....	xxvi
LISTE DES FIGURES.....	xxviii
LISTE DES TABLEAUX.....	xxxi
LISTE DES SCHÉMAS.....	xxxiii
RÉSUMÉ.....	xxxiv
ABSTRACT .....	xxxv
INTRODUCTION.....	1
CHAPITRE I: REVUE DE LA LITTÉRATURE.....	5
1. Généralités sur la famille des Rubiaceae.....	6
1.1. Introduction.....	6
1.2. Répartition de la famille des Rubiaceae.....	6
1.3. Classification botanique de la famille des Rubiaceae.....	7
1.4. Usage en médecine traditionnelle des plantes de la famille des Rubiaceae .....	7
1.5. Etudes phytochimiques antérieures et principaux métabolites isolés de la famille des Rubiaceae.....	8
1.5.1. Les terpénoïdes .....	8
1.5.1.1. Généralités sur les terpénoïdes.....	8
1.5.2. Cas des diterpènes.....	9
1.5.2.1. Biosynthèse des diterpènes .....	10
1.5.3. Cas des triterpènes .....	16
1.5.3.1. Biosynthèse des triterpènes.....	16
1.5.3.2. Structure des triterpènes.....	20
1.5.4. Généralités sur les alcaloïdes .....	23
1.5.4.1. Classification des alcaloïdes .....	23
1.5.4.2. Classification en fonction du précurseur biogénétique et la voie de biosynthèse	24

1.6. Etudes pharmacologiques antérieures sur quelques espèces de la famille des Rubiaceae	27
1.6.1. Activité antiplasmodiale	27
1.6.2. Activité antileishmaniale	29
1.6.3. Autres activités biologiques antérieures	30
1.6.3.1 Activité antibactérienne	30
1.6.3.2. Activité anticancéreuse	31
1.7. Généralités sur le genre <i>Tricalysia</i>	31
1.7.1. Introduction	31
1.7.2. Aperçu botanique de quelques espèces du genre <i>Tricalysia</i>	32
1.7.2.1. L'espèce <i>Tricalysia atherura</i> (N. Hallé)	32
1.7.2.2. L'espèce <i>Tricalysia oligoneura</i> (K. Schum)	33
1.7.3. Usages ethnopharmacologiques de quelques espèces du genre <i>Tricalysia</i>	34
1.7.4. Etudes phytochimiques antérieurs sur les espèces du genre <i>Tricalysia</i>	34
1.7.4.1. Diterpenoides isolés du genre <i>Tricalysia</i>	35
1.7.4.2. Les Triterpénoides et Stéroïdes isolés du genre <i>Tricalysia</i>	35
1.7.4.3. Les alcaloïdes du genre <i>Tricalysia</i>	35
1.7.4.4. Cérébroside isolé du genre <i>Tricalysia</i>	36
1.7.4.5. Les glucosides sulfates isolés du genre <i>Tricalysia</i>	36
1.7.5. Etudes pharmacologiques antérieures sur quelques espèces du genre <i>Tricalysia</i>	37
1.8. Généralités sur la leishmaniose	37
1.8.1. Définition	37
1.8.2. Le vecteur de la leishmaniose	38
1.8.3. Aspect clinique	39
1.8.3.1. La leishmaniose viscérale (LV)	39
1.8.3.2. La Leishmaniose cutanée (LC)	39
1.8.3.3. La leishmaniose cutanéomuqueuse (LCM)	40
1.8.4. Répartition géographique	40

1.8.4.1. Dans le monde.....	40
1.8.4.2. Au Cameroun.....	41
1.8.5. Le parasite.....	42
1.8.6. Le vecteur de la leishmaniose.....	43
1.8.7. Prévention et traitement de la leishmaniose.....	43
1.8.7.1. Prévention.....	43
1.8.7.2. Traitement de la leishmaniose.....	44
1.9. Généralités sur le paludisme.....	45
1.9.1. Epidémiologie du paludisme.....	45
1.9.2. Le parasite et le vecteur.....	47
1.9.2.1. Le parasite.....	47
1.9.2.2. Le vecteur.....	47
1.9.3. Les manifestations cliniques.....	48
1.9.4. Prévention et traitement du paludisme.....	48
1.9.4.1. Prévention du Paludisme.....	48
1.9.4.2. Traitement du Paludisme.....	48
<b>CHAPITRE II: RESULTATS ET DISCUSSION.....</b>	<b>51</b>
2.1. Etude phytochimique des feuilles de <i>Tricalysia atherura</i> N. Hallé.....	52
2.1.1. Extraction, fractionnement et purification des composés.....	52
2.1.2. Caractérisation des composés isolés.....	54
2.1.2.1. Détermination structurale du composé TAF <sub>1</sub> .....	54
2.1.2.2. Détermination structurale du composé TAF <sub>2</sub> .....	64
2.1.2.3. Détermination structurale du composé TAF <sub>3</sub> .....	71
2.1.2.4. Détermination structurale du composé TAF <sub>4</sub> .....	82
2.1.2.5. Identification du composé TAF <sub>5</sub> .....	92
2.1.2.6. Identification du composé TAF <sub>6</sub> .....	95
2.1.2.7. Identification du composé TAF <sub>7</sub> .....	99
2.1.2.8. Identification du composé TAF <sub>8</sub> .....	102



2.1.2.9. Identification du composé TAF <sub>9</sub> .....	105
2.1.2.10. Identification du composé TAF <sub>10</sub> .....	109
2.1.2.11. Identification du composé TAF <sub>11</sub> .....	113
2.2. Etude phytochimique des feuilles de <i>Tricalysia oligoneura</i> S. Schum .....	116
2.2.1. Extraction, fractionnement et purification des composés .....	116
2.2.2. Caractérisation des composés isolés .....	118
2.2.2.1. Détermination structurale du composé TOF <sub>1</sub> .....	118
2.2.2.2. Détermination structurale du composé TOF <sub>2</sub> .....	125
2.2.2.3. Détermination structurale du composé TOF <sub>3</sub> .....	135
2.2.2.4. Identification du composé TOF <sub>4</sub> .....	144
2.2.2.5. Identification du composé TOF <sub>5</sub> .....	148
2.2.2.6. Identification du composé TOF <sub>6</sub> .....	152
2.2.2.7. Identification du composé TOF <sub>7</sub> .....	154
2.2.2.8. Identification du composé TOF <sub>8</sub> .....	158
2.2.2.9. Identification du composé TOF <sub>9</sub> .....	162
2.2.2.10. Identification du composé TOF <sub>10</sub> .....	165
2.3. Activités biologiques des extraits et de quelques composés isolés.....	169
2.3.1. Activité antiplasmodiale et cytotoxique <i>in vitro</i> .....	169
2.3.2. Activité antileishmaniale et cytotoxique <i>in vitro</i> .....	170
2.4. Biosynthèse de quelques composés isolés .....	172
2.4.1. Cas des triterpènes.....	172
2.4.2. Cas des alcaloïdes indolomonoterpéniques.....	174
2.5. Importance Chimiotaxonomique .....	174
CONCLUSION GÉNÉRALE ET PERSPECTIVES .....	175
CHAPITRE III:MATERIEL ET METHODES .....	178
3.1. Matériel végétal .....	179
3.2. Séparation et isolement .....	179
3.3. Méthodes chromatographiques .....	181
3.3.1. Chromatographie sur couche mince.....	181

3.3.2. Chromatographie sur gel perméable .....	182
3.3.3. Chromatographie Liquide Haute Performance (HPLC) .....	182
3.3.4. Chromatographie en phase liquide couplée à la spectrométrie de masse LC/MS	183
3.4. Méthodes physico-chimiques.....	184
3.4.1. Spectrométrie de masse.....	184
3.4.2. Spectroscopie IR .....	184
3.4.3. Spectroscopie UV .....	184
3.4.4. Spectroscopie de Résonance Magnétique Nucléaire (RMN).....	184
3.4.5. Hydrolyse acide.....	185
3.4.6. Pouvoir rotatoire .....	186
3.5. Méthodes biologiques .....	186
3.5.1. Evaluation de l'activité antiplasmodiale <i>in vitro</i> .....	186
3.5.1.1. Culture <i>in vitro</i> de Plasmodium falciparum.....	186
3.5.1.2. Essai <i>in vitro</i> de Plasmodium falciparum .....	187
3.5.1.3. Activité antileishmaniale <i>in vitro</i> .....	187
3.5.1.3.1. Essai de cytotoxicité .....	188
3.5.1.3.2. Analyse des données .....	188
3.6. Caractéristiques physico-chimiques.....	190
RÉFÉRENCES BIBLIOGRAPHIQUES .....	191
COMMUNICATIONS SCIENTIFIQUES .....	191
PUBLICATION .....	191

## LISTE DES ABREVIATIONS ET SYMBOLES

AcOEt	Acétate d'éthyle
Api	Apiose
$[\alpha]_D$	Pouvoir rotatoire
CC	Chromatographie sur colonne
CC <sub>50</sub>	Concentration cytotoxique à 50%
CD	Circular dichroism
CF	Chromatographie Flash
CI <sub>50</sub>	Concentration Inhibitrice à 50%
CCM	Chromatographie sur couche mince
C <sub>5</sub> D <sub>5</sub> N	Pyridine deutéré
COSY	Correlation Spectroscopy
CQR	Chloroquino resistente
CQS	Chloroquino sensible
<i>D</i>	Doublet
<i>dd</i>	Doublet dedoublé
DEPT	Distortionless Enhancement by Polarization Transfer
DMAPP	Diméthylallyl-pyrophosphate
$\delta_C$	Déplacement chimique du carbone en ppm
$\delta_H$	Déplacement chimique du proton en ppm
IE	Impact électronique
ESI	Electro Spray Ionization
IR	Infrarouge
FAME	Fatty acid methyl ester
Glc	Glucose
HPLC	High Pressure Liquid Chromatography
HMBC	Heteronuclear Multiple Bond Connectivity
HSQC	Heteronuclear Single Quantum Coherence
Hz	Hertz
IPP	Isopentényl-pyrophosphate
<i>J</i>	Constante de couplage mesuré en Hz

LC	Leishmaniose cutanée
LV	Leishmaniose viscerale
LC-MS	Chromatographie Liquide Couplée à la Spectrométrie de Masse
MHz	Mégahertz
MeOH	Méthanol
<i>m</i>	Multiplet
<i>m/z</i>	masse/charge d'un ion
NOESY	<i>Nuclear Overhauser Effect Spectroscopy</i>
OMS	Organisation Mondiale de la Santé
P.f.	Point de Fusion
Ppm	Partie par million
SM	Spectrométrie de masse
<i>s</i>	Singulet
IS	Indice de Selectivité
SiOH	Silice (gel)
<i>t</i>	Triplet
UV	Ultra-Violet
v/v	Volume par volume
Xyl	Xylose
$\lambda_{\max}$	Longueur d'onde maximale
$\mu_{\text{mol}}$	Micromole
$\nu_{\max}$	Fréquence maximale

## LISTE DES FIGURES

<b>Figure 1</b> : Répartition géographique des Rubiaceae.....	6
<b>Figure 2</b> : Squelette des triterpènes pentacyclique. ....	16
<b>Figure 3</b> : Structures planes de quelques squelettes carbonés de triterpènes pentacycliques : Oleanane (63), Ursane (64), (65) et Lupane (66). ....	20
<b>Figure 4</b> : Feuilles et tige de <i>Tricalysia atherura</i> . ....	33
<b>Figure 5</b> : Feuilles et tige de <i>Tricalysia oligoneura</i> . ....	34
<b>Figure 6</b> : Cycle de vie de <i>Leishmania</i> sp.. ....	38
<b>Figure 7</b> : Leishmaniose viscérale avec une splénomégalie marquée. ....	39
<b>Figure 8</b> : Aspect de la LC causée par <i>L. infantum</i> . ....	40
<b>Figure 9</b> : Répartition géographique de la leishmaniose dans le monde. ....	40
<b>Figure 10</b> : Régions du Cameroun avec indication des cas de leishmaniose signalés et/ou où des mouches des sables ont été collectées et photographies montrant les caractéristiques cliniques des lésions de LC sur des patients du Cameroun. ....	42
<b>Figure 11</b> : Image du parasite de la leishmaniose vue au microscope. ....	42
<b>Figure 12</b> : Image du phlébotome papatasi prenant un repas de sang. ....	43
<b>Figure 13</b> : Structures des principaux médicaments utilisés dans le traitement de la leishmaniose. ....	44
<b>Figure 14</b> : Mode de transmission du paludisme. ....	46
<b>Figure 15</b> : Zones touchées par le paludisme ....	46
<b>Figure 16</b> : Cycle évolutif de <i>Plasmodium</i> sp. ....	47
<b>Figure 17</b> : Structure des principales molécules antipaludéennes ....	50
<b>Figure 18</b> : Spectre de masse LC-ESI-SM du composé TAF <sub>1</sub> . ....	54
<b>Figure 19</b> : Spectre RMN <sup>1</sup> H (500 MHz, CD <sub>3</sub> OD) du composé TAF <sub>1</sub> . ....	55
<b>Figure 20</b> : Spectre RMN <sup>1</sup> H élargi (500 MHz, CD <sub>3</sub> OD) du composé TAF <sub>1</sub> . ....	55
<b>Figure 21</b> : Spectre RMN <sup>13</sup> C (125 MHz, CD <sub>3</sub> OD) du composé TAF <sub>1</sub> . ....	56
<b>Figure 22</b> : Spectre COSY élargi (500 MHz, CD <sub>3</sub> OD) du composé TAF <sub>1</sub> . ....	57
<b>Figure 23</b> : Spectre HMBC (500 MHz, CD <sub>3</sub> OD) du composé TAF <sub>1</sub> . ....	58
<b>Figure 24</b> : Spectre HSQC élargi (500 MHz, CD <sub>3</sub> OD) montrant l'anomère du composé TAF <sub>1</sub> . ....	59
<b>Figure 25</b> : Spectre RMN <sup>13</sup> C élargi (125 MHz, CD <sub>3</sub> OD) montrant les carbones osidiques du composé TAF <sub>1</sub> . ....	60
<b>Figure 26</b> : Spectre HMBC (500 MHz, CD <sub>3</sub> OD) du composé TAF <sub>1</sub> . ....	61
<b>Figure 27</b> : Spectre NOESY (500 MHz, CD <sub>3</sub> OD) du composé TAF <sub>1</sub> . ....	61
<b>Figure 28</b> : Corrélations HMBC (a) et NOESY (b) du composé TAF <sub>1</sub> . ....	62
<b>Figure 29</b> : Spectre de masse LC-ESI-SM du composé TAF <sub>2</sub> . ....	64
<b>Figure 30</b> : Spectre HSQC élargi (500 MHz, CD <sub>3</sub> OD) montrant le signal de l'anomère du composé TAF <sub>2</sub> . ....	65
<b>Figure 31</b> : Spectre HSQC élargi (500 MHz, CD <sub>3</sub> OD) montrant les signaux osidiques du composé TAF <sub>2</sub> . ....	66
<b>Figure 32</b> : Spectre COSY élargi (500 MHz, CD <sub>3</sub> OD) du composé TAF <sub>2</sub> . ....	66
<b>Figure 33</b> : Spectres HMBC (a) et NOESY(b) (500 MHz, CD <sub>3</sub> OD) du composé TAF <sub>2</sub> . ....	68
<b>Figure 34</b> : Corrélations HMBC (a) et NOESY (b) du composé TAF <sub>2</sub> . ....	68
<b>Figure 35</b> : Spectre de masse HR-ESI-MS du composé TAF <sub>3</sub> . ....	71
<b>Figure 36</b> : Spectre de masse ESI-MS du composé TAF <sub>3</sub> . ....	72

<b>Figure 37</b> : Spectre RMN <sup>1</sup> H global (500 MHz, CD <sub>3</sub> OD) du composé TAF <sub>3</sub> .....	72
<b>Figure 38</b> : Spectre RMN <sup>1</sup> H élargi (500 MHz, CD <sub>3</sub> OD) du composé TAF <sub>3</sub> .....	73
<b>Figure 39</b> : Spectre RMN <sup>1</sup> H élargi (500 MHz, CD <sub>3</sub> OD) du composé TAF <sub>3</sub> .....	73
<b>Figure 40</b> : Spectre de RMN <sup>13</sup> C (125 MHz, CD <sub>3</sub> OD) de TAF <sub>3</sub> .....	74
<b>Figure 41</b> : Spectre COSY (500 MHz, CD <sub>3</sub> OD) du composé TAF <sub>3</sub> .....	75
<b>Figure 42</b> : Spectre HSQC (500 MHz, CD <sub>3</sub> OD) du composé TAF <sub>3</sub> .....	76
<b>Figure 43</b> : Spectre HMBC (500 MHz, CD <sub>3</sub> OD) du composé TAF <sub>3</sub> .....	77
<b>Figure 44</b> : Spectres NOESY (500 MHz, CD <sub>3</sub> OD) du composé TAF <sub>3</sub> .....	79
<b>Figure 45</b> : Corrélation HMBC (a) et NOESY (b) du composé TAF <sub>3</sub> .....	79
<b>Figure 46</b> : Spectre de masse LC-ESI-MS du composé TAF <sub>4</sub> .....	82
<b>Figure 47</b> : Spectres de RMN <sup>1</sup> H (500 MHz, CD <sub>3</sub> OD) du composé TAF <sub>4</sub> .....	83
<b>Figure 48</b> : Spectre de RMN <sup>13</sup> C global (125 MHz, CD <sub>3</sub> OD du composé TAF <sub>4</sub> ).....	84
<b>Figure 49</b> : Spectre de RMN <sup>13</sup> C élargi (125 MHz, CD <sub>3</sub> OD du composé TAF <sub>4</sub> ).....	84
<b>Figure 50</b> : Spectre de COSY élargi (500 MHz, CD <sub>3</sub> OD du composé TAF <sub>4</sub> ).....	85
<b>Figure 51</b> : Spectre HSQC élargi (500 MHz, CD <sub>3</sub> OD) montrant les signaux des anomères du composé TAF <sub>4</sub> .....	86
<b>Figure 52</b> : Spectre HSQC élargi (500 MHz, CD <sub>3</sub> OD) partie osidique du composé TAF <sub>4</sub> .....	87
<b>Figure 53</b> : Spectre HMBC (500 MHz, CD <sub>3</sub> OD) du composé TAF <sub>4</sub> montrant les points de liaison des sucres.....	88
<b>Figure 54</b> : Spectre NOESY (500 MHz, CD <sub>3</sub> OD) du composé TAF <sub>4</sub> montrant les points de liaison des sucres.....	89
<b>Figure 55</b> : Corrélations HMBC (a) et NOESY (b) du composé TAF <sub>4</sub> .....	89
<b>Figure 56</b> : Spectre de masse HR-ESI du composé TAF <sub>5</sub> .....	92
<b>Figure 57</b> : Spectre de RMN <sup>1</sup> H (500 MHz, CD <sub>3</sub> OD) du composé TAF <sub>5</sub> .....	93
<b>Figure 58</b> : Spectre de masse LC-ESI-MS du composé TAF <sub>6</sub> .....	95
<b>Figure 59</b> : Spectre de RMN <sup>1</sup> H (500 MHz ; CDCl <sub>3</sub> /CD <sub>3</sub> OD) du composé TAF <sub>6</sub> .....	96
<b>Figure 60</b> : Spectre de RMN <sup>13</sup> C (125 MHz ; CDCl <sub>3</sub> / CD <sub>3</sub> OD) du composé TAF <sub>6</sub> .....	97
<b>Figure 61</b> : Spectre de masse ESI-SM du composé TAF <sub>7</sub> .....	99
<b>Figure 62</b> : Spectre de RMN <sup>1</sup> H (500 MHz / CD <sub>3</sub> OD) du composé TAF <sub>7</sub> .....	100
<b>Figure 63</b> : Spectre HMBC (500 MHz/ CD <sub>3</sub> OD) du composé TAF <sub>8</sub> .....	102
<b>Figure 64</b> : Spectre de masse ESI-SM du composé TAF <sub>9</sub> .....	105
<b>Figure 65</b> : Spectre RMN <sup>1</sup> H (500 MHz, CD <sub>3</sub> OD) du composé TAF <sub>9</sub> .....	106
<b>Figure 66</b> : Spectre de RMN <sup>1</sup> H élargi (500 MHz, CD <sub>3</sub> OD) du composé TAF <sub>9</sub> .....	106
<b>Figure 67</b> : Spectre de masse HR-ESI-SM du composé TAF <sub>10</sub> .....	109
<b>Figure 68</b> : Spectre RMN <sup>1</sup> H (500 MHz, CD <sub>3</sub> OD) du composé TAF <sub>10</sub> .....	110
<b>Figure 69</b> : Spectre HSQC (500 MHz, CD <sub>3</sub> OD) du composé TAF <sub>10</sub> .....	110
<b>Figure 70</b> : Spectre de masse LC-ESI-SM du composé TAF <sub>11</sub> .....	113
<b>Figure 71</b> : Spectre RMN <sup>1</sup> H (500MHz, CD <sub>3</sub> OD) du composé TAF <sub>11</sub> .....	114
<b>Figure 72</b> : Spectre de masse LC-ESI-MS du composé TOF <sub>1</sub> .....	118
<b>Figure 73</b> : Spectre RMN <sup>1</sup> H (500 MHz, CD <sub>3</sub> OD) du composé TOF <sub>1</sub> .....	119
<b>Figure 74</b> : Spectre HSQC (500 MHz, CD <sub>3</sub> OD) du composé TOF <sub>1</sub> .....	120
<b>Figure 75</b> : Spectre COSY (500 MHz, CD <sub>3</sub> OD) du composé TOF <sub>1</sub> .....	121
<b>Figure 76</b> : Spectre HMBC (500 MHz, CD <sub>3</sub> OD) du composé TOF <sub>1</sub> .....	121
<b>Figure 77</b> : Pics des ions fragments issus du clivage du composé TOF <sub>1</sub> (UPLC).....	122
<b>Figure 78</b> : Correlations NOESY du composé TOF <sub>1</sub> .....	123
<b>Figure 79</b> : Spectre NOESY (500 MHz, CD <sub>3</sub> OD) de TOF <sub>1</sub> .....	123
<b>Figure 80</b> : Spectre de masse HR-ESI-MS du composé TOF <sub>2</sub> .....	125
<b>Figure 81</b> : Spectre de RMN <sup>1</sup> H (500 MHz, CD <sub>3</sub> OD/ CDCl <sub>3</sub> ) du composé TOF <sub>2</sub> .....	126
<b>Figure 82</b> : Spectres de RMN <sup>13</sup> C (125 MHz, CD <sub>3</sub> OD/ CDCl <sub>3</sub> ) du composé TOF <sub>2</sub> .....	127

<b>Figure 83</b> : Spectre HSQC (500 MHz, CD <sub>3</sub> OD/ CDCl <sub>3</sub> ) du composé TOF <sub>2</sub> .....	128
<b>Figure 84</b> : Spectre COSY (500 MHz, CD <sub>3</sub> OD/ CDCl <sub>3</sub> ) du composé TOF <sub>2</sub> .....	129
<b>Figure 85</b> : Spectre HMBC (500 MHz, CD <sub>3</sub> OD/ CDCl <sub>3</sub> ) du composé TOF <sub>2</sub> .....	129
<b>Figure 86</b> : Pics d'ions fragments issus du clivage du composé TOF <sub>2</sub> (IE-MS).....	131
<b>Figure 87</b> : Spectre HMBC (500 MHz, CD <sub>3</sub> OD/ CDCl <sub>3</sub> ) du composé TOF <sub>2</sub> .....	132
<b>Figure 88</b> : Principales corrélations COSY et HMBC du composé TOF <sub>2</sub> .....	132
<b>Figure 89</b> : Spectre NOESY (500 MHz, CD <sub>3</sub> OD/ CDCl <sub>3</sub> ) de TOF <sub>2</sub> .....	133
<b>Figure 90</b> : Spectre de masse HR-ESI-SM du composé TOF <sub>3</sub> .....	135
<b>Figure 91</b> : Spectre RMN <sup>1</sup> H global (500 MHz, CD <sub>3</sub> OD) du composé TOF <sub>3</sub> .....	136
<b>Figure 92</b> : Spectre RMN <sup>1</sup> H (500 MHz, CD <sub>3</sub> OD) du composé TOF <sub>3</sub> montrant les méthyles angulaires. .....	136
<b>Figure 93</b> : Spectre HSQC (500 MHz, CD <sub>3</sub> OD) du composé TOF <sub>3</sub> montrant les méthyles angulaires. .....	137
<b>Figure 94</b> : Spectre de RMN <sup>13</sup> C (125 MHz, CD <sub>3</sub> OD) du composé TOF <sub>3</sub> .....	138
<b>Figure 95</b> : Spectre HSQC élargi (500 MHz, CD <sub>3</sub> OD) montrant le signal de l'anomère du composé TOF <sub>3</sub> .....	139
<b>Figure 96</b> : Spectre HMBC (500 MHz, CD <sub>3</sub> OD) du composé TOF <sub>3</sub> montrant le point de jonction. .	140
<b>Figure 97</b> : Spectre NOESY élargi (b) (500 MHz, CD <sub>3</sub> OD) du composé TOF <sub>3</sub> montrant le point de jonction.....	141
<b>Figure 98</b> : Corrélations HMBC (a) et NOESY (b) du composé TOF <sub>3</sub> .....	141
<b>Figure 99</b> : Spectre de masse HR-ESI-SM du composé TOF <sub>4</sub> .....	144
<b>Figure 100</b> : Spectre de RMN <sup>1</sup> H (500 MHz, CD <sub>3</sub> OD/ CDCl <sub>3</sub> ) du composé TOF <sub>4</sub> .....	145
<b>Figure 101</b> : Spectre de RMN <sup>13</sup> C (125 MHz, CD <sub>3</sub> OD/ CDCl <sub>3</sub> ) du composé TOF <sub>4</sub> .....	146
<b>Figure 102</b> : Spectre de masse ESI-SM du composé TAF <sub>5</sub> .....	148
<b>Figure 103</b> : Spectre RMN <sup>1</sup> H (400 MHz, DMSO-d <sub>6</sub> ) du composé TOF <sub>5</sub> .....	149
<b>Figure 104</b> : Spectre RMN <sup>13</sup> C (100 MHz, DMSO) du composé TOF <sub>5</sub> .....	149
<b>Figure 105</b> : Spectre DEPT 135 (100 MHz, DMSO) du composé TOF <sub>5</sub> .....	150
<b>Figure 106</b> : Spectre RMN <sup>1</sup> H (400 MHz, DMSO) du composé TOF <sub>6</sub> .....	152
<b>Figure 107</b> : Spectre de RMN <sup>13</sup> C (100 MHz, DMSO) du composé TOF <sub>6</sub> .....	153
<b>Figure 108</b> : Spectre de masse LC-ESI-SM du composé TOF <sub>7</sub> .....	154
<b>Figure 109</b> : Spectre RMN <sup>1</sup> H (500 MHz, CDCl <sub>3</sub> ) du composé TOF <sub>7</sub> .....	155
<b>Figure 110</b> : Spectre RMN <sup>13</sup> C (120 MHz, CDCl <sub>3</sub> ) du composé TOF <sub>7</sub> .....	156
<b>Figure 111</b> : Spectre de masse EI-MS du composé TOF <sub>8</sub> .....	158
<b>Figure 112</b> : Spectre RMN <sup>1</sup> H (500 MHz, CDCl <sub>3</sub> ) du composé TOF <sub>8</sub> .....	159
<b>Figure 113</b> : Spectre de RMN <sup>13</sup> C (125 MHz, CDCl <sub>3</sub> ) du composé TOF <sub>8</sub> .....	160
<b>Figure 114</b> : Spectre de masse EI-MS du composé TOF <sub>9</sub> .....	162
<b>Figure 115</b> : Spectre RMN <sup>1</sup> H (500 MHz ; CDCl <sub>3</sub> ) du composé TOF <sub>9</sub> .....	163
<b>Figure 116</b> : Spectre HR-ESI-MS du composé TOF <sub>10</sub> .....	165
<b>Figure 117</b> : Spectre RMN <sup>1</sup> H (500 MHz ; C <sub>5</sub> D <sub>5</sub> N) et RMN <sup>13</sup> C (125 MHz ; C <sub>5</sub> D <sub>5</sub> N) du composé TOF <sub>10</sub> .....	166
<b>Figure 118</b> : Appareil de HPLC.....	183
<b>Figure 119</b> : Appareil de RMN.....	185

# LISTE DES TABLEAUX

<b>Tableau I :</b> Sous- famille, quelques tribus et genres de la famille des Rubiaceae. ....	7
<b>Tableau II :</b> Quelques Diterpènes isolés des plantes de la famille des Rubiaceae.....	11
<b>Tableau III :</b> Quelques triterpènes isolés des plantes de la famille des Rubiaceae.....	21
<b>Tableau IV :</b> Structure de chaque catégorie d'alcaloïde. ....	24
<b>Tableau V :</b> Alcaloïdes isolés des plantes de la famille des Rubiaceae. ....	26
<b>Tableau VI :</b> Distribution géographique de quelques espèces du genre <i>Tricalysia</i> au Cameroun.....	32
<b>Tableau VII :</b> Données RMN <sup>1</sup> H (500 MHz et <sup>13</sup> C, 125 MHz, CD <sub>3</sub> OD) partie aglycone de TAF <sub>1</sub> . ....	63
<b>Tableau VIII :</b> Données RMN ( <sup>1</sup> H, 500 MHz et <sup>13</sup> C, 125 MHz, CD <sub>3</sub> OD) de TAF <sub>2</sub> .....	70
<b>Tableau IX :</b> Données de RMN ( <sup>1</sup> H, 500 MHz et <sup>13</sup> C, 125 MHz, CD <sub>3</sub> OD,) du composé TAF <sub>3</sub> .....	81
<b>Tableau X :</b> Données de RMN ( <sup>1</sup> H 500 MHz et <sup>13</sup> C, 125 MHz) de TAF <sub>4</sub> comparées à l'hydrobenzoïne symétrique. ....	91
<b>Tableau XI :</b> Données RMN ( <sup>1</sup> H, 500 MHz et <sup>13</sup> C, 125 MHz) de TAF <sub>5</sub> comparé à ceux de la littérature. ....	94
<b>Tableau XII :</b> Données de RMN ( <sup>1</sup> H, 500 MHz et <sup>13</sup> C, 125 MHz) de TAF <sub>6</sub> comparé à celles de la littérature .....	98
<b>Tableau XIII :</b> Données de RMN ( <sup>1</sup> H, 500 MHz et <sup>13</sup> C, 125 MHz ; CD <sub>3</sub> OD) de TAF <sub>7</sub> comparées à celles de la littérature.....	101
<b>Tableau XIV :</b> Données de RMN ( <sup>1</sup> H, 500 MHz et <sup>13</sup> C, 125 MHz ; CD <sub>3</sub> OD) de TAF <sub>8</sub> comparées à celles de la littérature.....	104
<b>Tableau XV :</b> Données de RMN ( <sup>1</sup> H, 500 MHz et <sup>13</sup> C, 125 MHz ; CD <sub>3</sub> OD) de TAF <sub>9</sub> comparées à celles de la littérature.....	108
<b>Tableau XVI :</b> Données de RMN ( <sup>1</sup> H, 500 MHz et <sup>13</sup> C, 125 MHz ; CD <sub>3</sub> OD) de TAF <sub>10</sub> comparées à celles de la littérature.....	112
<b>Tableau XVII :</b> Données de RMN ( <sup>1</sup> H, 500 MHz et <sup>13</sup> C, 125 MHz ; CD <sub>3</sub> OD) de TAF <sub>11</sub> comparées à celles de la littérature.....	115
<b>Tableau XVIII :</b> Données de RMN ( <sup>1</sup> H, 500 MHz et <sup>13</sup> C, 125 MHz ; CD <sub>3</sub> OD) du composé TOF <sub>1</sub> ..	124
<b>Tableau XIX :</b> Données de RMN ( <sup>1</sup> H, 500Mz et <sup>13</sup> C ,125MHz ; CD <sub>3</sub> OD/ CDCl <sub>3</sub> ) du composé TOF <sub>2</sub> . ....	134
<b>Tableau XX :</b> Données de RMN ( <sup>1</sup> H, 500Mz et <sup>13</sup> C, 125MHz ; CD <sub>3</sub> OD) du composé TOF <sub>3</sub> comparées aux données de l'acide oléanolique.....	143
<b>Tableau XXI :</b> Données de RMN ( <sup>1</sup> H, 500 MHz et <sup>13</sup> C, 125 MHz) du composé TOF <sub>4</sub> comparées à celles de la littérature.....	147
<b>Tableau XXII :</b> Données de RMN ( <sup>1</sup> H, 500 MHz et <sup>13</sup> C, 100 MHz ; DMSO) du composé TOF <sub>5</sub> comparées à celle de la littérature .....	151



<b>Tableau XXIII</b> : Données de RMN ( $^1\text{H}$ , 500 MHz et $^{13}\text{C}$ , 100 MHz ; DMSO) du composé TOF <sub>6</sub> comparées à celle de la littérature. ....	153
<b>Tableau XXIV</b> : Données de RMN ( $^1\text{H}$ , 500MHz et $^{13}\text{C}$ , 125 MHz) du composé TOF <sub>8</sub> commparées aux données de la littérature. ....	161
<b>Tableau XXV</b> : Données de RMN ( $^1\text{H}$ , 500 MHz et $^{13}\text{C}$ , 125 MHz ; $\text{CDCl}_3$ ) du composé TOF <sub>9</sub> comparé à celles de la littérature. ....	164
<b>Tableau XXVI</b> : Données de RMN ( $^1\text{H}$ , 500 MHz et $^{13}\text{C}$ , 125 MHz ; $\text{CD}_3\text{OD}$ ) du composé TOF <sub>10</sub> comparé à celles de la littérature. ....	168
<b>Tableau XXVII</b> : Activité antiplasmodiale et cytotoxique <i>in vitro</i> de l'extrait méthanolique et composés purs de <i>T. atherura</i> . ....	169
<b>Tableau XXVIII</b> : Activité antileishmaniale et cytotoxique <i>in vitro</i> de l'extrait méthanolique et composés purs de <i>T. oligoneura</i> . ....	171
<b>Tableau XXIX</b> : Protocole du screening phytochimique des extraits de plantes. ....	189
<b>Tableau XXX</b> : Données spectrales et constantes physiques des composés isolés ....	190

# LISTE DES SCHÉMAS

Schéma 1 : Classification des terpènes suivant le nombre d'unités isoprènes dans leur structure chimique.....	9
Schéma 2 : Biosynthèse des diterpènes (Breitmaier, 2006). .....	10
Schéma 3 : Formation de l'IPP et du DMAPP (Bruneton, 1999).....	17
Schéma 4 : Formation de l'époxyqualène (Dubey et <i>al.</i> , 2003). .....	18
Schéma 5 : Voie biosynthétique de quelques triterpènes à partir de l'époxyqualène (Han et <i>al.</i> , 2019). .....	19
<b>Schéma 6:</b> Biosynthèse des alcaloïdes indolomonoterpéniques (Rodney et <i>al.</i> , 2000).....	25
Schéma 7: Protocole d'extraction et d'isolement des composés des feuilles de <i>Tricalysia atherura</i> ...	54

## RÉSUMÉ

L'étude phytochimique des feuilles de *T. atherura* N. Hallé et *T. oligoneura* K. Schum a conduit à l'isolement et à la caractérisation de vingt-et-un (21) composés dont sept (7) sont nouvellement décrits. Les structures de tous ces composés ont été établies grâce à l'analyse approfondie des spectres RMN 1D ( $^1\text{H}$ ,  $^{13}\text{C}$ ) et 2D (COSY, HSQC, HMBC et NOESY) couplées à la spectrométrie de masse haute résolution (HR-ESI-MS) et basse résolution (EI-MS), et par la comparaison avec les données de la littérature.

L'extrait au MeOH des feuilles de *T. atherura* a conduit à l'isolement de 11 composés dont quatre (04) sont nouvellement décrits, il s'agit de : deux triterpènes glycosylés de type ursane [les atherurosides A et B (**146- 147**)] ; un alcaloïde indolique de type akuammidine, l'atheruramine (**148**) et un hydrobenzoïne, le tricalydioloside (**149**). Les sept autres composés déjà décrits dans la littérature ont été regroupés en différentes classes dont quatre triterpènes [l'acide bétulinique (**151**), l'acide ursolique (**154**), le rubrinol (**155**) ; le 19 $\alpha$ - hydroxy- $\alpha$ -amyrine (**156**)] ; deux alcaloïdes [un alcaloïde diterpénique, le tricalysiamide D (**153**) ; un alcaloïde indolique, l'acide strictosidinique (**150**)] et un diterpène, le tricalysiolide B (**152**).

L'extrait au MeOH des feuilles de *T. oligoneura* a conduit à l'isolement de dix (10) composés dont trois (03) dérivés nouveaux à savoir : un triterpène glycosilé de type oléanane, l'oligoneurine (**159**) ; un alcool *n*-paraffinique, le nonacosane-1,10- diol (**157**) ainsi qu'une céramide de type phytosphingosine, l'oligoneuramide (**158**). Les sept (07) autres composés déjà décrits dans la littérature ont été regroupés en différentes classes dont deux sucres [le  $\beta$ -D-fructofuranosyle-  $\alpha$ -D- glucopyranosyl (**151**) et le D-mannitol (**162**)] ; une lignane, l'asarinine (**164**) ; un acide gras, l'acide oléique (**165**)] ; deux stéroïdes [le  $\beta$ -sitostérol (**163**) et le  $\beta$ -sitosterol-3- $\beta$ -D- glucopyranoside (**160**)] et un triterpène, l'aridanine (**166**).

Concernant les activités antiparasitaires des extraits bruts et quelques-uns des composés purs isolés, ils ont été évalués d'une part pour leurs activités antiplasmodiales *in vitro* sur les souches CQS (chloroquino sensible) et CQR de *Plasmodium falciparum* 3D7 et Dd2 en utilisant la méthode basée sur la fluorescence *Sybr-green-I* et d'autre part, pour leurs activités antileishmaniales sur les promastigotes de *Leishmania donovani* 1S (MHOM/SD/62/1S) en utilisant la méthode basée sur le dosage colorimétrique de la Resazurine. En ce qui concerne l'activité antiplasmodiale, l'extrait brut des feuilles de *Tricalysia atherura* a montré une bonne activité antiplasmodiale sur les souches *Plasmodium falciparum* 3D7 et Dd2 avec des valeurs de  $\text{CI}_{50}$  respectivement de  $7,923 \pm 0,530$  et  $4,196 \pm 0,278$   $\mu\text{g/mL}$ . Pour ce qui est de l'activité antileishmaniale, l'oligoneurine (**159**) et l'oligoneuramide (**158**) ont présenté des activités leishmanicides modérées avec des valeurs de  $\text{CI}_{50}$  de 21,10 et 23,87  $\mu\text{g/mL}$  respectivement. Par ailleurs, l'extrait brut a montré une bonne activité sur la même souche avec une valeur de  $\text{CI}_{50}$  de 13,62  $\mu\text{g/mL}$  et un indice de sélectivité relativement faible ( $\text{IS} = 5,05$ ) ce qui traduirait une plausible toxicité de la plante pour la consommation humaine.

**Mots clés :** *Tricalysia atherura*, *Tricalysia oligoneura*, Rubiaceae, activités antiplasmodiale, antileishmaniale et cytotoxique.

## ABSTRACT

The phytochemical study of the leaves of *T. atherura* N. Hallé and *T. oligoneura* K. Schum led to the isolation and characterization of twenty-one (21) compounds, seven (7) of which are newly described. The structures of all these compounds were established through extensive analysis of 1D ( $^1\text{H}$ ,  $^{13}\text{C}$ ) and 2D (COSY, HSQC, HMBC and NOESY) NMR spectra coupled with high-resolution (HR-ESI-MS) and low-resolution (IE-MS) mass spectrometry, and by comparison with literature data.

The MeOH extract of *T. atherura* leaves led to the isolation of 11 compounds, four (04) are newly described, they are: two ursane-type glycosylated triterpenes [atherurosides A and B (**146-147**)]; an akuammidine-type indolic alkaloid, atheruramine (**148**) and a hydrobenzoin, tricalydiolide (**149**). The seven other compounds already described in the literature have been grouped into different classes, including four triterpenes [betulinic acid (**151**), ursolic acid (**154**), rubrinol (**155**); 19 $\alpha$ -hydroxy- $\alpha$ -myrin (**156**)]; two alkaloids [a diterpenic alkaloid, tricalysiamide D (**153**); an indolic alkaloid, strictosidinic acid (**150**)] and a diterpene, tricalysiolide B (**152**).

The MeOH extract of *T. oligoneura* leaves led to the isolation of ten (10) compounds, including three (03) new derivatives: an oleanan-type glycosylated triterpene, oligoneurin (**159**); an n-paraffinic alcohol, nonacosan-1,10-diol (**157**); and a phytosphingosine-type ceramid, oligoneuramide (**158**). The other seven (07) compounds already described in the literature were grouped into different classes including two sugars [ $\beta$ -D-fructofuranosyl- $\alpha$ -D-glucopyranosyl (**151**) and D-mannitol (**162**)]; a lignan, asarinin (**164**); a fatty acid, oleic acid (**165**); two steroids [ $\beta$ -sitosterol (**163**) and  $\beta$ -sitosterol-3- $\beta$ -D-glucopyranoside (**160**)] and a triterpene, aridanin (**166**).

Concerning the antiparasitic activities of the crude extracts and some of the pure compounds isolated, they were evaluated on the one hand for their *in vitro* antiplasmodial activities on CQS and CQR of *Plasmodium falciparum* strains 3D7 and Dd2 using the *Sybr-green*-I fluorescence-based method and on the other hand, for their antileishmanial activities on *Leishmania donovani* 1S promastigotes (MHOM/SD/62/1S) using the Resazurin colorimetric assay-based method. With regard to antiplasmodial activity, the crude extract of *Tricalysia atherura* leaves showed good antiplasmodial activity against *Plasmodium falciparum* strains 3D7 and Dd2, with  $\text{IC}_{50}$  values of  $7.923 \pm 0.530$  and  $4.196 \pm 0.278$   $\mu\text{g/mL}$  respectively. With regard to antileishmanial activity, oligoneurin (**159**) and oligoneuramide (**158**) exhibited moderate leishmanicidal activities with  $\text{IC}_{50}$  values of 21.10 and 23.87  $\mu\text{g/mL}$  respectively. In addition, the crude extract showed good activity on the same strain with an  $\text{IC}_{50}$  value of 13.62  $\mu\text{g/mL}$  and a relatively low selectivity ( $\text{SI} = 5.05$ ), which would indicate a plausible toxicity of the plant for human consumption.

**Keywords:** *Tricalysia atherura*, *Tricalysia oligoneura*, Rubiaceae, antiplasmodial, antileishmanial and cytotoxic activity.

# **INTRODUCTION**

Le paludisme et la leishmaniose font parti des maladies parasitaires les plus récurrentes dans le monde notamment en Afrique, en Amérique du Sud et en Asie. Concernant le paludisme, c'est une affection fébrile aiguë causée par le parasite *Plasmodium* qui se transmet par la piqûre d'un moustique l'anophèle femelle infectée. Les espèces pathogènes responsables du paludisme Humain sont *P. vivax*, *P. ovale*, *P. malariae*, *P. knowlesi* et *P. falciparum* ; deux de ces cinq espèces de *plasmodium* sont particulièrement dangereuses. Il s'agit de : *P. falciparum*, l'espèce la plus virulente et la plus répandue en Afrique et au Cameroun en particulier (Lusakibanza, 2012), et l'espèce *P. vivax*, prédominante en Asie, en Amérique latine ainsi qu'en Afrique du Nord (Krotoski et al., 1982). Selon le dernier rapport de l'OMS, les estimations font état de 14 millions de nouveaux cas en 2020 par rapport à 2019 (241 millions contre 227 millions). D'après ces mêmes estimations, 69 000 personnes en plus, seraient mortes du paludisme en 2020 par rapport à 2019 (OMS, 2022). Le continent africain reste le plus touché avec 95 % des nouveaux cas, et 96 % des décès dont 80 % représente les enfants de moins de 5 ans ainsi que les femmes enceintes (OMS, 2022). L'OMS recommande dans le cadre d'une lutte antipaludique globale, l'utilisation généralisée du vaccin antipaludique RTS, S/AS01 (RTS, S) chez les enfants (de moins de 5 ans) dans les zones à transmission modérée et forte du paludisme à *P. falciparum* ; dont celui-ci réduit considérablement la morbidité et la mortalité stagnant chez le jeune enfant (30%) (OMS, 2022).

Pour ce qui est de la leishmaniose, c'est une infection parasitaire due à un protozoaire transmis par la piqûre de phlébotomes femelles infectés. Il existe trois formes de leishmaniose (viscérale, cutanée et cutanéomuqueuse) dont la plus grave est la leishmaniose viscérale (aussi appelée kala-azar) qui atteint les organes internes. La leishmaniose reste l'une des maladies les plus négligées dans le monde ; elle touche les populations les plus pauvres, principalement dans les pays en voie de développement. On estime à plus d'un milliard le nombre de personnes exposées au risque d'infection et 700 mille à 2 millions de nouveaux cas par an, causant jusqu'à 20 mille à 50 mille décès chaque année (OMS, 2020 ; Palma et al., 2021). Cette maladie s'étend actuellement dans les pays d'Afrique subsaharienne dont le Cameroun (Dondji et al., 2001 ; Gyapong et Boatman, 2016), où 147 cas ont été rapportés dans les régions de l'Extrême-Nord et du Nord entre 2007 - 2010 (Njih, 2010), et 17 décès enregistrés entre 2016 - 2017. L'OMS a récemment rapporté 4 cas de LC et 33 cas de LV au Cameroun.

Malgré les avancées de la science et les progrès de la médecine qui ont permis la mise sur pied de plusieurs médicaments antipaludéens [quinine, atovaquone et les analogues de la chloroquine (Fidock et *al.*, 2010 ; Wells et *al.*, 2009) et antileishmaniaux [Amphotericine B, Miltefosine, Pentamidine (Gradoni et *al.*, 2008 ; Marty, 2009) ; ces maladies continuent de représenter un problème majeur de santé publique en Afrique Subsaharienne et particulièrement au Cameroun (OMS, 2021). Cette situation serait dû à la résistance du parasite due à l'utilisation régulière et parfois excessive de ces médicaments conventionnelles, le ciblage non spécifique de certains médicaments, leur coût élevé (Akinyemi et *al.*, 2005 ; Carnet et *al.*, 2006) ou l'apparition de nouvelles souches de microorganismes du fait des mutations successives dérivant en partie des changements climatiques (Hoareau et Da silva, 1999, Akhoundi et *al.*, 2016). Par ailleurs, la résistance croissante aux médicaments conventionnels existant pourrait annuler les efforts visant à éradiquer ces maladies mortelles (Wells et *al.*, 2009). A l'heure actuelle où la pharmacorésistance due aux parasites du paludisme et de la leishmaniose est largement répandue et qu'aucune nouvelle classe chimique d'antipaludéens et antileishmaniaux n'a été introduit dans la pratique depuis 1996 (Gamo et *al.*, 2010), il devient primordial de mettre au point une nouvelle approche, pouvant permettre d'améliorer la prise en charge des patients souffrant de ces fléaux. Pour cela, il existe un intérêt renouvelé pour la médecine traditionnelle et ses plantes aux propriétés antileishmaniales et antiplasmodiales. En effet, on estime qu'environ 80 % de la population mondiale utilise la médecine traditionnelle pour le traitement de diverses maladies à l'instar du paludisme et de la Leishmaniose (Dike et *al.*, 2012). De plus, un grand nombre de médicaments conventionnels (40% des médicaments) utilisés à travers l'Afrique dérive directement ou indirectement des plantes (Dieye et Sarr, 2021). Des études portant sur des espèces de la famille des Rubiaceae ont mis en évidence des activités antiplasmodiales et antileishmaniales intéressantes (Muhammad et *al.*, 2003 ; Wonkam et *al.*, 2020 ; Tajuddeen et *al.*, 2021). **Ces informations laisseraient-elles présager que d'autres espèces à l'instar des plantes étudiées, de la famille des Rubiaceae pourraient contenir des composés ayant lesdites propriétés ?**

C'est dans ce cadre qu'un vaste programme de recherche a été initié au sein du laboratoire de Pharmacochimie des Substances Naturelles (LPSN) de l'Université de Yaoundé I (Cameroun) ayant pour but de rechercher des molécules originales et bioactives issues des plantes médicinales camerounaises de la famille des Rubiaceae.

Pour ce faire, Nous nous sommes intéressés à cette famille en étudiant deux plantes appartenant au genre *Tricalysia* : *Tricalysia atherura* N. Hallé et *Tricalysia oligoneura* K. Schum.

➤ **Objectif général**

Ce travail avait pour objectif principal de rechercher les constituants chimiques de deux plantes du genre *Tricalysia* (*Tricalysia atherura* N. Hallé et *Tricalysia oligoneura* K. Schum) et évaluer leur potentiel sur deux types de parasitoses (paludisme et leishmaniose).

➤ **Objectifs spécifiques**

Plus précisément, il s'agira de :

- Extraire les métabolites secondaires de *T. atherura* et *T. oligoneura* ;
- Fractionner à l'aide des solvants de polarité croissante ;
- Isoler et caractériser les constituants chimiques à partir des fractions d'intérêts de *T. atherura* et *T. oligoneura* ;
- Évaluer leurs activités antiplasmodiales et antileishmaniales à l'égard de quelques souches de *Plasmodium falciparum* et de *Leishmania donavi*.

Notre travail sera divisé en trois principaux chapitres :

Le premier chapitre concerne la synthèse bibliographique relative à la famille et au genre des espèces étudiées. Il comprendra l'étude botanique, les généralités sur les terpénoïdes et les alcaloïdes, les travaux phytochimiques et pharmacologiques antérieures sur le genre *Tricalysia* et les généralités sur le paludisme et la leishmaniose.

Le deuxième chapitre portera sur l'étude phytochimique réalisée au laboratoire sur les deux espèces. Celui-ci présentera les résultats d'isolement, d'identification et d'analyses structurales des composés ainsi que les activités biologiques effectuées sur les extraits et les composés isolés.

Le troisième chapitre quant à lui présentera les techniques d'isolement, de purification et d'analyse structurale, ainsi que les différentes méthodes utilisées pour les tests biologiques. Des références bibliographiques consultées pour la rédaction de cette thèse seront présentées à la fin de ce document, et en annexe les publications issues des travaux de cette thèse.



## **CHAPITRE I: REVUE DE LA LITTÉRATURE**

## 1. Généralités sur la famille des Rubiaceae

### 1.1. Introduction

Les Rubiaceae constituent l'une des plus grandes familles d'Angiospermes dans le règne végétal. Rattachée à l'ordre des Gentianales, cette famille regroupe 637 genres et 13000 espèces (Souza et Lorenzi, 2008) réparties dans les régions tropicales et subtropicales (Mabberley, 1997) ; on les trouve exceptionnellement dans les zones de climat tempéré. Cette importante famille comporte peu de grands arbres mais surtout des arbustes, dressés ou lianescents, et d'autre part quelques plantes herbacées et relativement peu de lianes ligneuses ou herbacées (Botineau, 2010). Ce sont parfois des plantes cultivées, d'intérêt économique important. Dans cette famille, le genre qui a de loin la plus grande importance économique est le genre *Coffea* (le café), avec des espèces *Coffea Arabica* et *Coffea canephora* (Sin. *C. robusta*). Un bon nombre d'autres espèces produisent des fruits comestibles, utilisés localement (*Pentas*, *Ixora*, *Gardenia*, *Bouvardia*) ; parmi les Coffeoidae, les caféiers, originaires d'Afrique (*Coffea arabica* d'Abyssinie, *C. liberica*, *C. robusta* de la Côte-d'Ivoire) et cultivés dans toute la zone tropicale, en particulier en Amérique du Sud au Brésil et en Amérique centrale, donnent des graines riches en caféine (Bouquet, 1972).

### 1.2. Répartition de la famille des Rubiaceae

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



**Figure 1** : Répartition géographique des Rubiaceae (Guinko et *al.*, 1995).

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

En classification classique, les Rubiaceae constituent l'ordre des Rubiales (Cronquist, 1981). Cette famille est subdivisée en trois sous-famille : Cinchonoideae, Rubioideae, et ixoroideae (Martins et Nunez, 2015). Les sous-famille ont été divisés en 43 tribus en raison de l'abondance des espèces. Le tableau 1 regroupe les trois sous-famille, quelques tribus et genres de cette famille (Martins et Nunez, 2015).

**Tableau I:** Sous-famille, quelques tribus et genres de la famille des Rubiaceae.

Sous-familles	Tribus	Genres
Cinchonoideae	Cinchoneae	<i>Hintonia, Cinchona</i>
	Guettardeae	<i>Chomelia, Guettarda</i>
Rubioideae	Rubieae	<i>Galium, Rubia</i>
	Spermacoceae	<i>Saprosma, Oldenladia</i>
Ixoroideae	Gardenieae	<i>Rothmania, Gardenia</i>
	Coffeae	<i>Coffea, Tricalysia</i>

Les plantes de cette famille possèdent des caractères permettant de reconnaître assez facilement toutes les espèces lui appartenant. Le fruit est une capsule, une baie parfois ligneuse (Cretep, 1965). Les feuilles sont simples, généralement entières et opposées. On note la présence des stipules à la base du pétiole. Ces stipules peuvent être soudés chez certaines espèces formant une pièce foliaire entre les feuilles, tandis que chez d'autres espèces les stipules sont de même taille que les feuilles, formant ainsi des « fausses feuilles » de telle sorte que l'ensemble semble être verticillé (ensemble d'organes tels que des fleurs ou feuilles, disposés en cercle autour d'un axe) (Duvingneaud et al., 1973).

### 1.4. Usage en médecine traditionnelle des plantes de la famille des Rubiaceae

Les Rubiaceae, dans la pharmacopée africaine, ont une grande réputation et sont utilisées en médecine traditionnelle dans le traitement de nombreuses affections. C'est le cas de *Mitracarpus frigidus* qui est utilisée en médecine traditionnelle (Afrique de l'Ouest) pour le traitement de maux de tête, maux de dents, aménorrhée, maladies hépatiques et vénériennes, lèpre et dans le traitement des maladies de la peau (Fabri et al., 2012). Par ailleurs, *Pentas longiflora* est une plante médicinale importante de l'Afrique Orientale. En effet, au Kenya, une décoction de ses racines mélangées à du lait se prend comme remède contre le paludisme (Kokwaro., 2010) ; En revanche, *Rothmannia hispida* (K. Schum.) Fager est utilisé pour le traitement des affections cutanées, des ulcères et de la fièvre (Udia et al., 2013). *Mussaenda erythrophylla* est quant à elle utilisée en médecine traditionnelle Africaine et Asiatique pour le traitement des infections oculaires, des vers intestinaux, des maux de corps, de la diarrhée et

de la dysenterie (Bouzeko et *al.*, 2021). Enfin, les racines de *Gardenia thunbergia* sont utilisées par le peuple Zulu, en Afrique de Sud pour le traitement de la fièvre et des maux d'estomac (Tajuddeen et *al.*, 2021).

Compte tenu des multiples usages en médecine traditionnelle des plantes de la famille des Rubiaceae, plusieurs équipes de recherche se sont intéressées à l'isolement de leurs constituants bioactifs.

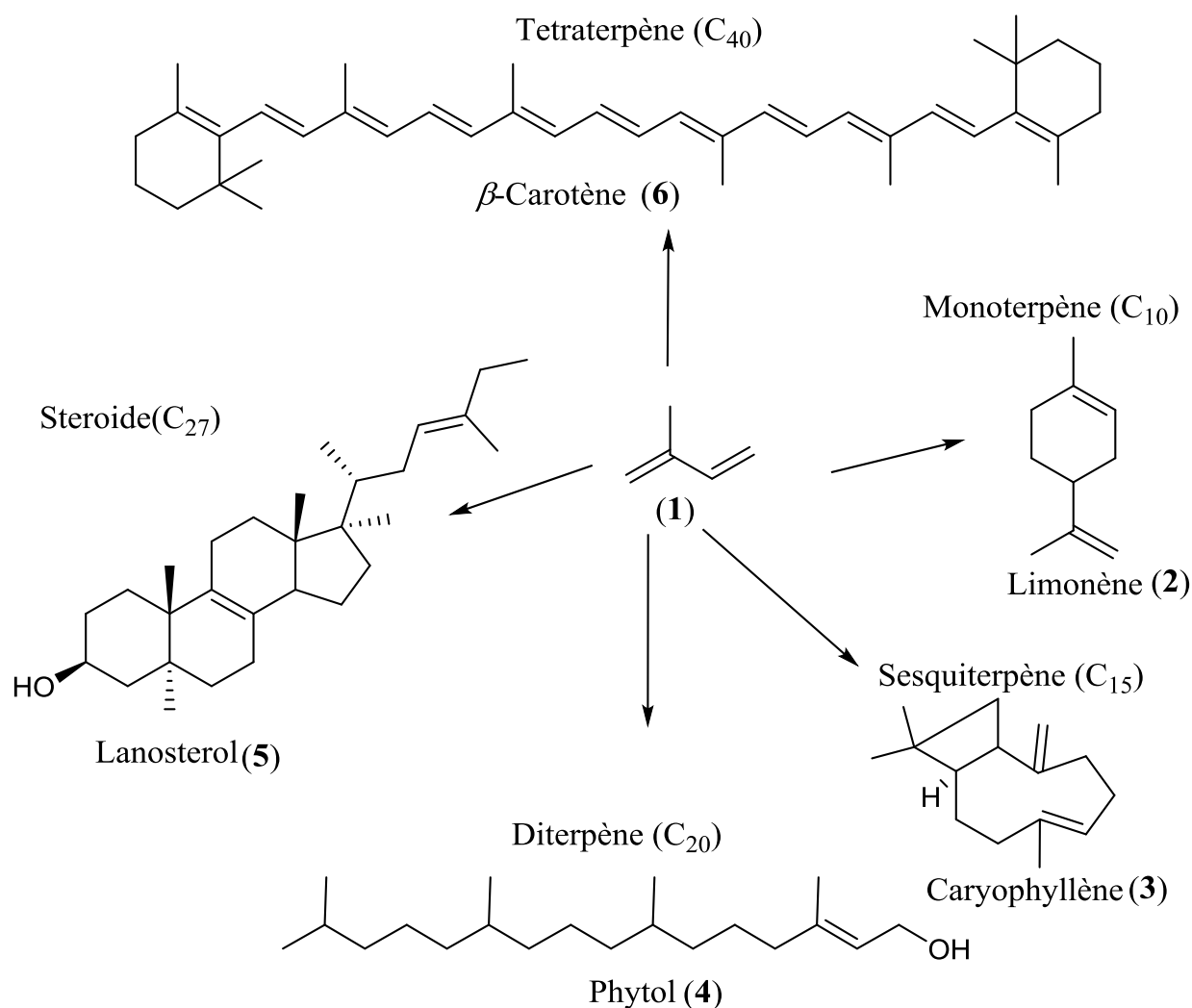
## **1.5. Etudes phytochimiques antérieures et principaux métabolites isolés de la famille des Rubiaceae**

Les travaux effectués sur les espèces de cette famille ont révélé la présence de diverses classes de composés dont les plus caractéristiques sont les terpénoïdes et les alcaloïdes (Martins et Nunez, 2015).

### **1.5.1. Les terpénoïdes**

#### **1.5.1.1. Généralités sur les terpénoïdes**

Avec environ 70.000 structures connues aujourd'hui (d'après le dictionnaire des molécules naturelles), les terpénoïdes sont considérés comme la plus grande famille de composé naturels (Ashour et *al.*, 2010). Bien que « terpènes » soit réservés aux composés oléfiniques et « terpénoïdes » aux composés oxydés, les deux termes sont généralement considérés comme équivalents et pourront donc être confondus dans cette thèse. La structure de base d'un triterpène est composée d'un nombre variable d'unités de cinq carbones, appelées unités isoprènes. Le nombre de carbone de n'importe quel terpène est alors un multiple de 5. Les produits de dégradation des terpénoïdes dans lesquels des atomes de carbone ont été perdus par des processus chimiques ou biochimiques peuvent contenir différents nombres d'atomes de carbone, mais leur structure globale indiquera leur origine terpénique (Cao et *al.*, 2018). La classification de ces composés est basée sur les nombres d'unités isoprénoïdes contenus dans leur structure chimique. Les catégories les plus importantes sont celles comportant deux unités isoprénoïdes (monoterpènes), trois unités isoprénoïdes (sesquiterpènes), quatre unités isoprénoïdes (diterpènes), cinq unités isoprénoïdes (sesterterpènes), six unités isoprénoïdes (triterpènes) et huit unités isoprénoïdes (tétraterpènes) (Ashour et *al.*, 2010). (schéma 1).



**Schéma 1** : Classification des terpènes suivant le nombre d'unités isoprènes dans leur structure chimique.

### 1.5.2. Cas des diterpènes

Les diterpènes sont une large famille d'isoprénoïdes. Ils sont largement répandus et peuvent être trouvés dans les météorites, les huiles, les sédiments, ainsi que dans le milieu vivant terrestre et marin, végétal et animal. Leur structure est assez variable, ils peuvent être cycliques ou non (Villedieu-Percheron, 2011). Ces molécules, qu'on retrouve aussi sous le nom de phytanes, sont composées de quatre unités d'isoprène (2-méthylbutane) C<sub>5</sub>H<sub>8</sub>, ce qui leur donne une formule générale C<sub>20</sub>H<sub>32</sub>. Dans la nature, ils sont souvent sous forme d'alcools ou de leurs dérivés glycosylés, d'éthers, d'aldéhydes, de cétones, d'acides carboxyliques ou d'esters (Villedieu-Percheron, 2011).

### 1.5.2.1. Biosynthèse des diterpènes

L'acétylCoenzyme A, correspondant à l'acide acétique activé, est le précurseur utilisé en milieu biologique pour la formation de terpènes (Peters, 2010). A la manière d'une condensation de Claisen, deux acétylCoA s'assemblent pour donner un analogue biologique de l'acétoacétate. En suivant ce schéma de condensation aldolique, l'acétoacétylCoA (7) réagit de nouveau avec un acétylCoA. Cette condensation est suivie par une réduction enzymatique pour donner l'acide mévalonique (9). Une phosphorylation, suivie d'une décarboxylation permet d'obtenir l'isopenténylpyrophosphate IPP (11) (isoprène activé) dont l'addition sur un isomère aboutit à un monoterpène (12). Deux additions successives de ce monoterpène sur IPP permettent d'obtenir un diterpène.

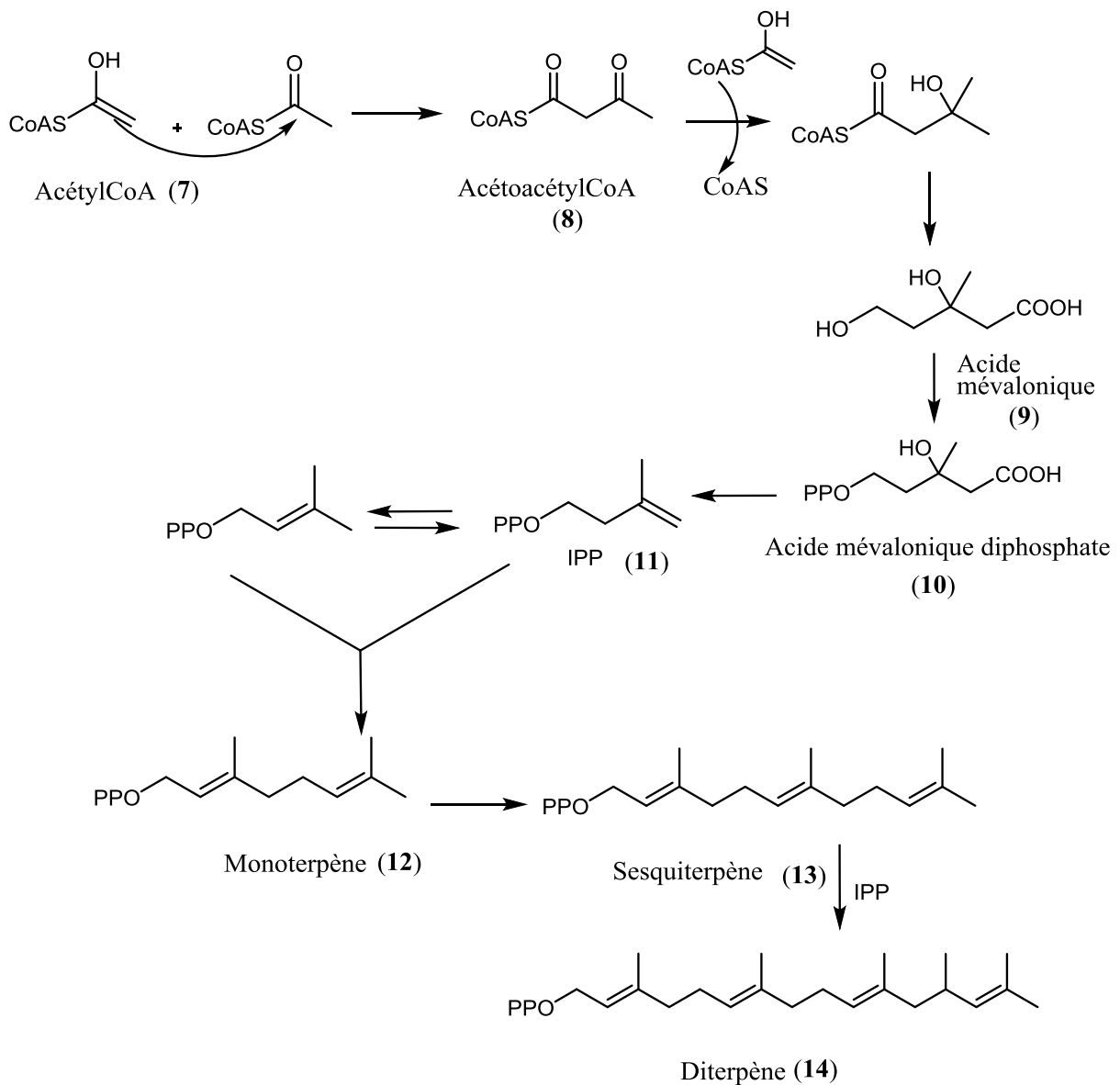
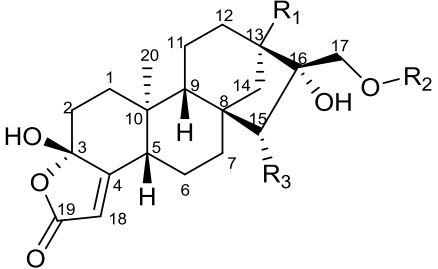
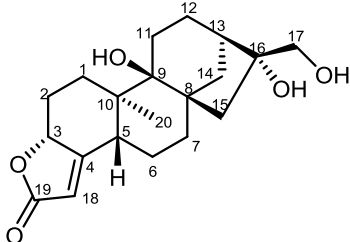
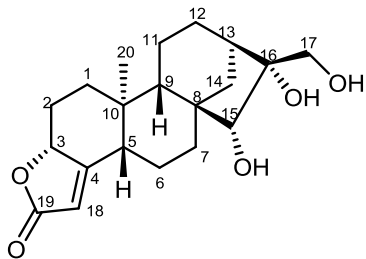
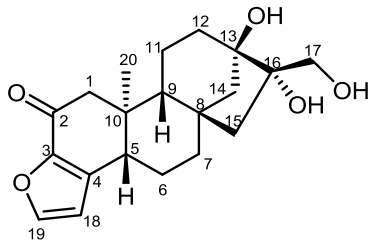


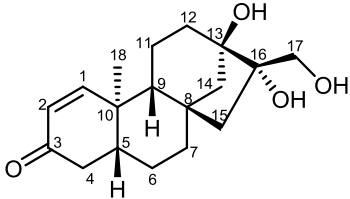
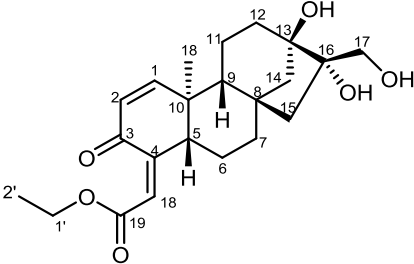
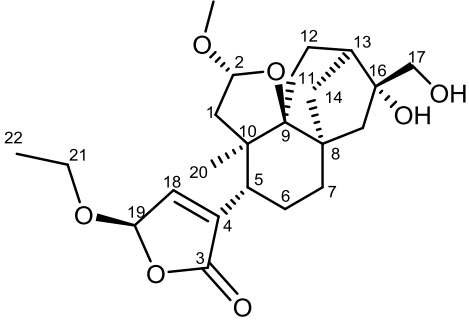
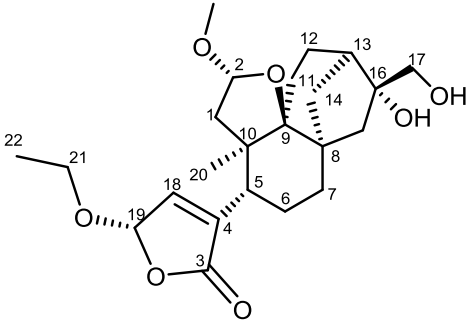
Schéma 2 : Biosynthèse des diterpènes (Breitmaier, 2006).

Dans la famille des Rubiaceae, les diterpènes sont parmi les principaux métabolites secondaires recensés dans le genre *Tricalysia*.

**Tableau II :** Quelques Diterpènes isolés des plantes de la famille des Rubiaceae.

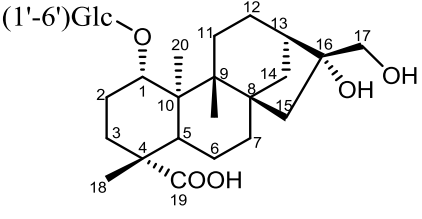
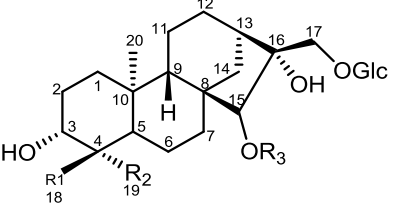
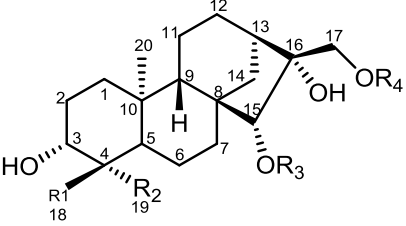
Structures	Noms	Sources	Références												
 <table border="0" data-bbox="399 694 718 896"> <tr> <td><b>R<sub>1</sub></b></td> <td><b>R<sub>2</sub></b></td> <td><b>R<sub>3</sub></b></td> </tr> <tr> <td>H</td> <td>H</td> <td>OH</td> </tr> <tr> <td>OH</td> <td>H</td> <td>H</td> </tr> <tr> <td>H</td> <td>Ac</td> <td>OH</td> </tr> </table>	<b>R<sub>1</sub></b>	<b>R<sub>2</sub></b>	<b>R<sub>3</sub></b>	H	H	OH	OH	H	H	H	Ac	OH	Tricalysine A- C (15-17)		
<b>R<sub>1</sub></b>	<b>R<sub>2</sub></b>	<b>R<sub>3</sub></b>													
H	H	OH													
OH	H	H													
H	Ac	OH													
	Tricalysine D (18)														
	Tricalysine E (19)	Rameaux de <i>Tricalysia</i> <i>fruticosa</i>	Shen et al., 2015												
	Tricalysine F (20)														

**Tableau II** : Quelques Diterpènes isolés des plantes de la famille des Rubiaceae (suite).

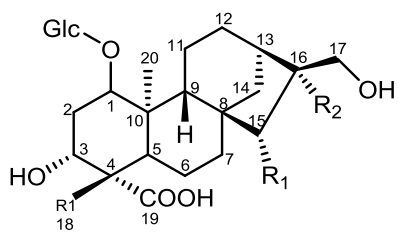
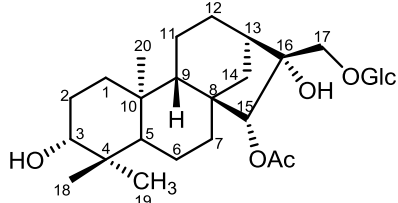
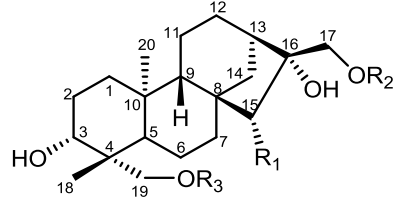
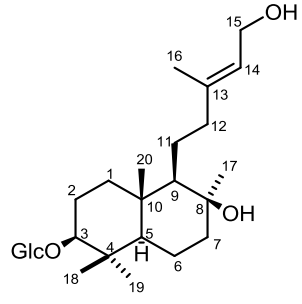
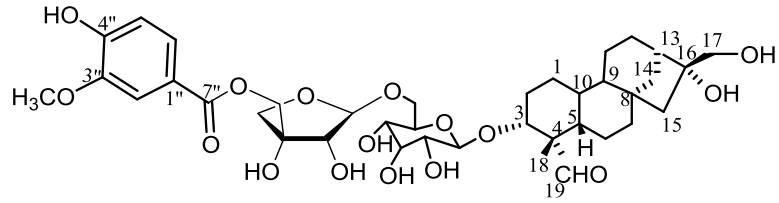
	<p>Tricalysine G (21)</p>		
	<p>Tricalysine H (22)</p>		
	<p>Fructilactone A (23)</p>	<p>Rameaux de <i>Tricalysia</i> <i>fruticosa</i></p>	<p>Shen et al., 2015</p>
	<p>Fructilactone B (24)</p>		



**Tableau II** : Quelques Diterpènes isolés des plantes de la famille des Rubiaceae (suite).

	<p>Tricalysioside H (25)</p>																						
 <table border="0" data-bbox="319 716 694 907"> <thead> <tr> <th><b>R<sub>1</sub></b></th> <th><b>R<sub>2</sub></b></th> <th><b>R<sub>3</sub></b></th> </tr> </thead> <tbody> <tr> <td>CH<sub>3</sub></td> <td>CHO</td> <td>H</td> </tr> <tr> <td>CH<sub>3</sub></td> <td>CHO</td> <td>Ac</td> </tr> <tr> <td>CHO</td> <td>H</td> <td>Ac</td> </tr> </tbody> </table>	<b>R<sub>1</sub></b>	<b>R<sub>2</sub></b>	<b>R<sub>3</sub></b>	CH <sub>3</sub>	CHO	H	CH <sub>3</sub>	CHO	Ac	CHO	H	Ac	<p>Tricalysioside I- K (26-28)</p>	<p>Feuilles de <i>Tricalysia dubia</i></p>	<p>He et <i>al.</i>, 2005</p>								
<b>R<sub>1</sub></b>	<b>R<sub>2</sub></b>	<b>R<sub>3</sub></b>																					
CH <sub>3</sub>	CHO	H																					
CH <sub>3</sub>	CHO	Ac																					
CHO	H	Ac																					
 <table border="0" data-bbox="247 1310 694 1556"> <thead> <tr> <th><b>R<sub>1</sub></b></th> <th><b>R<sub>2</sub></b></th> <th><b>R<sub>3</sub></b></th> <th><b>R<sub>4</sub></b></th> </tr> </thead> <tbody> <tr> <td>CH<sub>3</sub></td> <td>CH<sub>2</sub>OH</td> <td>H</td> <td>Glc</td> </tr> <tr> <td>CH<sub>3</sub></td> <td>CH<sub>2</sub>OGlc</td> <td>H</td> <td>H</td> </tr> <tr> <td>CH<sub>3</sub></td> <td>CH<sub>2</sub>OH</td> <td>Ac</td> <td>Glc</td> </tr> <tr> <td>CH<sub>2</sub>OH</td> <td>CH<sub>2</sub>OH</td> <td>Ac</td> <td>Glc</td> </tr> </tbody> </table>	<b>R<sub>1</sub></b>	<b>R<sub>2</sub></b>	<b>R<sub>3</sub></b>	<b>R<sub>4</sub></b>	CH <sub>3</sub>	CH <sub>2</sub> OH	H	Glc	CH <sub>3</sub>	CH <sub>2</sub> OGlc	H	H	CH <sub>3</sub>	CH <sub>2</sub> OH	Ac	Glc	CH <sub>2</sub> OH	CH <sub>2</sub> OH	Ac	Glc	<p>Tricalysioside L-O (29-32)</p>		
<b>R<sub>1</sub></b>	<b>R<sub>2</sub></b>	<b>R<sub>3</sub></b>	<b>R<sub>4</sub></b>																				
CH <sub>3</sub>	CH <sub>2</sub> OH	H	Glc																				
CH <sub>3</sub>	CH <sub>2</sub> OGlc	H	H																				
CH <sub>3</sub>	CH <sub>2</sub> OH	Ac	Glc																				
CH <sub>2</sub> OH	CH <sub>2</sub> OH	Ac	Glc																				

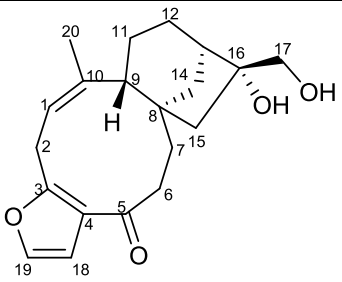
**Tableau II** : Quelques Diterpènes isolés des plantes de la famille des Rubiaceae (suite).

 <p style="text-align: center;"> <b>R<sub>1</sub></b>      <b>R<sub>2</sub></b>              H          OH              OH        OH         </p>	Tricalysioside P- Q (33-34)		
	Tricalysioside R (35)		
 <p style="text-align: center;"> <b>R<sub>1</sub></b>      <b>R<sub>2</sub></b>      <b>R<sub>3</sub></b>              OAc    Glc      H              OH     H        Glc         </p>	Tricalysioside S-T (36-37)	Feuilles de <i>Tricalysia</i> <i>dubia</i>	He et al., 2002
	Tricalysioside U (38)		
	Tricalysioside V (39)		

**Tableau II** : Quelques Diterpènes isolés des plantes de la famille des Rubiaceae (suite).

	<p>Tricalysioside W (40)</p>		<p>Xu <i>et al.</i>, 2009</p>
<p><math>R_1</math>    <math>R_2</math> H        <math>SO_3H</math> Glc      H</p>	<p>Tricalysioside X-Y (41-42)</p>		
	<p>Tricalysioside Z (43)</p>	<p>Feuilles de <i>Tricalysia</i> <i>dubia</i> et <i>Tricalysia</i> <i>okelensis</i></p>	<p>Shimatoko <i>et al.</i>, 2010</p>
<p><math>R</math> H <math>CH_3(CH_2)_{14}CO</math></p>	<p>Tricalysiolide H-I (44-45)</p>		<p>Tamaki <i>et al.</i>, 2007</p>
	<p>Tricalysiolide J (46)</p>		<p>Nishimura <i>et al.</i>, 2007</p>
	<p>Tricalysione A (47)</p>		

**Tableau II** : Quelques Diterpènes isolés des plantes de la famille des Rubiaceae (suite et fin).

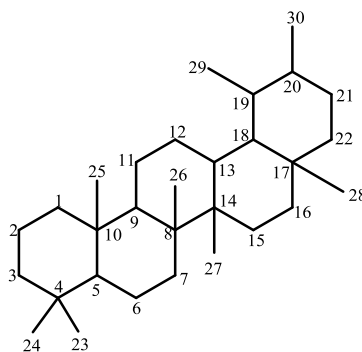
	<p>Tricalysione B (48)</p>	<p>Feuilles de <i>Tricalysia dubia</i></p>	<p>Nishimura et <i>al.</i>, 2007</p>
---	--------------------------------	--	--

### 1.5.3. Cas des triterpènes

Les triterpènes sont des composés en C<sub>30</sub>, ils sont très répandus, notamment dans les résines, à l'état libre, estérifié, ou sous forme hétérosidique. Ils peuvent être :

- Composés aliphatiques : tel que le squalène, surtout rencontré dans le règne animal, se trouve également dans l'insaponifiable d'huiles végétales (Olive, Lin, Arachide). C'est un intermédiaire dans la biogenèse des triterpènes cycliques et des stéroïdes.
- Composés tétracycliques tel que les stéroïdes et les phytostérols.
- Composés pentacycliques sont très fréquents chez les plantes telle que  $\alpha$ -amyrin et  $\beta$ -amyrin.

Ils sont issus de la cyclisation de l'époxysqualène ou du squalène (Breitmaier, 2006).



Triterpène pentacyclique (49)

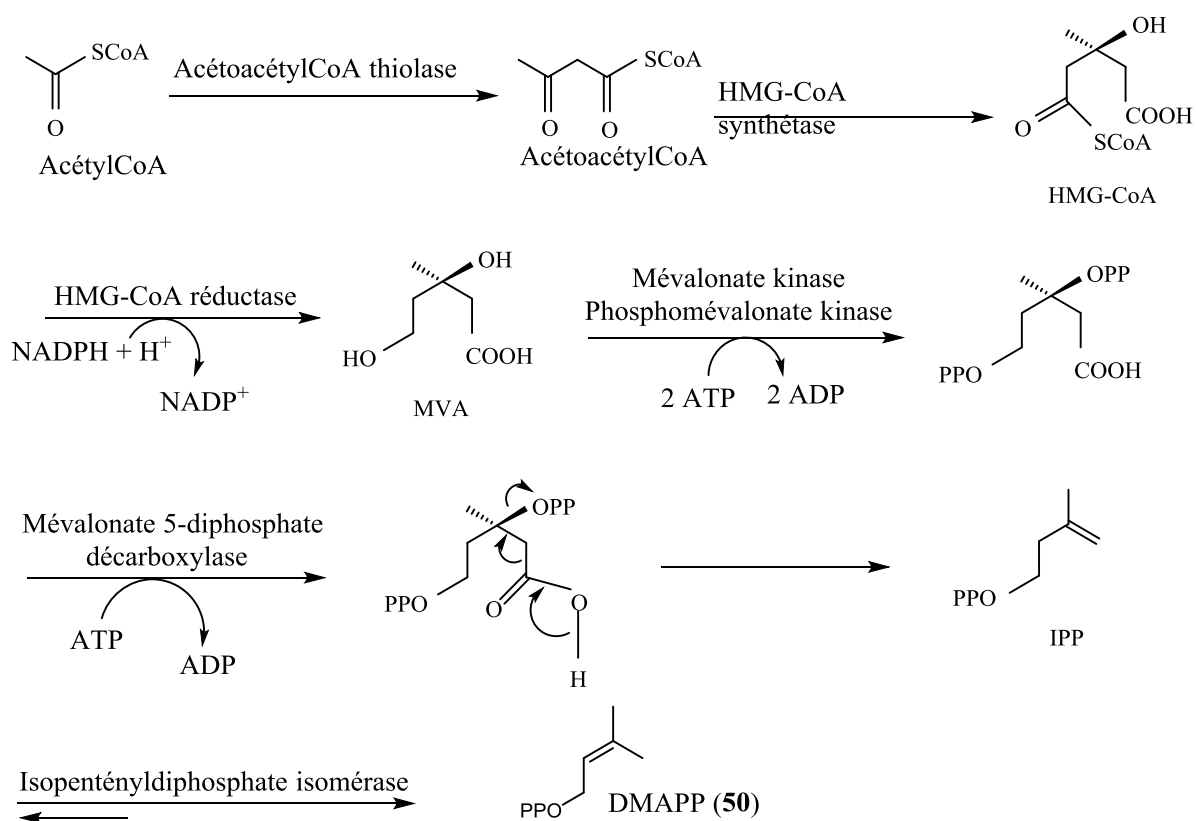
**Figure 2** : Squelette des triterpènes pentacyclique.

#### 1.5.3.1. Biosynthèse des triterpènes

Tous les triterpènes en général proviennent des précurseurs simples à cinq atomes de carbone, l'isopentényl-pyrophosphate (IPP) et son isomère le diméthylallyl-pyrophosphate (DMAPP) assemblés et modifiés de plusieurs façons (Dewick, 1999). Leur biosynthèse est initiée par deux voies : la voie du mévalonate et celle du méthylérythritol phosphate. La voie

du mévalonate est utilisée préférentiellement pour la biosynthèse des stérols, sesquiterpènes et triterpènes (Chapell, 2002).

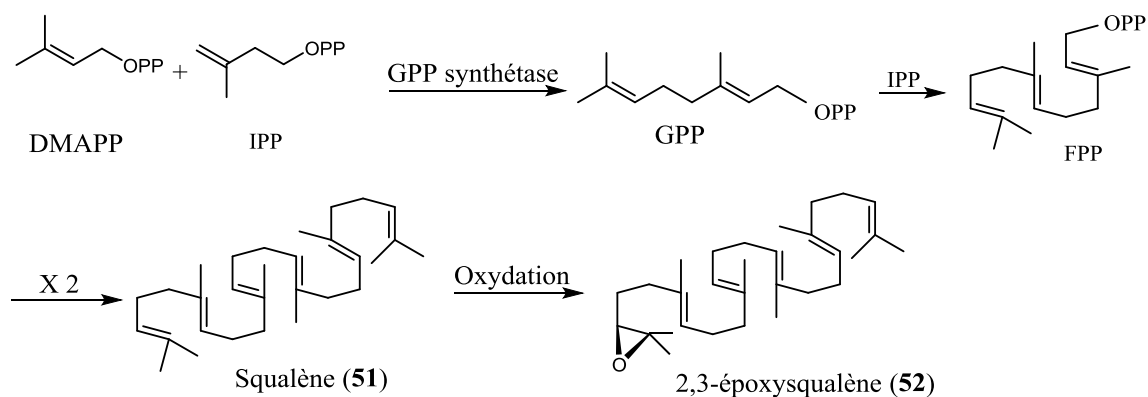
Pour cette voie, lors de l'étape initiant le processus de formation de l'IPP, deux molécules d'acétylCoenzyme A entrent en jeu. La réaction est catalysée par deux enzymes séquentielles et conduit au 3- $\beta$ -hydroxy-3- $\alpha$ -méthylglutaryl-Coenzyme A (HMG-CoA). Une réduction s'ensuit et permet d'obtenir l'acide 3R-mévalonique (MVA). Le passage de ce composé à une unité réactive isoprénique s'effectue par une série de quatre réactions, dont les deux premières consistent simplement en une double phosphorylation d'un groupement hydroxyle. Ces deux réactions, conduisent successivement par le mévalonate kinase et phosphomévalonate kinase assurent la formation d'un bon groupe partant : le groupe diphosphate. Son élimination assiste une décarboxylation de la molécule et conduit à la formation de l'IPP (Bruneton, 1999). Une molécule d'IPP est isomérisée en DMAPP. Cela est illustré par le schéma 3 :



**Schéma 3** : Formation de l'IPP et du DMAPP (Bruneton, 1999).

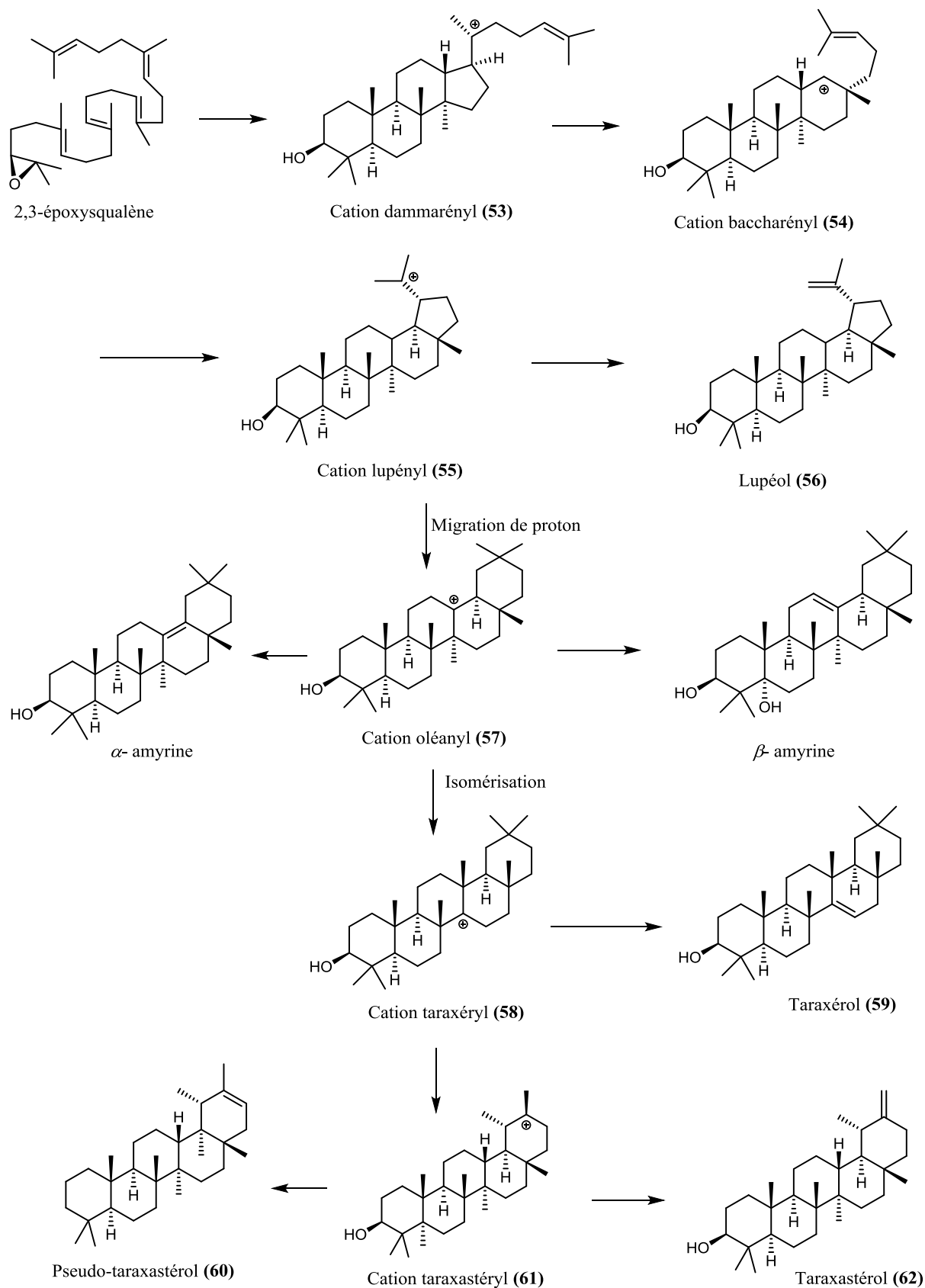
Par la suite, il y a formation du géranyl-pyrophosphate (GPP) via une condensation entre le DMAPP et une autre unité d'IPP. Suivant le même procédé de condensation tête-à-queue entre un IPP et le précurseur nouvellement formé, le farnésyl-pyrophosphate (FPP) est obtenu

(Sando et *al.*, 2008). Le couplage queue à queue de deux FPP suivi d'une oxydation permet l'élaboration de l'époxyqualène comme le montre le schéma 4.



**Schéma 4** : Formation de l'époxyqualène (Dubey et *al.*, 2003).

La biosynthèse des triterpènes se produit à travers l'action de l'oxydosqualène cyclase qui génère divers types de triterpènes à partir du 2,3-époxyqualène après réarrangement du squelette triterpénique (Han et *al.*, 2019). Cette biosynthèse est mise en évidence par le schéma 5.

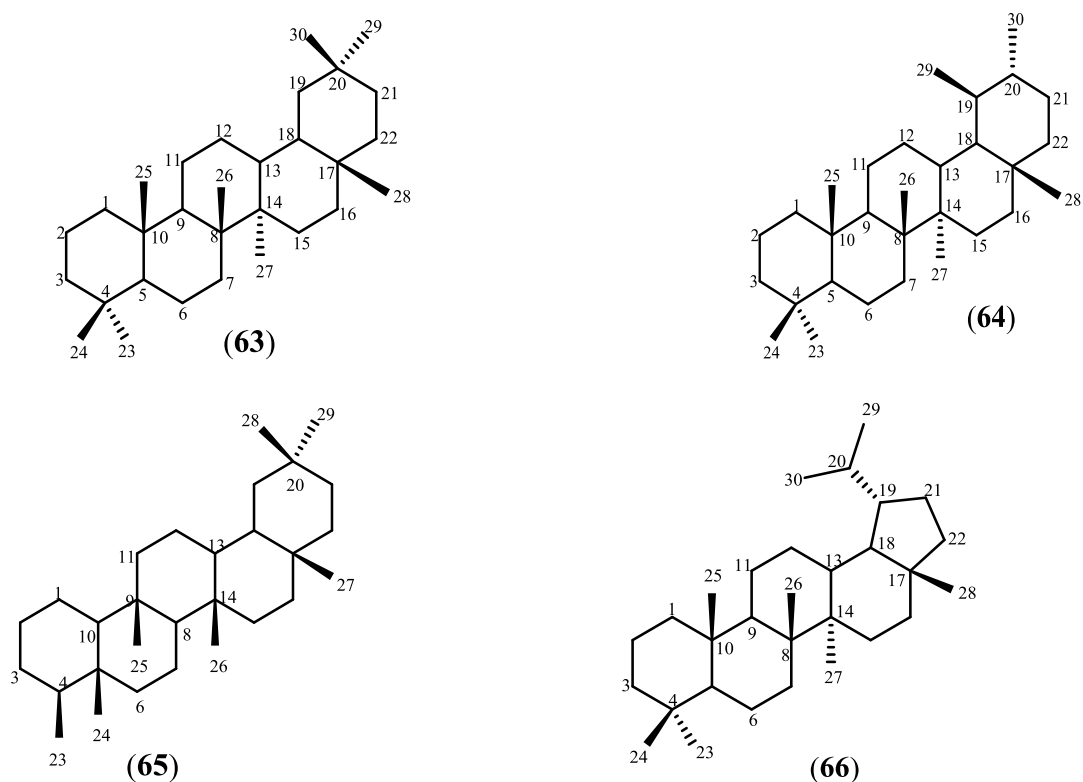


**Schéma 5** : Voie biosynthétique de quelques triterpènes à partir de l'époxyssqualène (Han et al., 2019).

### 1.5.3.2. Structure des triterpènes

Les triterpènes pentacycliques sont des molécules composées de trois motifs terpéniques (soit six motifs isopréniques) agencés, soit en cinq cycles à six carbones, soit en quatre cycles à six carbones et un cycle à cinq carbones (**Fig. 3**).

Par extension, nous pouvons également associer à cette famille tous les composés issus des mêmes voies biosynthétiques (onocérane par exemple), ou qui en dérivent par dégradation (Bruneton, 2009).

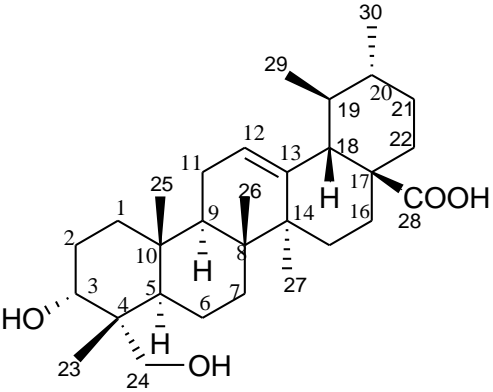
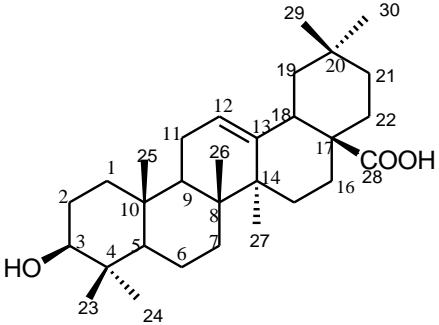
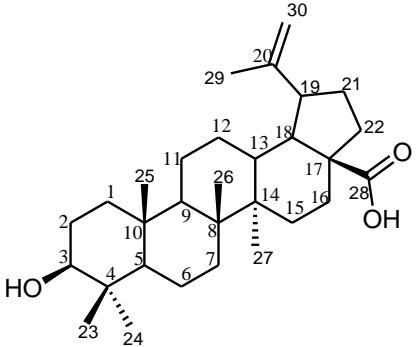
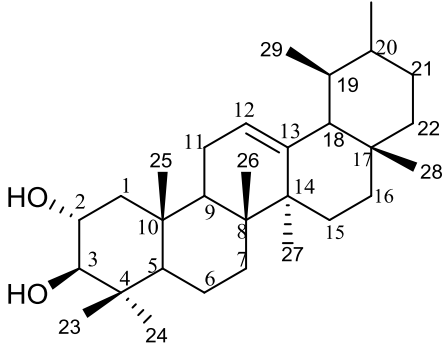


**Figure 3** : Structures planes de quelques squelettes carbonés de triterpènes pentacycliques : Oleanane (**63**), Ursane (**64**), Friedelane (**65**) et Lupane (**66**).

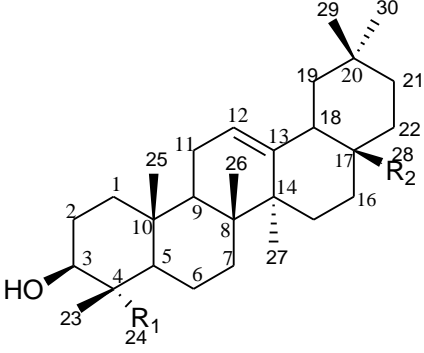
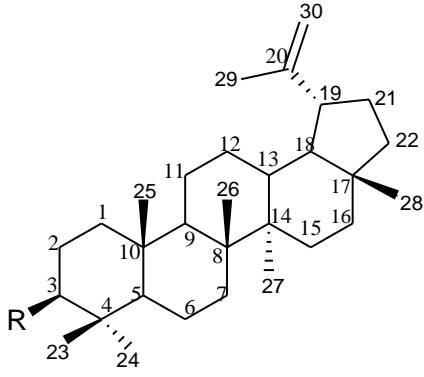
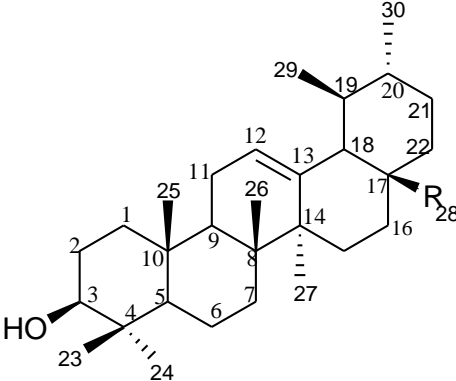
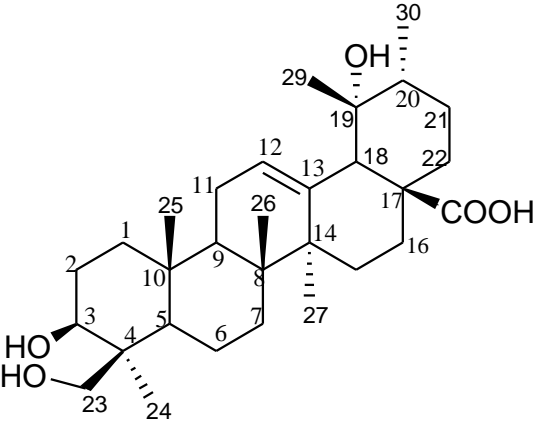
Dans la famille des Rubiaceae, les triterpènes isolés des plantes sont en majorité pentacycliques.



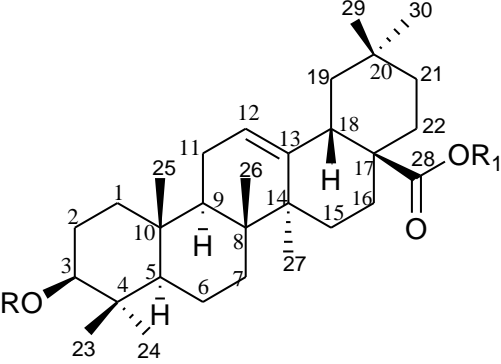
**Tableau III** : Quelques triterpènes isolés des plantes de la famille des Rubiaceae.

Structures	Noms des composés	Sources	Références
	Acide 3,24-dihydroxyurs-12-en-28-oïque ( <b>67</b> )	Tiges de <i>Nauclea orientalis</i>	He et al., 2005
	Acide oleanolique ( <b>68</b> )		
	Acide betulinique ( <b>69</b> )	Feuilles de <i>Rothmannia hispida</i>	Goijman et al., 1984 ; Michina et al., 2007 ; Isah et al., 2016
	30-nor-2 $\alpha$ ,3 $\beta$ -dihydroxyurs-12-ène ( <b>70</b> )		

**Tableau III** : Quelques triterpènes isolés des plantes de la famille des Rubiaceae (suite).

	<p><math>R_1 = CH_3</math> ; <math>R_2 = CH_2OH</math> : érythrodiol (<b>71</b>)</p> <p><math>R_1 = CH_2OH</math> ; <math>R_2 = COOH</math>: hédéragénine (<b>72</b>)</p>		
 <p><b>R</b>= palmitoyl</p>	<p><b>R</b>= palmitoyl : palmitate de lupéol (<b>73</b>)</p> <p><b>R</b>= OH : Lupeol (<b>74</b>)</p>	<p>Feuilles de <i>Rothmannia hispid</i></p>	<p>Goijman et al., 1984 ; Michina et al., 2007 ; Isah et al., 2016</p>
	<p><b>R</b>= <math>CH_2OH</math>: uvaol (<b>75</b>);</p> <p><b>R</b>= <math>COOH</math>: acide ursolique (<b>76</b>)</p>		
	<p>Acide barbinervique (<b>77</b>)</p>	<p><i>Psychotria succulenta</i></p>	<p>Juogo et al., 2022</p>

**Tableau III** : Quelques triterpènes isolés des plantes de la famille des Rubiaceae (suite et fin).

 <p><b>R</b>= <math>\alpha</math>- L-rhamnopyranosyl-(1→2) -<math>\beta</math>-D-glucopyranosyl</p> <p><b>R<sub>1</sub></b>= <math>\beta</math>-D-glucopyranosyl</p>	<p>3-<i>O</i>-[<math>\alpha</math>-L-rhamnopyranosyl-(1→2) -<math>\beta</math>-D-glucopyranosyl] oleanolic acid 28-<i>O</i>-<math>\beta</math>-D-glucopyranosyl ester (<b>78</b>)</p>	<p>Feuilles de <i>Gardenia thunbergia</i></p>	<p>Tajuddeen et Van Heerden 2019 ; Tajuddeen et al. 2021a ; Tajuddeen et al. 2021b</p>
---	---	---	--

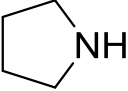
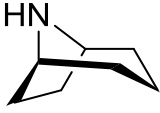
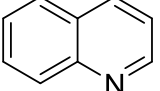
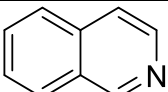
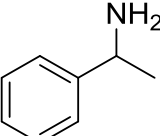
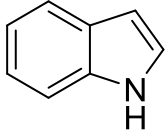
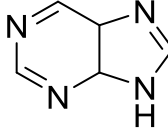
#### 1.5.4. Généralités sur les alcaloïdes

A l'origine, le terme alcaloïde a été employé pour décrire toute base de Lewis contenant un hétérocycle azoté (ou improprement une amine). Cette propriété basique est due à la présence du doublet non liant sur l'atome d'azote. On trouve des alcaloïdes, principalement chez les végétaux, les champignons et quelques groupes animaux peu nombreux, biologiquement, les alcaloïdes sont des dérivés des acides aminés (Foley, 2003).

##### 1.5.4.1. Classification des alcaloïdes

Les alcaloïdes ont été classifiés pour mieux les maîtriser vu qu'une centaine de molécules sont ajoutées chaque année par les scientifiques du monde entiers aux milliers de composés naturels existants (Tadeusz, 2007). Ces classifications se feront en fonction du squelette de base. On retrouve ainsi : Pyrrolidines, Azines, Tropanes, Quinoléines, Isoquinolines, Phényléthylamines, Indoles, Purines (Tadeusz, 2007). Les structures étant regroupées dans le tableau suivant.

**Tableau IV** : Structure de chaque catégorie d'alcaloïde.

Catégories	Structures chimiques
Pyrrolidines	 79
Tropanes	 80
Quinoléines	 81
Isoquinolines	 82
Phényléthylamines	 83
Indoles	 84
Purines	 85

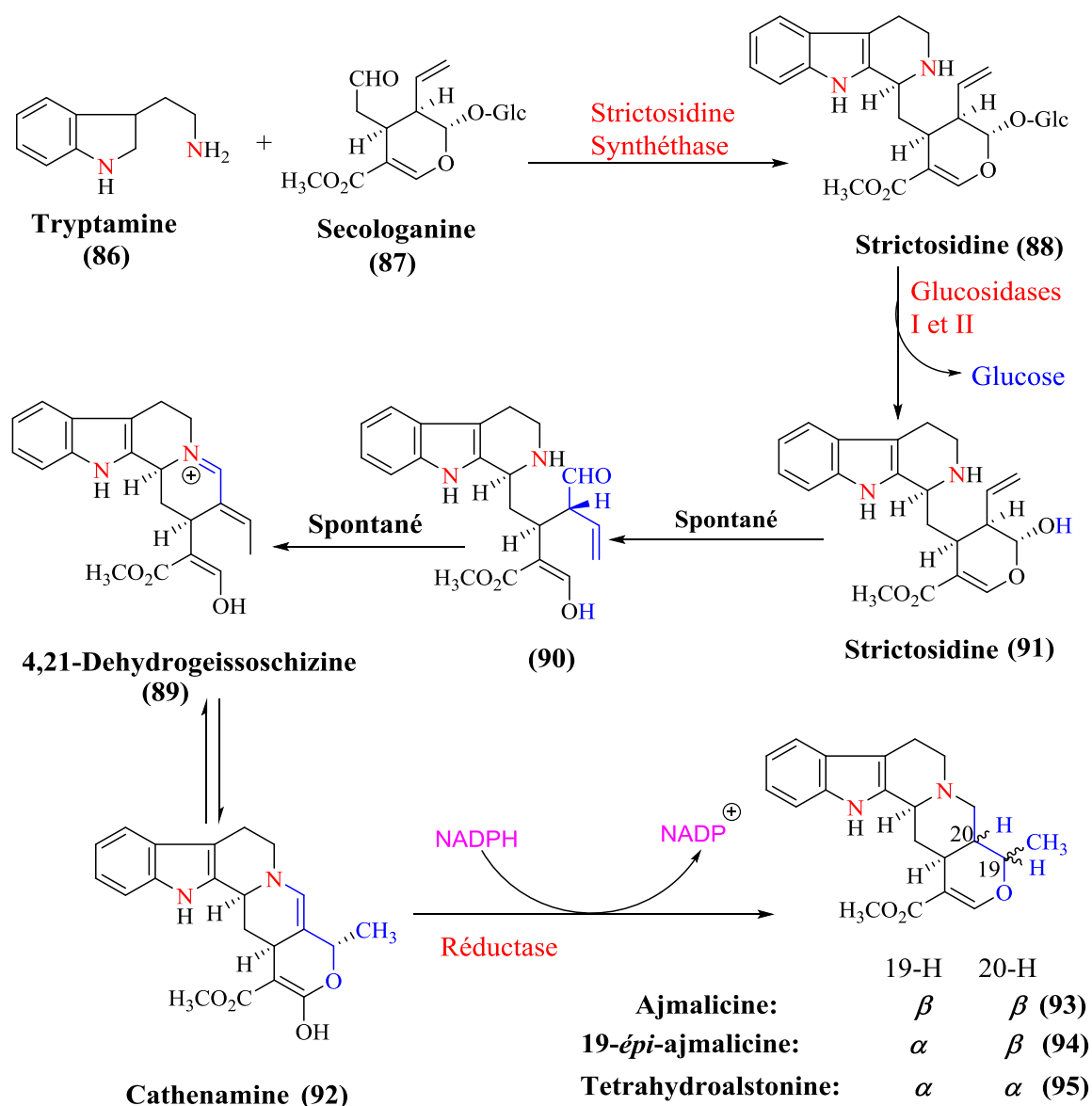
#### 1.5.4.2. Classification en fonction du précurseur biogénétique et la voie de biosynthèse

Les alcaloïdes peuvent être classés en fonction de leur précurseur avant leur synthèse dans une voie biologique. On distingue alors trois grandes classes [les alcaloïdes vrais (qui dérivent d'acides aminés et comportent un atome d'azote dans un système hétérocyclique), les pseudo-alcaloïdes (dont le squelette carboné de base ne dérive pas d'acides aminés) et les proto-alcaloïdes (dans lequel l'atome d'azote N dérivé d'un acide aminé ne fait pas partie d'un hétérocycle)] selon qu'ils possèdent ou non un acide aminé comme précurseur direct, et qu'ils comportent ou non un atome d'azote dans un hétérocycle (Tadeusz, 2007).

#### - Biosynthèse des alcaloïdes indolomonoterpéniques

Nous avons donc deux voies de biosynthèse, celles des acides aminés aliphatiques et celles des acides aminés aromatiques. On s'intéressera à la voie des acides aminés aromatiques car les alcaloïdes recherchés dérivent de cette dernière.

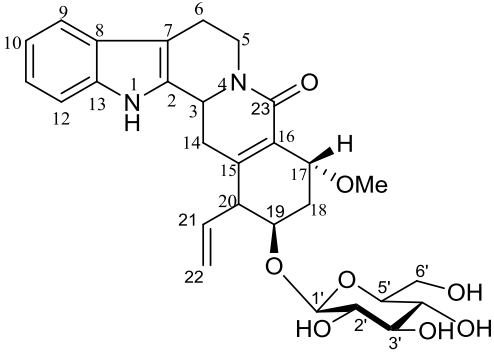
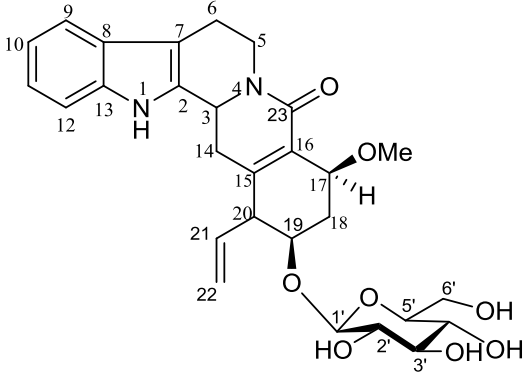
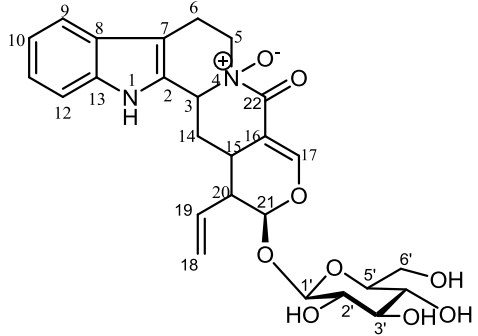
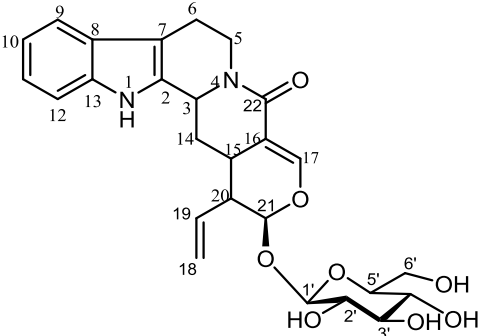
Les alcaloïdes indolomonoterpéniques sont des composés qui renferment dans leurs structures de base le noyau indolique. Le doublet électronique porté par l'atome d'azote dans la représentation de Lewis est assez disponible rendant ainsi possible une substitution électrophile aromatique. La position la plus réactive à cet effet est la position C-3 qui est environ 1000 fois plus réactive que celles situées sur le cycle benzénique (Vara *et al.*, 2008). La biosynthèse des alcaloïdes indolomonoterpéniques utilise comme précurseur le tryptophane qui est acide alpha aminé se réduisant pour donner la tryptamine, qui par la suite réagit avec la sécologanine pour donner la strictosidine, intermédiaire à partir duquel se forme la plupart des alcaloïdes indolomonoterpéniques. Le schéma 6 montre un aperçu de cette biosynthèse (Rodney *et al.*, 2000).



**Schéma 6:** Biosynthèse des alcaloïdes indolomonoterpéniques (Rodney *et al.*, 2000).

Plusieurs alcaloïdes ont été isolés des plantes de la famille des Rubiaceae :

**Tableau V:** Alcaloïdes isolés des plantes de la famille des Rubiaceae.

Structures	Noms des composés	Sources	Références
	Naucleorine (96)	Tiges de <i>Nauclea orientalis</i>	He et al., 2005
	Epiméthoxynaucleorine (97)		
	Vincosamide-N-oxyde (98)	Fruits d' <i>Anthoce phalus cadamba</i>	Mishra et al., 2018
	Vincosamide (99)		

**Tableau V :** Alcaloïdes isolés des plantes de la famille des Rubiaceae (suite et fin).

	Dihydrocadambine ( <b>100</b> )		
	Vallesiachotamine ( <b>101</b> )	Fruits d' <i>Anthoce phalus cadamba</i>	Mishra et al., 2018
	Iso-vallesiachotamine ( <b>102</b> )		

## 1.6. Etudes pharmacologiques antérieures sur quelques espèces de la famille des Rubiaceae

Les travaux effectués sur les espèces de cette famille ont permis de confirmer certains de leurs vertus thérapeutiques. En effet, dans cette famille, plusieurs espèces ont été rapportées comme possédant de nombreuses activités et les composés isolés présentant des propriétés intéressantes notamment antibactériennes, anticancéreux, antiplasmodiale, antileishmaniale etc.

### 1.6.1. Activité antiplasmodiale

Un certain nombre de composés isolés des plantes de la famille des Rubiaceae ont été testés afin de déterminer leurs propriétés antiplasmodiale. C'est ainsi que la naucleorine (**96**), l'épiméthoxynaucleorine (**97**), l'acide 3,24-dihydroxyurs-12-en-28-oïque (**67**) et l'acide oléanolique (**68**) ont été identifiés à partir des tiges de *Nauclea orientalis* par He et collaborateurs en 2005. Ces composés ont montré des activités antiplasmodiales sur les souches 3D7/Dd2 de *Plasmodium falciparum*, avec les valeurs de  $CI_{50}$  suivantes : composé **96** ( $CI_{50}$  6,9/6,0  $\mu$ M) ; **97** ( $CI_{50}$  12,4/13,2  $\mu$ M) ; **67** ( $CI_{50}$  9,7/12,7  $\mu$ M) et **68** ( $CI_{50}$  4,6/5,1  $\mu$ M). De plus les composés (**96-97**) ont montré une cytotoxicité contre les cellules KB avec des valeurs  $ED_{50}$  de 38,0 >37,9

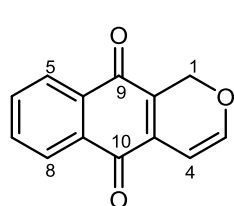
>42,2 et 46,0  $\mu\text{M}$ , respectivement. L'extrait de racines de *Pentas longiflora* a montré une activité antiplasmodiale significative.

A partir de l'extrait de racine de *Pentas longiflora*, les dérivés de naphthalène : la pentalongine (**103**), le psychorubrine (**104**), et le mollugine (**105**) ont été isolé, identifié et testés pour leur activité antiplasmodiale par el Hady et collaborateurs en 2002, Liu et *al* en 2008, Hayashi et *al* en 1987. Les composés (**103**) et (**104**) ont montré une bonne activité ( $\text{CI}_{50} < 1 \mu\text{g/mL}$ ) sur les souches 3D7 et Dd2 de *P. falciparum*, tandis que le composé (**105**) a montré une activité pas très significative vis-à-vis des mêmes souches. Par la suite, une activité antiplasmodiale *in vitro* modérée a été observée pour l'extrait au dichlorométhane de l'écorce de tige de *Heinsia crinita* ( $\text{CI}_{50} 29,2 \pm 1,39 \mu\text{g/mL}$ ) et pour les deux nouveaux iridoïdes, lamalbide 6, 7, 8- triacétate (**106**) ( $\text{CI}_{50} 16,39 \pm 0,43 \mu\text{g/mL}$ ) ainsi que pour son aglycone lamiridosine 6, 7, 8-triacétate (**107**) ( $\text{CI}_{50} 44,56 \pm 1,12 \mu\text{g/mL}$ ). L'extrait éthanolique d'écorce de tige de la même plante (200 et 300 mg/kg/jour, voie orale) a montré une activité antipaludique *in vivo* modérée chez des souris infectées par *Plasmodium berghei* avec respectivement  $27,84 \pm 2,75 \%$  et  $48,54 \pm 3,76 \%$  d'inhibition croissante du parasite ( $p < 0,01$ ). Cet extrait a également montré une activité antioxydante cellulaire élevée en utilisant le dichlorofluorescéine-diacétate (DCFDA) sur des monocytes HL-60.

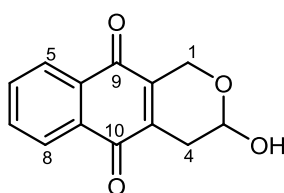
De même, l'extrait brut et composés purs testés de *Heinsia crinita* à la concentration plus élevée de 100  $\mu\text{g/mL}$  n'a pas montré de cytotoxicité contre les cellules WI<sub>38</sub> (Tshisekedi et *al.*, 2016). Pour ce qui est de l'extrait méthanolique des feuilles de *Gardenia thunbergia*, il a montré une activité antiplasmodiale significative (inhibition > 80%) à 50 mg/mL et n'était pas cytotoxique contre les cellules HeL (Tajuddeen et *al.* 2021a). Son activité antiplasmodiale a diminué à une concentration plus faible de 10 mg/mL. Il est intéressant de noter qu'un extrait DCM-MeOH (1 :1) des feuilles n'a pas montré d'activité antiplasmodiale, ce qui suggère que les composés actifs de l'extrait végétal sont polaires. La purification de l'extrait de feuilles a permis d'obtenir neuf composés, dont une saponine triterpénique, le 3-*O*-[ $\alpha$ -L-rhamnopyranosyl-(1 $\rightarrow$ 2) - $\beta$ -D-glucopyranosyl] acide oléanolique 28-*O*- $\beta$ -D-glucopyranosyl ester (**78**) et deux glycosides flavonoïdes : l'astragaline (**108**) et l'isoquercitrine (**109**). La saponine et les glycosides flavonoïdes ont inhibé *P. falciparum* de plus de 80% à 50 mg/mL, mais étaient également cytotoxiques contre les cellules HeLa. Des études précédentes ont montré que les saponines présentent une activité antiprotozoaire non sélective, y compris une activité antiplasmodiale (Mostafa et *al.* 2016 ; Foubert et *al.* 2016 ; Tajuddeen et Van Heerden 2019). De même, les flavonoïdes et leurs glycosides ont été signalés comme présentant des



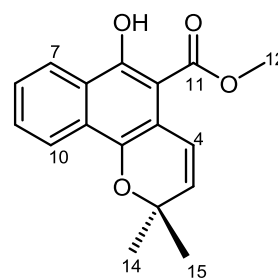
activités antiplasmodiales et cytotoxiques (Tajuddeen et Van Heerden 2019 ; Tajuddeen et al. 2021a ; Tajuddeen et al. 2021b).



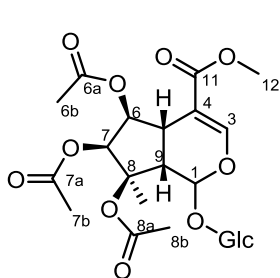
(103)



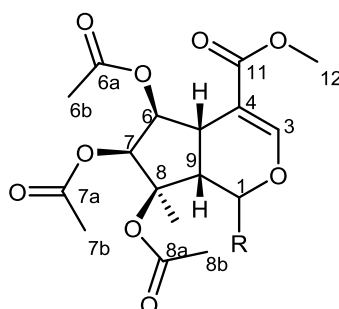
(104)



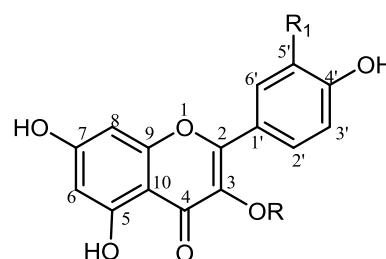
(105)



(106)



(107)



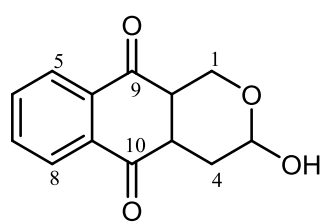
$R = \beta$ -D-glucopyranosyl ;  $R_1 = H$  (108)

$R = \beta$ -D-glucopyranosyl ;  $R_1 = OH$  (109)

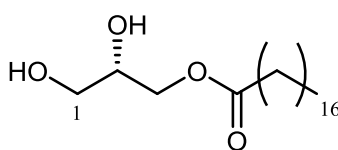
### 1.6.2. Activité antileishmaniale

Quelques essais biologiques ont été menés sur des extraits de plantes de la famille des Rubiaceae. Ainsi, le fractionnement de l'extrait au dichlorométhane de *Mitracarpus frigidus*, guidé par la bioactivité, a permis de découvrir la pyranonaphthoquinone psychorubrine. Ce composé, jusqu'alors inconnu dans le genre *Mitracarpus*, a vu son activité biologique évaluée sur *L. amazonensis*, *L. major*, *L. braziliensis* et *L. chagasi*. Au vu de cette évaluation, il a été constaté que la psychorubrine (110) possède une activité antileishmaniale prononcée avec une  $CI_{50}$  variant de 1,7 à 2,7  $\mu M$  pour les espèces de *Leishmania* testées (Fabri et al., 2012). Il s'agit du premier rapport de la présence de pyranonaphthoquinones dans le genre *Mitracarpus*, pouvant servir de marqueur chimiotaxonomique. Par la suite, l'extrait brut et certains des composés isolés de *Mussaenda erythrophylla* Schumacher et Thonn ont été évalués *in vitro* pour leur activité antileishmaniale (Bouzeko et al., 2021). Ainsi, l'extrait brut au  $CH_2Cl_2/MeOH$  (1:1) de *M. erythrophylla* a montré une activité antileishmaniale modérée ( $CI_{50}$  61,6  $\mu g/mL$ ) tandis que la fraction soluble dans l'hexane a montré une bonne activité antileishmaniale ( $CI_{50}$  31,06  $\mu g/mL$ ) par rapport au médicament de référence, l'amphotéricine B ; ( $CI_{50} = 0,11 \mu M$ ). Les composés isolés à savoir le monostearine (111) et l'acide oleanolique (68) ont également présenté une

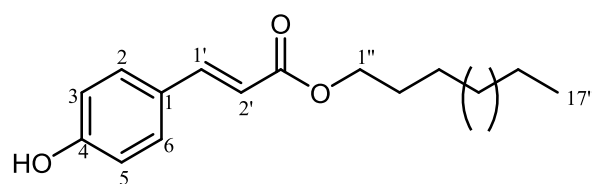
puissante activité antileishmaniale ( $CI_{50} = 53,7-52,0 \mu M$ ). A partir de l'extrait brut actif ( $CI_{50} 15,50 \mu g/mL$ ) de *R. hispida*, les composés isolés à savoir l'acide ursolique (**76**), le 30-nor-2 $\alpha$ ,3 $\beta$ -dihydroxyurs-12-ène (**70**) et l'hédéragénine (**72**) ont montré une très bonne activité sur la souche *L. donovani* promastigotes avec des valeurs  $CI_{50}$  allant de 0,88 à 9,12  $\mu g/mL$ . En outre, le palmitate de lupéol (**74**), le mélange uvaol (**75**) et érythrodiol (**71**) et le n-heptadécyl-4-hydroxy-trans-cinnamate (**112**) ont présenté une activité avec des valeurs  $CI_{50}$  comprises entre 11,05 et 14,30  $\mu g$  (Wonkam et al., 2020). De manière générale, tous les échantillons testés ont présenté une très faible cytotoxicité ( $CC_{50} > 70 \mu g/mL$ ) sur les cellules RAW 264,7. Cependant, les composés les plus actifs à savoir l'acide ursolique (**76**) et le 30-nor-2 $\alpha$ ,3 $\beta$ -dihydroxyurs-12-ène (**70**) a montré une cytotoxicité limitée vis-à-vis des cellules RAW 264,7 avec une sélectivité,  $SI > 57$ . Certains auteurs ont suggéré que l'activité antileishmanial des triterpénoïdes pourrait être liée à l'inhibition de la synthèse des protéines et des acides nucléiques leishmaniens et/ou à l'inhibition d'une pompe ATPase calcium-dépendante associée à la membrane (Goijman et al., 1984 ; Michina et al., 2007 ; Isah et al., 2016). Aussi, l'extrait brut était moins actif que l'acide ursolique (**76**), le 30-nor-2 $\alpha$ ,3 $\beta$ -dihydroxy- 12-ène (**70**) et l'hédéragénine (**72**) dont  $CI_{50} < 10 \mu g/mL$ . La différence d'activité entre l'extrait brut et certains des composés isolés peuvent être dus à une action antagoniste des composés isolés. Cet effet antagoniste entre extrait et constituants a été discuté précédemment par Caesar et Cech en 2019, qui démontrent que la complexité des extraits bruts en masque l'activité biologique des constituants chimiques sur certaines cibles thérapeutiques.



(110)



(111)



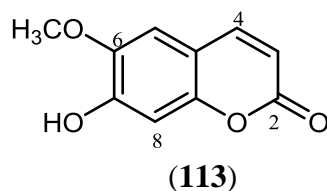
(112)

### 1.6.3. Autres activités biologiques antérieures

#### 1.6.3.1 Activité antibactérienne

Les extraits EtOH, AcOEt et n-BuOH de *Psychotria succulenta* Hiern ont présenté des activités antibactériennes significatives (CMI 32- 128  $\mu g/mL$  et CMB 64- 256  $\mu g/mL$ ) contre *Staphylococcus aureus* (bactérie Gram-positive), *Pseudomonas aeruginosa*, *Escherichia coli* et *Klebsiella pneumonia* (bactéries Gram-négatives). Parmi les composés isolés, la scopoletine

(113) et l'acide barbinervique (77) ont montré une activité modérée contre *Klebsiella pneumoniae* avec des valeurs CMI et CMB de 16 µg/mL et 32 µg/mL, respectivement (Juogo et al., 2022).



### 1.6.3.2. Activité anticancéreuse

A partir des fruits d'*Anthocephalus cadamba* (Roxb) (Rubiaceae), le Vincosamide-*N*-oxyde (98), le vincosamide (99), la dihydrocadambine (100), la vallesiachotamine (101), l'isovallesiachotamine (102) ont été isolés et évalués pour leur activité antiproliférative *in-vitro* contre la lignée cellulaire de cancer du poumon humain H1299. Le profil cytotoxique a été étudié dans la lignée cellulaire de macrophages de souris RAW 264,7 et l'induction de l'apoptose dans les cellules MCF-7. Les composés 101 et 102 ont présenté une puissante activité anticancéreuse avec des valeurs  $CI_{50}$  de 4,24 et 3,79 µM respectivement. Tandis que les composés 98, 99 et 100 ont montré une cytotoxicité modérée contre les mêmes cellules cancéreuses, avec des valeurs  $CI_{50}$  de 37,96 ; 39,69 et 16,35 µM respectivement après 48 heures d'incubation (Mishra et al., 2018).

## 1.7. Généralités sur le genre *Tricalysia*

### 1.7.1. Introduction

Le genre *Tricalysia* est l'un des plus grands genres des Rubiaceae en Afrique et est présent en Afrique continentale (environ 95 espèces recensées), Madagascar (12 espèces), et les Comores (une espèce). Ce genre possède généralement les caractéristiques distinctives de la tribu Coffeae (Bridson et Verdcourt, 2003 ; Davis et al. 2007). Il s'agit notamment de l'inflorescence axillaire jumelée aux nœuds avec des calices évidents, des fleurs avec aestivation gauche de la corolle contorsionnée et un style nettement bi lobé, et relativement petit et peu de graines, fruits charnus. La plupart des espèces de *Tricalysia* peuvent être séparé facilement des autres cafés par la présence de stipules avec des alènes en forme d'aiguilles, tronquées à des calices lobés, et des graines avec un hile peu profond. L'identification des espèces du genre *Tricalysia* est notoirement difficile, car le genre contient un grand nombre d'espèces sur une vaste zone géographique et écologique, souvent séparés par des caractères continus. Au Cameroun, six espèces du genre *Tricalysia* ont été recensées dans plusieurs régions.

**Tableau VI** : Distribution géographique de quelques espèces du genre *Tricalysia* au Cameroun (Onana, 2013).

<b>Espèces</b>	<b>Régions</b>	<b>Localisation</b>
<i>T. Lasiodelphys</i>	Sud-Ouest Littoral	Mont Cameroun Song Bong (près de Mbikeng)
<i>T. fangana</i>	Centre	Mont kala, Yaoundé
<i>T. Obstetrix</i>	Sud-Ouest	Mont Cameroun
<i>T. amplexicaulis</i>	Littoral Centre Sud	Lac Tissongo Makak, Song Bong Kribi, forêt marécageuse de la Kienké, Oveng
<i>T. oligoneura</i>	Sud	Mont Ngongonjié
<i>T. atherura</i>	Sud-Ouest Centre Littoral	(Village de Kupé, mont Etinde) (Mont Fébé, Yaoundé) (Réserve forestière de Loum)

### 1.7.2. Aperçu botanique de quelques espèces du genre *Tricalysia*

#### 1.7.2.1. L'espèce *Tricalysia atherura* (N. Hallé)

*Tricalysia atherura* N. Hallé est un d'arbuste de 6 m de haut. Son écorce est fendillée longitudinalement tandis que ses fleurs sont blanches avec un réceptacle vert. Son fruit vert devenant orange atteint 27 à 35 mm de diamètre et est couronné par un calice vert. Sa paroi est épaisse d'environ 3 mm devenant pulpeuse et rose à maturité (Breteler, 1933). Ses graines sont roussâtres à hile étiré marginalement sur toute la longueur du tégument (Breteler, 1933). L'espèce a été observée en un seul endroit au Gabon (mont Babié près de Bélinga) et sur plusieurs sites au Cameroun (voir Tableau 12).

La classification phylogénique selon Cronquist de cette espèce est présentée comme suit :

**Règne** : Plantae  
**Clade** : Angiospermes  
**Ordre** : Gentianales  
**Famille** : Rubiaceae  
**Genre** : *Tricalysia*  
**Espèce** : *Tricalysia atherura*  
(Tosh et al., 2009)



**Figure 4** : Feuilles et tige de *Tricalysia atherura* ([https://agroneo.com/gaia/ Tricalysia atherura](https://agroneo.com/gaia/Tricalysia_atherura)).

#### 1.7.2.2. L'espèce *Tricalysia oligoneura* (K. Schum)

*Tricalysia oligoneura* K. Schum est une plante tropicale de la famille des Rubiaceae et du genre *Tricalysia*. La plante présente les caractéristiques botaniques suivantes : Petit arbuste de 1,50 à 3 m de hauteur possédant des jeunes rameaux finement pubescens avec des stipules pubescentes à écumet effilé long de 2-4 mm, un pétiole pubescente longue de 4-10 mm, un limbe olivacé à sec, plutôt mince, glabre sur les deux faces. Son fruit est rouge orangé à maturité, globuleux, atteignant 5-7 mm de diamètre sur le vif, un peu pubescent. 3-4 graines par fruit, longues de 3-4 mm. L'espèce a été observée au Nigeria, au Cameroun, en République Centrafricaine et en République démocratique du Congo (Schumann et *al.*, 1896).

La classification phylogénique selon Cronquist de cette espèce est présentée ci-dessous :

**Règne** : Plantae

**Clade** : Angiospermes

**Ordre** : Gentianales

**Famille** : Rubiaceae

**Genre** : *Tricalysia*

**Espèce** : *Tricalysia oligoneura*

(Tosh et *al.*, 2009)



**Figure 5** : Feuilles et tige de *Tricalysia oligoneura* ([https://agroneo.com/gaia/Tricalysia oligoneura](https://agroneo.com/gaia/Tricalysia_oligoneura)).

### **1.7.3. Usages ethnopharmacologiques de quelques espèces du genre *Tricalysia***

Plusieurs plantes du genre *Tricalysia* sont couramment employées en Asie et en Afrique comme médicament traditionnel. C'est ainsi que la décoction des racines de *Tricalysia Sphaerocarpa* mélangé avec du jus de feuilles de *Tricalysia coriacea* (sbsp. Nyassae) est bu pour soigner le paludisme (Moshi et *al.*, 2012). Les feuilles/racines de *Tricalysia coriacea* (Benth.) Hiern sont quant à elles bouillies et la décoction est bu pour soigner les maladies de la peau et le paludisme/fièvre jaune (jaunisse) (Awouafack et *al.*, 2018). En ce qui concerne l'écorce de *Tricalysia macrophylla* (K. Schum), elle est utilisée pour la gestion du cancer (Soladoye et *al.*, 2010). Pour ce qui est des racines de *Tricalysia capensis* (café chacal) et de *Tricalysia lanceolata* (café chacal), elles sont utilisées comme émétique (Moshi et *al.*, 2009). Relativement aux feuilles de *Tricalysia singularis* (Korth.) K. Schum et *Tricalysia Sphaerocarpa* (Hook. F.) Gamble Null, elles sont utilisées traditionnellement pour soigner la maladie du sommeil. Par contre, *Tricalysia elwitschii* (**Nom vernaculaire en beembe : muyinga**) est utilisé pour soigner les fièvres graves avec douleurs articulaires en soumettant le malade à l'action des vapeurs chaudes du décocté des écorces (Bouquet, 1972). Pour ce qui est des rameaux de *Tricalysia dubia*, ils sont utilisés comme agent thérapeutique pour le traitement des ulcères cutanés et des contusions (Chuan-pu et *al.*, 2015). Par contre, *Tricalysia coriacea* est utilisée en médecine traditionnelle comme sédatif et émétique, et pour le traitement du paludisme, de la jaunisse et des maladies de la peau (Moshi et *al.*, 2012).

### **1.7.4. Etudes phytochimiques antérieurs sur les espèces du genre *Tricalysia***

Des études phytochimiques antérieures de certaines espèces végétales du genre *Tricalysia* ont rapporté l'isolement de stéroïdes (Anandhi et *al.*, 2013), de terpénoïdes (Shen et

al., 2015), d'alcaloïdes diterpéniques (Nishimura et al., 2007), d'esters d'acides gras et de glycosides. Il est à noter que les terpénoides sont prédominants dans ce genre.

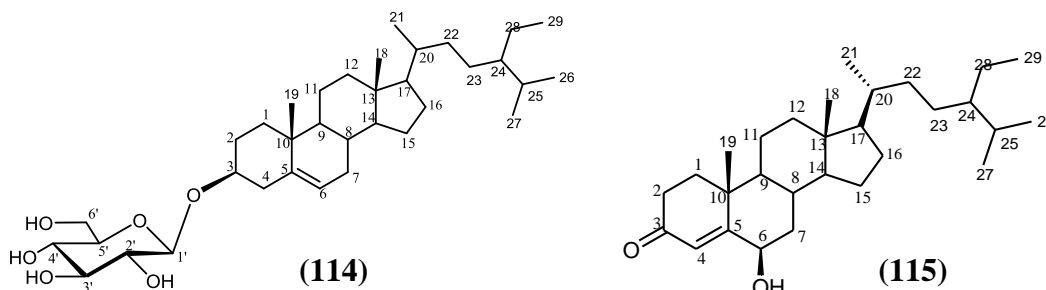
Nous allons présenter les structures de quelques-uns de ces métabolites secondaires isolés du genre *Tricalysia*. Cette liste n'est pas exhaustive et nous présenterons les structures des composés les plus fréquemment rencontrés.

#### 1.7.4.1. Diterpénoides isolés du genre *Tricalysia*

Les diterpénoides du genre *Tricalysia* sont généralement de type kauranique et de type cafestol. Leurs méthyles C-18 et 19 se sont réarrangés pour former un cycle  $\gamma$ -lactone  $\alpha$ - $\beta$ -insaturé, avec d'autres groupes fonctionnels situés à distance uniquement sur C-15, -16 et -17 de l'anneau à cinq chaînons (He et al., 2002 ; Nishimura et al., 2006). Les études phytochimiques menées à partir des espèces de ce genre, font état de plusieurs diterpénoides isolés. En effet, sur les feuilles de *Tricalysia dubia*, on dénombre 24 diterpénoides isolés à savoir le tricalysioside H-Z (25-43) (He et al., 2005 ; Xu et al., 2009, Shimatoko et al., 2010) ; tricalysiolide H-J (44-46) (Tamaki et al., 2007) ; tricalysione A-B (47-48) ; tandis que sur les rameaux de *Tricalysia fruticosa* on en dénombre 10 à savoir le tricalysine A-H (15-22) et fructilactone A-B (23-24) (Shen et al., 2015).

#### 1.7.4.2. Les Triterpénoides et Stéroïdes isolés du genre *Tricalysia*

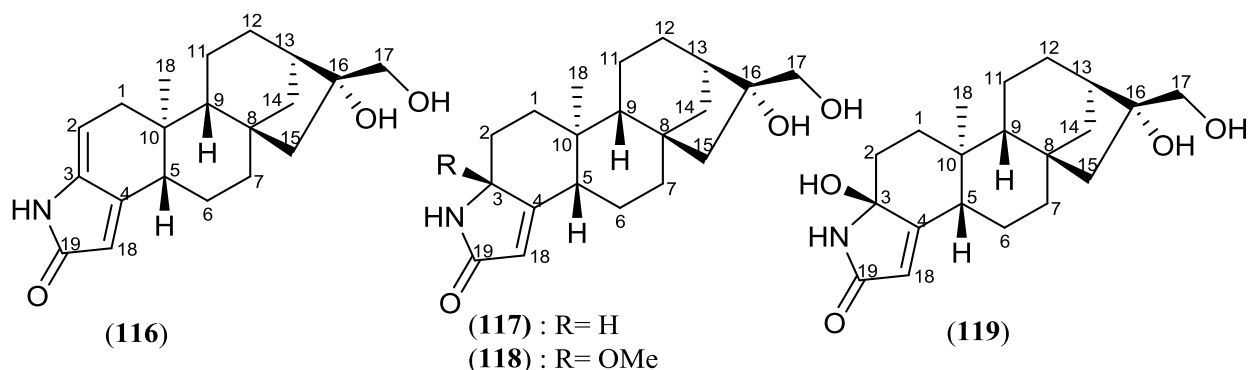
Les investigations phytochimiques sur les espèces de ce genre ont rapportés l'isolement d'uniquement 03 triterpénoides à savoir : l'acide ursolique (76), l'acide oleanolique (68) et l'acide betulinique (69) sur l'espèce *Tricalysia dubia* (Tamaki et al., 2008) et 02 stéroïls à savoir le  $\beta$ -sistostérol-3-O- $\beta$ -D-glucopyranoside (114) et stigmast-4-en-6- $\beta$ -ol-3-one (115) sur les espèces et *Tricalysia dubia* (Tamaki et al., 2008) et *Tricalysia Coriaceae* (Awouafack et al., 2018).



#### 1.7.4.3. Les alcaloïdes du genre *Tricalysia*

L'étude phytochimique des espèces du genre *Tricalysia* (Rubiaceae) a conduit à l'isolement de plusieurs métabolites secondaires et principalement les alcaloïdes diterpéniques de type kaurannique. Il a été prouvé que la plupart des alcaloïdes isolés dans ce genre

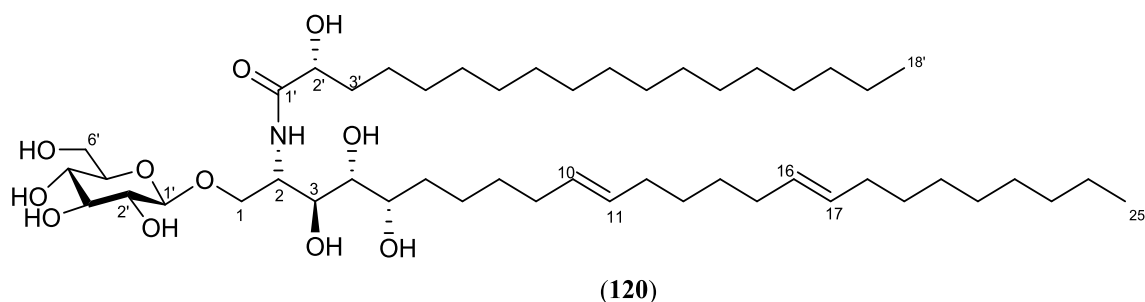
[tricalysiamide A-D (**116-119**)] appartiennent à l'espèce *Tricalysia dubia* (He et al., 2002 ; He et al., 2005 ; Nishimura et al., 2006 ; Wang et al., 2002).



#### 1.7.4.4. Cérébroside isolé du genre *Tricalysia*

Les cérébrosides sont des lipides qui font partie des glycosphingolipides (appelés aussi simplement sphingolipides). Ils sont constitués d'une céramide liée par une liaison bêta-osidique à un ou plusieurs oses neutres. Pour les oses chargés voir les gangliosides. L'acide gras est souvent à longue chaîne, et en particulier l'acide nervonique.

Les études phytochimiques menées à partir des feuilles de *Tricalysia coriacea* Benth ont rapporté l'isolement d'un cérébroside nommé tricalycoside (**120**) et possédant une activité antibactérienne modérée sur la souche de *klebsiella pneumoniae* (CMI= 75µg/mL) (Awouafack et al., 2018).

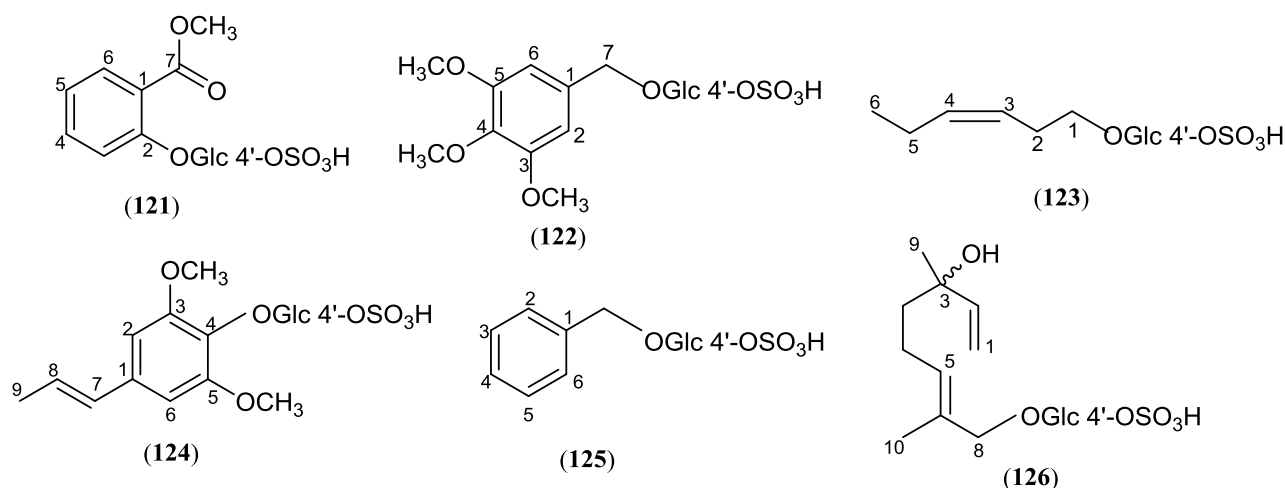


#### 1.7.4.5. Les glucosides sulfates isolés du genre *Tricalysia*

On appelle « hétérosides » ou « glycosides » les composés naturels formés d'un ou plusieurs oses (sucres) liés à une molécule dite aglycone, c'est-à-dire non glucidique.

Les travaux phytochimiques antérieures ont rapportés l'isolement de six (6) glucosides sulfates [Sulfatricalysine A-F (**121-126**)] sur l'espèce *Tricalysia dubia* (Shitamoko et al., 2010).





### 1.7.5. Etudes pharmacologiques antérieures sur quelques espèces du genre *Tricalysia*

Les études pharmacologiques menées sur les espèces du genre *Tricalysia* ont été rapporté sur uniquement deux espèces à savoir *Tricalysia coriaceae* (Moshi et al., 2012) et *Tricalysia fructicosa* (Chuan-Pu et al., 2015). En effet, l'espèce *Tricalysia coriaceae* a été révélé comme possédant des vertus antimalariques (Moshi et al., 2012) mais aucun test antiplasmodiale n'a été effectué sur l'extrait et sur les composés isolés de ladite plante. Pour ce qui est de l'espèce *Tricalysia fructicosa*, une activité antiinflammatoire sur les cellules macrophages raw 264,7 activés par le lipopolysaccharide a été évaluée. Seule le composé Tricalysin H (22) a présenté une très bonne activité antiinflammatoire avec une  $CI_{50}$  de  $6,6 \pm 0,4 \mu\text{M}$  (Chuan-Pu et al., 2015).

## 1.8. Généralités sur la leishmaniose

### 1.8.1. Définition

Les leishmanioses sont des parasitoses du système monocytes-macrophages dont l'agent pathogène est un protozoaire flagellé, du genre *Leishmania*. Il s'agit d'anthropozoonoses dues à une piqure de moucheron hémato-phages infectés, des Psychodidés, du genre *Phlebotomus*, (Bourdoiseau et Denerolle, 2000). Cette maladie infectieuse zoonotique majeure est due au développement et à la multiplication du parasite principalement dans les cellules du système des phagocytes mononuclées. Elles causent des affections sous forme d'ulcères cutanés ou de lésions viscérales accompagnées d'autres symptômes. La leishmaniose se décline sous trois formes cliniques principales : Viscérale (la plus sévère, souvent appelée Kala-azar), cutanée (la plus fréquente) et cutanéomuqueuse.

### 1.8.2. Le vecteur de la leishmaniose

Le parasite *Leishmania* fut observée par Sir William Leishman en 1900, dans des frottis de rate d'un soldat mort à Dum-Dum en Inde. En 1903, Charles Donovan, en poste dans un service médical indien, identifia le même parasite dans une biopsie de rate. Le parasite fut nommé *Leishmania Donovanii* en leur hommage (Roberts et Janovy, 2000).

La relation entre le vecteur (phlébotome) et les symptômes a été révélée par l'équipe de l'Institut Pasteur d'Algérie, dirigée à l'époque par les frères Edmond et Etienne Sergent et leurs collaborateurs. Les preuves expérimentales de la transmission de la leishmaniose cutanée ont été rapportées en 1921, lorsque les frères Sergent contaminèrent un sujet sain en le faisant piquer par des phlébotomes récoltés dans le sud du pays. Presque parallèlement, des observations faites en Palestine et en Syrie par Adler et Theodor confirmèrent celles de l'équipe de l'Institut Pasteur d'Algérie (Benallal et *al.*, 2013).

#### Cycle de vie de *Leishmania*

Elle comporte deux stades principaux : la forme promastigote flagellée extracellulaire qui subsiste dans l'intestin moyen de la mouche des sables vectrice et la forme amastigote non flagellée intracellulaire qui vit à l'intérieur des macrophages, des monocytes, des cellules dendritiques et des neutrophiles de la cellule hôte (Ouellette, 2003).

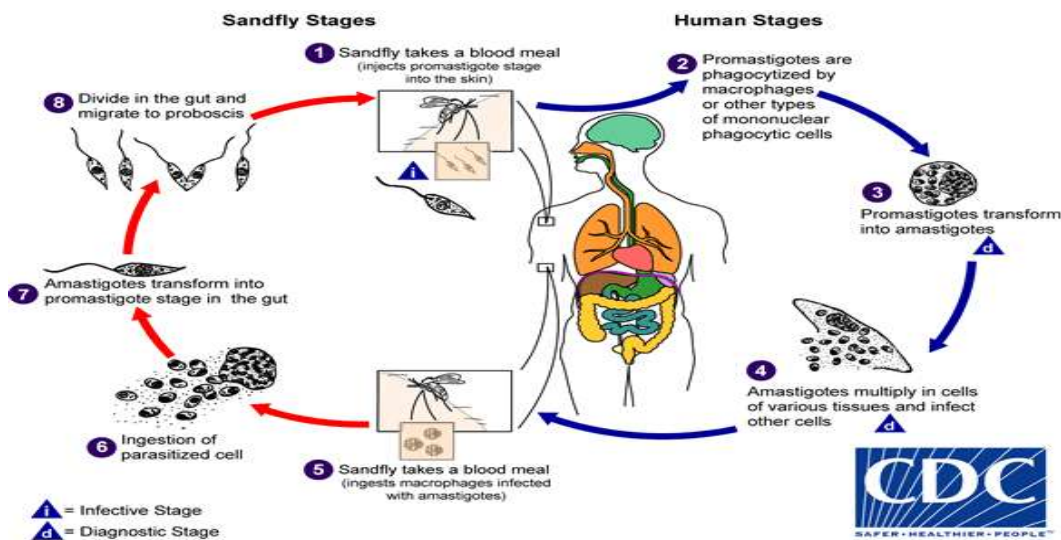


Figure 6: Cycle de vie de *Leishmania* sp. (Source : CDC, [www.cdc.gov](http://www.cdc.gov)).

### 1.8.3. Aspect clinique

#### 1.8.3.1. La leishmaniose viscérale (LV)

Maladie vectorielle causée par un parasite appartenant au genre *Leishmania* (Benallal et al, 2013). Sur le plan clinique, l'affection atteint préférentiellement l'enfant de moins de 5ans, et se manifeste par la triade symptomatique : fièvre irrégulière, pâleur cutanéomuqueuse et splénomégalie. À côté de ces signes majeurs, on peut retrouver : une hépatomégalie, des adénopathies périphériques, un amaigrissement progressif et des signes hémorragiques (Belazzoug et al., 1983). La LV est mortelle en l'absence de traitement (OMS, 2016).



**Figure 7** : Leishmaniose viscérale avec une splénomégalie marquée (OMS, 2016).

#### 1.8.3.2. La Leishmaniose cutanée (LC)

La LC est la forme la plus fréquente et est aussi connue comme le classique bouton d'orient. Elle est causée par plusieurs espèces de *Leishmania* (*L. donavi* ; *L. infantum*), chacune ayant des réservoirs mammifères, des hôtes et des vecteurs spécifiques (Aoun et Bouratbine, 2014). Toutes les espèces anthropophiles de *Leishmania* peuvent être responsables de leishmaniose cutanée, y compris les espèces habituellement viscérotropes comme *L. infantum* (**Fig. 7**). Les signes cliniques de la LC varient selon l'espèce de *Leishmania* qui infecte, ceci-dit, une seule espèce peut provoquer des lésions avec plusieurs aspects chez la même personne (Richard et Queiroz, 1996). La leishmaniose cutanée présente des lésions cutanées, principalement des ulcères, sur les parties exposées du corps. Elle persiste des mois, voire même des années dans certains cas, la guérison est spontanée mais laisse des cicatrices définitives et des handicaps sévères.



**Figure 8** : Aspect de la LC causée par *L. infantum*.

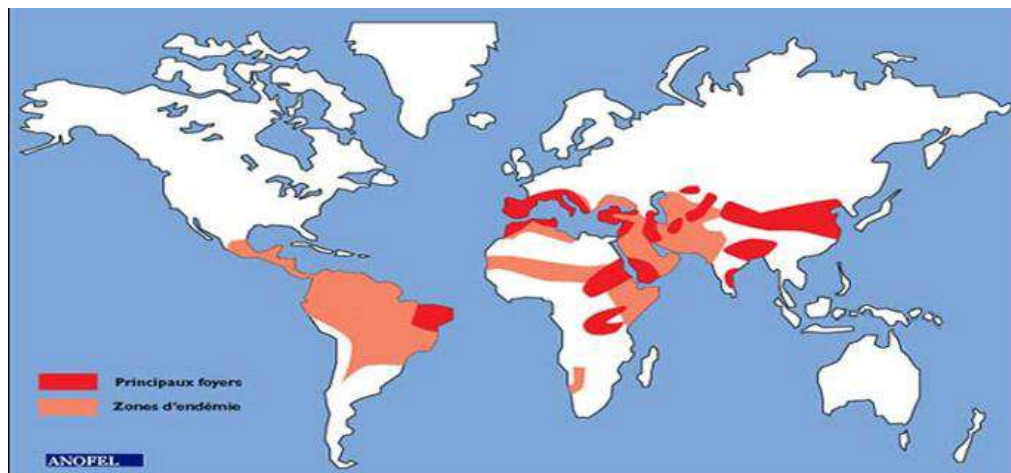
### 1.8.3.3. La leishmaniose cutanéomuqueuse (LCM)

C'est la forme la plus grave des LC. Elle détruit partiellement ou totalement les muqueuses du nez, de la bouche et de la gorge. La plupart des cas de LCM se manifestent chez des patients qui ont développé précédemment un épisode de leishmaniose cutanée (OMS, 2016).

## 1.8.4. Répartition géographique

### 1.8.4.1. Dans le monde

La leishmaniose est présente dans les 5 continents et dans 98 pays. Elle est endémique dans 88 pays (**Fig. 9**) avec plus de 350 millions de personnes à risque et 12 millions de personnes infectées. L'incidence est estimée à 2 millions de nouveaux cas par an. Parmi ces 88 pays, 22 appartiennent au « nouveau monde » et 66 à « l'ancien monde ». Il y a 200 000 à 400 000 nouveaux cas de LV par an, avec 20 000 à 40 000 décès et 700 000 à 1 200 000 nouveaux cas de LC par an (OMS, 2012). Malgré la distribution géographique étendue, la leishmaniose humaine affecte plus particulièrement les populations vivant dans des conditions précaires en milieu rural ou suburbain.



**Figure 9** : Répartition géographique de la leishmaniose dans le monde (Source : OMS, 2016).

#### 1.8.4.2. Au Cameroun

Les premiers cas de leishmaniose rapportés au Cameroun l'ont été dans les années 1930 à Garoua (Hervé, 1937 ; Djibrilla et *al.*, 1979). Lors d'une enquête menée auprès de 120 personnes à Kousseri entre 1987 et 1988, 46 personnes présentaient des symptômes cliniques et 09 d'entre elles ont été confirmées parasitologiquement et/ou sérologiquement (Kaptué et *al.*, 1992). D'autres 58 cas ont été trouvés dans cette région lors d'une enquête en 1994, où 162 personnes ont été trouvées avec des cicatrices de leishmanies et 14 cas avec une leishmaniose active. Lors d'une enquête plus importante menée auprès de 6 503 personnes entre 1996 et 1997, 82 cas actifs et 40 personnes présentant des cicatrices ont été identifiés (Dondji et *al.*, 2001). Entre janvier 2007 et juin 2010, 147 cas ont été rapportés dans les régions de l'Extrême-Nord et du Nord, dont 60% étaient âgés de moins de 15 ans et 52% étaient des hommes (Njih, 2010). Dix-sept décès ont été enregistrés entre janvier 2016 et mars 2017 (publié dans "le journal du Cameroun" par le Ministère de la Santé Publique, 2017). Aujourd'hui, la LC et la LV ont été signalés dans de nombreuses régions du pays, avec 4 cas de LC et 33 cas de LV signalés récemment (OMS, 2020).

Les localités où la LV a été signalée sont : Yaoundé, Kousseri et Gawar. Les localités où des cas de LC ont été signalés sont Mokolo, Logone Birni, Mora, Waza, Gawar, Goulfey, Garoua, Fontem et Kumbo. Mokolo est actuellement considéré comme le principal foyer endémique de la LC tandis que Kousseri est un foyer de la LV (Kaptué et *al.*, 1992 ; Dondji, et *al.*, 2001). Des phlébotomes ont été collectés à Bafia, Yaoundé, Douala, Garoua, Mokolo, Logone Birni et Kousseri comme le montre la figure 9 ci-dessous (Ngouateu et *al.*, 2012). Cependant, au fil du temps, les études sur la leishmaniose se raréfient ; les données sont très rares et peu documentées. Le Cameroun est actuellement classé parmi les pays ne disposant pas de données sur le nombre exact de cas (Gyapong et Boatin, 2016). La figure 9 montre quelques régions et caractéristiques cliniques représentatives de la leishmaniose prises sur le terrain sur des patients du Cameroun.



**Figure 10** : Régions du Cameroun avec indication des cas de leishmaniose signalés et/ou où des mouches des sables ont été collectées et photographies montrant les caractéristiques cliniques des lésions de LC sur des patients du Cameroun (Ngouateu et *al.*, 2012).

### 1.8.5. Le parasite

Les Leishmanies sont des protozoaires flagellés appartenant au genre *Leishmania*, et à la famille des trypanosomatidae, et à l'ordre des Kinetoplastida (Granier, 2013). Elles présentent au cours de leur cycle deux stades évolutifs distincts : le stade promastigote dans le tube digestif du phlébotome et le stade amastigote intracellulaire chez l'hôte vertébré. Elles se multiplient aux deux stades par division binaire simple (Dedet, 2009). Elles sont caractérisées par la présence d'ADN mitochondrial regroupé en une masse unique appelée le kinétoplaste. Il s'agit d'un parasite intracellulaire obligatoire lorsqu'il est présent chez l'hôte vertébré (Granier, 2013).



**Figure 11:** Image du parasite de la leishmaniose vue au microscope (Granier, 2013).

### 1.8.6. Le vecteur de la leishmaniose

Les flagellés du genre *Leishmania* sont transmis par des insectes diptères de la famille des Psychodidae appartenant au genre *Phlébotomus* dans l'ancien monde, et *Lutzomyia* dans le nouveau monde (Ripert, 1996). Les phlébotomes sont les vecteurs exclusifs dans la transmission des leishmanioses. L'adulte mesure 2 mm à 5 mm de longueur. Il est d'aspect « bossu » et à peine coloré. Le corps, les ailes et les pattes sont velues, et les yeux sont nettement visibles. Les phlébotomes vivent dans les pays tempérés et tropicaux.

Les adultes ont une activité crépusculaire et nocturne. Leur vol est silencieux. Seules les femelles sont hématothages. La piqûre est douloureuse car ces insectes dilacèrent les téguments avec leurs pièces buccales pour aspirer le sang (Ripert, 1996). Elles s'alimentent par telmophagie de sang et de lymphe. Ce repas peut s'effectuer de manière interrompue, à la suite de plusieurs piqûres, sur le même individu ou sur des individus différents. Il faut noter que la salive inoculée est allergisante (érythème, douleur) et participe activement à l'installation et à la multiplication des leishmanies chez l'hôte vertébré (Marquardt, 1997 ; Monteiro et al., 2005). La longévité de ces insectes est de l'ordre de quelques mois. Un cycle gonotrophique complet dure environ six semaines. La femelle ne prend qu'un seul repas sanguin par cycle (Leger et Depaquit, 1999).



**Figure 12: Image du phlebotme papatasi prenant un repas de sang (Ripert, 1996).**

### 1.8.7. Prévention et traitement de la leishmaniose

#### 1.8.7.1. Prévention

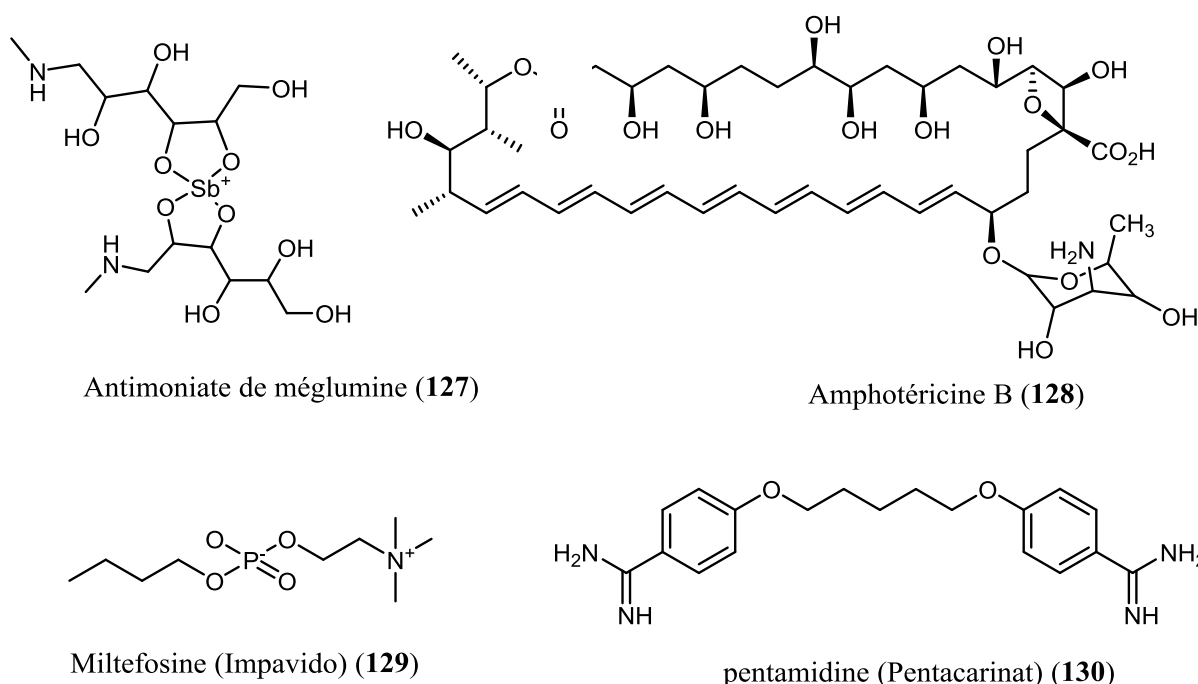
Il n'existe pas de vaccin, ni de médicament préventif contre les leishmanioses. Il est donc essentiel de se protéger contre les piqûres des phlébotomes. Dans ses recommandations sanitaires pour les voyageurs de 2011, le Comité des maladies liées aux voyages et des maladies d'importation (CMVI) conseille de porter des vêtements couvrants imprégnés d'insecticide, d'utiliser des répulsifs cutanés durant toute la journée et de dormir la nuit, mais aussi pendant

la sieste, sous des moustiquaires à fines mailles et imprégnées d'insecticide. Il est utile de réduire les activités de plein air à partir du coucher du soleil.

### 1.8.7.2. Traitement de la leishmaniose

Contre la forme viscérale, le principal traitement utilisé est l'Antimoniote de méglumine (Glucantime®). Il est administré par injection intra-musculaire ou intraveineuse. Alors que l'Amphotéricine B liposomale (Ambisome®), et la Miltefosine®, sont administrées par voie orale.

La forme cutanée peut guérir spontanément, d'où l'abstention thérapeutique. Le Glucantime® peut être proposé en infiltrations périlésionnelles ou en intramusculaire, pour raccourcir l'évolution et minimiser les séquelles. Alors que l'amphotéricine B (Fungizone®) est le premier traitement pour les patients adultes, Méglumine antimoniate (Glucantime®) jusqu'à ce jour reste le principal traitement pédiatrique contre LV en Algérie (Gradoni et *al.*, 1995) et est disponible dans les hôpitaux. Les patients ne répondant pas sont traités avec la miltefosine ou l'amphotéricine B liposomale (Ambisome®) lorsqu'ils sont disponibles. Le coût élevé de ce dernier ne permet pas son utilisation comme médicament de première intention (Gradoni et *al.*, 2008 ; Marty, 2009).



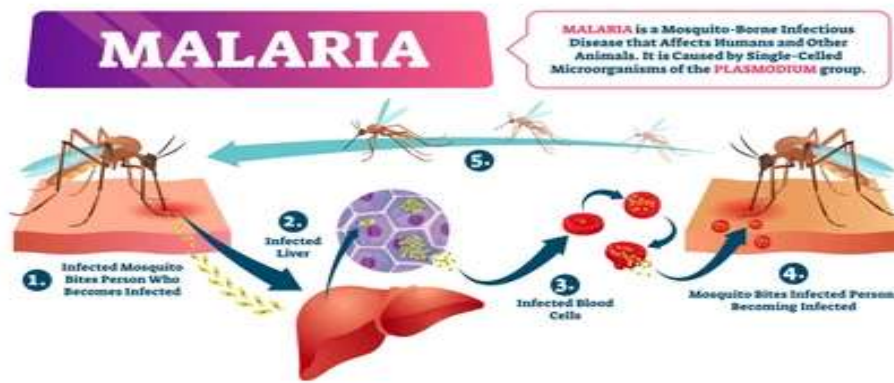
**Figure 13** : Structures des principaux médicaments utilisés dans le traitement de la leishmaniose (Gradoni et *al.*, 2008 ; Marty, 2009).



## **1.9. Généralités sur le paludisme**

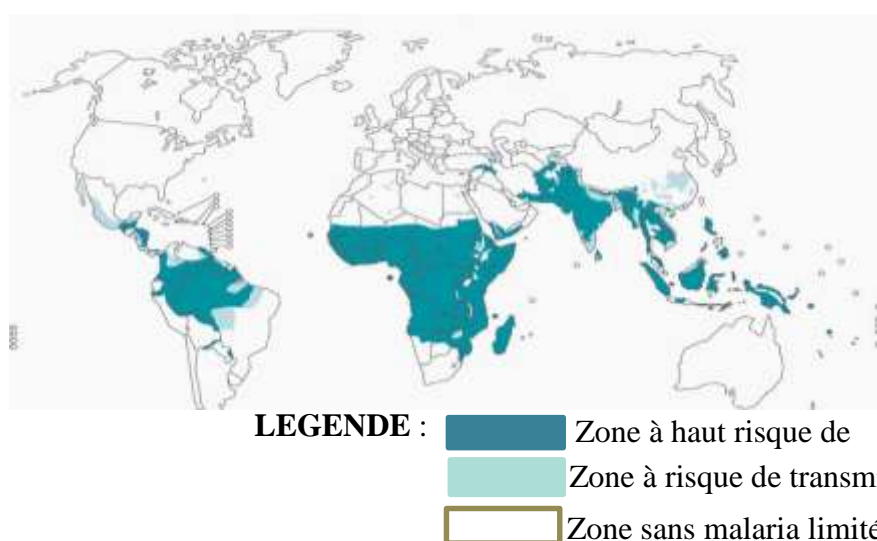
### **1.9.1. Epidémiologie du paludisme**

Le paludisme ou malaria est une parasitose due à des hématozoaires du genre *Plasmodium* transmise par les piqûres de moustiques du genre anophèles (Watts et *al.*, 2010). Elle est la première endémie parasitaire mondiale et constitue un problème de santé publique majeur en zone intertropicale. En 2020, on estimait à 241 millions le nombre de cas de paludisme dans le monde (OMS, 2020) ; la plupart de ces décès survenant dans la région Afrique (92%), loin devant la région Asie du Sud-Est (6%) et la région Méditerranée orientale (2%) de l'OMS. L'immense majorité (99%) des décès sont dus au paludisme à *P. falciparum* (OMS, 2020).



**Figure 14** : Mode de transmission du paludisme (OMS, 2020).

Le Cameroun fait parti des pays les plus touchés car selon le rapport mondial commis en 2020 par l'Organisation Mondiale de la Santé (OMS), le Cameroun compte parmi les dix pays les plus touchés par le paludisme dans le monde contribuant à hauteur de 3% au pourcentage de la mortalité de toute la planète. Cette pandémie constitue le quart des consultations dans les formations hospitalières. Chez les enfants, le taux de consultation s'élève à 32% et 13% des patients atteints en meurent. L'on a enregistré en 2017, 4000 morts enregistré dans les formations sanitaires et presque autant dans les familles qui gèrent les cas sans aller à l'hôpital (OMS, 2021). Le nombre de cas enregistré dans les formations sanitaires est quasi- stagnant depuis 2011 et avec une tendance à l'augmentation à partir de l'année 2017. Le nombre de décès, après une évolution à la baisse sur plusieurs années, connaît une tendance à la hausse depuis 2017 également. Il a représenté 24,3 % des consultations toutes confondues et 12,8 % des décès survenus dans les formations sanitaires du pays (PSNLP, 2019- 2023).



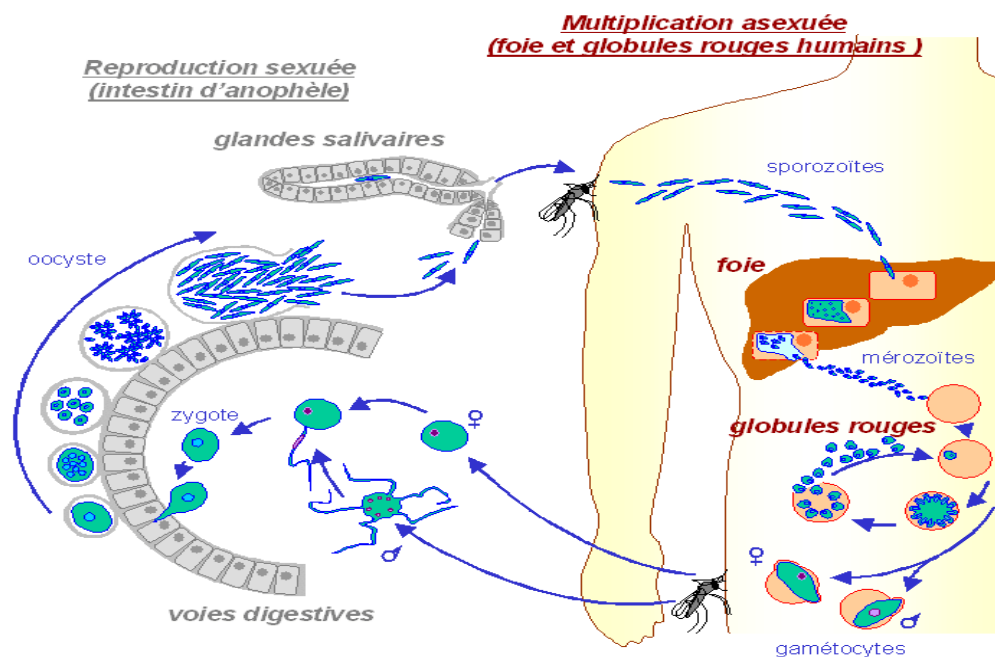
**Figure 15** : Zones touchées par le paludisme (OMS, 2021).

Le paludisme représente donc une charge financière énorme pour les populations et par conséquent la maladie constitue un obstacle au développement des pays concernés notamment d’Afrique. Pour toutes ces raisons, la lutte contre le paludisme constitue un des objectifs du millénaire définis par les nations – unies (Watts et *al.*, 2010).

## 1.9.2. Le parasite et le vecteur

### 1.9.2.1. Le parasite

Le paludisme est causé par cinq espèces qui affectent l’Homme. Tous ces parasites appartiennent au genre *Plasmodium* : *P. falciparum*, *P. vivax*, *P. ovale*, *P. malariae*, *P. knowlesi*. Parmi elles, *P. falciparum* et *P. vivax* posent le plus grand défi sanitaire. *P. falciparum* est l’espèce la plus répandue sur le continent Africain et est responsable de la plupart des décès liés au paludisme (Talkmore et *al.*, 2015). Le cycle de *Plasmodium* est complexe et comporte deux étapes essentielles : une phase asexuée chez l’homme et une phase sexuée chez le moustique.



**Figure 16 :** Cycle évolutif de *Plasmodium* sp.

### 1.9.2.2. Le vecteur

Les moustiques constituent la plus importante famille de vecteurs d’agents pathogènes. Parmi eux figurent les anophèles, vecteurs de *Plasmodium* sp, parasite responsable du paludisme. Il existe environ 50 espèces d’anophèles, dont une cinquantaine est capable de transmettre le paludisme à l’homme. Dans la pratique, 20 espèces assurent l’essentiel de la transmission dans le monde (Pages et *al.*, 2007).

### 1.9.3. Les manifestations cliniques

Les symptômes de l'infection au *P. falciparum* comprennent la fièvre, les frissons, la toux, la transpiration, la diarrhée, les problèmes de respiration et le mal de tête. Les symptômes de l'infection au *P. vivax*, *P. malariae* ou *P. ovale* commencent par un malaise et une fièvre pendant plusieurs jours, suivis de frissons et une élévation de température, souvent accompagnée de maux de tête et de nausée et qui se terminent d'une abondante sudation. Après une période de fièvre et de transpiration est répétée tous les uns à trois jours (Cheesbrough, 1987).

### 1.9.4. Prévention et traitement du paludisme

#### 1.9.4.1. Prévention du Paludisme

Le paludisme peut être prévenu à travers des gestes qui diminuent le nombre de pique de moustiques, tels que l'utilisation approprié de *N, N*- diéthylmethyltoluamide (DEET), agent capable de repousser les moustiques, ainsi que l'usage des moustiquaires imprégnées.

#### 1.9.4.2. Traitement du Paludisme

La première stratégie d'éradication, définie par l'OMS de 1955 à 1969 s'avéra inefficace en dépit des moyens considérables mobilisés et les 10 années qui suivirent furent marquées par l'extension de la résistance des anophèles aux insecticides, par l'apparition de chimiorésistance de *Plasmodium* à la chloroquine, par l'impossibilité de mettre en place un programme d'éradication dans les zones de haute endémie, et même par la résurgence de la maladie dans des zones considérées comme contrôlées.

Actuellement, la lutte contre la maladie repose sur trois principes :

- La lutte contre les piqures de moustiques à travers l'utilisation des moustiquaires imprégnées d'insecticides à longue durée d'action (MILDA)
- La recherche et le développement de vaccins : En 2021, l'OMS a recommandé l'utilisation du vaccin **RTS, S/AS01** dans le cadre de la prévention du paludisme à *P. falciparum* chez les enfants vivant dans des zones de transmission modérée à élevée. Il est démontré que le vaccin réduit considérablement la morbidité et la mortalité palustre chez le jeune enfant (efficace à 30%). Près de 364 000 enfants ont été couverts par au moins 1 dose de vaccin antipaludique en 2021 grâce aux programmes pilotes d'introduction au Ghana, au Kenya et au Malawi, contre 344 000 en 2020 et 189 000 en 2019 (OMS, 2022). Les résultats de ces programmes pilotes ont confirmé que ce vaccin est sûr et qu'il réduit le paludisme infantile, les hospitalisations et les décès. Au moins

27 pays d'Afrique ont exprimé leur intérêt vis-à-vis de l'adoption du vaccin contre le paludisme dans le cadre de leurs stratégies nationales de lutte contre le paludisme. D'autres pays vont commencer à vacciner en 2023.

- La recherche et le développement de nouvelles molécules antipaludiques.

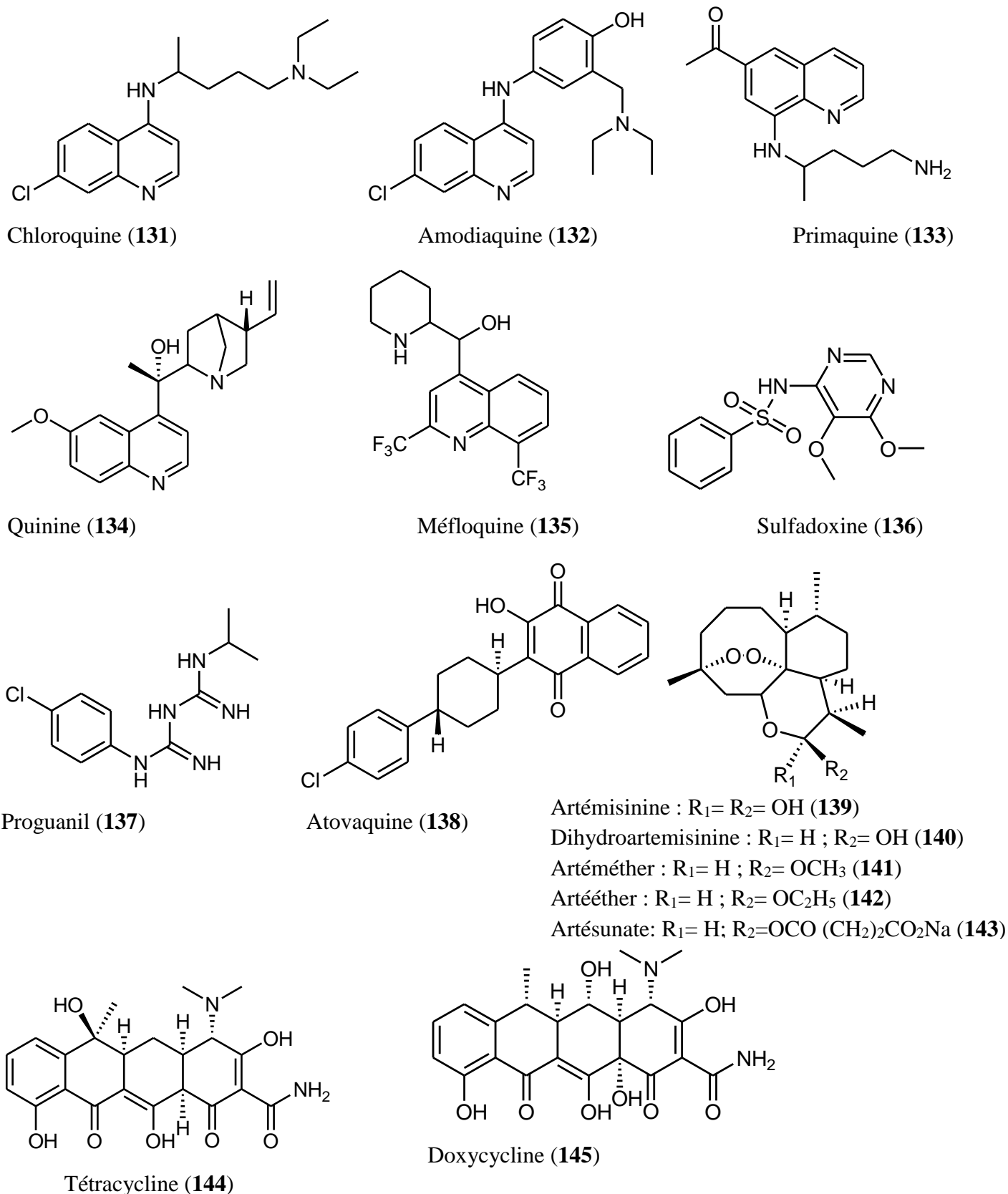
Un antipaludique est un composé naturel ou de synthèse qui, administré par voie orale, parentérale ou rectale, à dose unique ou répétée, permet de détruire le parasite ou de bloquer sa croissance dans le but de prévenir ou de guérir la maladie palustre (Gentilini, 1993). Les antipaludiques peuvent être classés en divers groupes en fonction de leurs structures chimiques, mais également en fonction de leurs modes d'action et de la cible d'action.

L'arsenal thérapeutique de lutte contre le paludisme est composé de quatre principales classes de molécules :

- Les dérivés de quinoléines (aminoquinoléine : chloroquine, primaquine et 4-méthanolquinoléines : quinine, méfloquine) ;
- Les anti-folates (sulfadoxine, proguanil) ;
- Les naphthoquinones (atovaquine) ;
- Les combinaisons thérapeutiques à base d'artémisinine (ACT), qui combinent l'artémisinine à un médicament partenaire (arthéméther, artéether, artésunate) représentent le traitement le plus efficace contre le paludisme à *P. falciparum*.

Certains antibiotiques ont également des propriétés antipaludéennes (tétracycline, doxycycline).

La figure ci-après présente les structures des principaux antipaludiques.



**Figure 17** : Structure des principales molécules antipaludéennes (Kaur et al., 2009).



**CHAPITRE II: RESULTATS ET DISCUSSION**

## PARTIE A : ETUDES PHYTOCHIMIQUES

### 2.1. Etude phytochimique des feuilles de *Tricalysia atherura* N. Hallé

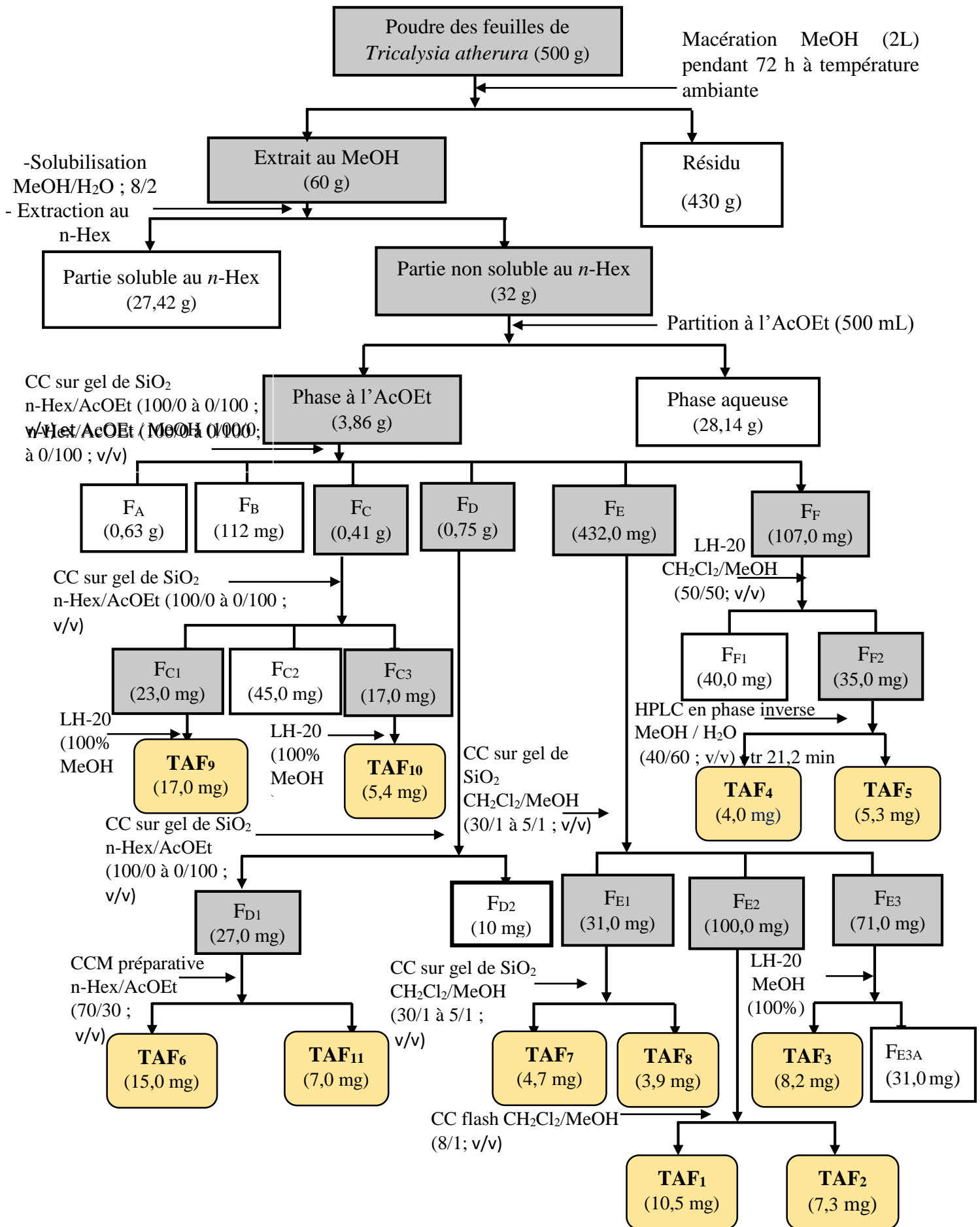
L'étude phytochimique des feuilles de *Tricalysia atherura* N. Hallé nous a permis d'isoler onze (11) composés parmi lesquels quatre sont nouvellement décrits dans la littérature. L'élucidation structurale de ces composés a été réalisée grâce à une analyse approfondie des spectres de RMN 1D ( $^1\text{H}$ ,  $^{13}\text{C}$ ) et de RMN 2D (COSY, NOESY, HSQC et HMBC), couplée à la spectrométrie de masse.

#### 2.1.1. Extraction, fractionnement et purification des composés

Nous avons travaillé sur les feuilles de *T. atherura* (500g). Ces dernières ont été séchées, broyées et macérées dans le MeOH (2L) pendant 72h à température ambiante. A la fin de chaque macération, les filtrats ont été regroupés et évaporés à sec à l'aide d'un rotavapor de type BUCHI. L'extrait méthanolique obtenu (60 g) a été partitionné successivement au *n*-hexane et à l'acétate d'éthyle. L'extrait à l'acétate d'éthyle (3,86 g) a été fractionnée sur colonne ouverte de silice en phase normale et éluée avec des mélanges *n*-Hex/ AcOEt suivie de  $\text{CH}_2\text{Cl}_2/\text{MeOH}$  de polarité croissante. Six principales fractions ont été obtenues (indexées A à F) et regroupées en fonction de leur profil sur chromatographie sur couche mince.

La purification des différentes fractions par différentes méthodes chromatographiques a permis d'obtenir onze composés. Le schéma ci-dessous présente les différentes étapes d'isolement des composés de *T. atherura*.

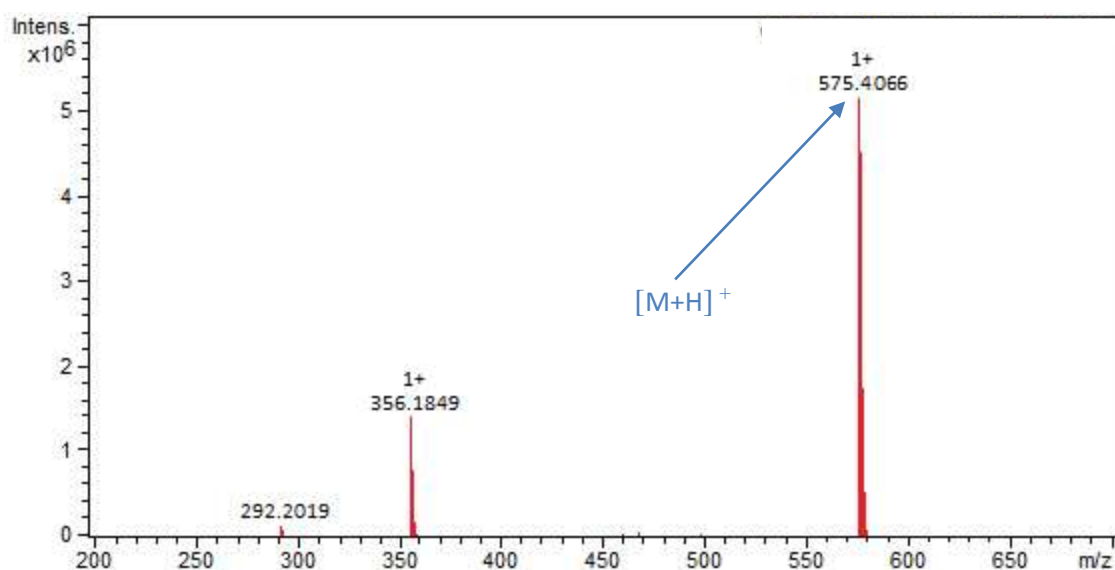




## 2.1.2. Caractérisation des composés isolés

### 2.1.2.1. Détermination structurale du composé TAF<sub>1</sub>

Le composé TAF<sub>1</sub> est obtenu sous forme de poudre blanche amorphe. Il répond positivement au test de Liebermann- Burchard caractéristique des triterpènes (Golembiewska et *al.*, 2013). Son spectre de masse LC-ESI-MS exhibe le pic de l'ion *pseudo*-moléculaire à  $m/z$  575,4066 [M+H]<sup>+</sup> correspondant à la formule brute C<sub>35</sub>H<sub>58</sub>O<sub>6</sub> (calculée pour C<sub>35</sub>H<sub>58</sub>O<sub>6</sub> : 575,4075) ce qui correspond à 07 degrés d'insaturations.



**Figure 18 :** Spectre de masse LC-ESI-MS du composé TAF<sub>1</sub>.

L'analyse de son spectre de RMN <sup>1</sup>H met en évidence sept signaux de méthyles résonnant sous forme de singulet à  $\delta_H$  0,98 (s, H-23) ; 0,80 (s, H-24) ; 0,94 (s, H-25) ; 0,92 (s, H-28) ; 1,32 (s, H-27) ; 0,78 (s, H-26) et 1,18 (s, H-29) et un methyl doublet à  $\delta_H$  0,91 (d, H-30,  $J = 6,3$  Hz) caractéristique d'un triterpène pentacyclique de type ursane (Ibrahim et *al.*, 2012). Dans les champs faibles, on observe le déblindage d'un proton à  $\delta_H$  5,27 (s, H-12) suggérant la présence d'une double liaison oléfinique. On observe également un signal de proton de type oxyméthine à  $\delta_H$  3,03 (1H, dd,  $J = 9,5$  ; 3,5 Hz ; H-3) caractéristique d'une fonction alcool secondaire (Chen et *al.*, 2010).

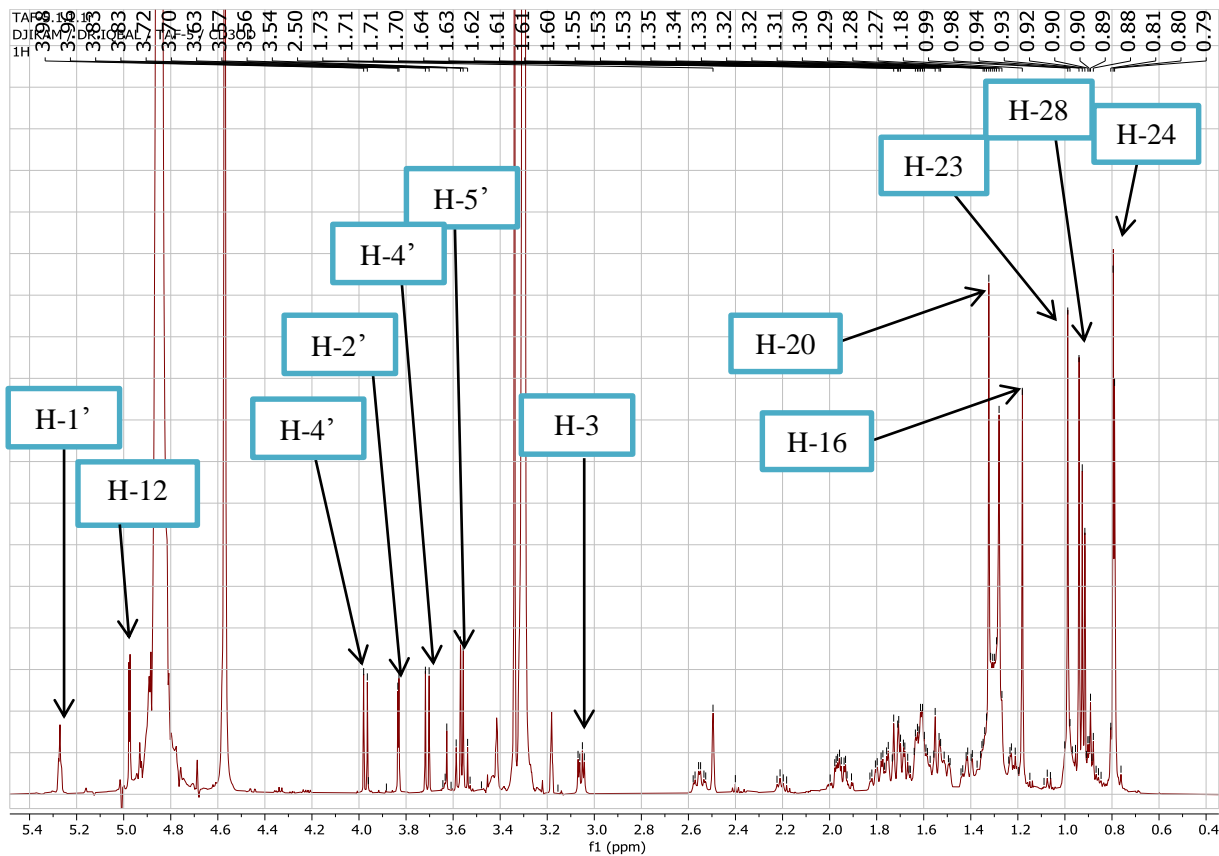


Figure 19 : Spectre RMN  $^1\text{H}$  (500 MHz,  $\text{CD}_3\text{OD}$ ) du composé TAF<sub>1</sub>.

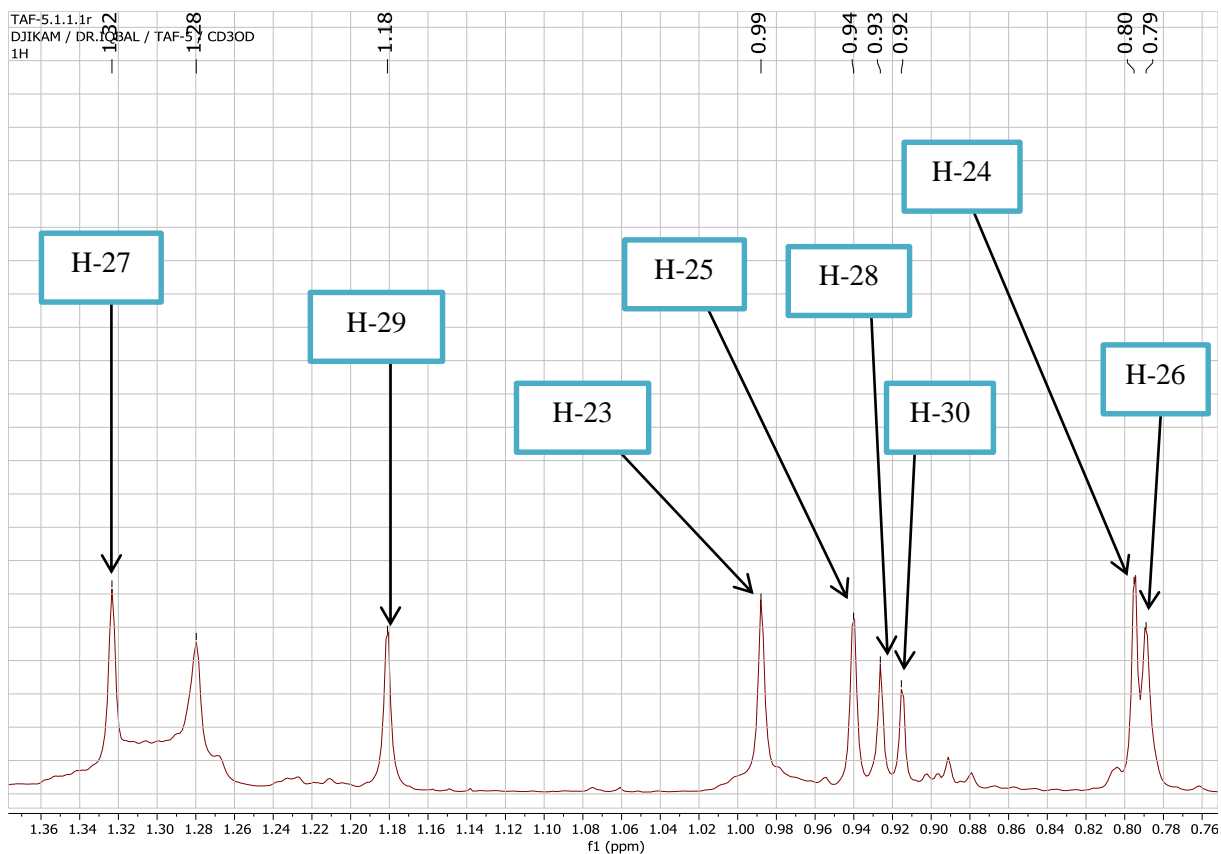
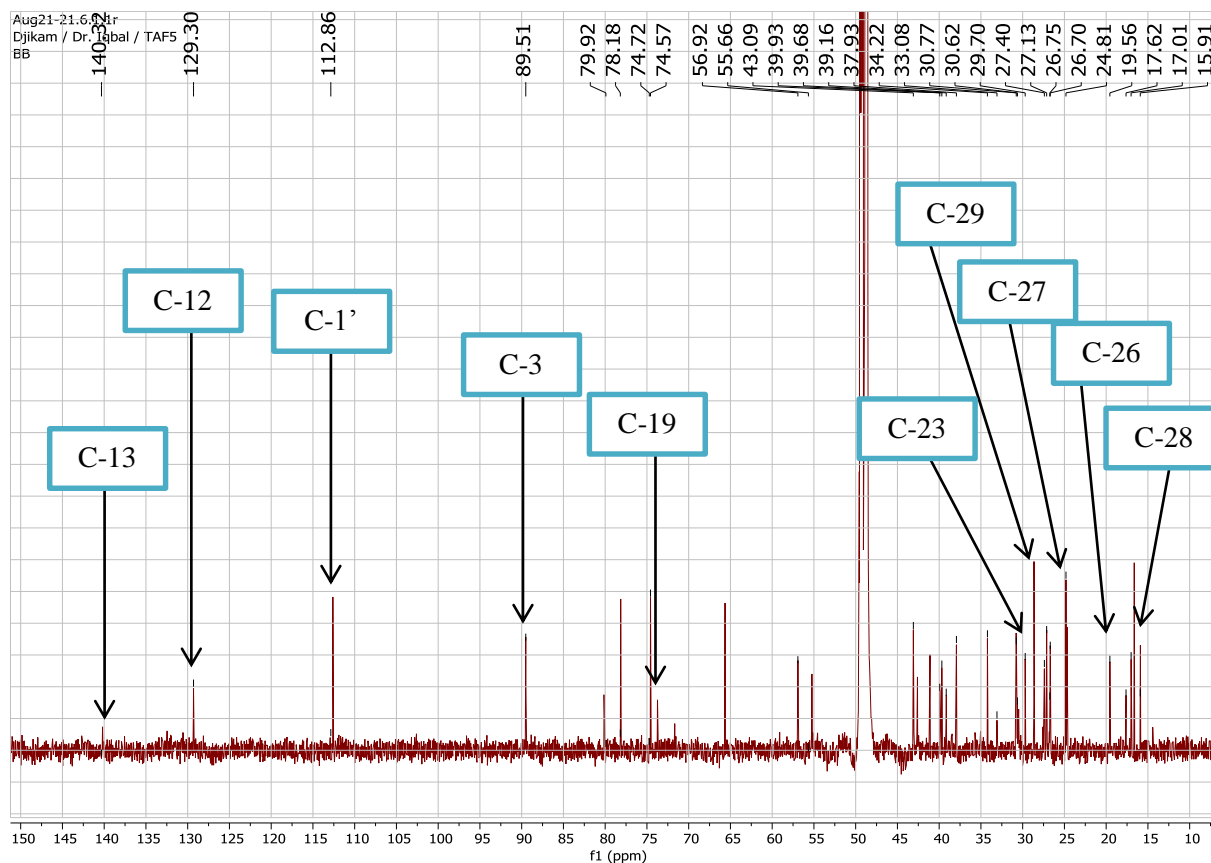


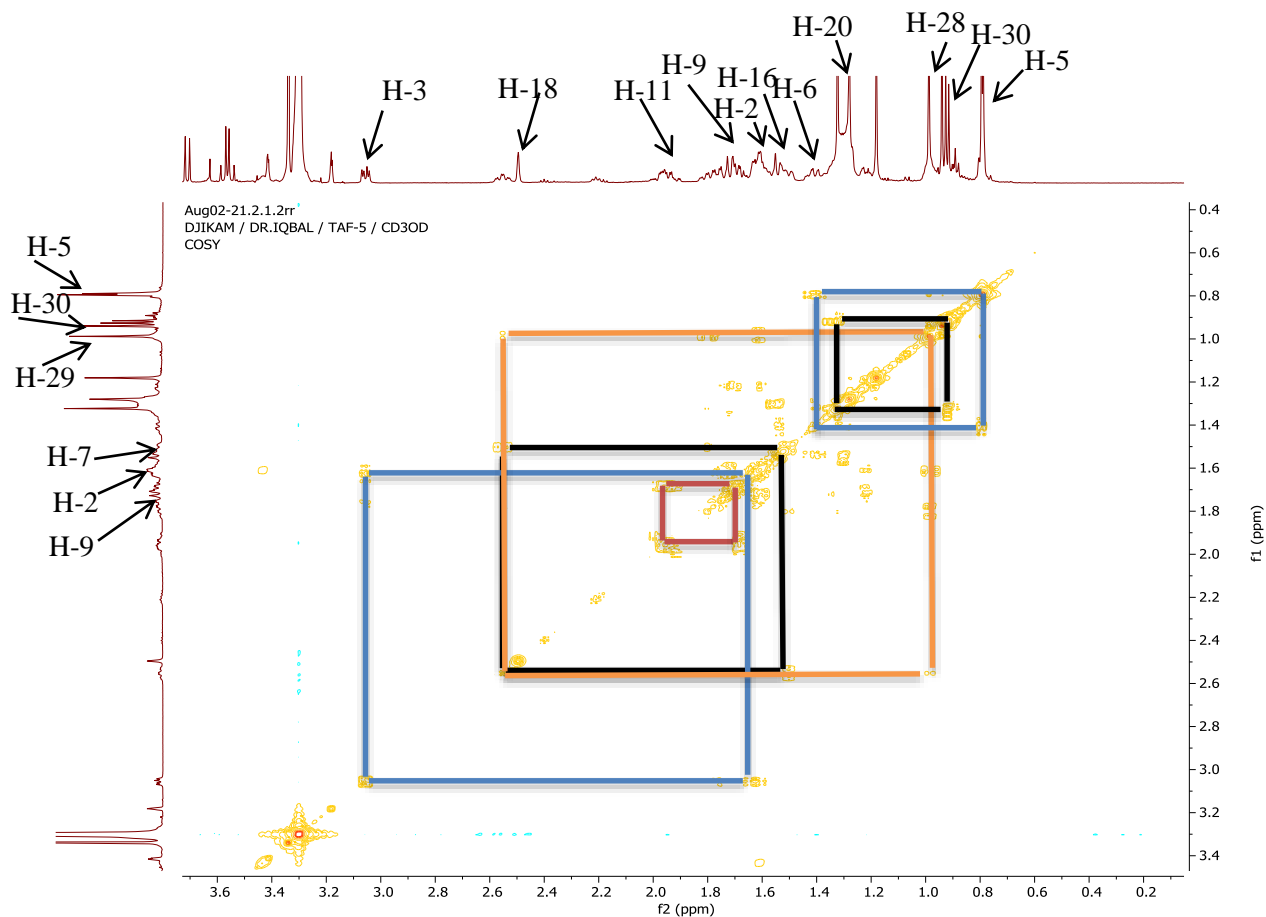
Figure 20 : Spectre RMN  $^1\text{H}$  élargi (500 MHz,  $\text{CD}_3\text{OD}$ ) du composé TAF<sub>1</sub>.

L'analyse du spectre de RMN  $^{13}\text{C}$  découplé proton large bande, nous permet de distinguer les signaux des carbones des huit méthyles angulaires à  $\delta_{\text{C}}$  28,3 (C-23) ; 17,1 (C-24) ; 16,1 (C-25) ; 16,5 (C-30) ; 16,4 (C-28) ; 24,6 (C-27) ; 17,3 (C-26) et 27,0 (C-29). De plus, on observe la présence de plusieurs carbones quaternaires parmi lesquels le carbone quaternaire de la double liaison à  $\delta_{\text{C}}$  140,0 (C-13) et celui hydroxylé à  $\delta_{\text{C}}$  73,5 (C-19) qui indique une structure de type ursane (Akbar et Malik, 2002). On observe également le signal d'un méthine hydroxylé à  $\delta_{\text{C}}$  89,4 (C-3).



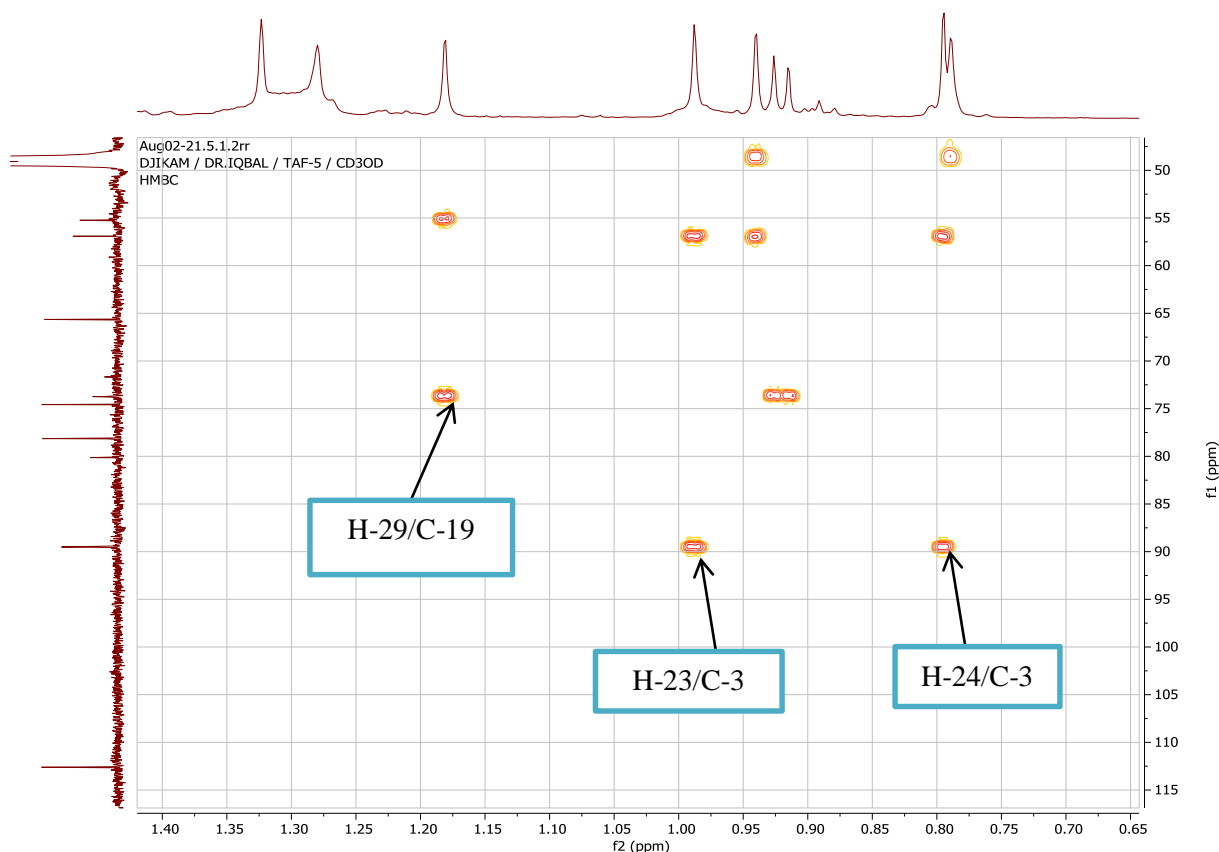
**Figure 21** : Spectre RMN  $^{13}\text{C}$  (125 MHz,  $\text{CD}_3\text{OD}$ ) du composé  $\text{TAF}_1$ .

L'analyse de son spectre COSY  $^1\text{H}$ - $^1\text{H}$  permet de déduire les liaisons et sous structures du composé  $\text{TAF}_1$ . En effet, on observe des corrélations entre H-3 ( $\delta_{\text{H}}$  1,41) et H-2 ( $\delta_{\text{H}}$  1,65) ; H-6 ( $\delta_{\text{H}}$  1,41) et H-5 ( $\delta_{\text{H}}$  30,79) ; H-11 ( $\delta_{\text{H}}$  1,96) et H-9 ( $\delta_{\text{H}}$  1,69) ; H-18 ( $\delta_{\text{H}}$  2,51) et H-28 ( $\delta_{\text{H}}$  0,92) ; H-18 ( $\delta_{\text{H}}$  2,51) et H-16 ( $\delta_{\text{H}}$  1,5) ; H-20 ( $\delta_{\text{H}}$  1,33) et H-30 ( $\delta_{\text{H}}$  0,91).



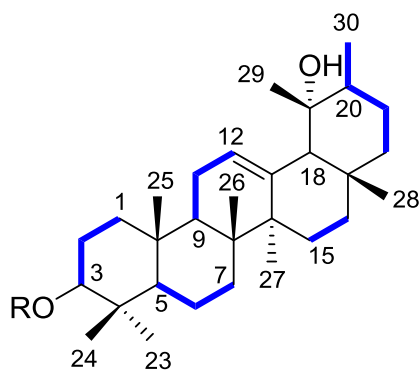
**Figure 22** : Spectre COSY élargi (500 MHz, CD<sub>3</sub>OD) du composé TAF<sub>1</sub>.

Les corrélations observées sur le spectre HMBC entre les signaux de protons à 0,98 ppm (H-23) ; 0,80 ppm (H-24) et le carbone à 89,4 ppm (C-3) confirme l'emplacement d'une fonction alcool secondaire en C-3. De plus, la corrélation à 1,18 ppm (H-29) et le carbone à 73,5 ppm (C-19) justifie la présence d'un carbone quaternaire hydroxylé en C-19 (Akbar et Malik, 2002). Toutes les valeurs de protons et de carbones ont été attribuées d'après l'analyse des spectres COSY et HSQC du composé TAF<sub>1</sub>.



**Figure 23** : Spectre HMBC (500 MHz, CD<sub>3</sub>OD) du composé TAF<sub>1</sub>.

Ainsi, l'analyse de spectres RMN <sup>1</sup>H, <sup>13</sup>C, COSY, HSQC et HMBC de TAF<sub>1</sub> a permis d'attribuer tous les signaux de l'aglycone, et par comparaison avec les données de la littérature, nous avons identifié celui-ci au **19 $\alpha$ -hydroxy- $\alpha$ -amyrine** qui est un triterpène de type ursane (Akbar et Malik, 2002). (Voir **Tableau 7**).



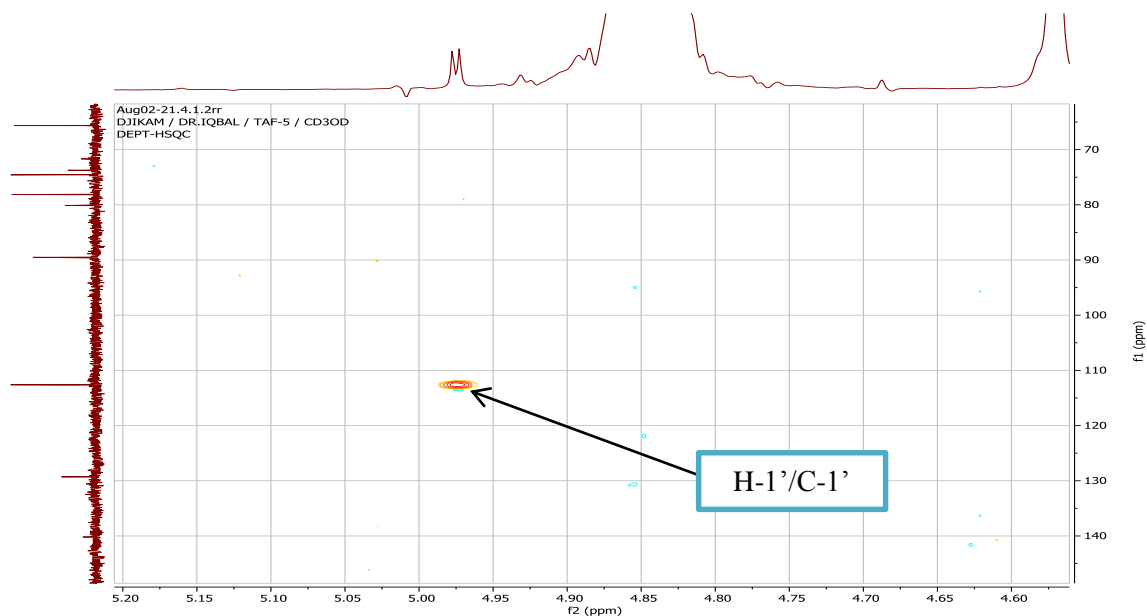
COSY: —

#### Sous structure 1

L'observation d'un seul groupement oxyméthine résonant à  $\delta_C$  89,4 montre que TAF<sub>1</sub> est un dérivé mono-osidique du 19 $\alpha$ -hydroxy- $\alpha$ -amyrine ayant une chaîne monosaccharidique attachée en C-3 de l'aglycone au moyen d'une liaison éther.

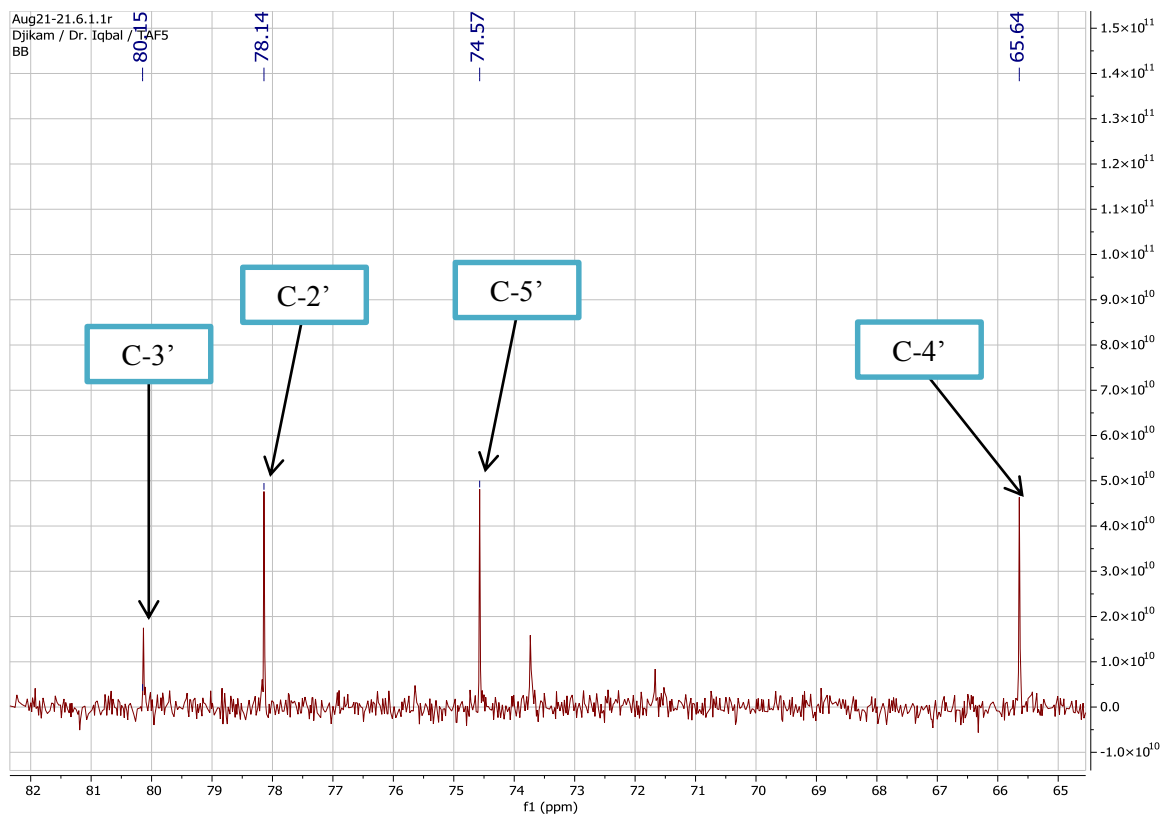
La nature du sucre de TAF<sub>1</sub> a été déterminée par hydrolyse acide suivie d'une CCM comparative avec un échantillon authentique disponible au laboratoire et par comparaison avec les données de la littérature. Ainsi le D-apiose a été identifié.

L'analyse du spectre de RMN <sup>1</sup>H de TAF<sub>1</sub> permet de distinguer un signal de proton anomérique résonnant à 4,97 (d; J = 2,8 Hz, H-1') et qui corrèle avec le carbone à δ<sub>C</sub> 112,5 (C-1') dans le spectre HSQC (Fig. 24).



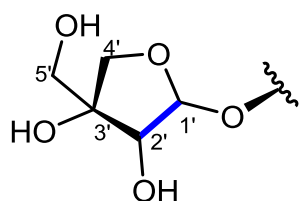
**Figure 24** : Spectre HSQC élargi (500 MHz, CD<sub>3</sub>OD) montrant le proton anomérique du composé TAF<sub>1</sub>.

Tous les protons du sucre ont été identifiés par une analyse approfondie des spectres COSY et NOESY. Leurs carbones correspondants ont été, quant à eux, attribués sur la base des corrélations observées dans le spectre HSQC et confirmé par le spectre HMBC. En effet, sur le spectre RMN carbone 13, on note la présence de quatre signaux de carbones osidiques à δ<sub>C</sub> 80,1 (C-3') ; 78,1 (C-2') ; 74 (C-5') et 65,5 (C-4') caractéristique d'un furanosyl (Xu et al., 2010).



**Figure 25** : Spectre RMN  $^{13}\text{C}$  élargi (125 MHz,  $\text{CD}_3\text{OD}$ ) montrant les carbones osidiques du composé TAF<sub>1</sub>.

Les données des expériences de RMN 2D (COSY, NOESY, HSQC, et HMBC) indiquent que le sucre identifié à savoir l'Apiose est sur sa conformation furanosyl. La configuration  $\beta$  a été attribuée au proton anomérique d'Api sur la base de sa constante de couplage  $J = 2,8$  Hz (Silva et Parente, 2004).



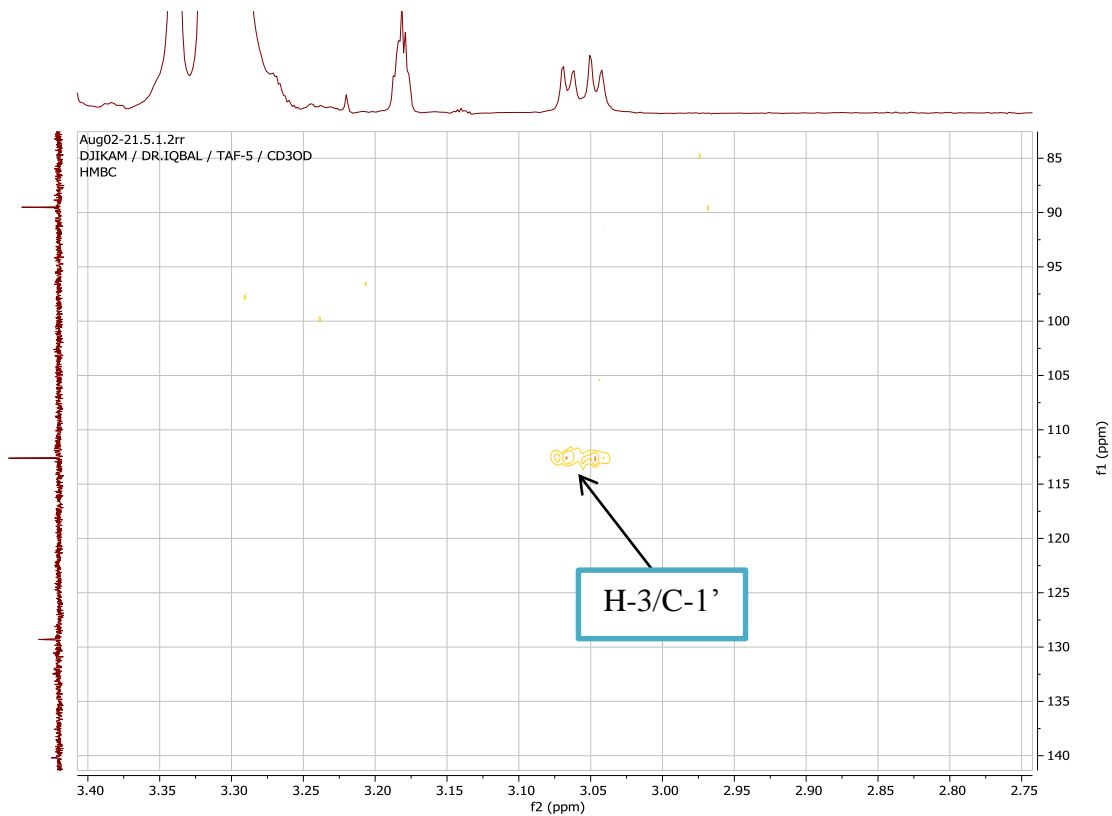
COSY: ———

### Sous structure 2

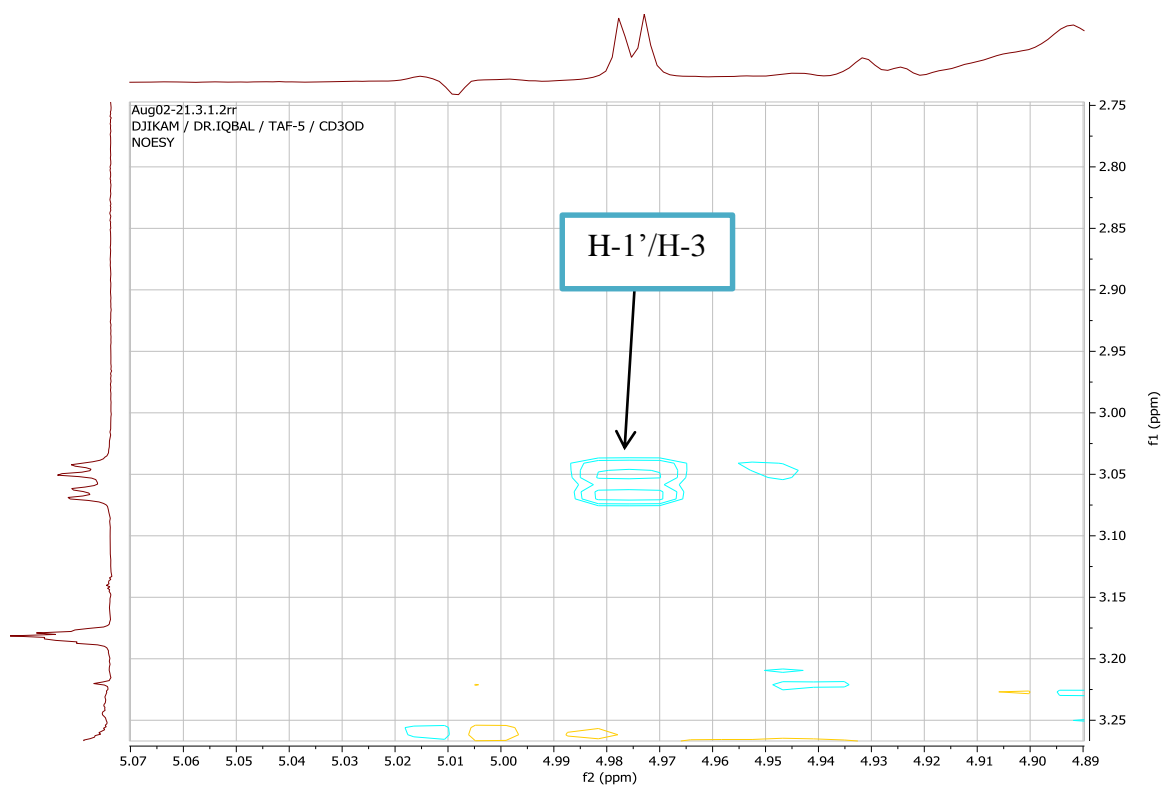
L'analyse des spectres HMBC et NOESY nous a permis de déterminer le point de jonction du sucre sur l'aglycone ainsi que les liaisons interglycosidiques.

La corrélation observée dans le spectre HMBC entre le signal à  $\delta_H$  3,03 (H-3 de l'aglycone) et le carbone à  $\delta_C$  112,5 (C-1'Api) suggère que l'Api est liée à la génine en position 3 ; cette liaison est confirmée par la corrélation observée sur le spectre NOESY entre les signaux  $\delta_H$  4,97 (H-1' Api) et  $\delta_H$  3,03 (H-3 de l'aglycone).

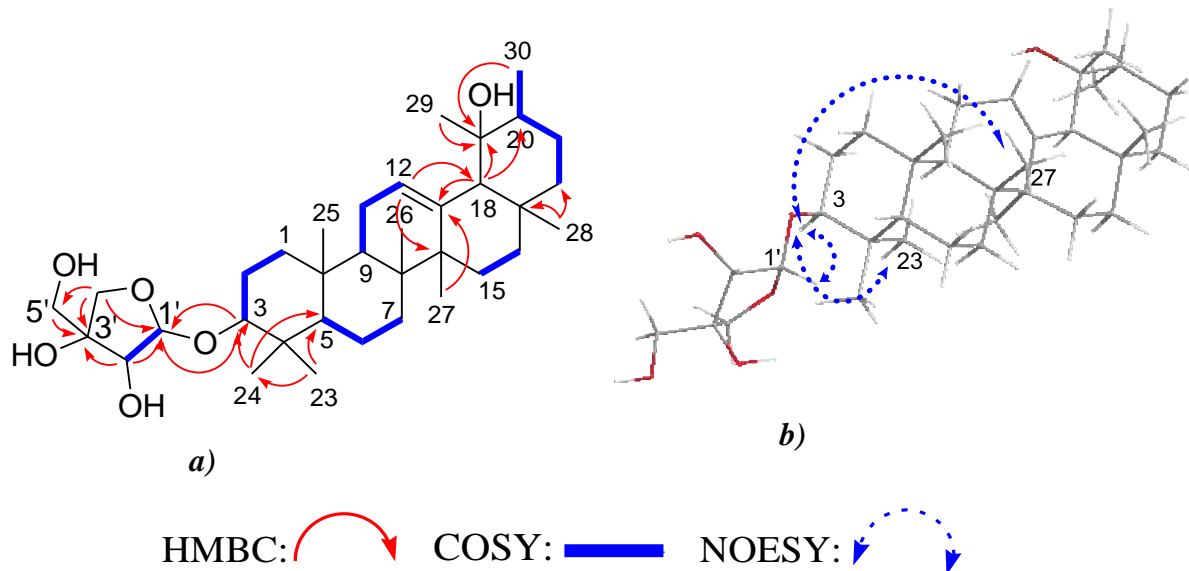




**Figure 26** : Spectre HMBC (500 MHz, CD<sub>3</sub>OD) du composé TAF<sub>1</sub>.

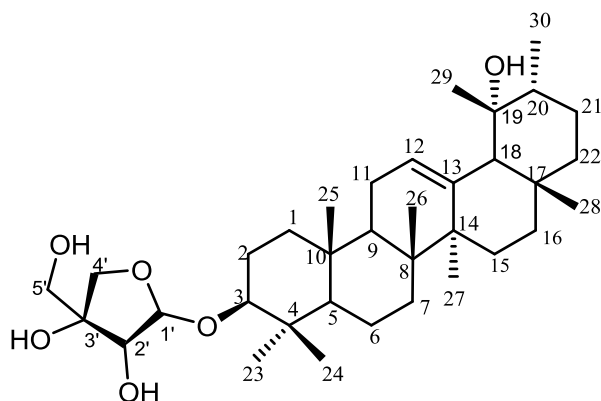


**Figure 27** : Spectre NOESY (500 MHz, CD<sub>3</sub>OD) du composé TAF<sub>1</sub>.



**Figure 28** : Corrélations HMBC (a) et NOESY (b) du composé TAF<sub>1</sub>.

Sur la base de ces résultats, la structure du composé **TAF<sub>1</sub>** a été identifié comme étant le **3-O-β-(α-D-apirofuranosyl-(1-3)) 19α-hydroxy-α-amyrine** qui est un triterpène de type ursane ; composé naturel nouvellement décrit auquel nous avons donné le nom trivial **Atheruroside A**.



**Atheruroside A**  
**(146)**

Tableau VII : Données RMN <sup>1</sup>H (500 MHz et <sup>13</sup>C, 125 MHz, CD<sub>3</sub>OD) partie aglycone de TAF<sub>1</sub>.

Position	$\delta_H$ ( <i>J</i> en Hz)	$\delta_C$	HMBC (H → C)
<b>Aglycone</b>			
1	1,62 (1H, <i>m</i> ) 0,97 (1H, <i>m</i> )	39,2	
2	1,75 (1H, <i>m</i> ) 1,50 (1H, <i>m</i> )	26,6	
3	3,03 (1H, <i>dd</i> <i>J</i> = 9,5 et 3,5 Hz)	89,4	C-1'
4	-	39,9	
5	0,79 (1H, <i>m</i> )	56,9	
6	1,53 (1H, <i>m</i> )	19,6	
7	1,55 (1H, <i>m</i> )	34,1	
8	-	41,5	
9	1,68 (1H, <i>m</i> )	48,8	
10	-	39,6	C-12
11	1,95 (1H, <i>m</i> )	24,5	
12	5,27 (1H, <i>m</i> )	129,4	C-18; C-14
13	-	140,0	
14	-	42,3	
15	1,80 (1H, <i>m</i> )	29,4	
16	1,60 (1H, <i>m</i> )	27,2	
17	-	42,7	
18	2,49 (1H, <i>m</i> )	55,0	C-13; C-19; C-20
19	-	73,5	
20	1,34 (1H, <i>m</i> )	42,9	
21	1,62 (1H, <i>m</i> )	26,8	
22	1,70 (1H, <i>m</i> )	38,9	
23	0,98 (3H, <i>s</i> )	28,3	C-24; C-5
24	0,80 (3H, <i>s</i> )	17,1	C-3; C-5
25	0,94 (3H, <i>s</i> )	16,1	
26	0,78 (3H, <i>s</i> )	17,3	
27	1,32 (3H, <i>s</i> )	24,6	C-13
28	0,92 (3H, <i>s</i> )	16,4	C-17; C-22
29	1,18 (3H, <i>s</i> )	27,0	C-19; C-18
30	0,91 (3H, <i>d</i> ; <i>J</i> = 6,3 Hz)	16,5	C-19
<b>Sucre</b>			
1'	4,97 (1H, <i>d</i> , <i>J</i> = 2,8 Hz)	112,5	C-3
2'	3,83 (1H, <i>m</i> )	78,1	C-1'; C-3'
3'	-	80,1	
4'	3,98- 3,71 (1H, <i>d</i> , <i>J</i> = 8,0 Hz)	74,4	C-3'; C-5'
5'	3,56 (2H, <i>d</i> , <i>J</i> = 5,5 Hz)	65,5	C-3'

### 2.1.2.2. Détermination structurale du composé TAF<sub>2</sub>

Le composé TAF<sub>2</sub> est obtenu sous forme de poudre blanche amorphe. Il répond positivement au test de Liebermann- Burchard caractéristique des triterpènes (Golembiewska et al., 2013). Son spectre de masse LC-ESI-MS exhibe le pic de l'ion *pseudo*- moléculaire à  $m/z$  575,4068 [M+H]<sup>+</sup> correspondant à la formule brute C<sub>35</sub>H<sub>58</sub>O<sub>6</sub> (calculée pour C<sub>35</sub>H<sub>58</sub>O<sub>6</sub> : 575,4075) ce qui correspond à 07 degrés d'insaturations.

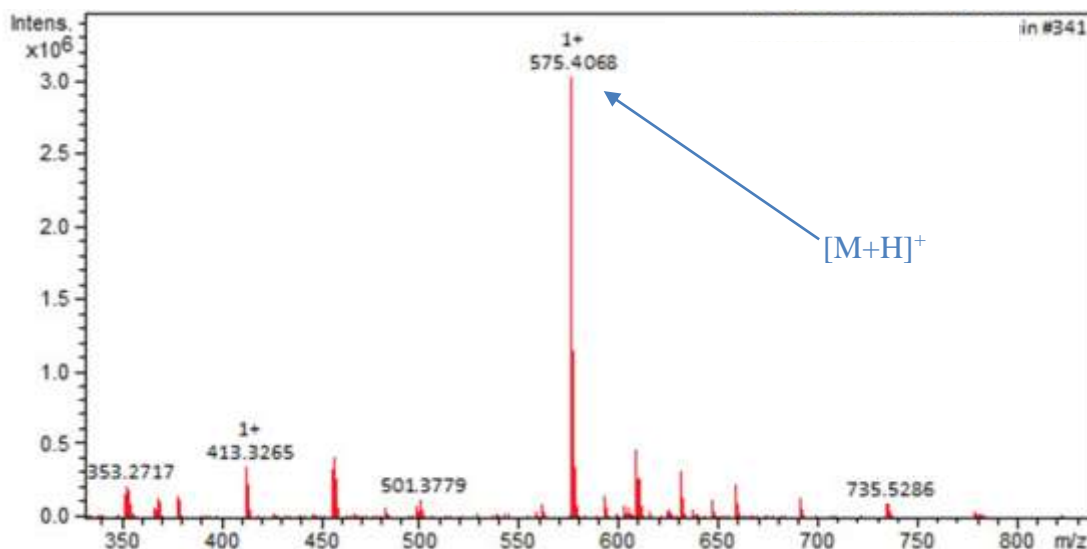
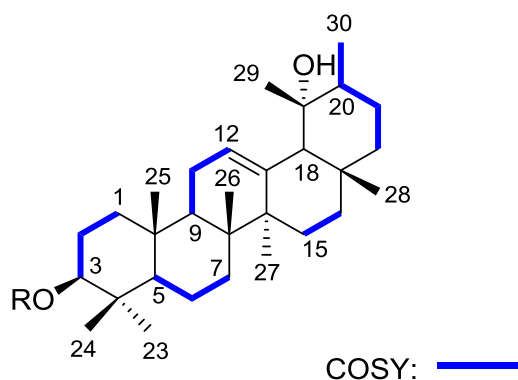


Figure 29 : Spectre de masse LC-ESI-MS du composé TAF<sub>2</sub>.

La comparaison des valeurs des déplacements chimiques observées pour l'aglycone de TAF<sub>1</sub> avec celles obtenues dans le composé TAF<sub>2</sub> montrent que ces deux composés partagent le même aglycone, à savoir **19 $\alpha$ -hydroxy- $\alpha$ -amyrine** (Akbar et Malik, 2002).

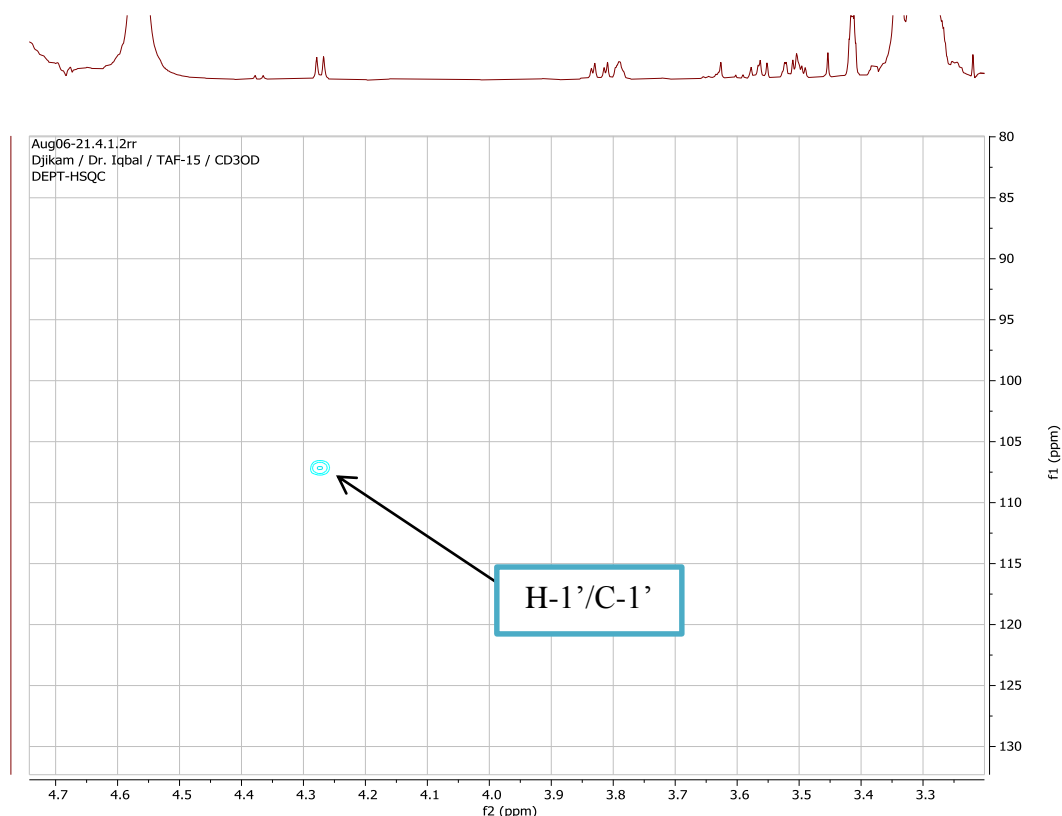
Une analyse approfondie des expériences de RMN 1D et 2D de TAF<sub>2</sub> nous a permis d'attribuer tous les signaux des protons et des carbones de l'aglycone qui est un squelette de type ursane (**Tableau 11**).



Sous structure 1

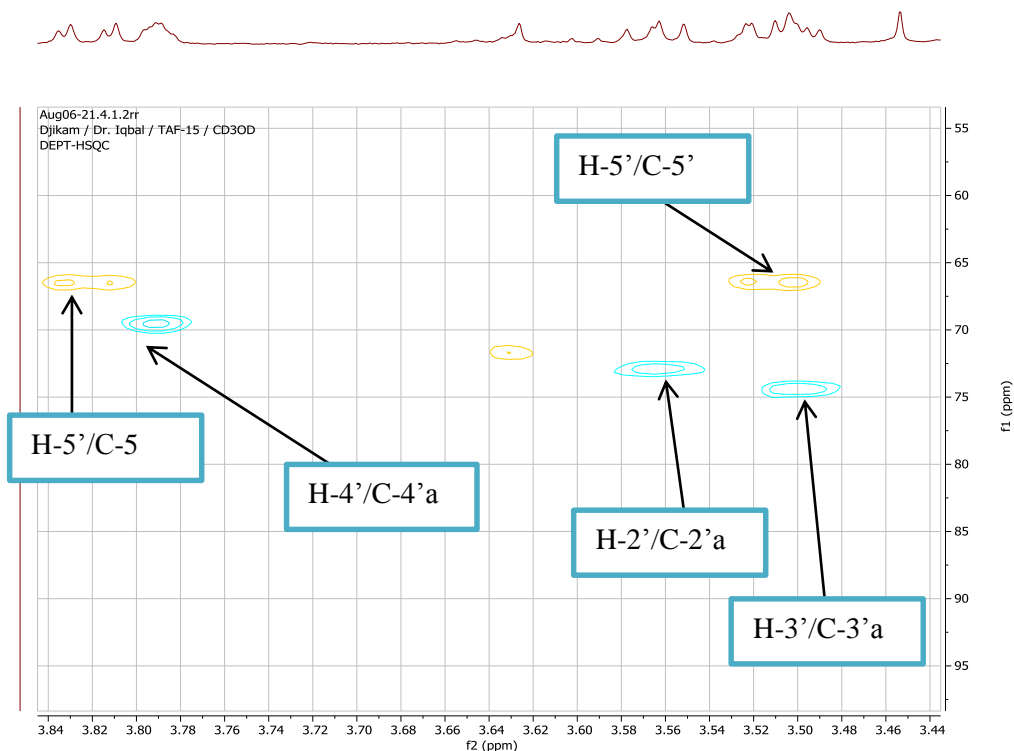
La nature du sucre a été déterminée par hydrolyse acide suivie d'une CCM comparative avec un échantillon authentique disponible au laboratoire et par comparaison avec les données de la littérature. Ainsi le D-xylose a été identifié.

L'analyse du spectre de RMN  $^1\text{H}$  de  $\text{TAF}_2$  permet de distinguer un signal de proton anomérique résonnant à  $\delta_{\text{H}}$  4,27 (*d*;  $J = 2,8$  Hz, H-1'), et qui corrèle sur le spectre HSQC avec le carbone à  $\delta_{\text{C}}$  107,1 (C-1'), ce qui prouve la présence d'un sucre (**Fig. 30**).



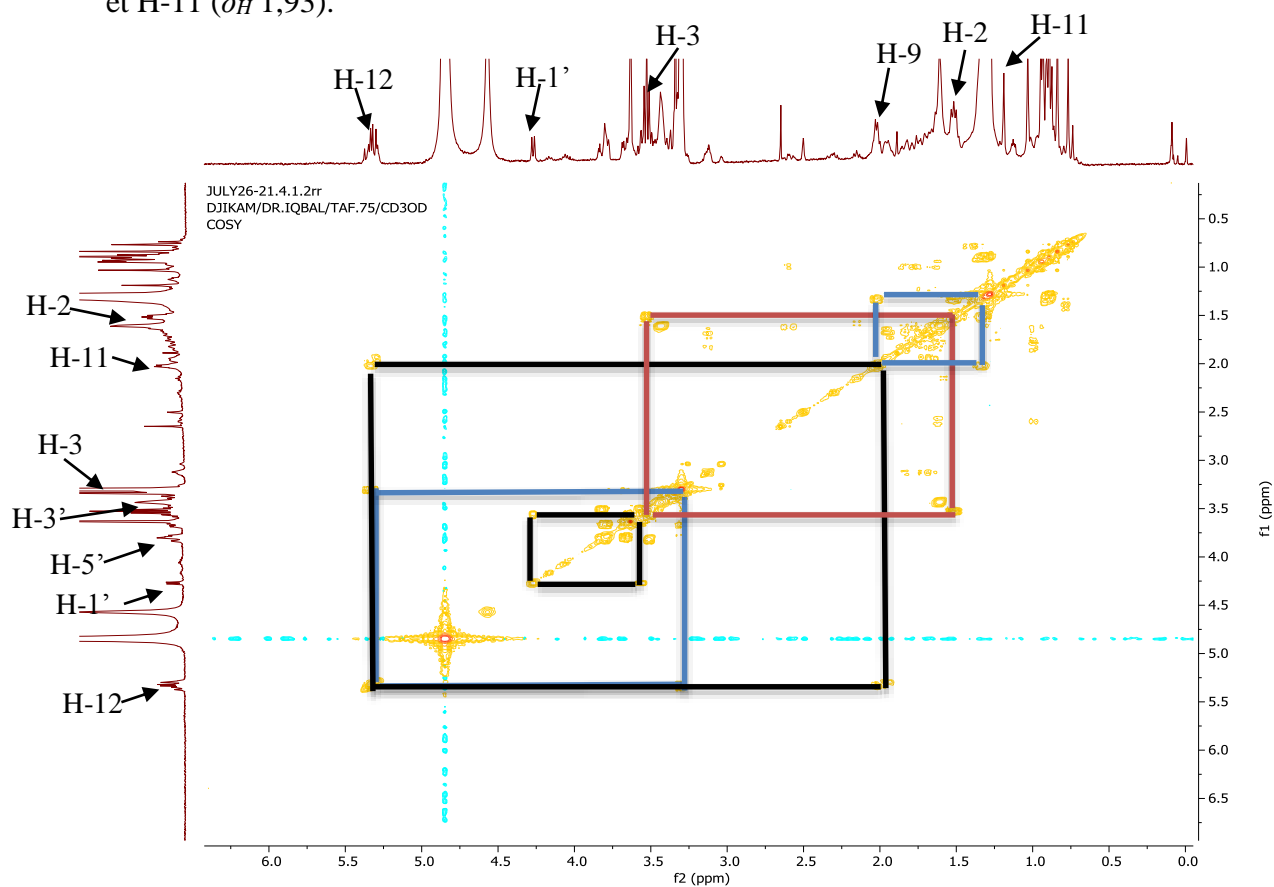
**Figure 30** : Spectre HSQC élargi (500 MHz,  $\text{CD}_3\text{OD}$ ) montrant le signal de l'anomère du composé  $\text{TAF}_2$ .

Tous les protons du sucre ont été identifiés par une analyse approfondie des spectres COSY, HSQC, et HMBC. Leurs carbones correspondants ont été, quant à eux, attribués sur la base des corrélations observées sur le spectre HSQC et confirmé par le spectre HMBC. En effet, l'analyse de son spectre de RMN  $^1\text{H}$  permet de distinguer quatre signaux de protons osidiques résonnant à  $\delta_{\text{H}}$  3,56 (H-2') ; 3,51 (H-3') ; 3,79 (H-4') ; 3,81-3,50 (H-5'a et H-5'b) ; et qui corrèlent sur le spectre HSQC avec les carbones à  $\delta_{\text{C}}$  72,8 (C-2') ; 74,3 (C-3') ; 69,3 (C-4') ; 66,3 (C-5') (Evina *et al.*, 2017).



**Figure 31** : Spectre HSQC élargi (500 MHz, CD<sub>3</sub>OD) montrant les signaux osidiques du composé TAF<sub>2</sub>.

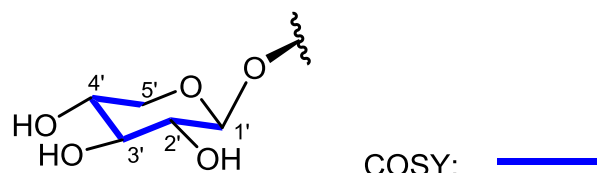
L'analyse de son spectre COSY <sup>1</sup>H-<sup>1</sup>H présente des corrélations entre H-12 ( $\delta_H$  5,27) et H-11 ( $\delta_H$  1,93) ; H-1' ( $\delta_H$  4,27) et H-3 ( $\delta_H$  3,12) ; H-3 ( $\delta_H$  3,12) et H-2 ( $\delta_H$  1,68) ; H-9 ( $\delta_H$  1,67) et H-11 ( $\delta_H$  1,93).



**Figure 32** : Spectre COSY élargi (500 MHz, CD<sub>3</sub>OD) du composé TAF<sub>2</sub>.

La configuration  $\beta$  a été attribuée au proton anomérique de Xyl sur la base de sa constante de couplage  $J=8,0$  Hz (Evina et al., 2017).

L'exploitation de ces corrélations (COSY) combinées à celles observées sur le spectre HSQC a permis de déduire la sous structure suivante :

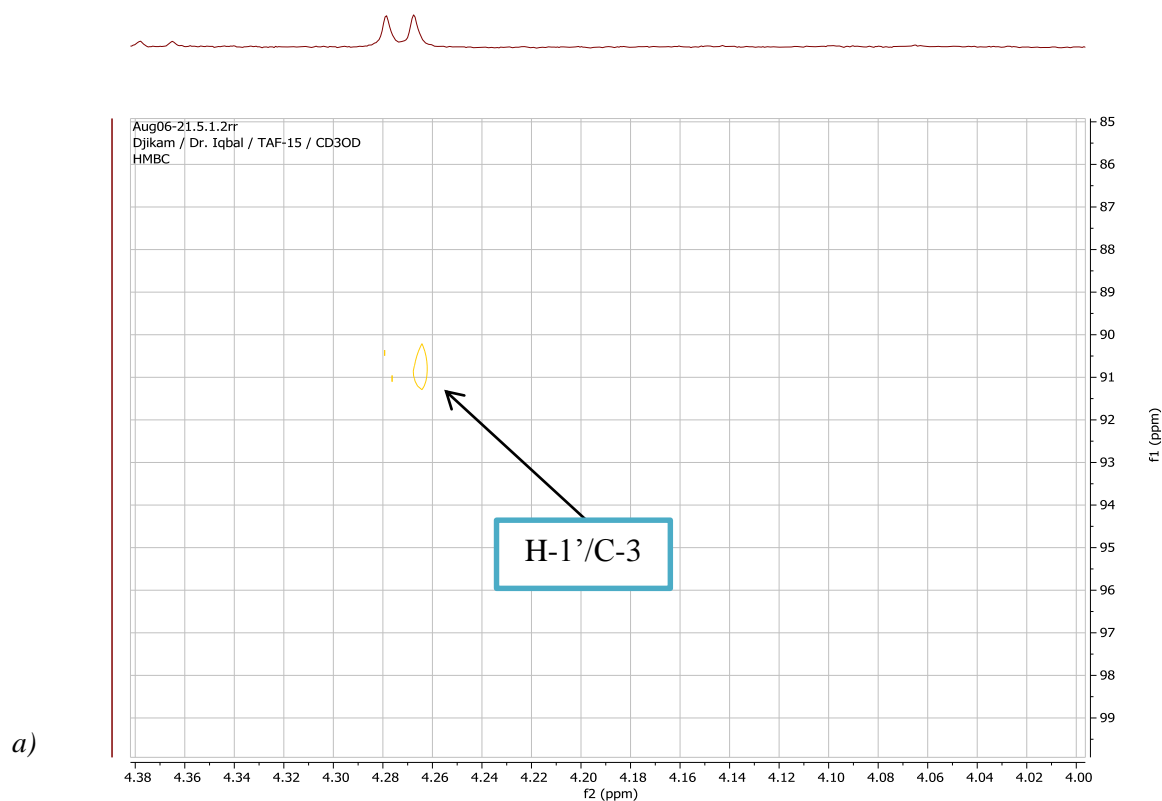


### Sous structure 2

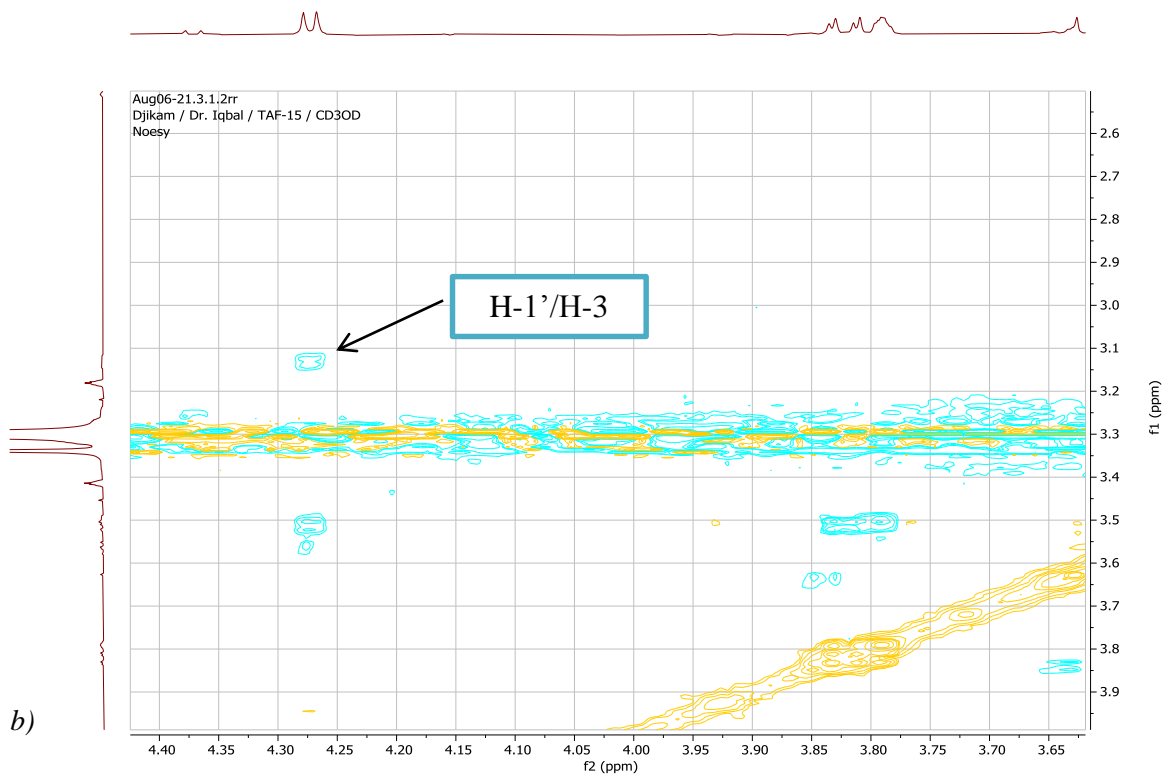
L'analyse des spectres HMBC et NOESY nous a permis de déterminer le point de jonction du sucre sur l'aglycone.

L'observation dans le spectre RMN  $^{13}\text{C}$  d'un signal de carbone à  $\delta_C$  90,7 (C-3) indique que **TAF<sub>2</sub>** est un dérivé mono-osidique du 19 $\alpha$ - hydroxy- $\alpha$ - amyryne ayant une chaîne monosaccharidique attachée en C-3 de l'aglycone au moyen d'une liaison éther.

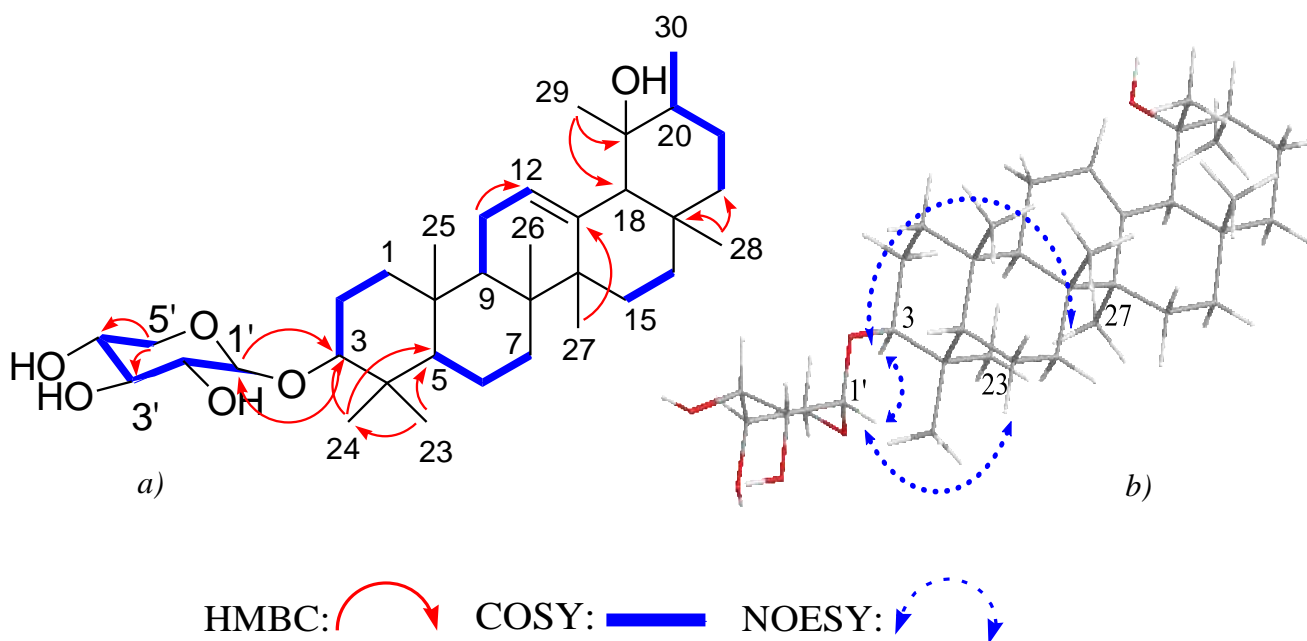
La corrélation observée dans le spectre HMBC entre le signal à  $\delta_H$  4,27 (H-1' de Xyl) et le carbone à  $\delta_C$  90,7 (C-3 de l'aglycone) suggère que le Xyl est lié à la génine en position 3 ; cette liaison est confirmée par la corrélation observée dans le spectre NOESY entre les signaux à  $\delta_H$  4,27 (H-1' Xyl) et  $\delta_H$  3,12 (H-3 de l'aglycone).



**Figure 33** : Spectre HMBC (a) (500 MHz, CD<sub>3</sub>OD) du composé TAF<sub>2</sub>.



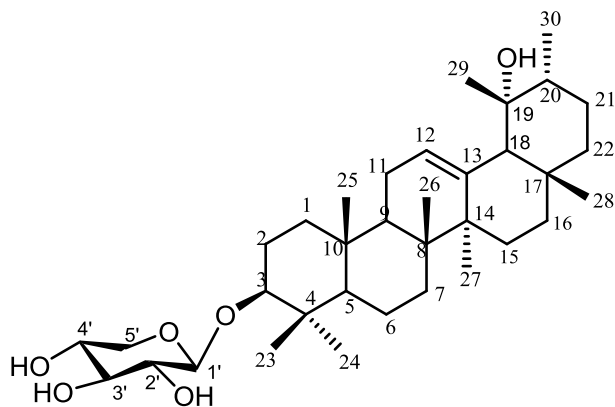
**Figure 34** : Spectre NOESY(b) (500 MHz, CD<sub>3</sub>OD) du composé TAF<sub>2</sub>.



**Figure 35** : Corrélations HMBC (a) et NOESY (b) du composé TAF<sub>2</sub>.



Au vu des résultats obtenus, la structure du composé **TAF<sub>2</sub>** a été élucidée à **3-O-β-(D-xylofuranosyl-(1→3) - 19α-hydroxy-α- amyrine** qui est un triterpène de type ursane ; composé naturel nouvellement décrit, auquel nous avons donné le nom trivial **Atheruroside B**.



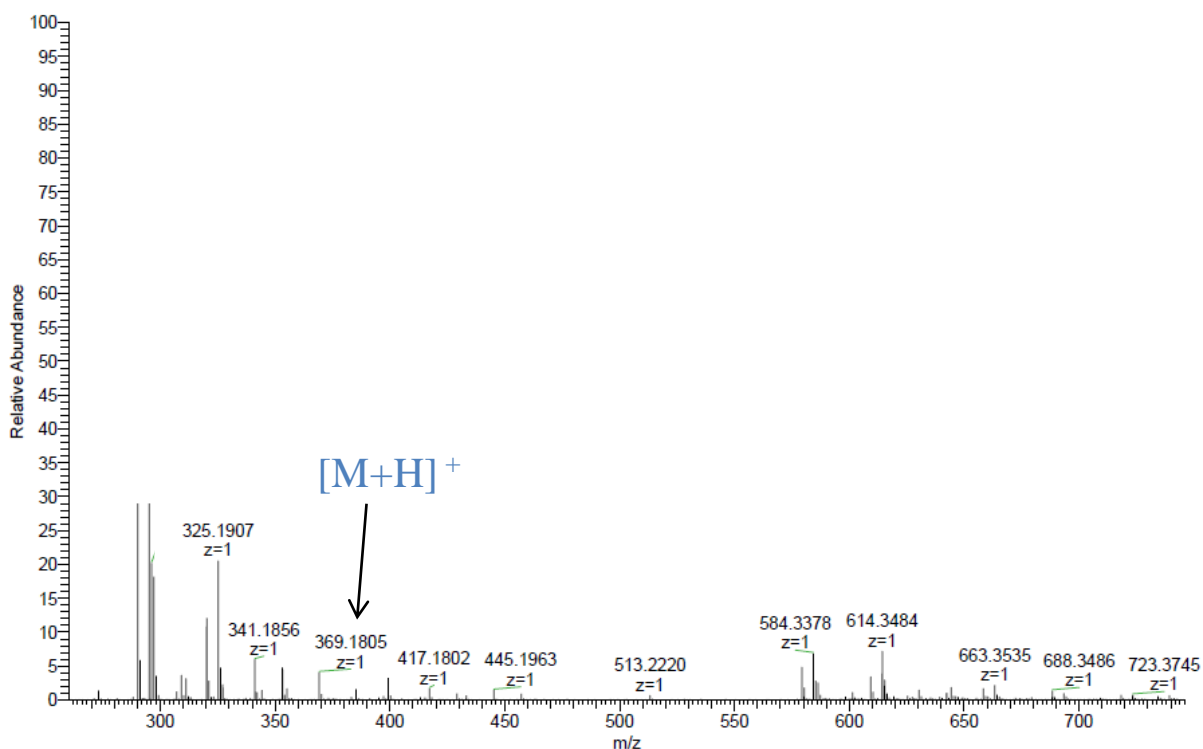
**Atheruroside B (147)**

**Tableau VIII** : Données RMN ( $^1\text{H}$ , 500 MHz et  $^{13}\text{C}$ , 125 MHz,  $\text{CD}_3\text{OD}$ ) de  $\text{TAF}_2$ .

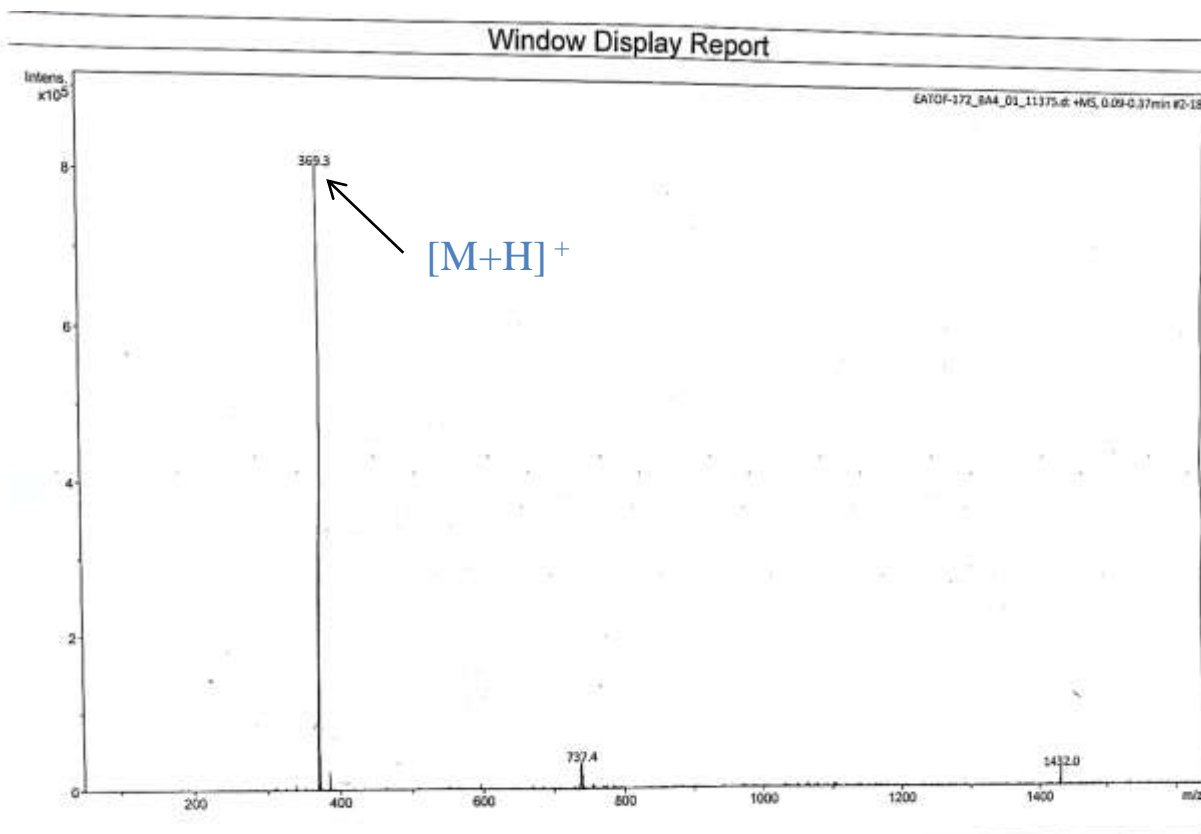
Position	$\delta_{\text{H}}$ ( $J$ en Hz)	$\delta_{\text{C}}$	HMBC (H $\rightarrow$ C)
<b>Aglycone</b>			
1	1,76 (1H, <i>m</i> ) 1,60 (1H, <i>m</i> )	38,1	
2	1,81 (1H, <i>m</i> ) 1,68 (1H, <i>m</i> )	26,8	
3	3,12 (1H, <i>m</i> )	90,7	C-1'
4	-	40,1	
5	0,78 (1H, <i>m</i> )	57,1	
6	1,52 (1H, <i>m</i> )	19,3	
7	1,51 (1H, <i>m</i> )	33,6	
8	-	41,3	
9	1,67 (1H, <i>m</i> )	48,7	
10	-	39,7	C-12
11	1,93 (1H, <i>m</i> )	24,6	
12	5,27 (1H, <i>m</i> )	129,3	
13	-	140,2	
14	-	42,3	
15	1,00 (1H, <i>m</i> )	29,5	
16	1,83 (1H, <i>m</i> ) 1,32 (1H, <i>m</i> )	26,9	
17	-	42,9	
18	2,51 (1H, <i>m</i> )	55,1	
19	-	73,7	
20	1,33 (1H, <i>m</i> )	42,9	
21	1,31 (1H, <i>m</i> )	28,2	
22	2,17 (1H, <i>m</i> ) 2,29 (1H, <i>m</i> )	35,8	
23	0,98 (3H, <i>s</i> )	28,3	C-24; C-5
24	0,80 (3H, <i>s</i> )	17,1	C-3; C-5
25	0,94 (3H, <i>s</i> )	16,1	
26	0,78 (3H, <i>s</i> )	17,3	
27	1,32 (3H, <i>s</i> )	24,6	C-13
28	0,92 (3H, <i>s</i> )	16,4	C-17; C-22
29	1,18 (3H, <i>s</i> )	27,0	C-19; C-18
30	0,91 (3H, <i>d</i> , $J = 6,3$ Hz)	16,5	
<b>Sucre</b>			
1'	4,27 (1H, <i>d</i> , $J = 8,0$ Hz)	107,1	C-3
2'	3,56 (1H, <i>m</i> )	72,8	
3'	3,51 (1H, <i>m</i> )	74,3	
4'	3,79 (1H, <i>m</i> )	69,3	
5'	3,81- 3,50 (1H, <i>m</i> )	66,3	C-3'; C-4'

### 2.1.2.3. Détermination structurale du composé TAF<sub>3</sub>

Le composé TAF<sub>3</sub> est obtenu sous la forme d'une poudre blanche amorphe. Il répond positivement au test de Dragendorff, caractéristique des alcaloïdes. Son spectre IR montre deux absorptions à 3385 et 1678 cm<sup>-1</sup> caractéristique des fonctions Hydroxyle et carbonyle respectivement. L'analyse de son spectre UV présente les bandes d'absorptions aux longueurs d'ondes  $\lambda_{\text{max}}$  225 et 290 nm indicateur d'un chromophore indolique (Brown et Charalambides, 1974). L'analyse de ses spectres de masse HR-ESI-MS (**Fig. 35**) et ESI-SM (**Fig. 36**), en mode positif montre le pic de l'ion *pseudo* moléculaire à  $m/z$  369,1805 [M+H]<sup>+</sup> correspondant à la formule brute C<sub>21</sub>H<sub>24</sub>N<sub>2</sub>O<sub>4</sub>, [calculée pour C<sub>21</sub>H<sub>24</sub>N<sub>2</sub>O<sub>4</sub> : 369,1809] ce qui correspond à 11 degrés d'insaturations.

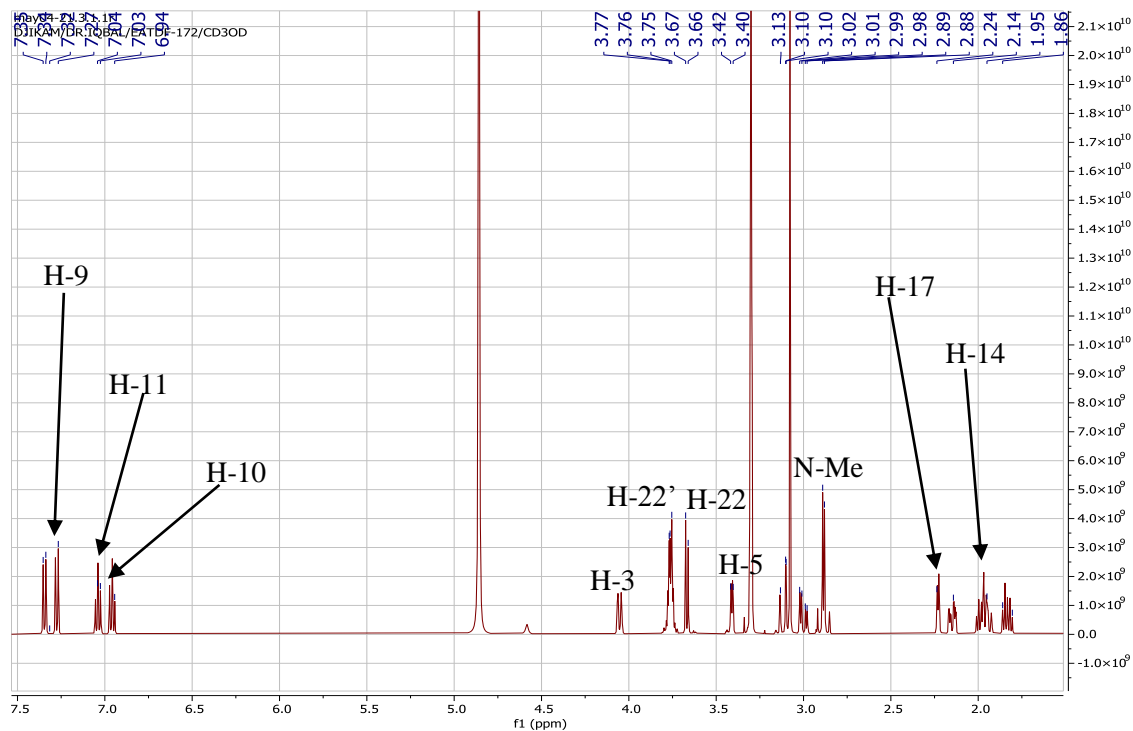


**Figure 36** : Spectre de masse HR-ESI-MS du composé TAF<sub>3</sub>.



**Figure 37** : Spectre de masse ESI-MS du composé TAF<sub>3</sub>.

Le spectre RMN <sup>1</sup>H (**Fig. 38**) de TAF<sub>3</sub> indique la présence de quatre signaux de protons aromatique correspondant à un noyau indolique disubstitué à  $\delta_H$  7,36 (1H, *d*, *J* = 8,0 Hz, H-9) ; 6,96 (1H, *dd*, *J* = 8,0 ; 7,8 Hz, H-10) ; 7,04 (1H, *dd*, *J* = 8,0 ; 7,6 Hz, H-11) ; 7,27 (1H, *d*, *J* = 8,5 Hz, H-12).



**Figure 38** : Spectre RMN <sup>1</sup>H global (500 MHz, CD<sub>3</sub>OD) du composé TAF<sub>3</sub>.

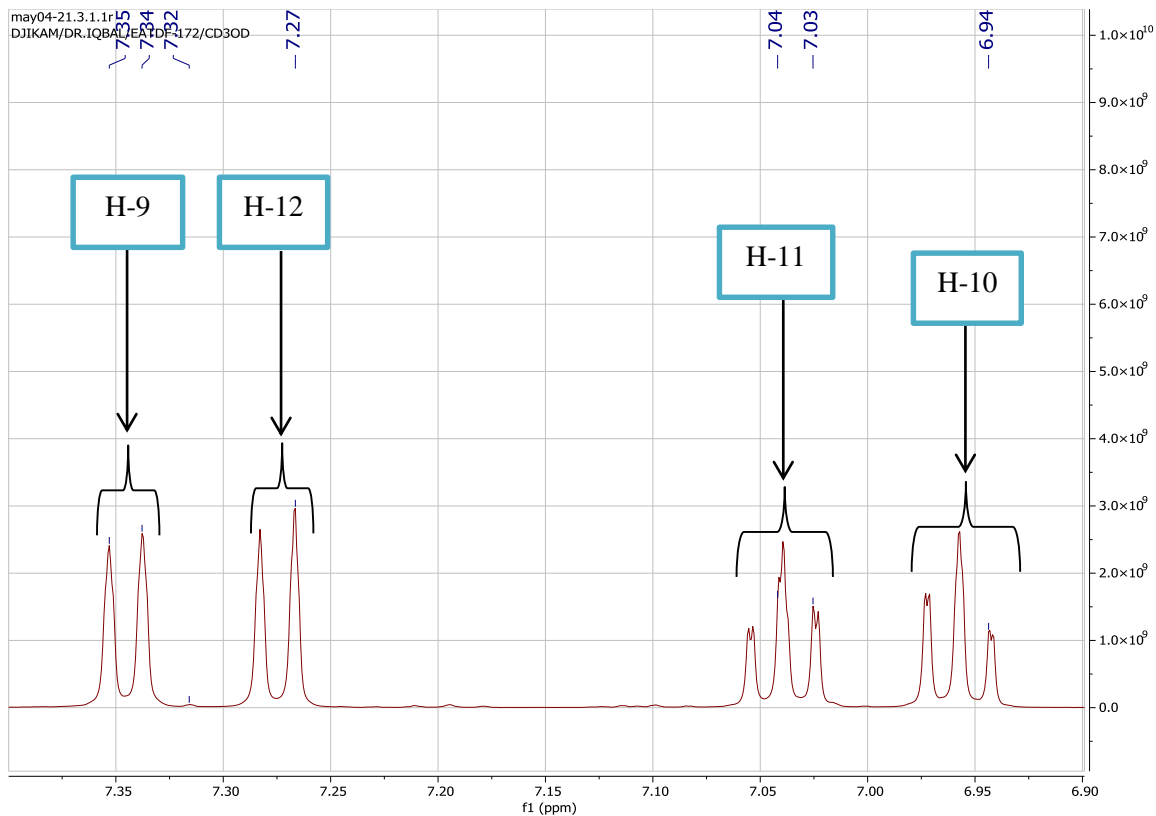


Figure 39 : Spectre RMN  $^1\text{H}$  élargi (500 MHz, CD<sub>3</sub>OD) du composé TAF<sub>3</sub>.

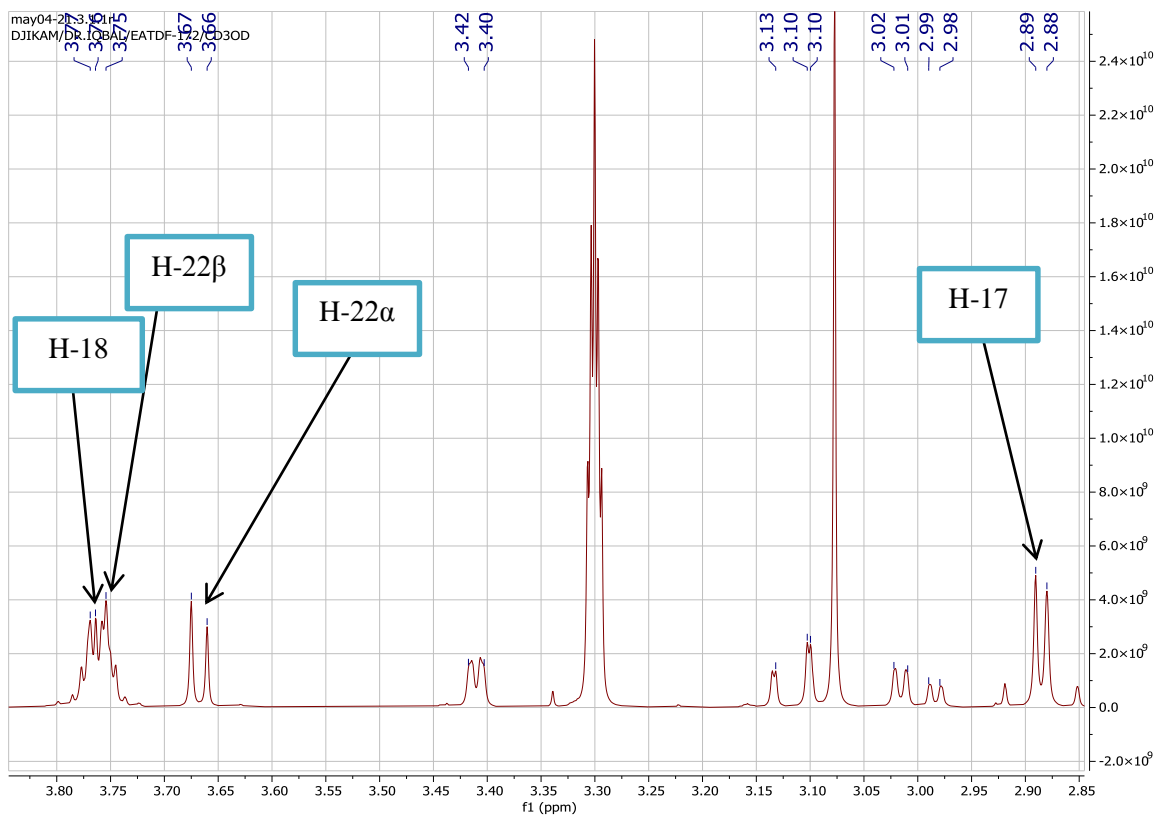
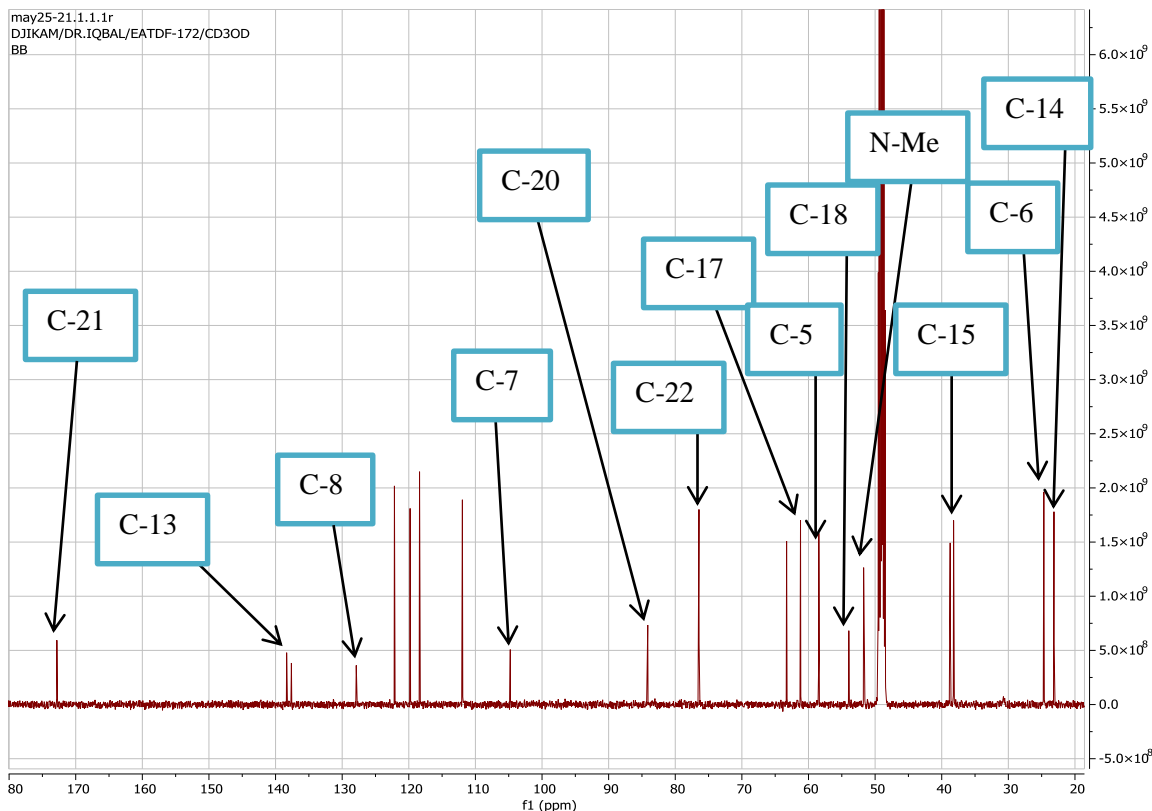


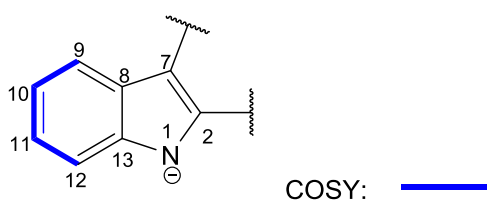
Figure 40 : Spectre RMN  $^1\text{H}$  élargi (500 MHz, CD<sub>3</sub>OD) du composé TAF<sub>3</sub>.

L'analyse du spectre de RMN  $^{13}\text{C}$  découplé proton large bande, nous permet de distinguer les signaux des carbones quaternaires  $\text{sp}^2$  à  $\delta_{\text{C}}$  137,6 (C-2) ; 104,7 (C-7) ; 127,8 (C-8) et 138,3 (C-13) ; quatre méthines  $\text{sp}^2$  à  $\delta_{\text{C}}$  118,4 (C-9) ; 119,7 (C-10) ; 122,1 (C-11) et 111,9 (C-12) caractéristique d'un alcaloïde indolique. On observe également le signal d'un *N*-méthyl à  $\delta_{\text{C}}$  51,6.



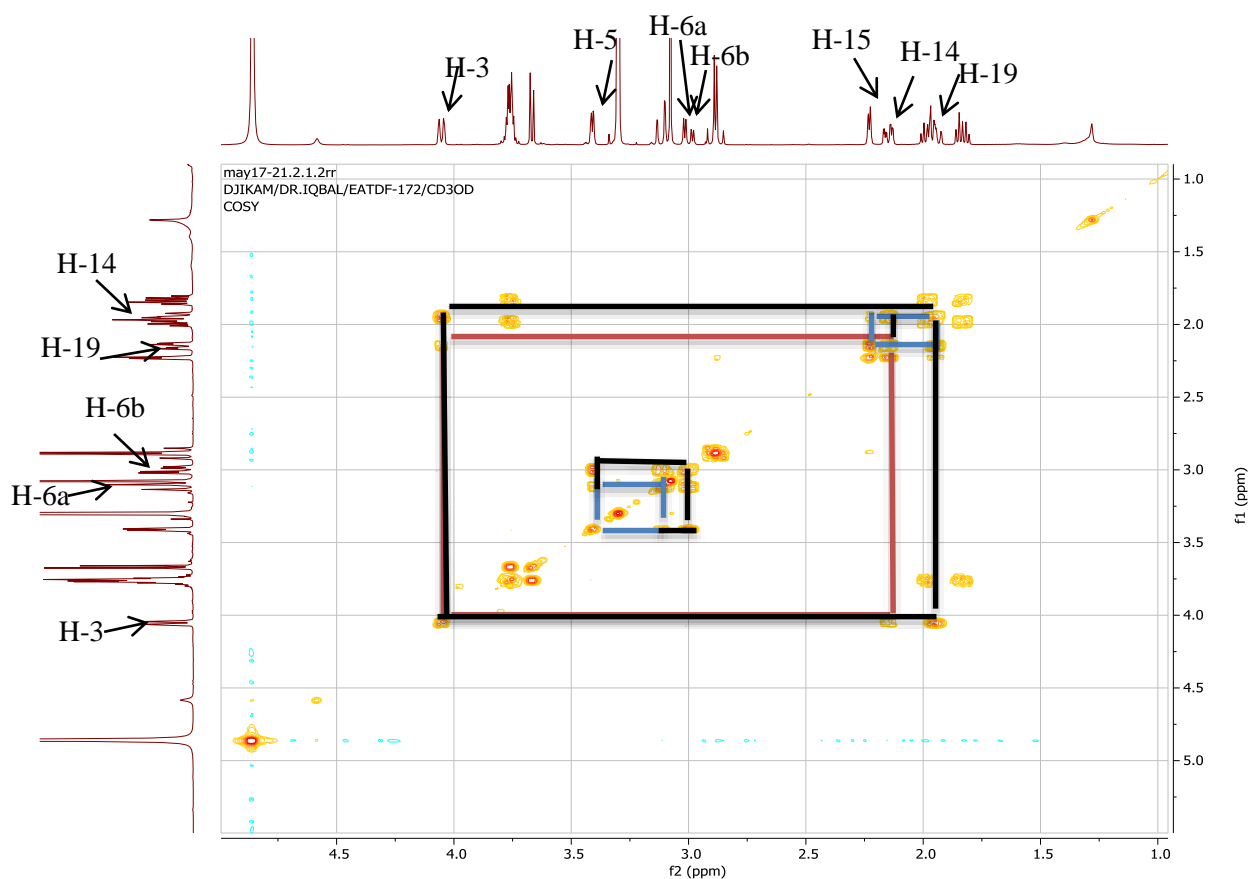
**Figure 41** : Spectre de RMN  $^{13}\text{C}$  (125 MHz,  $\text{CD}_3\text{OD}$ ) de  $\text{TAF}_3$ .

L'analyse des données des spectres RMN  $^1\text{H}$  et  $^{13}\text{C}$  de  $\text{TAF}_3$  a permis de ressortir la sous structure suivante :



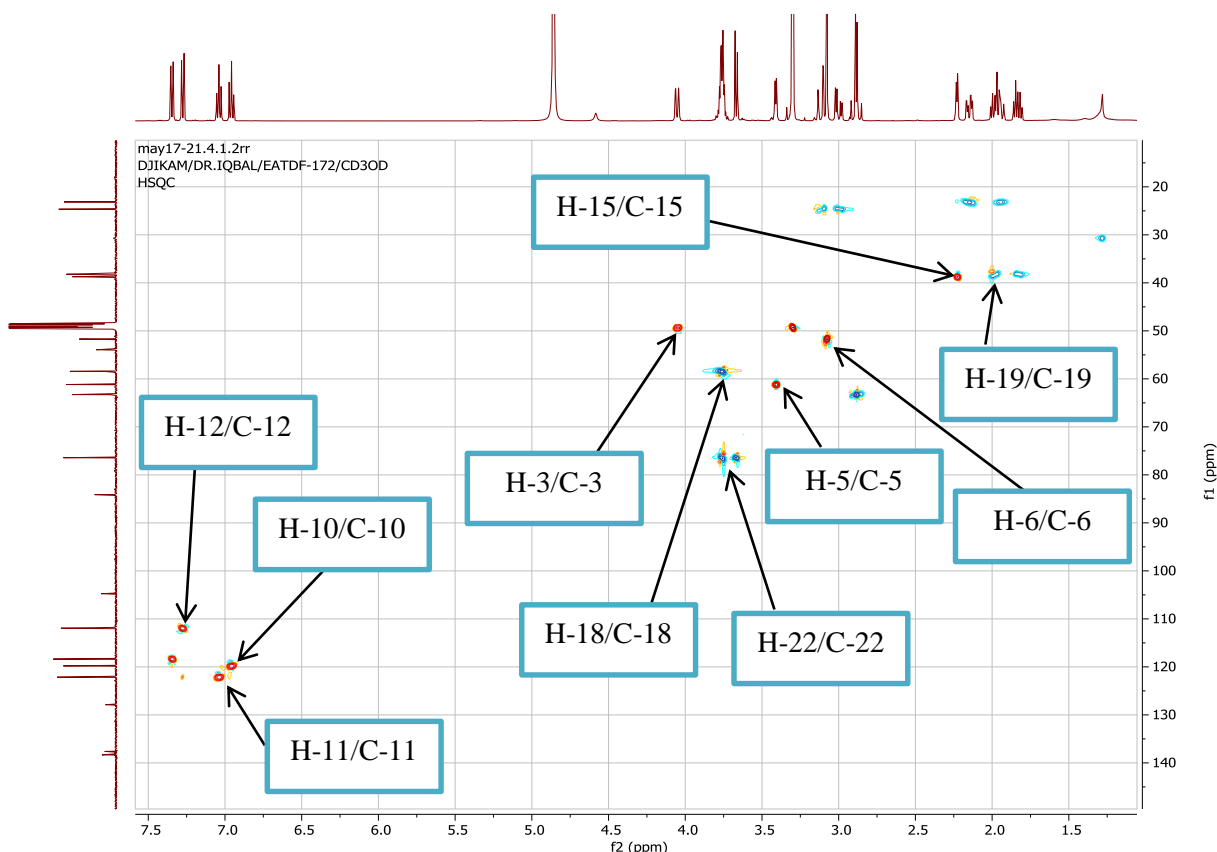
**Sous structure 1**

L'analyse de son spectre COSY  $^1\text{H}$ - $^1\text{H}$  permet de déduire les liaisons et sous structures du composé  $\text{TAF}_3$ . En effet, on observe des corrélations entre H-5 ( $\delta_{\text{H}}$  3,4) et H-6 ( $\delta_{\text{H}}$  3,09) ; H-3 ( $\delta_{\text{H}}$  4,04) et H-14 ( $\delta_{\text{H}}$  1,95 et 2,14) ; H-18 ( $\delta_{\text{H}}$  3,76) et H-19 ( $\delta_{\text{H}}$  1,82 et 1,98) ; H-15 ( $\delta_{\text{H}}$  2,22) et H-14 ( $\delta_{\text{H}}$  1,95 et 2,14) ; H-17 ( $\delta_{\text{H}}$  2,88) et H-22 ( $\delta_{\text{H}}$  3,5) ; enfin, entre H-17 ( $\delta_{\text{H}}$  2,88) et H-15 ( $\delta_{\text{H}}$  2,22).



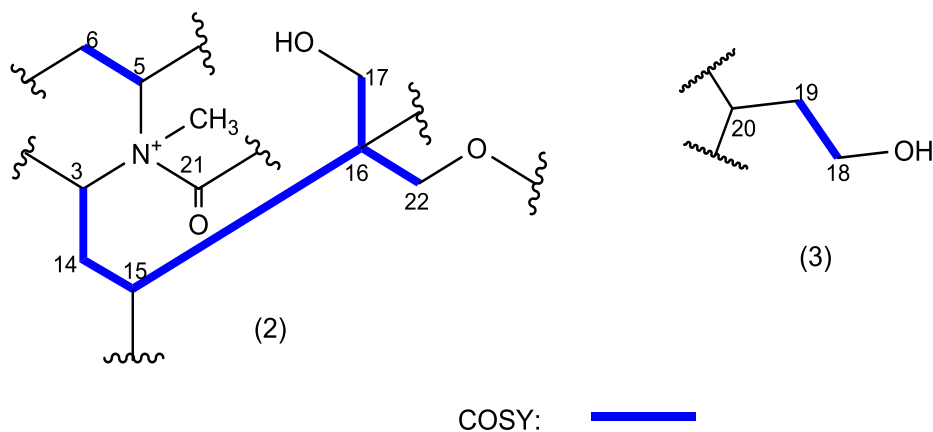
**Figure 42** : Spectre COSY (500 MHz, CD<sub>3</sub>OD) du composé TAF<sub>3</sub>.

Sur son spectre HSQC, on observe les corrélations entre H-5 ( $\delta_H$  2,22) et C-5 ( $\delta_C$  61,2) ; H-6 ( $\delta_H$  3,00- 3,09) et C-6 ( $\delta_C$  24,6) ; H-3 ( $\delta_H$  4,04) et C-3 ( $\delta_C$  49,2) ; H-15 ( $\delta_H$  2,22) et C-15 ( $\delta_C$  38,6) ; H-17 ( $\delta_H$  2,88) et C-17 ( $\delta_C$  63,2) ; H-18 ( $\delta_H$  3,76) et C-18 ( $\delta_C$  58,3) ; H-19 ( $\delta_H$  1,82- 1,98) et C-19 ( $\delta_C$  38,1) enfin entre H-22 ( $\delta_H$  23,5- 3,67) et C-22 ( $\delta_C$  76,3).



**Figure 43** : Spectre HSQC (500 MHz, CD<sub>3</sub>OD) du composé TAF<sub>3</sub>.

L'exploitation des corrélations COSY combinées à celles observées sur le spectre HSQC a permis de déduire les sous structures suivantes :



### Sous structure 2 et 3

L'analyse des spectres HMBC et NOESY a permis d'établir les liaisons entre les sous structures sus citées. En effet, sur le spectre HMBC (**Fig. 44**), on observe des corrélations entre les protons à  $\delta_H$  2,22 (H-15) ; 3,41 (H-5) et le carbone à  $\delta_C$  172,8 ; entre les protons à  $\delta_H$  3,76 (H-18) ; 2,85 (H-17) ; 2,22 (H-15) ; 2,14 (H-14) ; 1,97 (H-19 $\beta$ ) et 1,82 (H-19 $\alpha$ ) et le carbone à  $\delta_C$  84,1 (C-20). De plus, un exocycle est observé sur le composé TAF<sub>3</sub> dont la position est justifiée sur le spectre HMBC entre les protons à  $\delta_H$  6,67 et 3,75 (H-22  $\alpha$  et H-22 $\beta$ ) et les carbones à  $\delta_C$  84,1 (C-20) ; 53,9 (C-16) et 38,6 (C-15) ; entre le



proton à  $\delta_H$  2,22 (H-15) et le carbone à  $\delta_C$  84,1 (C-20) et 38,1 (C-19). Ce qui a permis de confirmer les caractéristiques structurales et les groupes fonctionnels (C(16)-CH<sub>2</sub>OH ; C(19)-CH<sub>2</sub>OH et C(20)-CO-), indiquant que TAF<sub>3</sub> est apparenté au *N*-méthylakuammidine (Noguera *et al.*, 2014). Les principales différences ont été observées sur le fragment oxyéthylène et oxyméthylène en C-20 et C-22 respectivement au lieu d'une double liaison entre C-18 et C-19 et d'une fonction carboxyle en C-22 respectivement, dans le *N*-méthylakuammidine.

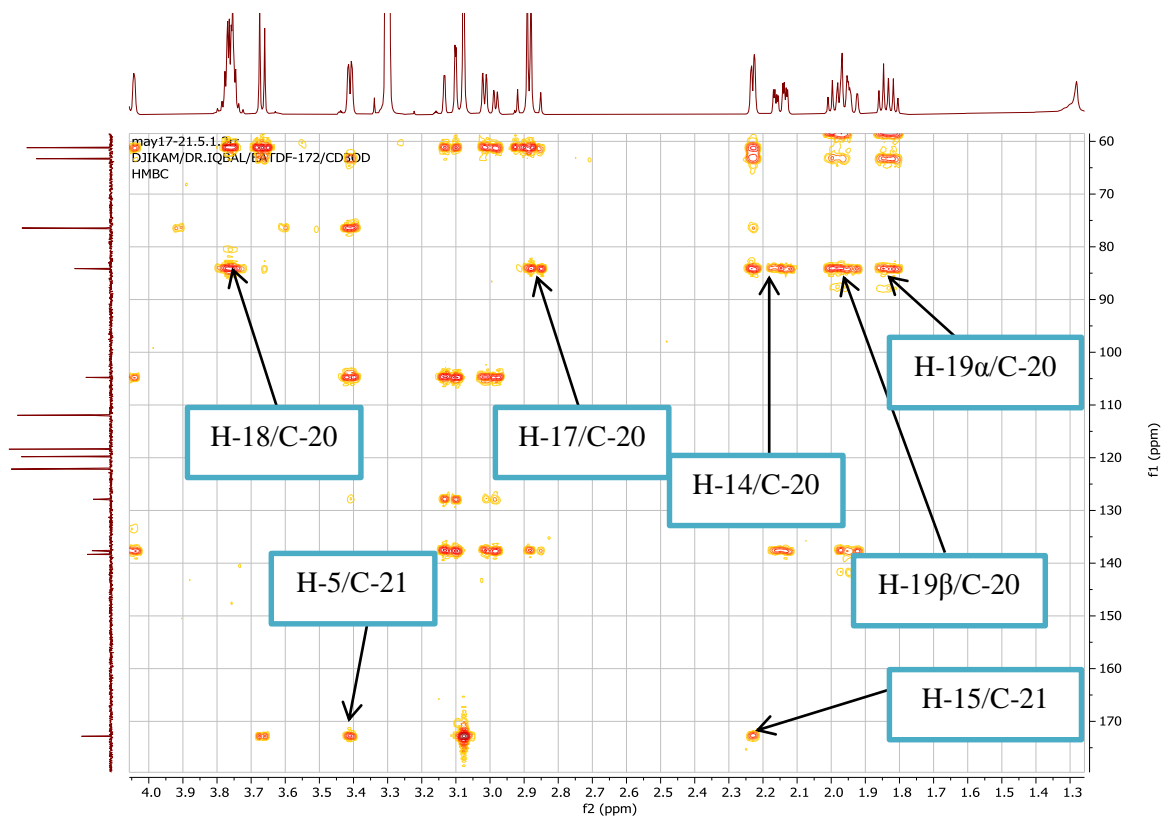


Figure 44 : Spectre HMBC (500 MHz, CD<sub>3</sub>OD) du composé TAF<sub>3</sub>.

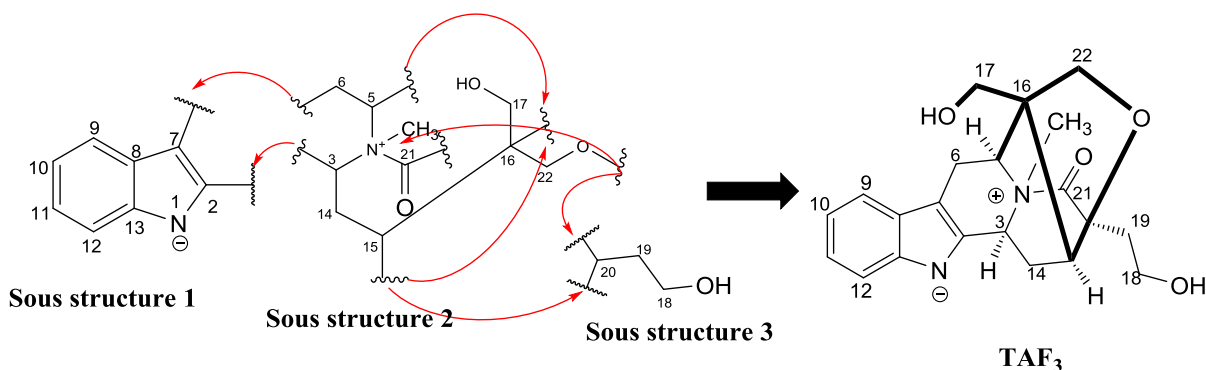
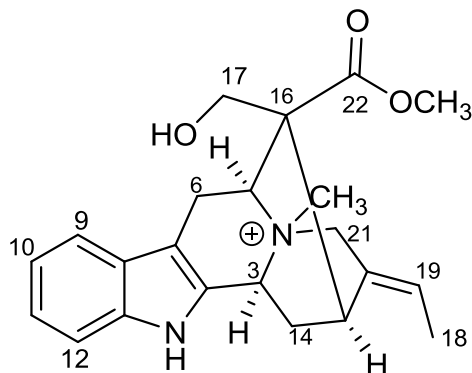


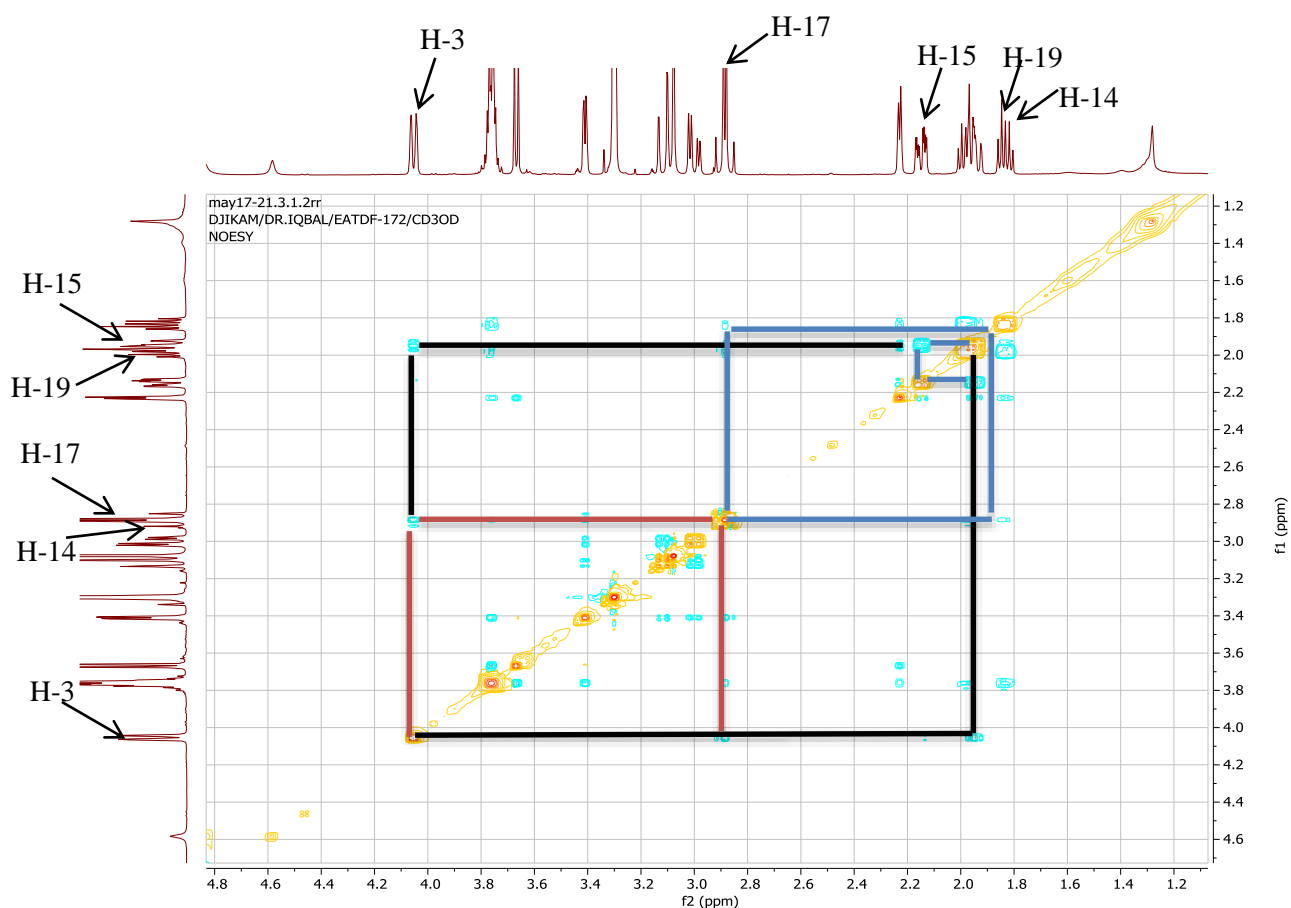
Schéma 8 : Connexion des sous structures de TAF<sub>3</sub> sur la base des corrélations HMBC.

Sur la base des analyses ci-dessus, le composé **TAF<sub>3</sub>** est déduit comme étant un zwitterion, justifié par les informations sur les atomes de carbone décalés vers le haut (C-3 et C-5  $\delta_C$  : 49,2 et 61,2) et voisins des charges azotées de **TAF<sub>3</sub>** par rapport à celle de la *N*-méthylakuammidine (C-3 et C-5  $\delta_C$  : 60,7 et 66,3 décalés vers le bas due à l'effet attracteur de l'atome d'azote positif en N-4).

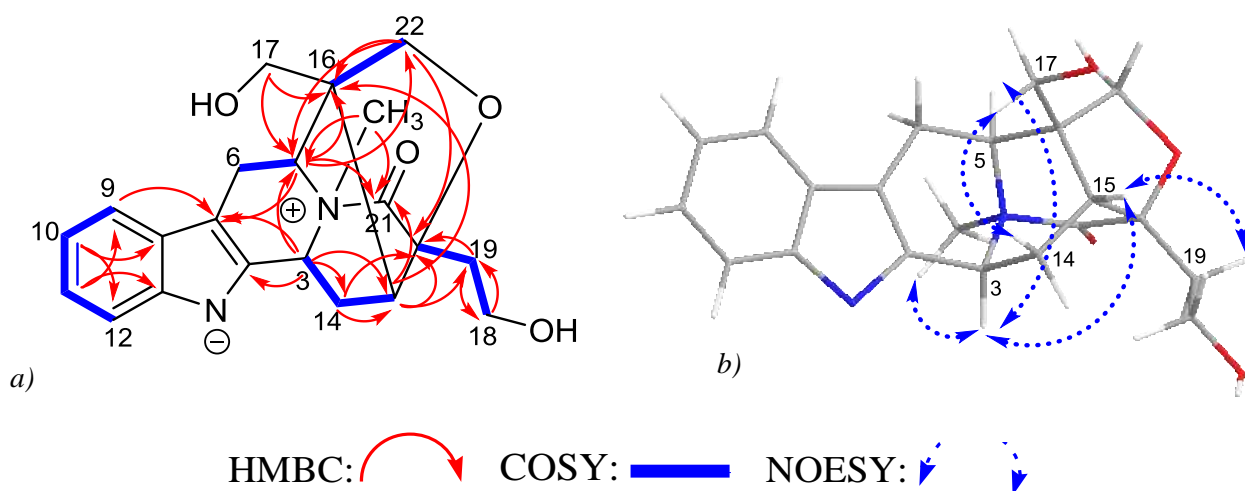


Structure du *N*-méthylakuammidine (Nogueira et *al.*, 2014)

La configuration relative de **TAF<sub>3</sub>** a été déduite des corrélations observées sur les spectres COSY et NOESY qui sont similaires au fragment polycyclique de la sarpagine (Battersky et Yeowell, 1964) apparenté dans divers dérivés naturels, en particulier la macusine C (Battersky et Yeowell, 1964). Les corrélations observées entre H-3 et H-5/ N-CH<sub>3</sub> indiquent que les protons H-3 et H-5/ N-CH<sub>3</sub> ont une  $\alpha$ - orientation, tandis que les corrélations observées entre H-17 et H-14 $\beta$  indique que le proton du CH<sub>2</sub>-17 possède une  $\beta$ - orientation. On observe également une  $\alpha$ - orientation sur le proton H-15, justifiée par la corrélation sur le spectre NOESY entre H-15 et H-19  $\alpha$ .

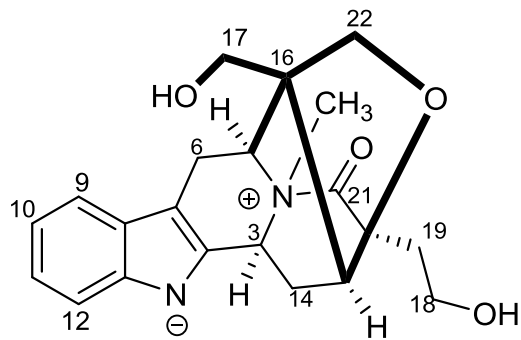


**Figure 45** : Spectres NOESY (500 MHz, CD<sub>3</sub>OD) du composé TAF<sub>3</sub>.



**Figure 46** : Corrélation HMBC (a) et NOESY (b) du composé TAF<sub>3</sub>.

Au vu des résultats obtenus, la structure du composé TAF<sub>3</sub> a été élucidé à l'**Atheruramine** qui est un alcaloïde indolique, nouveau composé naturel.



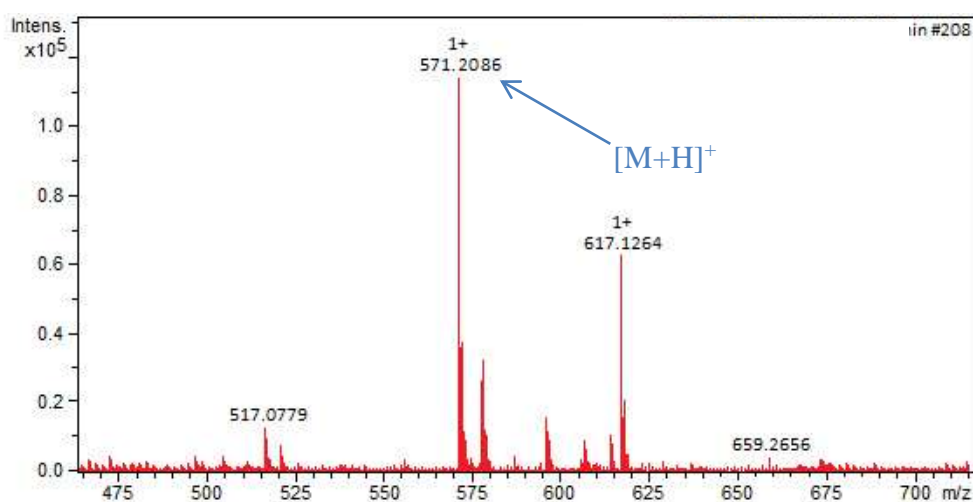
**Atheruramine**  
**(148)**

**Tableau IX** : Données de RMN ( $^1\text{H}$ , 500 MHz et  $^{13}\text{C}$ , 125 MHz,  $\text{CD}_3\text{OD}$ ,) du composé  $\text{TAF}_3$ .

Position	$\delta_{\text{H}}$ (J en Hz)	$\delta_{\text{C}}$	HMBC (H $\rightarrow$ C)
2	-	137,6	
3	4,04 (1H, <i>dd</i> , $J = 9,0 ; 4,2$ Hz)	49,2	C-2 ; C-14 ; C-15
5	3,40 (1H, <i>dd</i> , $J = 7,5 ; 4,0$ Hz)	61,2	C-7 ; C-3 ; C-16 ; C-22
6 $\alpha$	3,00 (1H, <i>dd</i> , $J = 16,0 ; 5,0$ Hz)	24,6	
6 $\beta$	3,09 (1H, <i>dd</i> , $J = 16,5 ; 1,5$ Hz)		
7	-	104,7	
8	-	127,8	
9	7,36 (1H, <i>d</i> , $J = 8,0$ Hz)	118,4	C-7
10	6,96 (1H, <i>dd</i> , $J = 8,0, 7,8$ Hz)	119,7	C-12 ; C-8
11	7,04 (1H, <i>dd</i> , $J = 8,0, 7,6$ Hz)	122,1	C-13 ; C-9
12	7,27 (1H, <i>d</i> , $J = 8,5$ Hz)	111,9	
13	-	138,3	
14 $\alpha$	1,95 (1H, <i>m</i> )	23,1	C-14 ; C-20
14 $\beta$	2,14 (1H, <i>ddd</i> , $J = 18,5 ; 7,0, 5,0$ Hz)		
15	2,22 (1H, <i>dd</i> , $J = 7,0 ; 4,0$ Hz)	38,6	C-20 ; C-19 ; C-21
16	-	53,9	
17	2,88 (2H, <i>d</i> , $J = 14,0$ Hz)	63,2	C-5 ; C-16
18	3,76 (2H, <i>m</i> )	58,3	
19 $\alpha$	1,82 (1H, <i>ddd</i> , $J = 14,0 ; 7,0 ; 6,8$ Hz)	38,1	C-18 ; C-20
19 $\beta$	1,98 (1H, <i>m</i> )		
20	-	84,1	
21	-	172,8	
22 $\alpha$	3,67 (1H, <i>d</i> , $J = 14,0$ Hz)	76,3	
22 $\beta$	3, 5 (1H, <i>m</i> )		
N-Me	3,07 (3H, <i>s</i> )	51,6	C-5 ; C-21

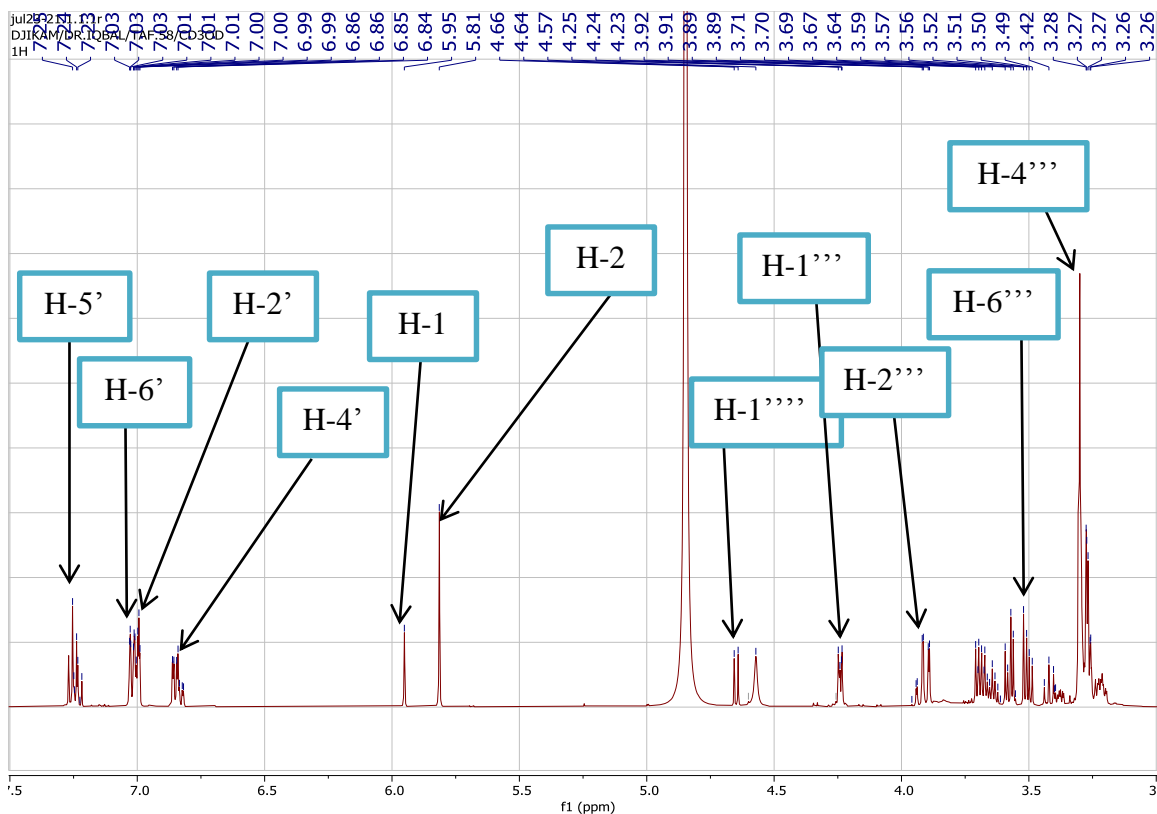
#### 2.1.2.4. Détermination structurale du composé TAF<sub>4</sub>

Le composé TAF<sub>4</sub> est isolé sous forme de solide jaune soluble dans le méthanol et possède un point de fusion compris entre 236–238°C. Il répond positivement au test de Molish et au Chlorure ferrique (FeCl<sub>3</sub>), caractéristique des sucres et des phénols respectivement. Son spectre IR montre des bandes d'absorption à 3380 (-OH), 2920 (C-H), 1562 (C-H noyau aromatique), 1455 (C-H), 1205 et 1032 (C-O large) cm<sup>-1</sup>. L'analyse de son spectre UV présente les bandes d'absorptions aux longueurs d'ondes λ<sub>max</sub> 226, 251 et 260 nm indicateur d'un chromophore benzoïne (Lim et al., 2021). Sa formule moléculaire C<sub>26</sub>H<sub>34</sub>O<sub>14</sub> est obtenue grâce à l'analyse de son spectre de masse LC-ESI-MS en mode positif sur lequel on observe le pic de l'ion *pseudo*-moléculaire [M+H]<sup>+</sup> à m/z 571,2086 (calculée pour C<sub>26</sub>H<sub>34</sub>O<sub>14</sub> : 571,2084) et possédant 10 degrés d'insaturation.



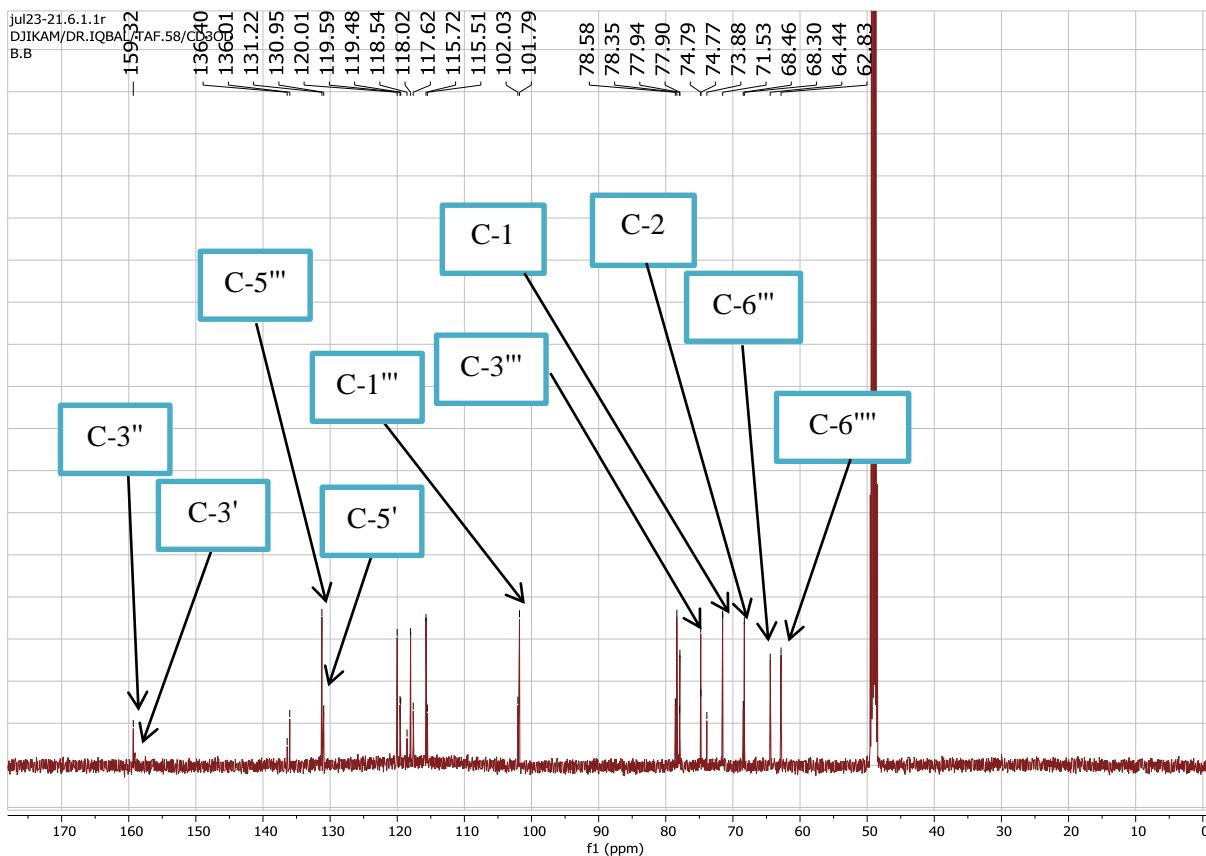
**Figure 47** : Spectre de masse LC-ESI-MS du composé TAF<sub>4</sub>.

Le spectre RMN <sup>1</sup>H (**Fig. 47**) de TAF<sub>4</sub> présente dans les champs faibles les signaux de deux protons méthiniques à δ<sub>H</sub> 5,95 (1H, *brs*, H-1) et 5,81 (1H, *brs*, H-2) caractéristiques de groupements oxyméthines très proches, indicateur d'une molécule symétrique. Sur ce même spectre, on observe les signaux de 8 protons aromatique apparaissent à δ<sub>H</sub> 6,85 (1H, overl, H-4')/6,83 (1H, m, H-4''), 6,99 (2H, m, H-2'/ H-2''), 7,02 (2H, m, H-6'/H-6'') et 7,25 (1H, *dd*, J=8,0; 7,5 Hz, H-5'')/7,24 (1H, *dd*, J=8,0; 7,5 Hz, H-5') et qui sont assignables à deux systèmes de deux noyaux benzénique di-substitués (Lim et al., 2021).

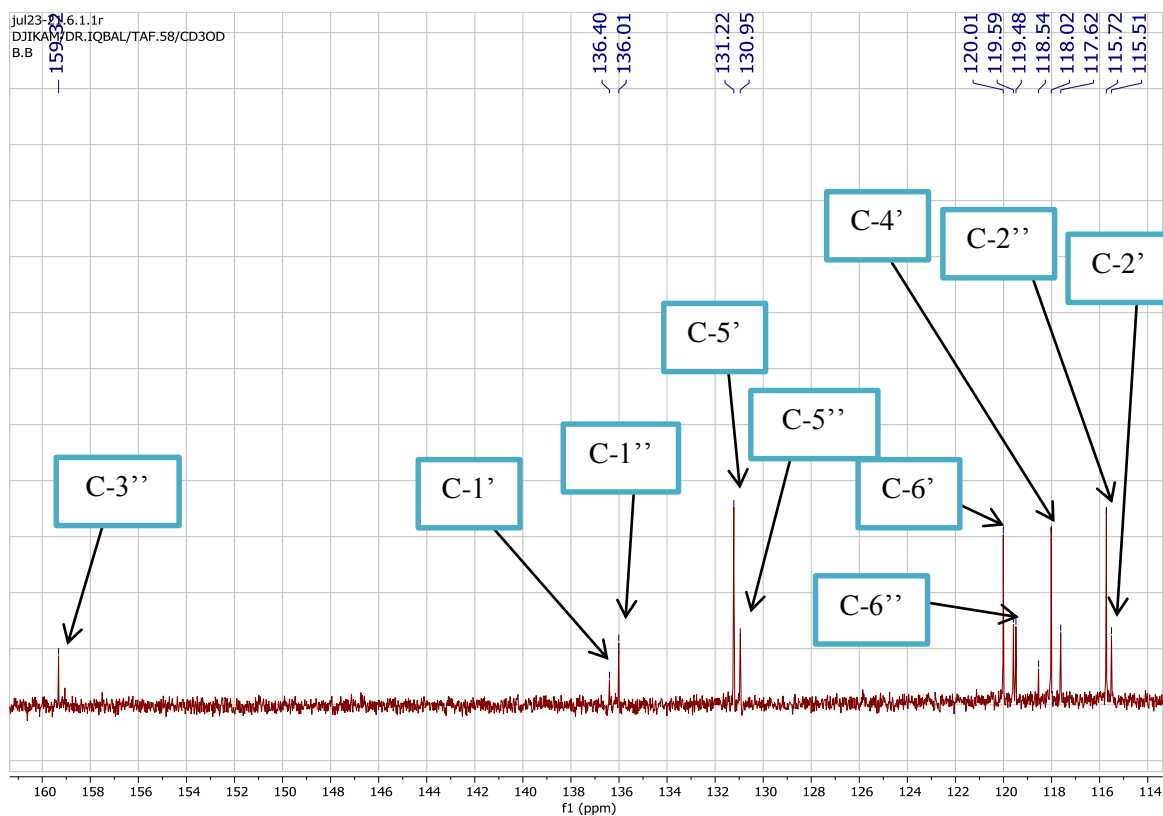


**Figure 48** : Spectres de RMN  $^1\text{H}$  (500 MHz,  $\text{CD}_3\text{OD}$ ) du composé TAF<sub>4</sub>.

Son spectre RMN  $^{13}\text{C}$  (**Fig. 48**) présente deux carbones oxygénés à  $\delta_{\text{C}}$  68,4 et 68,2 (C-1 ; C-2) caractéristiques de deux fonctions alcools secondaires et indicateur d'une molécule symétrique ; quatre carbones quaternaires sur le cycle benzénique dont deux portent un atome d'oxygène à 159,3 (C-3' et C-3'').



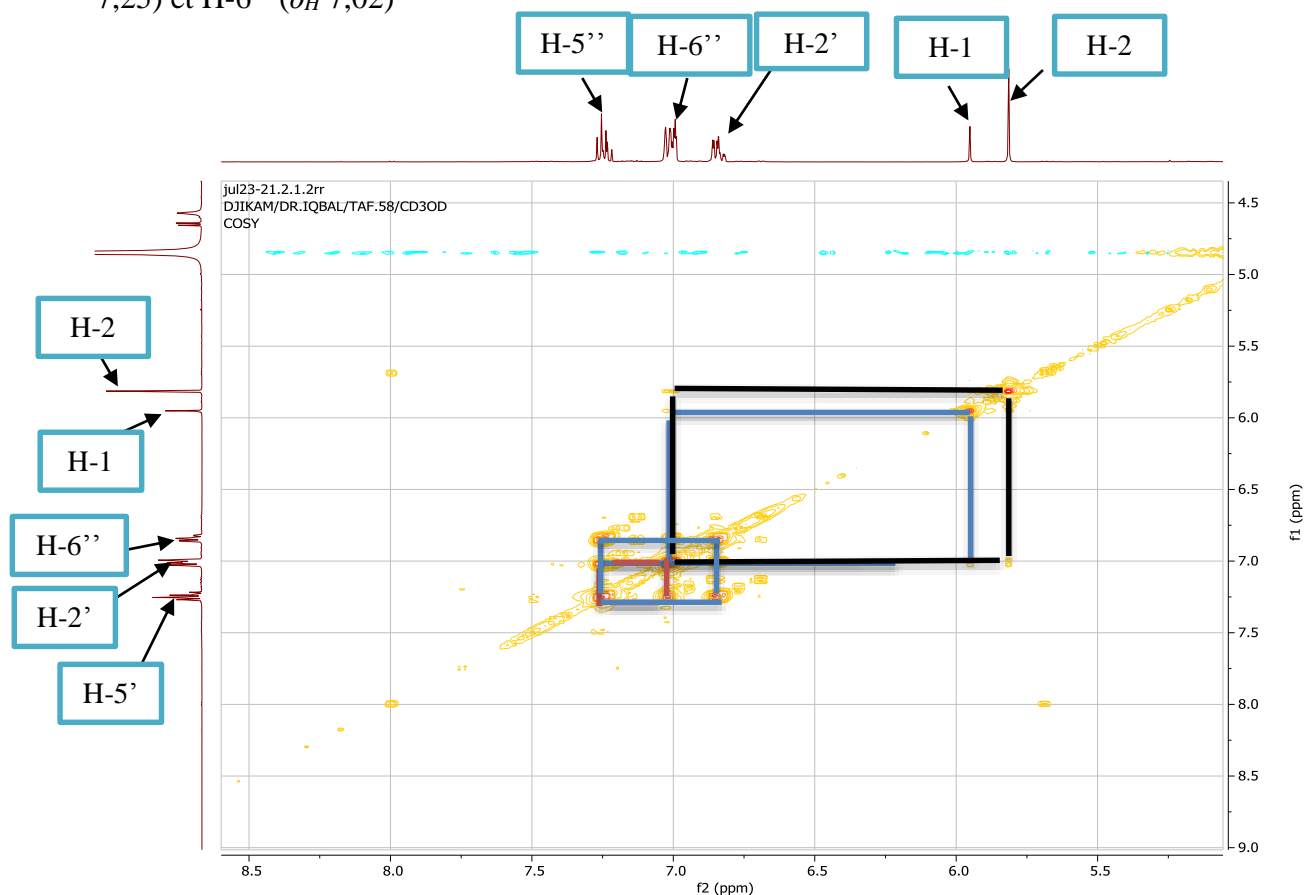
**Figure 49** : Spectre de RMN  $^{13}\text{C}$  global (125 MHz,  $\text{CD}_3\text{OD}$  du composé TAF<sub>4</sub>).



**Figure 50** : Spectre de RMN  $^{13}\text{C}$  élargi (125 MHz,  $\text{CD}_3\text{OD}$  du composé TAF<sub>4</sub>).



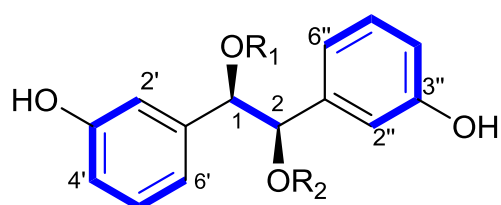
L'analyse de son spectre COSY  $^1\text{H}$ - $^1\text{H}$  présente des corrélations entre H-6'' ( $\delta_{\text{H}}$  7,02) et H-2 ( $\delta_{\text{H}}$  5,82) ; H-2' ( $\delta_{\text{H}}$  6,99) et H-1 ( $\delta_{\text{H}}$  5,95) ; H-5'' ( $\delta_{\text{H}}$  7,25) et H-4'' ( $\delta_{\text{H}}$  6,83) ; H-5'' ( $\delta_{\text{H}}$  7,25) et H-6'' ( $\delta_{\text{H}}$  7,02)



**Figure 51:** Spectre de COSY élargi (500 MHz,  $\text{CD}_3\text{OD}$  du composé  $\text{TAF}_4$ ).

L'analyse des spectres de RMN  $^1\text{H}$ ,  $^{13}\text{C}$ , HSQC et COSY de  $\text{TAF}_4$  a permis d'attribuer toutes les valeurs des déplacements chimiques de notre aglycone qui est un dérivé d'hydrobenzoïne. Ces données sont en accord avec celles décrites dans la littérature (Lim *et al.*, 2021).

L'observation des signaux résonant à  $\delta_{\text{C}}$  68,4 (C-1) et 68,2 (C-2) montre que  $\text{TAF}_4$  est un dérivé 1,2- bi-osidique d'hydrobenzoïne ayant des sucres attachés en C-1 et C-2 de l'aglycone au moyen des liaisons éther.



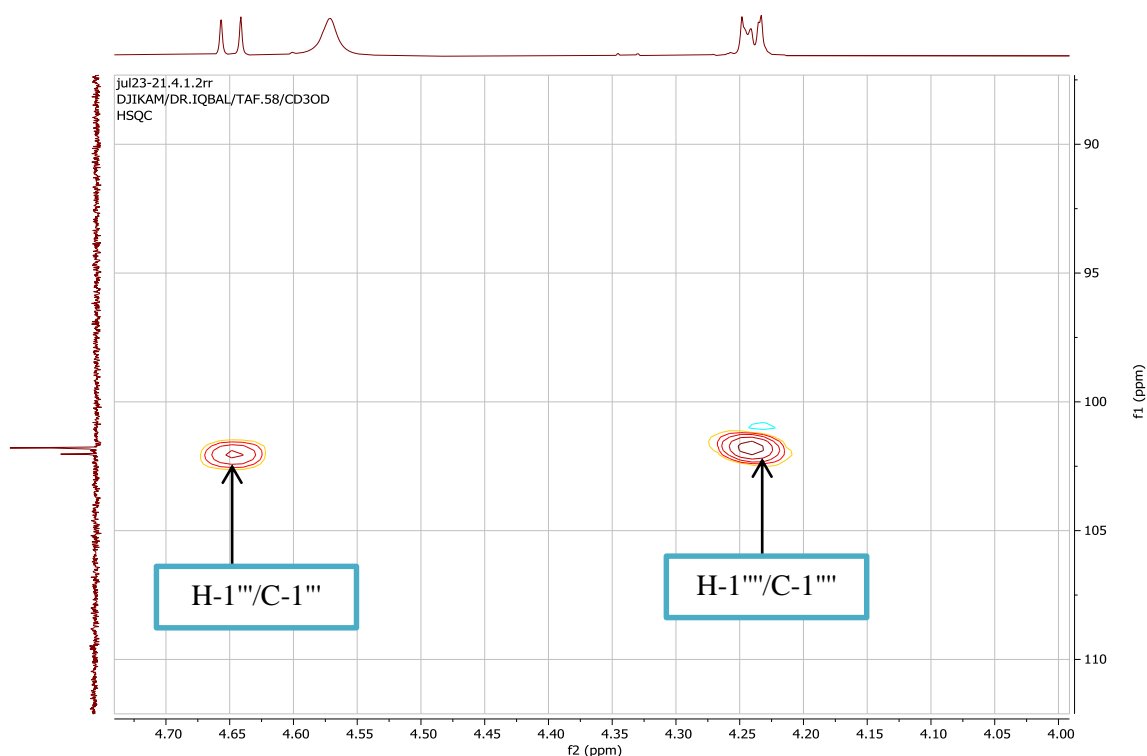
COSY: —

### Sous structure 1

La nature des sucres a été déterminée par hydrolyse acide suivie d'une CCM comparative et d'une analyse par chromatographie en phase liquide et par comparaison avec les sucres de

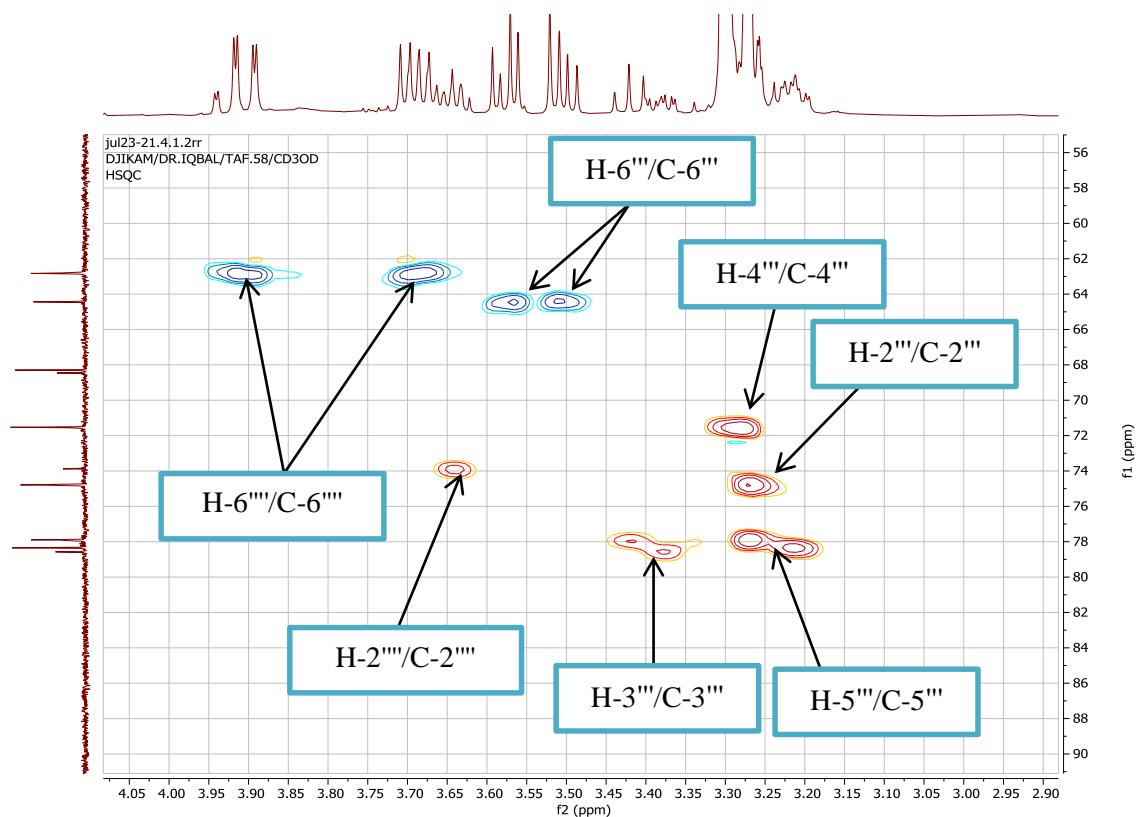
référence du laboratoire. Ainsi le D-glucose (tr = 19,2 min) a été identifié.

L'analyse du spectre de RMN  $^1\text{H}$  de **TAF<sub>4</sub>** permet de distinguer deux signaux de protons anomériques résonnant à  $\delta_H$  4,64 (1H, *d*,  $J = 7,5$  Hz, H-1''') et 4,23 (1H, *d*,  $J = 7,5$  Hz, H-1'''), et qui corrélient sur le spectre HSQC avec les carbones à  $\delta_C$  102,0 (C-1''') et 101,8 (C-1''') ppm, ce qui prouve la présence deux sucres (**Fig. 51**).



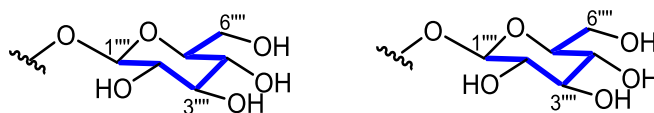
**Figure 52** : Spectre HSQC élargi (500 MHz, CD<sub>3</sub>OD) montrant les signaux des protons anomériques du composé TAF<sub>4</sub>.

L'analyse de son spectre de RMN  $^1\text{H}$  permet de distinguer huit signaux de protons osidiques résonnant à  $\delta_H$  3,26 (H-2''') ; 3,39 (H-3''') ; 3,25 (H-4''') ; 3,24 (H-5''') ; et 3,56 - 3,51 (H-6''') pour Glc I et 3,64 (H-2''') ; 3,23 (H-2''') ; 3,28 (H-3''') ; 3,27(H-5''') et 3,91 - 3,67 (H-6''') pour Glc II qui corrélient sur le spectre HSQC avec les carbones à  $\delta_C$  73,8 (C-2''') ; 78,3 (C-3''') ; 71,4 (C-4''') ; 78,1 (C-5''') et 62,8 (C-6'''), pour Glc I et 74,6 (C-2''') ; 78,0 (C-3''') ; 71,4 (C-4''') ; 78,3 (C-5''') et 64,4 (C-6''') pour Glc II. Leurs valeurs très proches semblent démontrer que cette molécule serait symétrique (*érythro*). Toutefois, leurs nombres indiqueraient une non symétrie, par conséquent, la possible rotation entre les carbones C-1 et C-2 ne ramènerait pas les substituants identiques vis-à-vis ce qui nous a orienté à donner à notre molécule une configuration *thréo* (Li et al., 2012a ;2012b).



**Figure 53** : Spectre HSQC élargi (500 MHz, CD<sub>3</sub>OD) partie osidique du composé TAF<sub>4</sub>.

La configuration  $\beta$  a été attribuée aux protons anomériques des deux Glc sur la base de leurs constantes de couplage  $^3J_{H-1, H-3}$  égale à 7,5 Hz. L'ensemble de ces données a permis d'identifier 2 groupements  $\beta$ -D-glucopyranosyle à  $\delta_H$  6,64 (*d*,  $J = 7,5$  Hz) pour Glc I-1 et à  $\delta_H$  4,23 (*d*,  $J = 7,5$  Hz) pour Glc II-1.



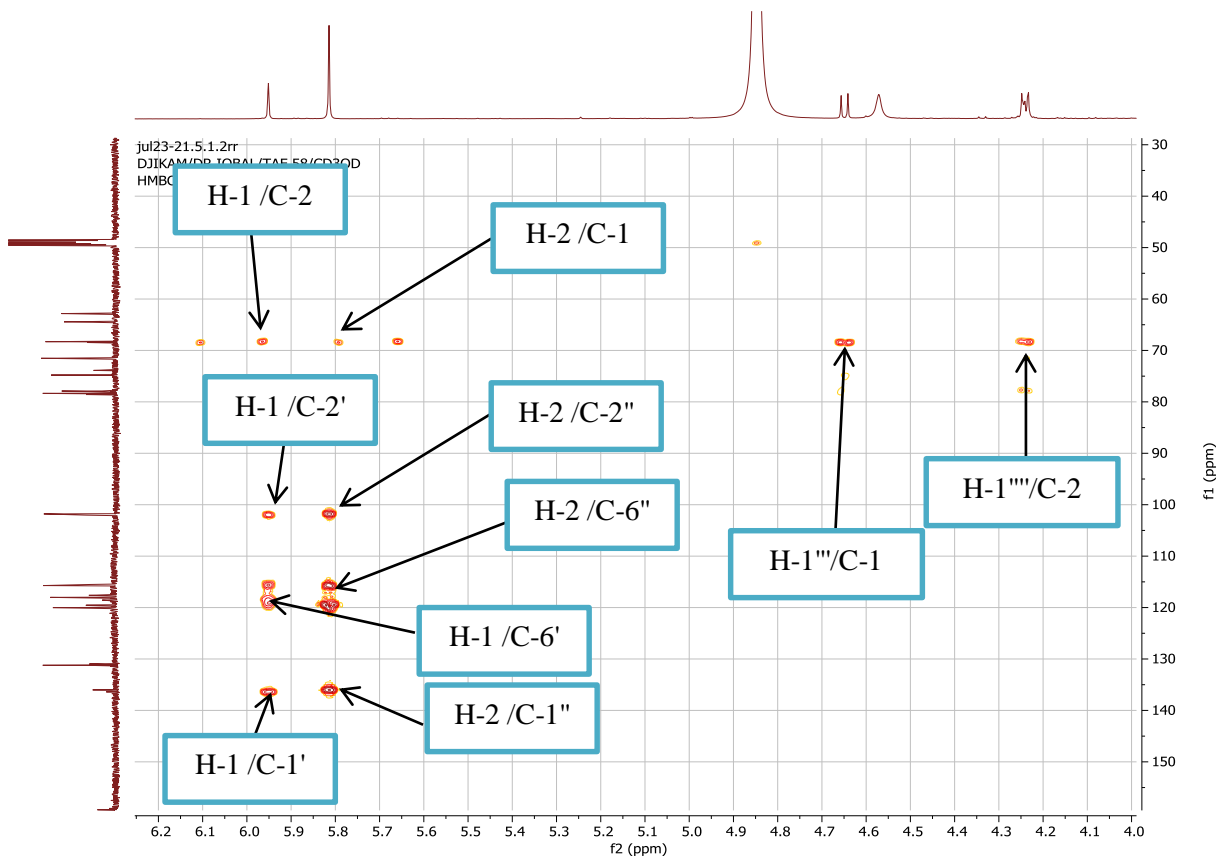
### Sous structure 2

L'analyse des spectres HMBC et NOESY nous a permis de déterminer les points de jonction des sucres sur l'aglycone.

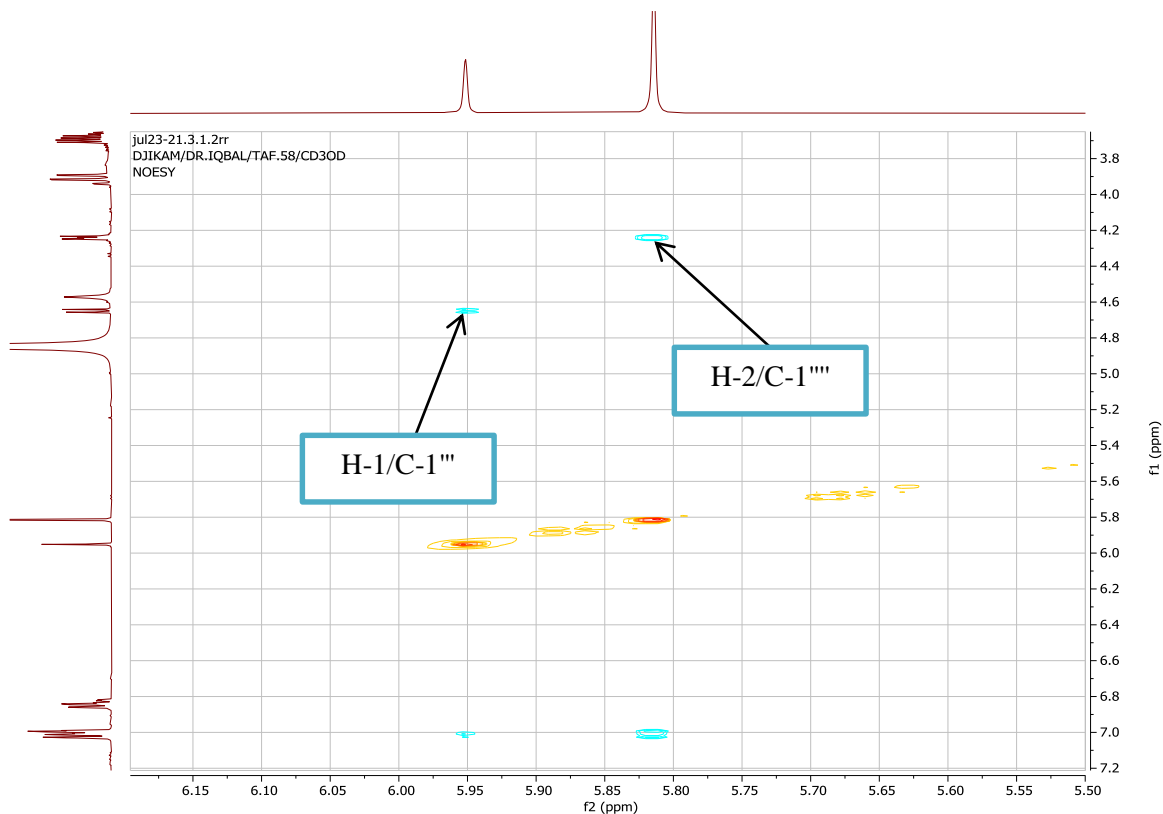
L'observation dans le spectre RMN <sup>13</sup>C de deux signaux distincts de carbone à  $\delta_C$  68,4 (C-1) et 68,2 (C-2) indique que TAF<sub>4</sub> ne possède pas un plan de symétrie mais est un dérivé bi-osidique d'hydrobenzoïne ayant des sucres attachés en C-1 et C-2 de l'aglycone au moyen d'une liaison éther (Li et *al.*, 2012a ;2012b).

Sur son spectre HMBC, on observe une corrélation entre le proton d'un oxyméthine substitué à  $\delta_H$  5,95 (H-1) et le carbone d'un autre oxyméthine substitué à  $\delta_C$  68,2 (C-2) et avec les carbones aromatiques C-1', C-2' et C-6'. On observe d'autres corrélations entre le proton du second oxyméthine substitué à  $\delta_H$  5,81 (H-2) et le carbone du premier oxyméthine

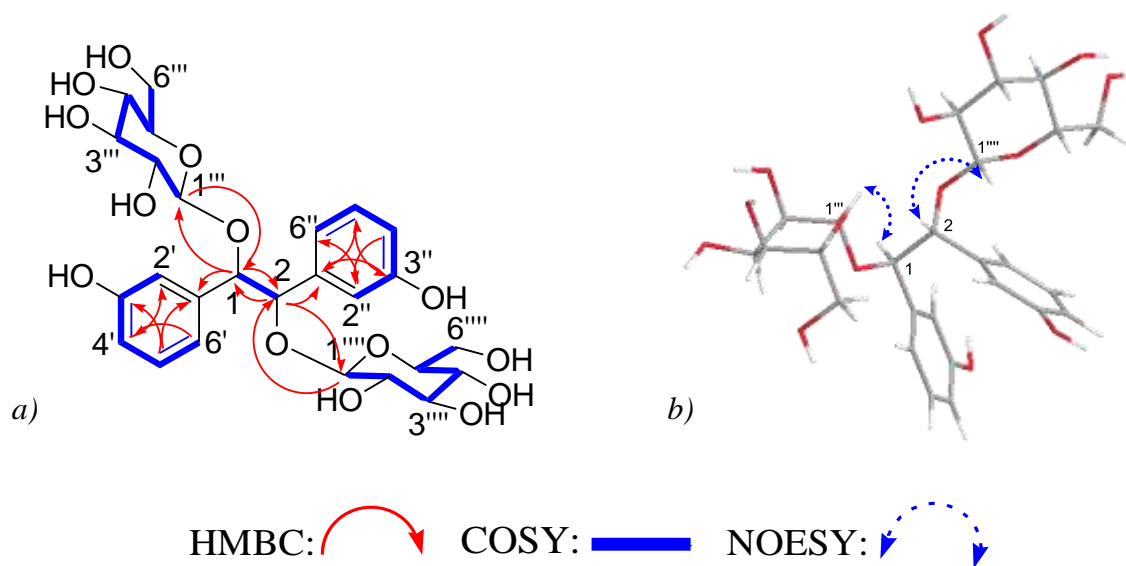
substitué à  $\delta_C$  68,1 (C-1) et avec les carbones aromatiques C-1'', C-2'' et C-6''. Par la suite, les corrélations HMBC observées entre le signal d'un proton anomérique à  $\delta_H$  4,64 (H-1''' Glc-I) et le carbone à  $\delta_C$  68,4 (C-1), entre le proton à  $\delta_H$  4,23 (H-1'''' Glc-II) et le carbone à  $\delta_C$  68,2 (C-2) indiquent la connexion de ces sucres avec les carbones hydroxylés vicinaux C-1 et C-2.



**Figure 54** : Spectre HMBC (500 MHz, CD<sub>3</sub>OD) du composé TAF<sub>4</sub> montrant les points de liaison des sucres.



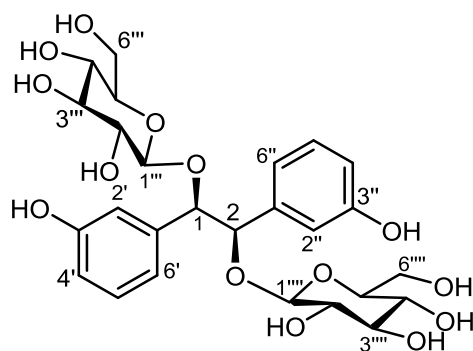
**Figure 55** : Spectre NOESY (500 MHz, CD<sub>3</sub>OD) du composé TAF<sub>4</sub> montrant les points de liaison des sucres.



**Figure 56** : Corrélations HMBC (a) et NOESY (b) du composé TAF<sub>4</sub>.

La comparaison avec les données de la littérature des dérivés acyclique des diols vicinaux ((7'R, 8'R) -*thréo*-strebluslignanol-2-*O*-β-D-glucopyranoside et 1-(4'-methoxyphenyl) -1,2-propanediol (Li et *al.*, 2012a ; 2012b) permet de conclure que le pouvoir rotatoire  $[\alpha]_D = 39,7^0$  (c 1,0 ; MeOH) peut être assigné à la configuration (R, R).

Au vu des résultats obtenus, la structure du composé **TAF<sub>4</sub>** a été élucidée au (1R\*, 2R\*) -*thréo*-1,2-*O*, *O*-di-(β-D-glucopyranosyl) -1,2-bis (3-hydroxyphenyl) éthane, nouveau composé naturel auquel nous avons donné le nom trivial de **Tricalydioloside**.



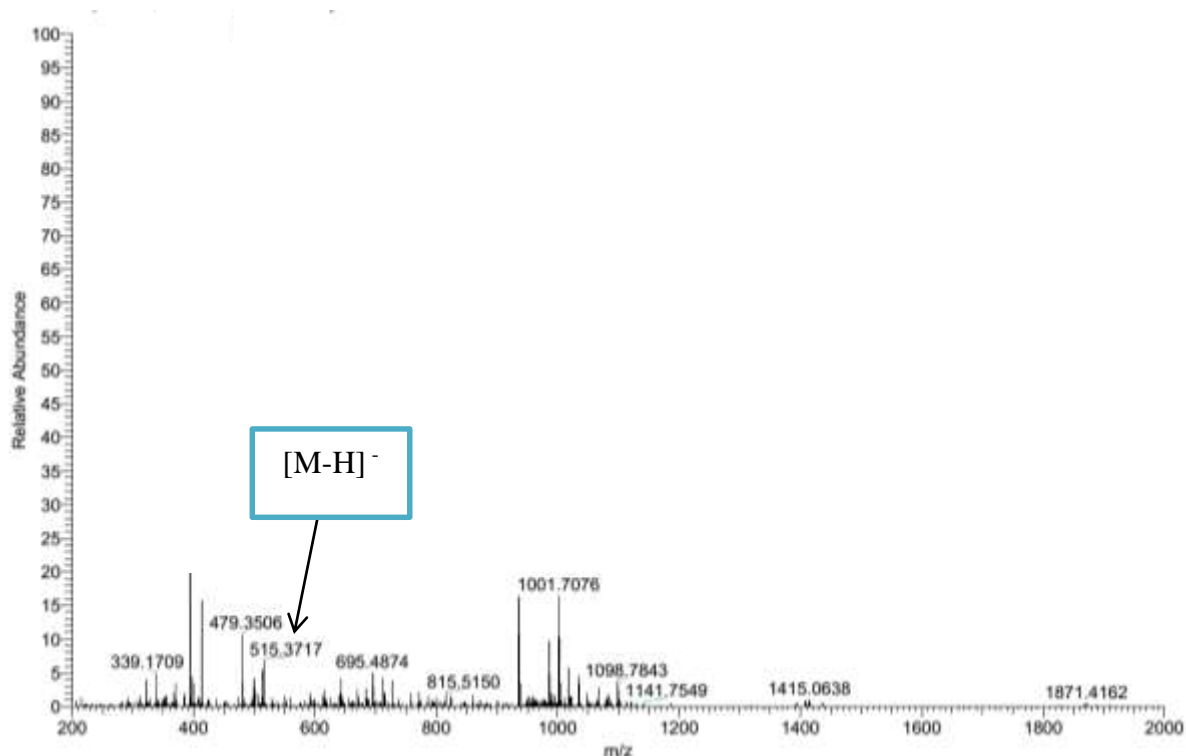
**Tricalydioloside**  
**(149)**

**Tableau X** : Données de RMN ( $^1\text{H}$  500 MHz et  $^{13}\text{C}$ , 125 MHz) de TAF<sub>4</sub> comparées à l'hydrobenzoïne symétrique (Lim et *al.*, 2021).

Position	TAF <sub>4</sub> (CD <sub>3</sub> OD)			Hydrobenzoïne symétrique (CD <sub>3</sub> OD)	
	$\delta_{\text{H}}$ (J en Hz)	$\delta_{\text{C}}$	HMBC (H→C)	$\delta_{\text{H}}$ (J en Hz)	$\delta_{\text{C}}$
1	5,95 (1H, <i>s</i> )	68,4	C-1'; C-2; C-1'''	4,84 (1H, <i>s</i> )	78,2
2	5,81 (1H, <i>s</i> )	68,2	C-1; C-1''	4,84 (1H, <i>s</i> )	78,2
1'	-	136,3		-	139,8
2'	6,99 (1H, <i>m</i> )	115,7	C-4'	7,27 ( <i>d</i> , <i>J</i> = 2,3)	127,2
3'	-	189,3		7,31 ( <i>t</i> , <i>J</i> = 7,45)	128,2
4'	6,85 (1H, <i>m</i> )	118,0	C-2'	7,37 <i>m</i>	128,4
5'	7,24 (1H, <i>dd</i> , <i>J</i> =8,0; 7,5)	131,0	C-3'	7,31 ( <i>t</i> , <i>J</i> = 7,45)	128,2
6'	7,02 (1H, <i>m</i> )	119,9	C-4'	7,27 ( <i>d</i> , <i>J</i> = 2,3)	127,2
1''	-	136,0			
2''	6,99 (1H, <i>m</i> )	115,5	C-6''		
3''	-	159,3	C-5'' ; C-1''		
4''	6,83 (1H, <i>m</i> )	117,6			
5''	7,25 (1H, <i>dd</i> , <i>J</i> =8,0 ; 7,5)	131,1	C-1'' ; C-3''		
6''	7,02 (1H, <i>m</i> )	119,6			
<b>Sucre en C-1</b>					
1'''	4,64 (1H, <i>d</i> , <i>J</i> =7,5)	102,0	C-1		
2'''	3,26 (1H, <i>m</i> )	74,6			
3'''	3,39 (1H, <i>m</i> )	78,0			
4'''	3,25 (1H, <i>m</i> )	71,4			
5'''	3,24 (1H, <i>m</i> )	78,3			
6'''	3,56 (1H, <i>dd</i> , <i>J</i> =11,5; 5,6) 3,51 (1H, <i>dd</i> , <i>J</i> =11,0; 7,1)	64,4			
<b>Sucre en C-2</b>					
1''''	4,23 (1H, <i>d</i> , <i>J</i> =7,5)	101,8	C-2		
2''''	3,64 (1H, <i>m</i> )	73,8			
3''''	3,23 (1H, <i>m</i> )	78,3			
4''''	3,28 (1H, <i>m</i> )	71,4			
5''''	3,27 (1H, <i>m</i> )	78,1			
6''''	3,91(1H, <i>dd</i> , <i>J</i> =12,0; 2,1 Hz) 3,67 (1H, <i>m</i> )	62,8			

### 2.1.2.5. Identification du composé TAF<sub>5</sub>

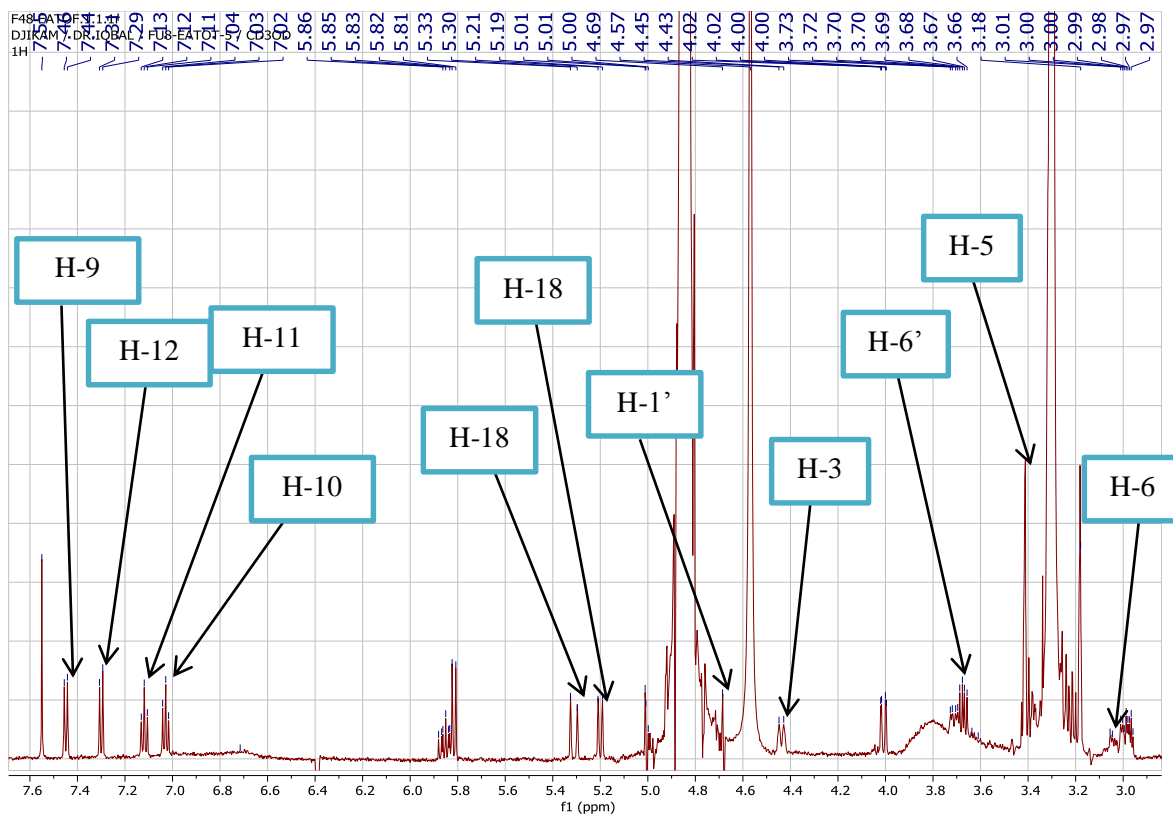
Le composé TAF<sub>5</sub> est obtenu sous forme de solide blanc et possède un point de fusion compris entre 180 et 182°C. Il répond positivement au test de Dragendorff, caractéristique des alcaloïdes. Son spectre IR montre l'absorption de la liaison hydrogène -OH/NH (3400 cm<sup>-1</sup>),  $\alpha$ ,  $\beta$  -insaturé C=O (1639 cm<sup>-1</sup>), et aromatiques (1554 cm<sup>-1</sup>) (Nascimento et al., 2006). L'analyse de son spectre UV présente les bandes d'absorptions aux longueurs d'ondes  $\lambda_{\max}$  225 et 290 nm indicateur d'un chromophore indolique (Brown et Charalambides, 1974). Son spectre de masse HR-ESI, en mode négatif, présente le pic de l'ion *pseudo*-moléculaire à  $m/z = 515,3717$  [M-H]<sup>-</sup> correspondant à la formule moléculaire C<sub>26</sub>H<sub>32</sub>N<sub>2</sub>O<sub>9</sub> et renfermant dix degrés d'insaturation.



**Figure 57** : Spectre de masse HR-ESI du composé TAF<sub>5</sub>.

Le spectre RMN <sup>1</sup>H présente des protons aromatiques vicinaux à  $\delta_H = 7,46$  (1H, *d*, *J* = 7,8 Hz, H-9) ; 7,05 (1H, *dt* ; *J* = 7,8 ; 0,9 Hz, H-10) ; 7,12 (1H, *dt*, *J* = 7,8 ; 0,9 Hz, H-11) et 7,32 (*d*, *J* = 7,8 Hz, H-12), un large singulet à  $\delta_H = 4,54$  (1H, H-3), et trois multiplets à  $\delta_H = 3,02$  (2H, H-6) ; 3,40 (1H, H-5) et 3,60 (1H, H-5'). On observe également sur ce même spectre, un proton anomérique à  $\delta_H 4,76$  (1H, *d*, *J* = 7,8 Hz, H-1') ; et les protons du sucre, notamment le glucose à  $\delta_H 3,20$  (1H, *m*, H-2') ;  $\delta_H 3,40$  (1H, *d*, *m*, H-3') ;  $\delta_H 3,24$  (1H, *m*, H-4') ;  $\delta_H 3,36$  (1H, *m*, H-5') ;  $\delta_H 3,66$  (1H, *m*, H-6') et  $\delta_H 3,96$  (1H, *brd*, *J* = 10,5 Hz, H-1') (Nascimento et al., 2006).

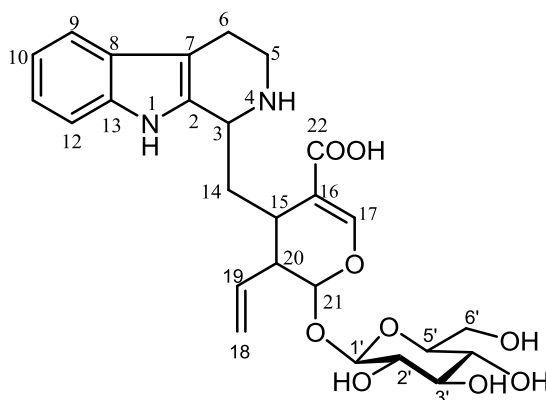




**Figure 58** : Spectre de RMN  $^1\text{H}$  (500 MHz,  $\text{CD}_3\text{OD}$ ) du composé  $\text{TAF}_5$ .

Le spectre RMN  $^{13}\text{C}$  montre des pics correspondant à quatre carbones quaternaires  $\text{sp}^2$  à  $\delta_{\text{C}} = 106,0$  (C-7); 127,5 (C-8) ; 129,5 (C-2) et 138,3 (C-13) ; quatre carbones tertiaires  $\text{sp}^2$  à  $\delta_{\text{C}} = 112,3$  (C-12); 119,0 (C-9); 120,6 (C-10) et 123,3 (C-11); ainsi qu'un carbone tertiaire  $\text{sp}^3$  à  $\delta_{\text{C}} = 59,5$  (C-3) et deux carbones secondaires  $\text{sp}^3$  à  $\delta_{\text{C}} = 17,3$  (C-6) et 51,0 (C-5) (Nascimento et al., 2006).

Au vu de tout ce qui précède et par comparaison avec les données de la littérature, le composé  $\text{TAF}_5$  a été élucidé comme étant l'**acide strictosidinique**, précédemment isolé des racines et feuilles de *Palicourea Coriacea* (Nascimento et al., 2006).



**Acide strictosidinique**  
(150)

**Tableau XI** : Données RMN ( $^1\text{H}$ , 500 MHz et  $^{13}\text{C}$ , 125 MHz) de TAF<sub>5</sub> comparé à ceux de la littérature (Nascimento et al., 2006).

Position	TAF <sub>5</sub> (CD <sub>3</sub> OD)		Acide strictosidinique (CD <sub>3</sub> OD)	
	$\delta_{\text{H}}$ (J en Hz)	$\delta_{\text{C}}$	$\delta_{\text{H}}$ (J en Hz)	$\delta_{\text{C}}$
1	-	-	-	-
2	-	127,9	-	129,5
3	4,51 ( <i>brs</i> , 1H)	60,4	4,54 ( <i>brs</i> , 1H)	59,5
4	-	-	-	-
5	3,42 ( <i>m</i> , 1H) 3,60 ( <i>m</i> , 1H)	49,7	3,40 ( <i>m</i> , 1H) 3,60 ( <i>m</i> , 1H)	51,0
6	3,03 ( <i>m</i> , 2H)	16,9	3,02 ( <i>m</i> , 2H)	17,3
7	-	103,0	-	106,0
8	-	127,6	-	127,5
9	7,45 (1H, <i>d</i> , $J=7,9$ Hz)	119,2	7,46 (1H, <i>d</i> , $J=7,8$ Hz)	119,0
10	7,03 (1H, <i>t</i> , $J=7,49$ et $7,50$ Hz)	119,8	7,05 (1H, <i>dt</i> , $J=7,8$ et $0,9$ Hz)	120,6
11	7,12 (1H, <i>t</i> , $7,65$ et $7,67$ Hz)	122,0	7,12 (1H, <i>dt</i> , $7,8$ et $0,9$ Hz)	123,3
12	7,30 (1H, <i>d</i> , $J=8,19$ Hz)	110,9	7,32 (1H, <i>d</i> , $J=7,8$ Hz)	112,3
13	-	139,2	-	138,3
14	2,27 (1H, <i>dt</i> , $11,4$ et $0,9$ Hz)	32,9	2,25 (1H, <i>dt</i> , $11,4$ et $0,9$ Hz)	33,0
15	2,98 (1H, <i>dd</i> , $4,8$ et $9,1$ Hz)	33,5	2,94 (1H, <i>m</i> )	33,6
16	-	113,7	-	114,5
17	7,50 (1H, <i>brs</i> )	157,5	7,48 (1H, <i>brs</i> )	152,4
18	5,24 ((1H, <i>d</i> , $10,5$ Hz)	119,8	5,22 ((1H, <i>d</i> , $10,5$ Hz)	119,0
19	5,30 ((1H, <i>d</i> , $17,4$ Hz)	138,6	5,30 ((1H, <i>d</i> , $17,4$ Hz)	136,5
20	2,7 (1H, <i>m</i> )	49,3	2,68 (1H, <i>m</i> )	45,8
21	5,74 (1H, <i>d</i> , $8,1$ Hz)	96,5	5,72 (1H, <i>d</i> , $8,1$ Hz)	96,8
22	-	174,2	-	175,0
1'	4,70 (1H, <i>d</i> , $7,8$ Hz)	101,0	4,76 (1H, <i>d</i> , $7,8$ Hz)	100,3
2'	3,18 (1H, <i>m</i> )	74,2	3,20 (1H, <i>m</i> )	74,7
3'	3,43 (1H, <i>m</i> )	78,3	3,40 (1H, <i>m</i> )	77,9
4'	3,27 (1H, <i>m</i> )	72,1	3,24 (1H, <i>m</i> )	71,8
5'	3,33 (1H, <i>m</i> )	78,7	3,36 (1H, <i>m</i> )	78,6
6'	3,69 (1H, <i>m</i> ) 4,01 (1H, <i>dd</i> , $2,25$ et $11,0$ Hz)	60,4	3,66 (1H, <i>m</i> ) 3,96 (1H, <i>brd</i> , $10,5$ Hz)	63,1

### 2.1.2.6. Identification du composé TAF<sub>6</sub>

Le composé TAF<sub>6</sub> est obtenu sous forme de poudre blanche. Il répond positivement au test de Liebermann- Burchard, caractéristique des triterpènes. Son spectre de masse LC-ESI-MS en mode négatif exhibe le pic de l'ion *pseudo*- moléculaire à  $m/z = 479,3497$   $[M+Na]^+$  correspondant à la formule moléculaire C<sub>30</sub>H<sub>48</sub>O<sub>3</sub> et renfermant sept degrés d'insaturation.

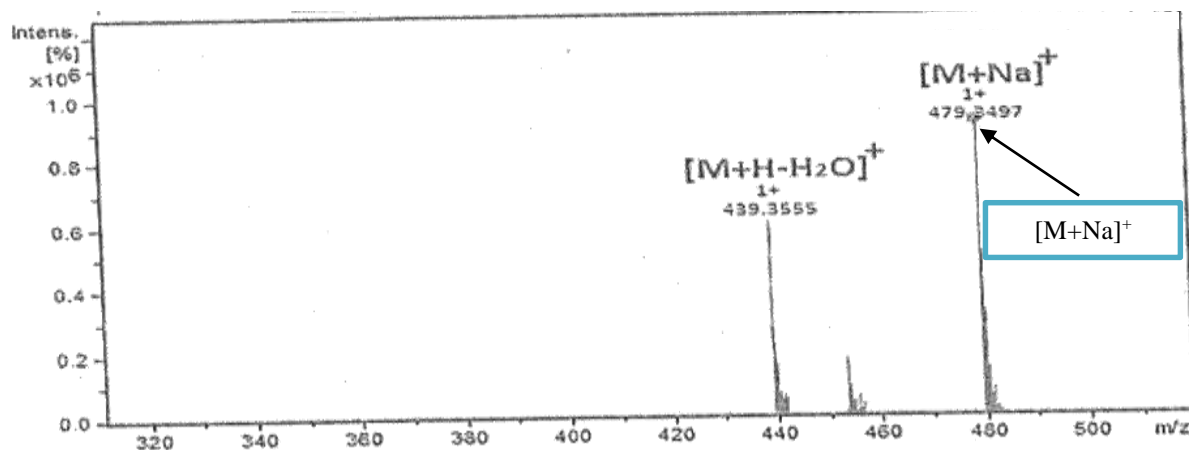
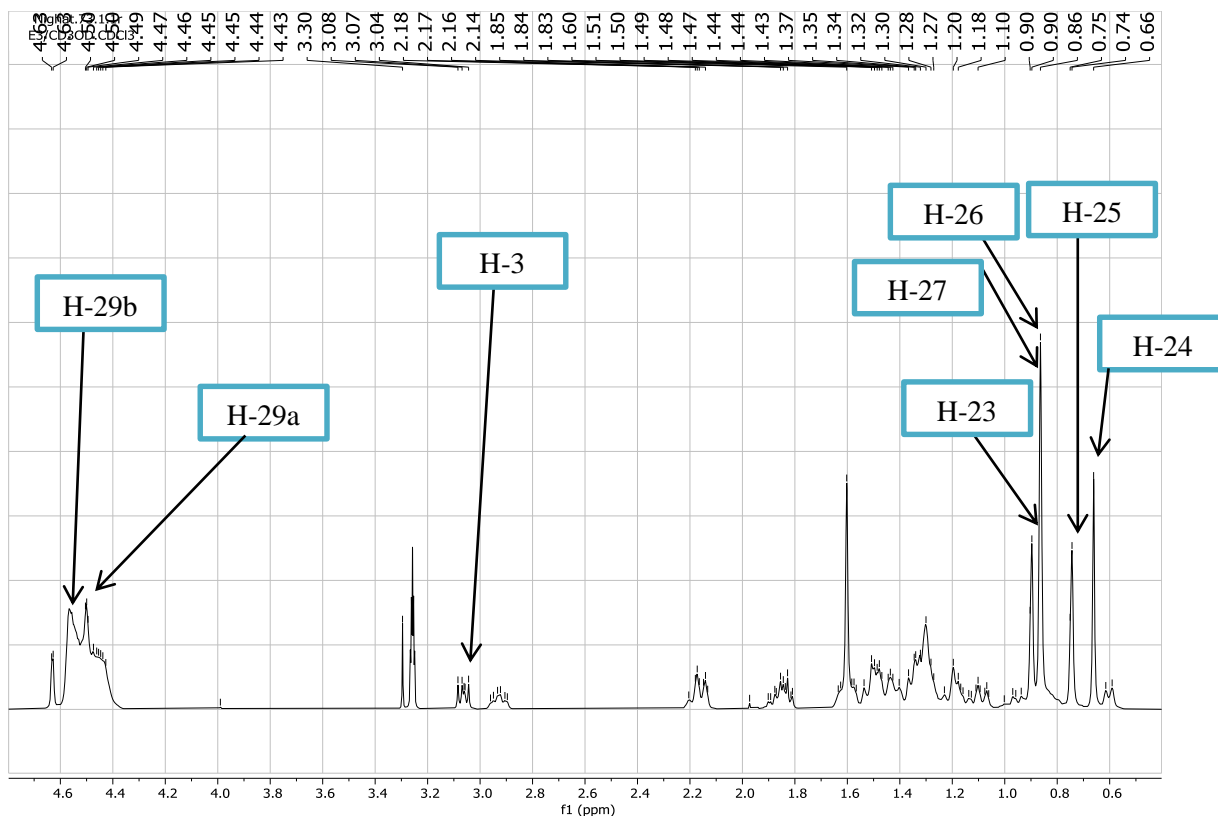


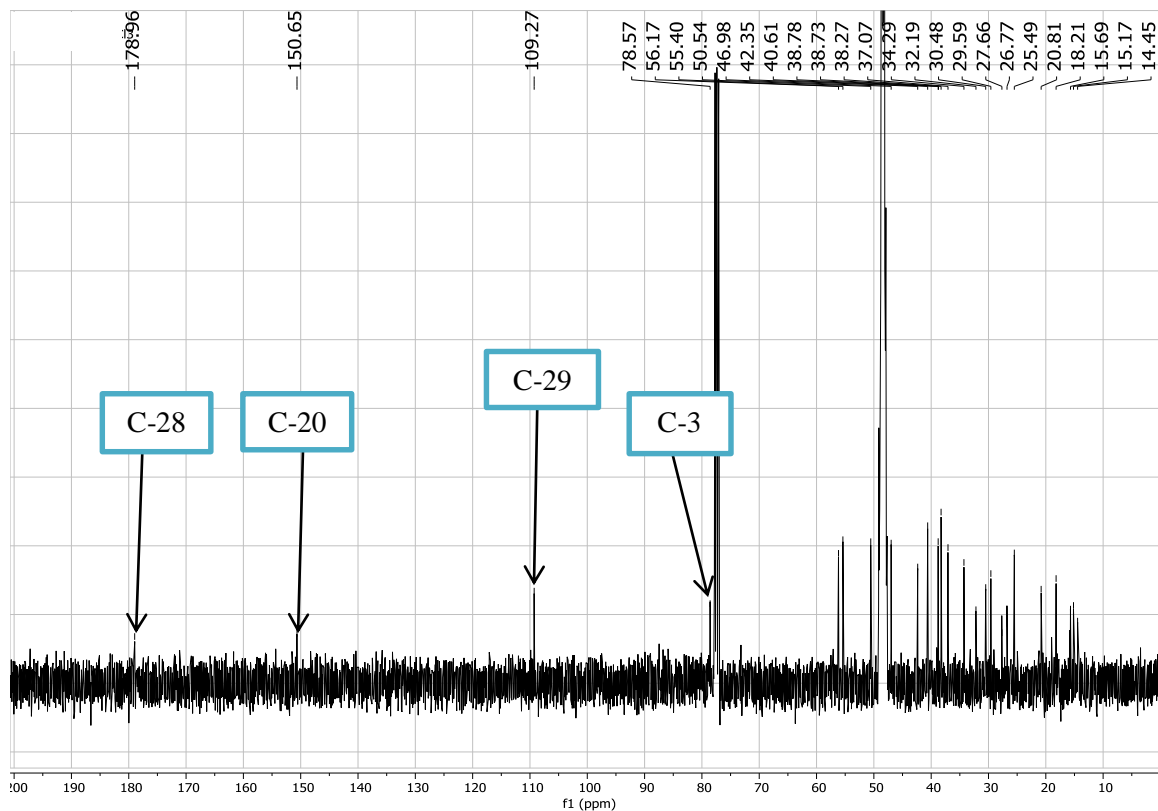
Figure 59 : Spectre de masse LC-ESI-SM du composé TAF<sub>6</sub>.

Son spectre RMN <sup>1</sup>H montre cinq singulets de méthyle angulaire à  $\delta_H$  0,99 (H-23) ; 0,73 (H-24) ; 0,78 (H-25) ; 0,90 (H-26) et 0,96 (H-27) et un groupe hydroxyle secondaire apparaissant sous forme d'un doublet dédoublé à  $\delta_H$  3,06 (1H, *dd*,  $J = 11,2$  et  $5,0$  Hz ; H-3). Il a également montré deux protons oléfiniques à  $\delta_H$  4,56 et 4,69 en C-29 (2H, *d*,  $J = 1,9$  Hz, H-29a, 29b) représentant la double liaison exocyclique ainsi qu'un signal méthyle à  $\delta_H$  1,68 (H-30) suggérant que le composé isolé TAF<sub>6</sub> était un triterpénoïde de type lupane (Jamila *et al.*, 2014).



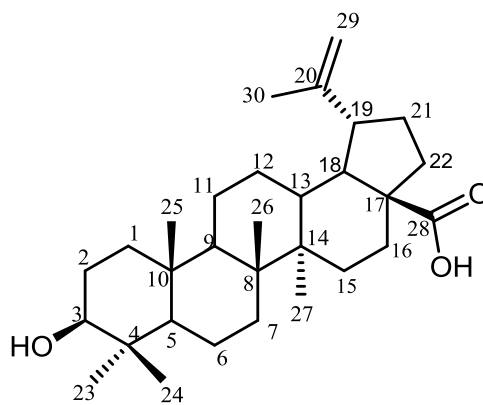
**Figure 60** : Spectre de RMN  $^1\text{H}$  (500 MHz ;  $\text{CDCl}_3/\text{CD}_3\text{OD}$ ) du composé  $\text{TAF}_6$ .

Le spectre de RMN  $^{13}\text{C}$  a confirmé la présence de signaux de vinyle à  $\delta_{\text{H}}$  150,3 (C-20) et 109,7 (C-29) et l'alcool secondaire à  $\delta_{\text{H}}$  76,8. L'apparition d'un groupe carbonyle à  $\delta_{\text{C}}$  177,8 (C-28) dans le spectre RMN  $^{13}\text{C}$  suggère la présence du groupe acide dans sa structure (Jamila et *al.*, 2014).



**Figure 61** : Spectre de RMN  $^{13}\text{C}$  (125 MHz ;  $\text{CDCl}_3/\text{CD}_3\text{OD}$ ) du composé  $\text{TAF}_6$ .

Sur la base des données spectrales qui précèdent, le composé  $\text{TAF}_6$  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).



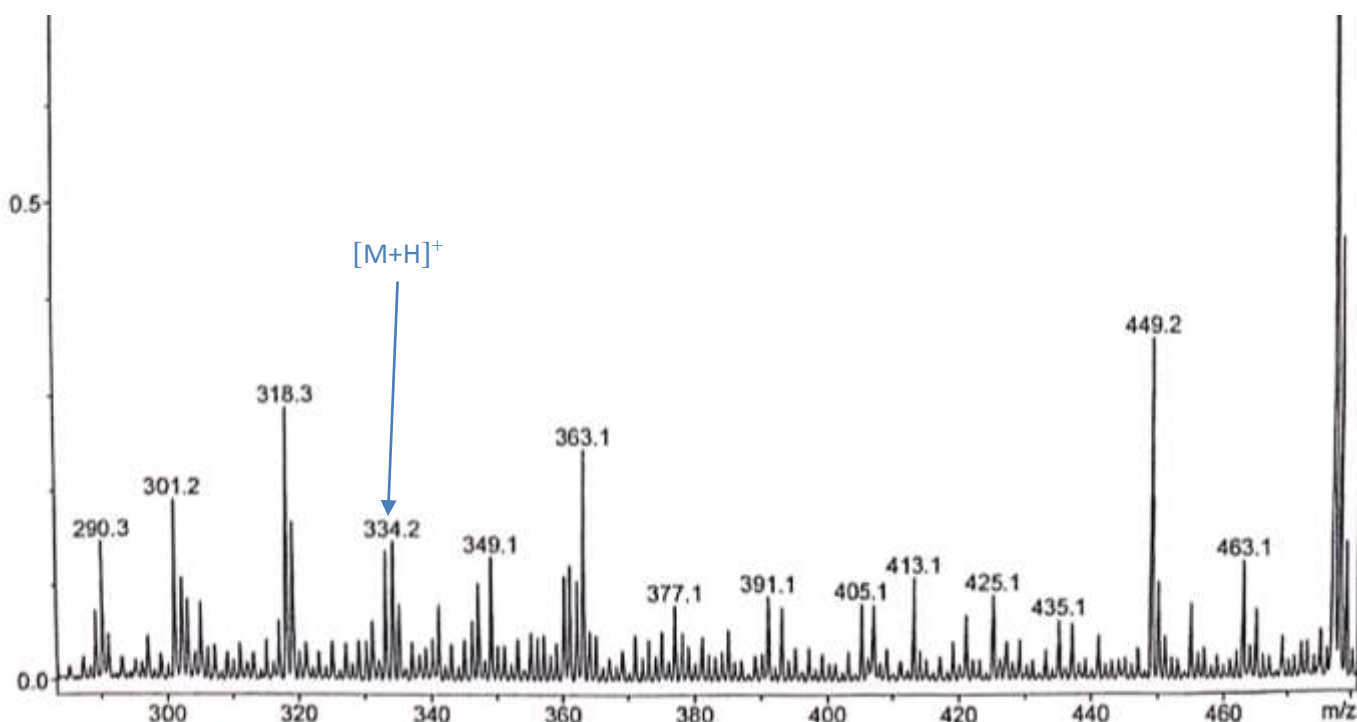
**Acide bétulinique**  
(151)

**Tableau XII** : Données de RMN ( $^1\text{H}$ , 500 MHz et  $^{13}\text{C}$ , 125 MHz) de TAF<sub>6</sub> comparé à celles de la littérature (Jamila *et al.*, 2014).

Position	TAF <sub>6</sub> (CDCl <sub>3</sub> / CD <sub>3</sub> OD)		Acide bétulinique (CDCl <sub>3</sub> / CD <sub>3</sub> OD)	
	$\delta_{\text{H}}$ (J en Hz)	$\delta_{\text{C}}$	$\delta_{\text{H}}$ (J en Hz)	$\delta_{\text{C}}$
1	0,86 <i>m</i> 1,60	38,2	0,99 <i>m</i>	39,3
2	1,54 <i>m</i>	27,2	1,67 <i>d</i> ( $j = 12,9$ )	28,3
3	3,06 <i>m</i>	76,8	3,13 <i>m</i>	78,1
4	-	38,5	3,45 <i>t</i> (8,0)	39,5
5	0,95 <i>m</i>	54,7	0,65 <i>dd</i> ( $j = 10,7 ; 1,9$ )	55,3
6	0,62 <i>m</i>	54,9	0,82 <i>m</i>	55,1
7	1,44 <i>m</i>	17,9	1,38 <i>m</i>	18,8
8	1,32 <i>m</i>		1,56 <i>m</i>	
9	1,32 <i>m</i>	33,9	1,56 <i>m</i>	34,8
10	-	37,6	1,38 <i>m</i>	37,1
11	-	40,2	-	41,1
12	1,24 <i>m</i>	49,9	1,38 <i>m</i>	50,9
13	-	36,7	-	37,5
14	1,20 <i>m</i>	20,4	1,21 <i>m</i>	21,6
15	1,36 <i>m</i>	-	1,43 <i>m</i>	-
16	1,37 <i>m</i>	31,7	1,55 <i>m</i>	32,8
17	2,12 <i>m</i>	-	2,63 <i>m</i>	
18	1,25 <i>m</i>	49,3	1,55 <i>m</i>	49,2
19	1,52 <i>m</i>	48,5	1,77 <i>t</i> ( $j = 11,5$ )	49,8
20	-	150,3	-	150,7
21	1,27- 1,85 <i>m</i>	30,1	1,35- 1,93 <i>m</i>	30,5
22	1,41 <i>m</i>	36,2	1,39 <i>dd</i> ( $j = 9,5 ; 4,5$ )	37,1
23	1,09 <i>s</i>	29,2	1,53 <i>s</i>	31,2
24	0,73 <i>s</i>	15,7	0,71 <i>s</i>	15,3
25	0,78 <i>s</i>	16,0	0,79 <i>s</i>	16,0
26	0,90 <i>s</i>	15,8	1,57 <i>m</i>	17,5
27	0,96 <i>s</i>	14,4	2,25 <i>m</i>	
28	-	177,8	-	179,2
29	4,44 <i>s</i> 4,32 <i>s</i>	109,7	4,56 <i>d</i> ( $j = 2,5$ )	109,4
30	1,60 <i>s</i>	18,7	1,65 <i>s</i>	19,2

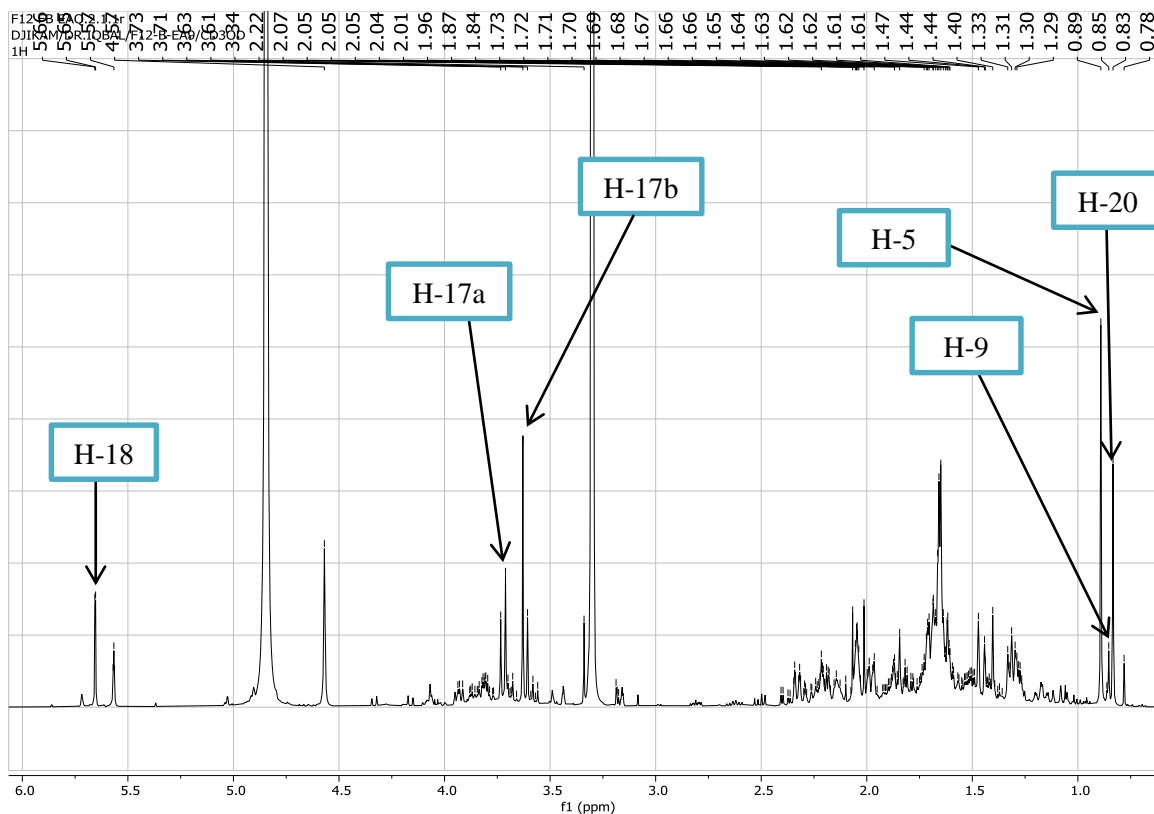
### 2.1.2.7. Identification du composé TAF<sub>7</sub>

Le composé TAF<sub>7</sub> est obtenu sous forme de poudre amorphe brunâtre. Son spectre de masse ESI-MS, basse résolution en mode positif, présente le pic de l'ion *pseudo*-moléculaire à  $m/z = 349,1$  [M+H]<sup>+</sup> Correspondant à la formule moléculaire C<sub>20</sub>H<sub>28</sub>O<sub>5</sub>.



**Figure 62** : Spectre de masse ESI-MS du composé TAF<sub>7</sub>.

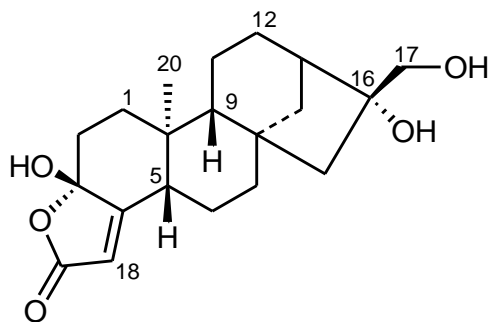
L'analyse de son spectre RMN <sup>1</sup>H montre qu'il possède 01 proton oléfinique directement lié à un carbonyle à  $\delta_H$  5,66 (1H, *s*, H-18) ; 02 protons méthiniques aliphatiques à  $\delta_H$  0,97 (1H, *t*,  $J = 12,1$  Hz, H-5) et 0,93 (1H, *d*,  $J = 7,2$  Hz ; H-9) ; 01 proton méthylique tertiaire à  $\delta_H$  0,91 (3H, *s*, H-20) ; 01 proton méthylénique portant une fonction alcool secondaire à  $\delta_H$  3,72 (1H, *dd*,  $J = 10,7$  et 4,5 Hz, H-17a) et 3,62 (1H, *dd*,  $J = 10,7$  et 4,5 Hz, H-17b) caractéristique des diterpènes de type kauranique (Nishimura et *al.*, 2006).



**Figure 63** : Spectre de RMN  $^1\text{H}$  (500 MHz /  $\text{CD}_3\text{OD}$ ) du composé **TAF<sub>7</sub>**.

Le spectre de RMN  $^{13}\text{C}$  de **TAF<sub>7</sub>** indique la présence de 20 signaux de carbone caractéristique des diterpènes, consistant en un méthyle à  $\delta_{\text{C}}$  15,0 (C-20), huit méthylènes à  $\delta_{\text{C}}$  38,2 (C-1) ; 35,0 (C-2), 23,1 (C-6) ; 40,3 (C-7) ; 19,5 (C-11) ; 26,4 (C-12) ; 38,1 (C-14) et 53,8 (C-15) ; trois méthines à  $\delta_{\text{C}}$  35,0 (C-5) ; 53,7 (C-9) et 45,9 (C-13) ; une double liaison trisubstituée donnant des liaisons hautement blindées à  $\delta_{\text{C}}$  113 (C-18) et déblindées  $\delta_{\text{C}}$  174 (C-4), un carbonyle  $\delta_{\text{C}}$  171,5 (C-19), et quatre carbones quaternaires à  $\delta_{\text{C}}$  105,3 (C-3) ; 174,0 (C-4), 45,0 (C-10) et 82,0 (C-16) (Nishimura et al., 2006).

Sur la base des données spectrales qui précèdent et en comparaison avec celles de la littérature, le composé **TAF<sub>7</sub>** est identifié à un diterpène kauranique réarrangé de type cafestol avec trois hydroxyles en C-3, C-16 et C-17, connu sous le nom de **Tricalysiolide B** et précédemment isolé du tronc de *Tricalysia dubia* (Nishimura et al., 2006).



**Tricalysiolide B**  
(152)



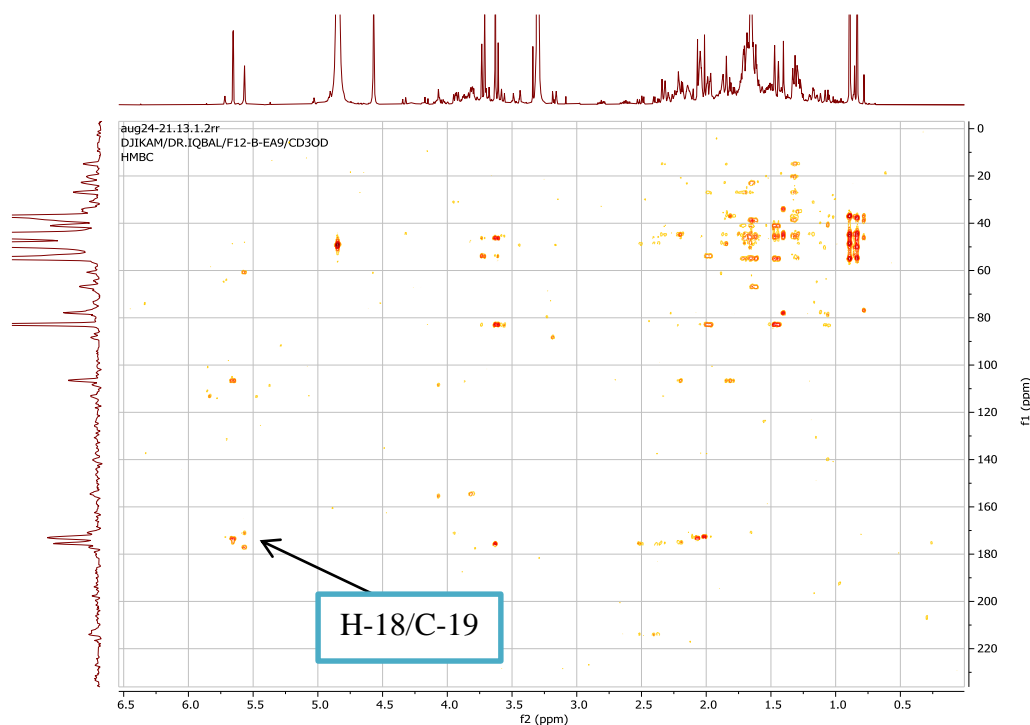
**Tableau XIII** : Données de RMN ( $^1\text{H}$ , 500 MHz et  $^{13}\text{C}$ , 125 MHz ;  $\text{CD}_3\text{OD}$ ) de TAF<sub>7</sub> comparées à celles de la littérature (Nishimura et *al.*, 2005).

Position	TAF <sub>7</sub> ( $\text{CD}_3\text{OD}$ )		Tricalysiolide B ( $\text{CD}_3\text{OD}$ )	
	$\delta_{\text{H}}$ (J en Hz)	$\delta_{\text{C}}$	$\delta_{\text{H}}$ (J en Hz)	$\delta_{\text{C}}$
1a	1,70 <i>m</i>	38,6	1,78 <i>m</i>	36,1
1b	1,69 <i>m</i>		1,52 <i>m</i>	
2a	2,20 <i>m</i>	34,6	2,52 <i>d</i> ( $j = 13,7$ )	35,0
2b	1,8 <i>m</i>		2,00 <i>m</i>	
3	-	106,0	-	105,7
4	-	174,6	-	173,7
5	2,32 <i>d</i> ( $j = 9,6$ )	47,9	2,57 <i>d</i> ( $j = 9,7$ )	47,4
6a	1,64 <i>m</i>	23,1	1,59 <i>m</i>	22,1
6b	1,4 <i>m</i>		1,38 <i>m</i>	
7a	1,66 <i>m</i>	40,0	1,65 <i>m</i>	40,3
7b	1,60 <i>m</i>		1,56 <i>m</i>	
8	-	45,1	-	44,6
9	1,33 <i>m</i>	53,7	1,29 <i>d</i> ( $j = 8,6$ )	53,7
10	-	45,0	-	43,8
11a	1,68 <i>m</i>	20,1	1,76 <i>m</i>	19,5
11b	1,61 <i>m</i>		1,54 <i>m</i>	
12a	1,67 <i>m</i>	26,8	1,91 <i>m</i>	26,4
12b	1,57 <i>m</i>		1,50 <i>m</i>	
13	2,05 <i>m</i>	45,8	2,47 <i>m</i>	45,9
14a	1,98 <i>d</i> ( $j = 11,9$ )	38,1	2,06 <i>dd</i> ( $j = 11,6$ et 4,7)	38,1
14b	1,69 <i>m</i>			
15a	1,63 <i>d</i> ( $j = 16,3$ )	54,1	1,86 <i>d</i> ( $j = 14,3$ )	53,8
15b	1,46 <i>d</i> ( $j = 16,3$ )		1,77 <i>d</i> ( $j = 14,3$ )	
16	-	82,8	-	81,5
17a	3,72 <i>d</i> ( $j = 11,33$ )	67,0	4,11 <i>dd</i> ( $j = 10,8$ et 4,6)	66,4
17b	3,62 <i>d</i> ( $j = 11,06$ )		4,05 <i>dd</i> ( $j = 10,8$ et 4,6)	
	5,56 <i>m</i>	117,3	5,22 <i>d</i> ( $j = 10,5$ Hz)	119,0
19	-	171,3	-	171,5
20	0,86 <i>s</i>	14,0	0,87 <i>s</i>	14,4

### 2.1.2.8. Identification du composé TAF<sub>8</sub>

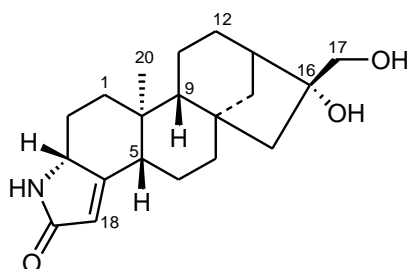
Le composé TAF<sub>8</sub> se présente sous forme d'un mélange de deux composés (TAF<sub>7</sub> et TAF<sub>7</sub>') de proportion 1 :1. Ce mélange se présente sous forme d'une poudre amorphe brunâtre, il répond positivement au test de Dragendorff, caractéristique des alcaloïdes. L'analyse de son spectre de masse à impact électronique (EI-MS) exhibe des pics à  $m/z = 348,1$  et  $347,2$   $M^+$  correspondant aux formules moléculaires  $C_{20}H_{28}O_5$  et  $C_{20}H_{29}NO_4$  (Nishimura *et al.*, 2006).

La comparaison des valeurs des déplacements chimiques observées pour le composé TAF<sub>7</sub> avec celles obtenues dans le composé TAF<sub>7</sub>', montre que ces deux composés ont le même squelette de base, à savoir le type kauranne. Après discrimination des signaux observés sur les spectres protons et carbones, on observe précisément pour le composé TAF<sub>7</sub>' un méthine à  $\delta_H$  3,90 (1H, *dd*, 10,9 ; 7,2 ; H-3). De plus nous pouvons observer la présence dans TAF<sub>7</sub>', d'un carbone quaternaire portant une fonction amide en position 19, en remplacement de la fonction ester dans TAF<sub>7</sub> et dont la position est justifiée sur son spectre HMBC (**Fig. 64**) par la corrélation observée entre le proton oléfinique en position 18 à  $\delta_H$  5,56 (1H, *s*, H-18) et le carbone quaternaire à  $\delta_C$  176,0 (C-19) (Nishimura *et al.*, 2006).



**Figure 64** : Spectre HMBC (500 MHz/ CD<sub>3</sub>OD) du composé TAF<sub>8</sub>.

Au vu des résultats obtenus et par comparaison avec les données de la littérature, le composé **TAF7'** est identifié comme étant le **tricalysiamide B**, composé connu et précédemment isolé du tronc de *Tricalysia dubia* (Nishimura et al., 2006).



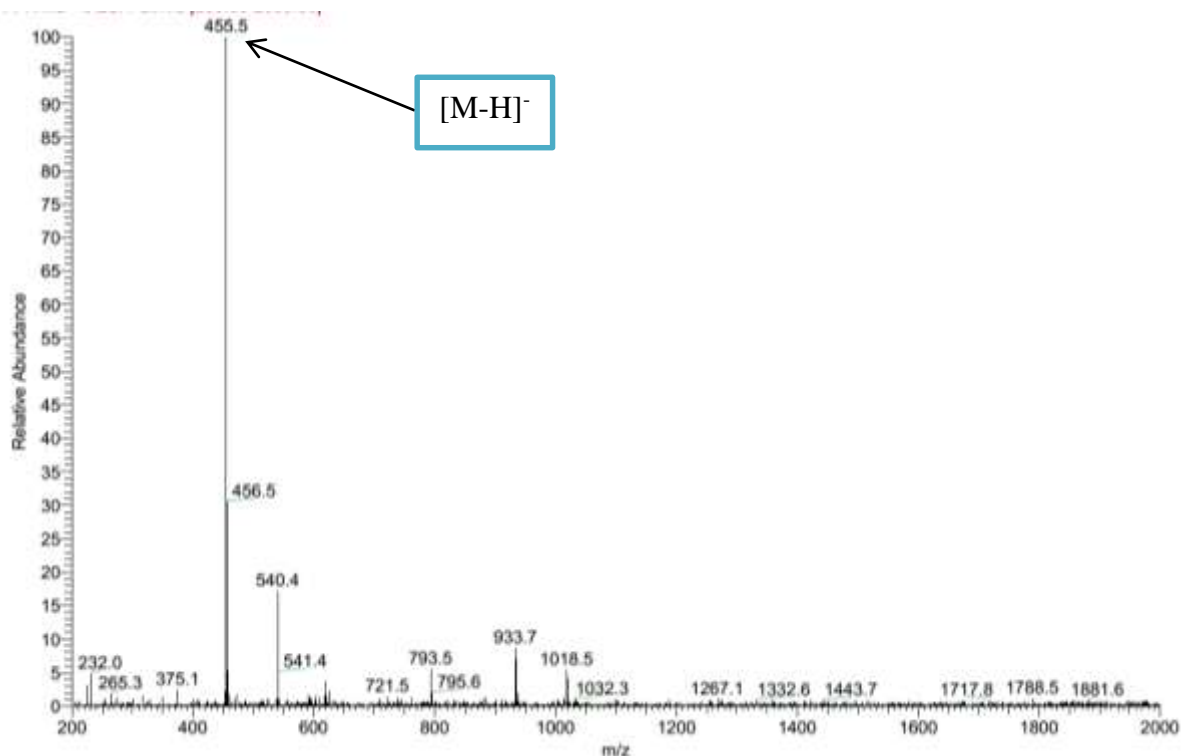
**Tricalysiamide B**  
**(153)**

**Tableau XIV** : Données de RMN ( $^1\text{H}$ , 500 MHz et  $^{13}\text{C}$ , 125 MHz ;  $\text{CD}_3\text{OD}$ ) de TAF<sub>8</sub> comparées à celles de la littérature (Nishimura et al., 2005).

Position	TAF <sub>8</sub> ( $\text{CD}_3\text{OD}$ )		Tricalysiamide B ( $\text{CD}_3\text{OD}$ )	
	$\delta_{\text{H}}$ (J en Hz)	$\delta_{\text{C}}$	$\delta_{\text{H}}$ (J en Hz)	$\delta_{\text{C}}$
1a	1,87 <i>m</i>	36,3	1,68 <i>m</i>	36,8
1b	1,29 <i>m</i>		0,97 <i>td</i> ( $j = 13,7; 4,0$ )	
2a	2,23 <i>d</i> ( $j = 13,7$ )	30,9	2,14 <i>m</i>	30,7
2b	1,3 <i>m</i>		1,47 <i>m</i>	
3	3,92 <i>dd</i> ( $j = 10,9$ et 7,2 Hz)	60,8	3,90 <i>dd</i> ( $j = 10,9$ et 7,2 Hz)	58,9
4	-	171,3	-	167,3
5	2,13 <i>d</i> ( $j = 9,7$ )	50,0	1,88 <i>m</i>	49,0
6a	1,65 <i>m</i>	23,1	1,51 <i>m</i>	22,3
6b	1,38 <i>m</i>		1,46 <i>m</i>	
7a	1,64 <i>m</i>	41,6	1,64 <i>m</i>	40,5
7b			1,53 <i>m</i>	
8	-	45,1	-	44,6
9	1,31 <i>d</i> ( $j = 8,6$ )	55,0	1,15 <i>d</i> ( $j = 8,8$ )	53,6
10	-	44,6	-	43,0
11a	1,67 <i>m</i>	19,7	1,71 <i>m</i>	19,5
11b	1,50 <i>m</i>		1,49 <i>m</i>	
12a	1,68 <i>m</i>	26,4	1,87 <i>m</i>	26,4
12b	1,49 <i>m</i>		1,47 <i>m</i>	
13	2,04 <i>m</i>	45,9	2,45 <i>d</i> (2,9)	45,9
14a	1,99 <i>dd</i> ( $j = 11,6$ et 4,7)	38,4	2,05 <i>dd</i> ( $j = 11,4$ et 4,1)	38,2
14b	1,69 <i>m</i>		1,96 <i>dd</i> ( $j = 11,4$ et 1,73)	
15a	1,62 <i>d</i> (14,3)	53,8	1,85 <i>d</i> (14,3)	53,9
15b	1,46 <i>d</i> (14,3)			
16	-	83,3	-	81,6
17a	4,34 <i>dd</i> ( $j = 10,8$ et 4,6)	68,8	4,15 <i>dd</i> ( $j = 10,9$ et 5,2)	66,4
17b	4,17 <i>dd</i> ( $j = 10,8$ et 4,6)		4,06 <i>dd</i> ( $j = 10,9$ et 5,2)	
18	5,56 <i>d</i> ( $j = 10,5$ Hz)	117,0	5,83 <i>d</i> ( $j = 10,5$ Hz)	117,8
19	-	175,7	-	174,6
20	0,84 <i>s</i>	15,1	0,71 <i>s</i>	14,9

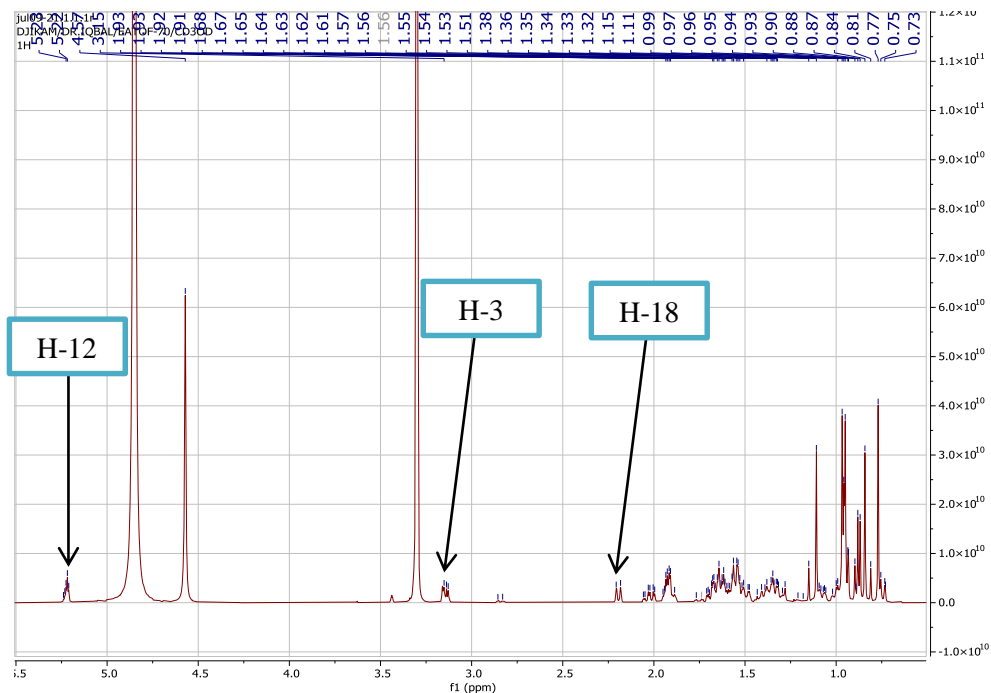
### 2.1.2.9. Identification du composé TAF<sub>9</sub>

Le composé TAF<sub>9</sub> est obtenu sous forme de poudre blanche amorphe. Il répond positivement au test de Liebermann- Burchard, caractéristique des triterpènes. Son spectre de masse ESI basse résolution (ESI-MS) en mode négatif exhibe un pic correspondant à l'ion *pseudo*-moléculaire à  $m/z = 455,5$   $[M-H]^-$  ; Cette valeur est en accord avec la formule brute C<sub>30</sub>H<sub>48</sub>O<sub>3</sub> et présentant sept degrés d'insaturations.

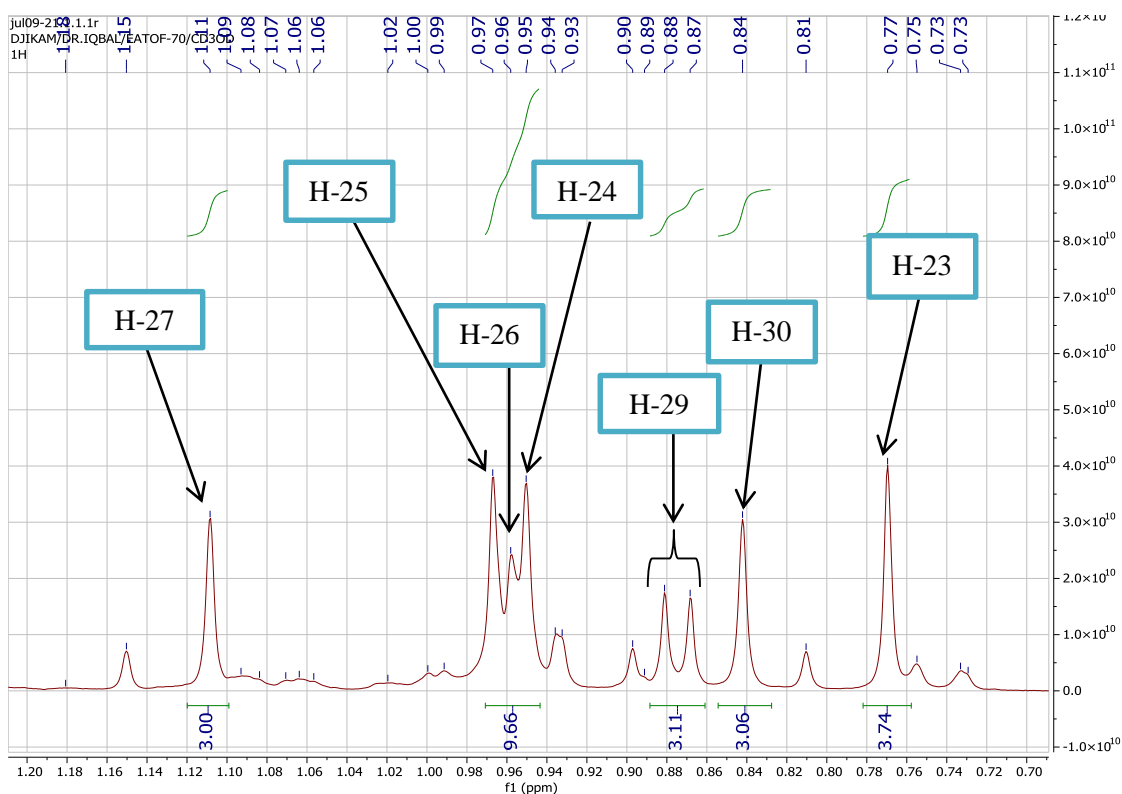


**Figure 65** : Spectre de masse ESI-MS du composé TAF<sub>9</sub>.

L'analyse de son spectre RMN <sup>1</sup>H montre cinq signaux de méthyles angulaires résonnant sous forme de singulet à  $\delta_H$  0,76 (*s*, H-23) ; 0,96 (*s*, H-24) ; 0,86 (*s*, H-26) ; 0,95 (*s*, H-25) et 1,10 (*s*, H-27) ; et deux méthyles doublet à  $\delta_H$  0,88 (*d*,  $J = 7,5$  Hz ; H-29) ; 0,84 (*d*,  $J = 8,0$  Hz ; H-30) (3H chacun). On observe également un signal à  $\delta_H$  5,22 correspondant au proton oléfinique H-12 ; un signal de proton méthinique hydroxylé à  $\delta_H$  3,14 correspondant à H-3 de TAF<sub>9</sub>, un autre signal de proton méthinique à  $\delta_H$  2,19 (1H, *d*,  $J = 7,5$  Hz, H-18) caractéristique des triterpènes de type ursane (Chee *et al.*, 1996).



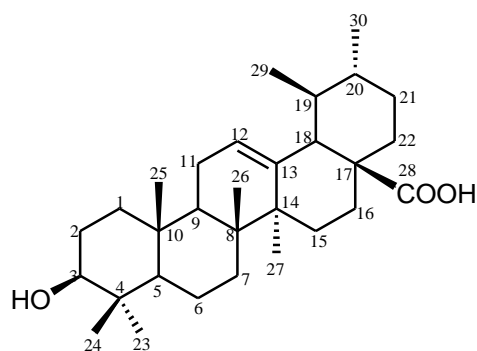
**Figure 66** : Spectre RMN  $^1\text{H}$  (500 MHz,  $\text{CD}_3\text{OD}$ ) du composé  $\text{TAF}_9$ .



**Figure 67** : Spectre de RMN  $^1\text{H}$  élargi (500 MHz,  $\text{CD}_3\text{OD}$ ) du composé  $\text{TAF}_9$ .

Sur son spectre RMN  $^{13}\text{C}$ , on observe deux signaux de carbones éthyléniques à  $\delta_{\text{C}}$  127,4 (C-12) et 139,0 (C-13) correspondant aux carbones de la double liaison  $\Delta^{12}$ ; le signal de carbone méthinique à  $\delta_{\text{C}}$  79,4 correspondant au carbone 3 de  $\text{TAF}_9$ . Dans les champs faibles, on observe le signal d'un carbonyle à  $\delta_{\text{C}}$  180,0 correspondant au carbone 28 de notre triterpène (Chee *et al.*, 1996).

Ainsi, l'analyse des spectres de RMN  $^1\text{H}$ ,  $^{13}\text{C}$ , COSY, HSQC et HMBC de **TAF9** a permis d'attribuer tous les signaux de notre composé, et par comparaison avec les données de la littérature, nous avons identifié celui-ci à l'**acide ursolique**, composé connu et précédemment isolé des feuilles de *Trialsia niammensis* (Chee et al., 1996).



**Acide ursolique**  
**(154)**

**Tableau XV** : Données de RMN ( $^1\text{H}$ , 500 MHz et  $^{13}\text{C}$ , 125 MHz ;  $\text{CD}_3\text{OD}$ ) de  $\text{TAF}_9$  comparées à celles de la littérature (Chee et *al.*, 1996).

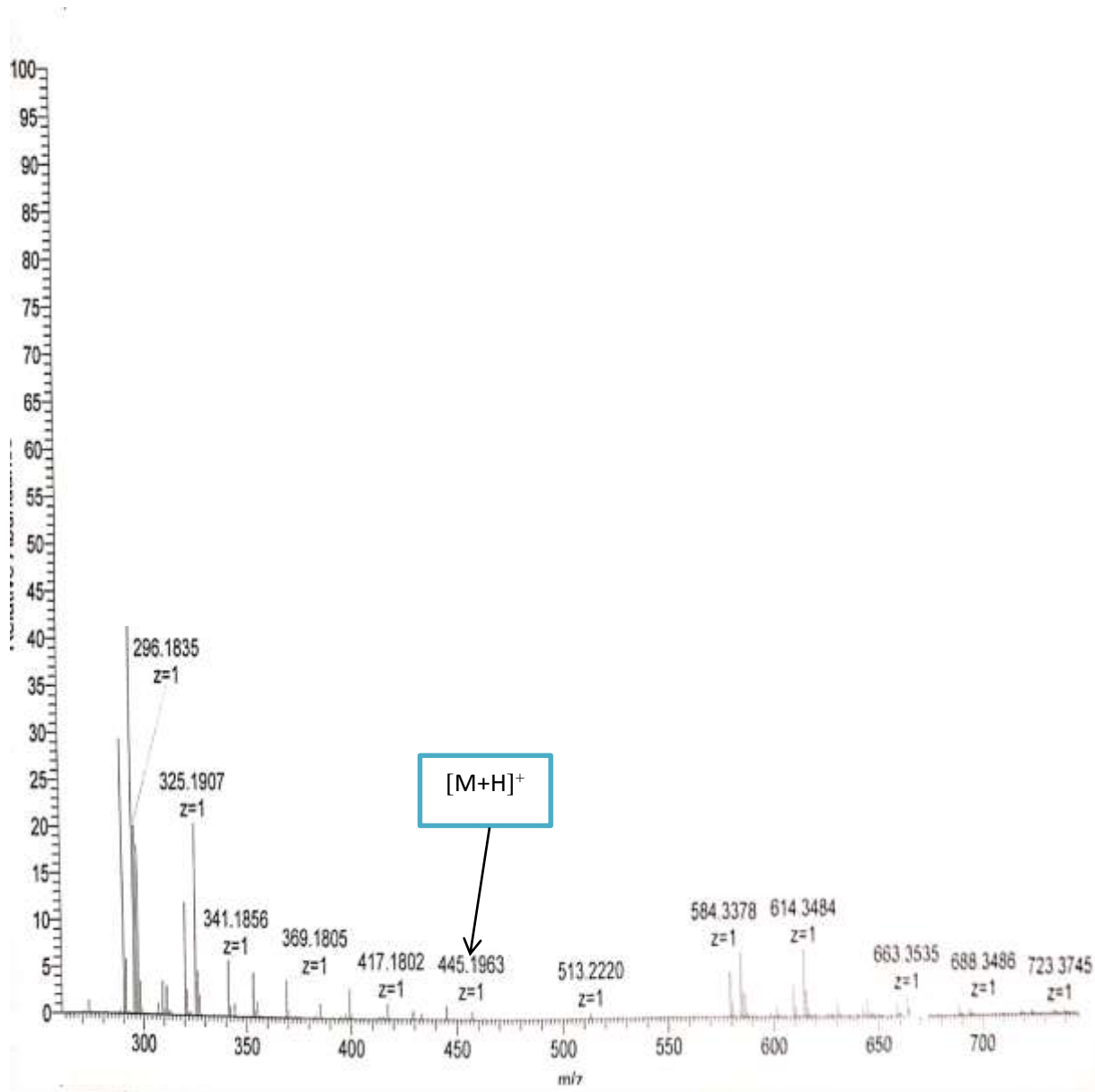
Position	$\text{TAF}_9$ ( $\text{CD}_3\text{OD}$ )		Acide ursolique ( $\text{CD}_3\text{OD}$ )	
	$\delta_{\text{H}}$ (J en Hz)	$\delta_{\text{C}}$	$\delta_{\text{H}}$ (J en Hz)	$\delta_{\text{C}}$
1	0,92 <i>m</i> 1,45 <i>m</i>	38,7	0,94 <i>m</i> 1,47 <i>m</i>	37,8
2	1,70 <i>m</i> 2,13 <i>m</i>	26,4	1,70 <i>m</i> 2,15 <i>m</i>	27,1
3	3,14 <i>dd</i> ( $j = 5,0$ et $10,0$ Hz)	79,4	3,09 <i>dd</i> ( $j = 5,0$ et $10,0$ Hz)	80,1
4	-	39,3	-	40,0
5	0,75 <i>m</i>	56,9	0,78 <i>m</i>	55,7
6	1,57 <i>m</i> 1,4 <i>m</i>	19,4	1,27 <i>m</i> 1,57 <i>m</i>	18,7
7	1,49 <i>m</i> 1,34 <i>m</i>	31,9	1,52 <i>m</i> 1,58 <i>m</i>	32,6
8	-	40,1	-	40,0
9	1,55 <i>m</i>	49,1	1,76 <i>m</i>	49,2
10	-	37,0	-	38,0
11	2,03 <i>m</i> 1,64 <i>m</i>	25,5	1,93 <i>m</i> 2,00 <i>m</i>	22,8
12	5,22 <i>m</i>	127,3	5,55 <i>m</i>	129,4
13	-	139,0	-	141,0
14	-	42,1	-	42,0
15	1,93 <i>m</i> 1,09 <i>m</i>	29,3	1,92 <i>m</i> 1,07 <i>m</i>	29,1
16	1,55 <i>m</i> 1,34 <i>m</i>	34,3	1,53 <i>m</i> 1,33 <i>m</i>	34,5
17	-	49,1	-	49,1
18	2,19 <i>m</i>	55,8	2,02 <i>m</i>	56,0
19	1,56 <i>m</i>	49,0	1,32 <i>m</i>	47,1
20	-	31,0	-	30,9
21	1,34 <i>m</i> 1,55 <i>m</i>	34,6	1,20 <i>m</i> 1,85 <i>m</i>	35,9
22	1,49 <i>m</i> 1,35 <i>m</i>	31,8	2,17 <i>m</i> 2,29 <i>m</i>	32,3
23	0,76 <i>s</i>	16,1	0,76 <i>s</i>	16,5
24	0,96 <i>s</i>	22,1	0,95 <i>s</i>	21,7
25	0,95 <i>s</i>	28,5	0,96 <i>s</i>	27,9
26	0,86 <i>s</i>	17,8	0,84 <i>s</i>	17,7
27	1,10 <i>s</i>	23,8	1,13 <i>s</i>	23,3
28	-	181,8	-	180,1
29	0,88 <i>d</i> ( $j = 7,3$ Hz)	30,1	0,97 <i>d</i> ( $j = 7,5$ Hz)	29,7
30	0,84 <i>d</i> ( $j = 8,1$ Hz)	18,0	0,86 <i>d</i> ( $j = 8,0$ Hz)	18,3



### 2.1.2.10. Identification du composé TAF<sub>10</sub>

Le composé TAF<sub>10</sub> est obtenu sous forme de poudre blanche, soluble au méthanol. Il répond positivement au test de Liebermann-Burchard.

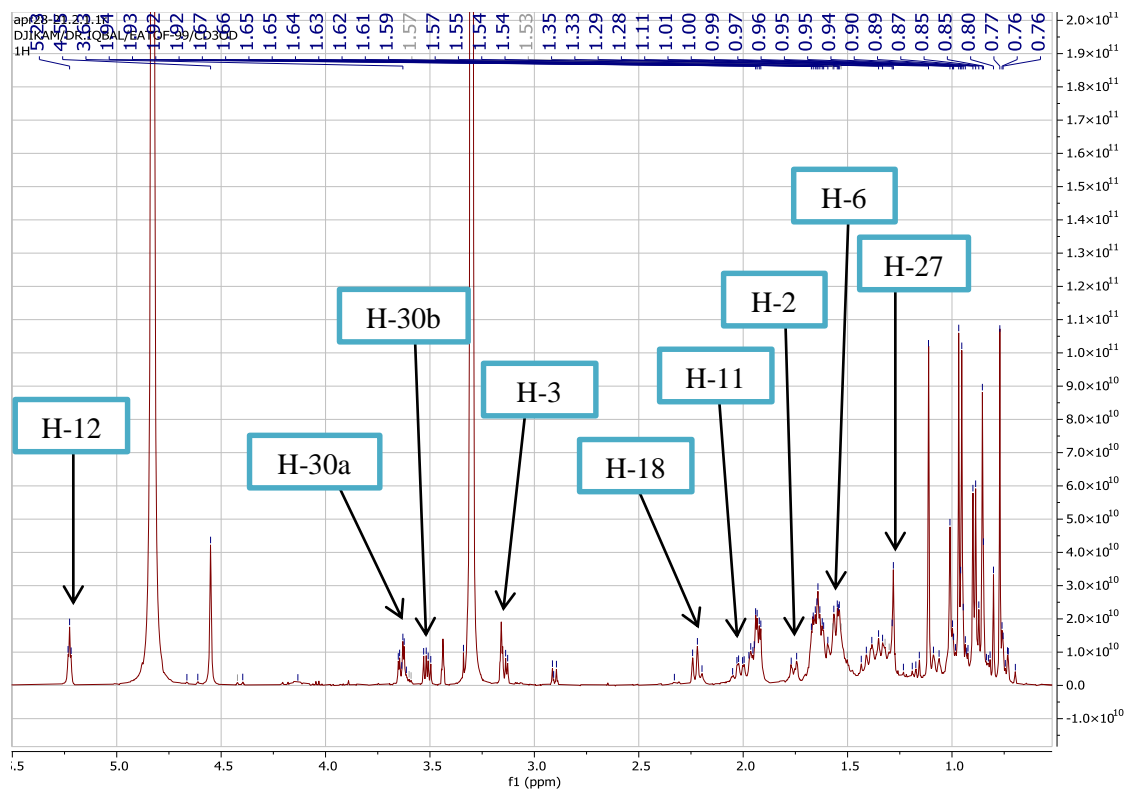
Son spectre de masse HR-ESI-MS, haute résolution présente le pic de l'ion *pseudo*-moléculaire à  $m/z = 445,1963$   $[M+H]^+$  conduisant à la formule moléculaire C<sub>30</sub>H<sub>52</sub>O<sub>2</sub> soit six degrés d'insaturations.



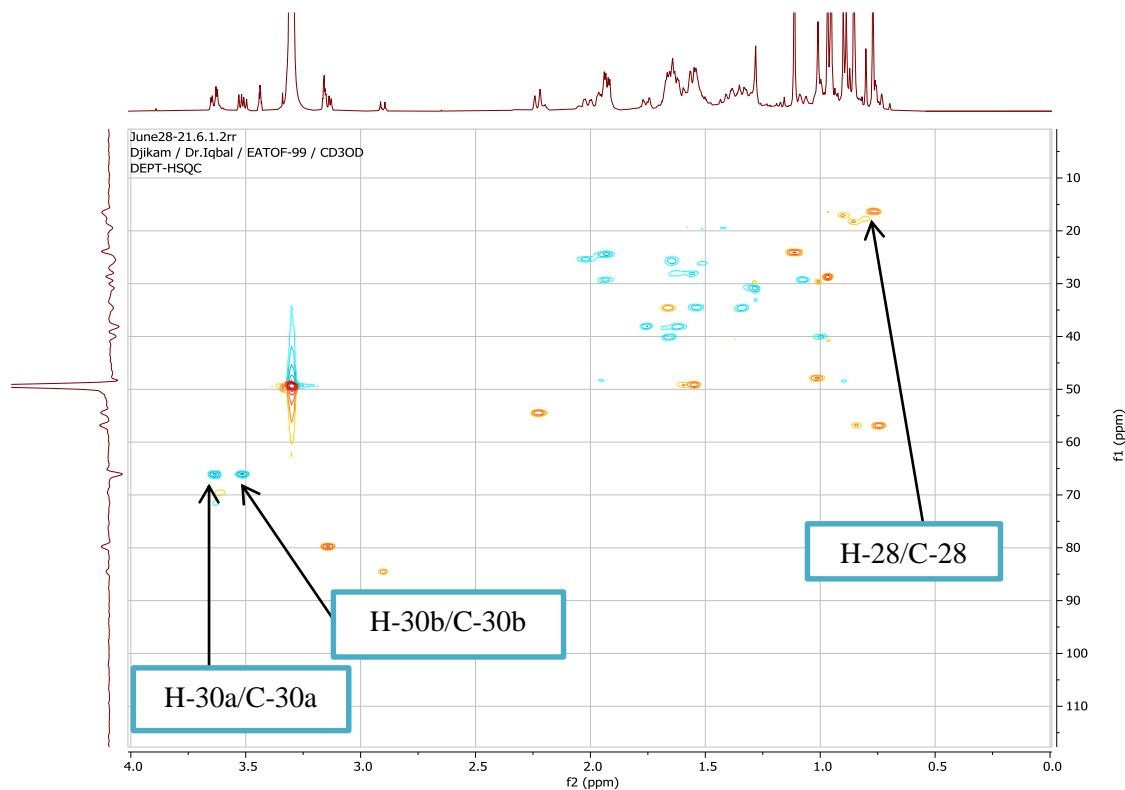
**Figure 68** : Spectre de masse HR-ESI-MS du composé TAF<sub>10</sub>.

La comparaison des valeurs des déplacements chimiques observées pour le composé TAF<sub>10</sub> avec celles obtenues dans le composé TAF<sub>9</sub>, montre que ces deux composés ont le même squelette de base, à savoir le type ursane ; à l'exception du signal d'un méthyle à  $\delta_H$  0,85 (3H, s, H-28) sur le spectre proton, qui remplace la fonction carbonyle en position 28

du triterpène (**Fig. 68**). L'observation du signal de protons hydroxylés résonnant à  $\delta_H$  3,63 (2H, *m*, H-30) dans le spectre proton qui corrèle sur le spectre HSQC avec le carbone à  $\delta_C$  65,9 révèle la présence d'un hydroxyméthyle qui remplace le Me-30 dans le composé **TAF<sub>9</sub>**.

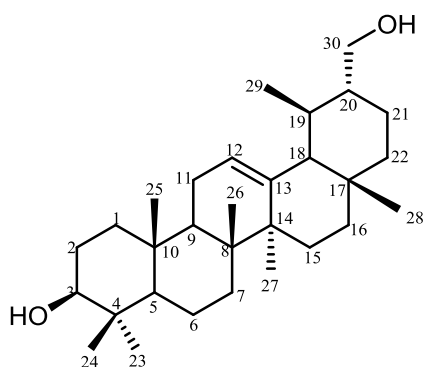


**Figure 69** : Spectre RMN  $^1\text{H}$  (500 MHz,  $\text{CD}_3\text{OD}$ ) du composé **TAF<sub>10</sub>**.



**Figure 70** : Spectre HSQC (500 MHz,  $\text{CD}_3\text{OD}$ ) du composé **TAF<sub>10</sub>**.

Ainsi, l'analyse des spectres RMN  $^1\text{H}$ ,  $^{13}\text{C}$ , HSQC et HMBC de **TAF<sub>10</sub>** a permis d'attribuer tous les signaux du composé, et par comparaison avec les données de la littérature, nous avons identifié celui-ci au **rubrinol**, composé connu et précédemment isolé des feuilles de *Plumeria rubra* (Akhtar et al., 1994).



**Rubrinol**  
**(155)**

**Tableau XVI** : Données de RMN ( $^1\text{H}$ , 500 MHz et  $^{13}\text{C}$ , 125 MHz ;  $\text{CD}_3\text{OD}$ ) de TAF<sub>10</sub> comparées à celles de la littérature (Akhtar et *al.*, 1994).

Position	TAF <sub>10</sub> ( $\text{CD}_3\text{OD}$ )		Rubrinol ( $\text{CD}_3\text{OD}$ )	
	$\delta_{\text{H}}$ ( <i>J</i> en Hz)	$\delta_{\text{C}}$	$\delta_{\text{H}}$ ( <i>J</i> en Hz)	$\delta_{\text{C}}$
1	1,02 <i>m</i> 1,64 <i>m</i>	38,3	0,94 <i>m</i> 1,47 <i>m</i>	37,8
2	1,95 <i>m</i> 2,0 <i>m</i>	26,4	1,70 <i>m</i> 2,15 <i>m</i>	27,1
3	3,13 <i>m</i>	79,4	3,09 <i>dd</i> ( <i>j</i> = 5,0 et 10,0 Hz)	80,1
4	-	39,3	-	40,0
5	0,74 <i>m</i>	56,0	0,78 <i>m</i>	55,7
6	1,42 <i>m</i> 1,54 <i>m</i>	19,3	1,27 <i>m</i> 1,57 <i>m</i>	18,7
7	1,54 <i>m</i> 1,32 <i>m</i>	34,3	1,52 <i>m</i> 1,58 <i>m</i>	32,6
8	-	40,1	-	40,0
9	1,55 <i>m</i>	49,1	1,76 <i>m</i>	49,2
10	-	37,0	-	38,0
11	1,94 <i>m</i> 2,02 <i>m</i>	24,3	1,93 <i>m</i> 2,00 <i>m</i>	22,8
12	5,24 <i>m</i>	126,9	5,55 <i>m</i>	129,4
13	-	139,8	-	141,0
14	-	41,9	-	42,0
15	1,94 <i>m</i> 1,08 <i>m</i>	29,5	1,90 <i>m</i> 1,1 <i>m</i>	29,1
16	1,54 <i>m</i> 1,34 <i>m</i>	34,6	1,57 <i>m</i> 1,36 <i>m</i>	34,5
17	-	49,0	-	49,1
18	2,2 <i>m</i>	54,8	2,02 <i>m</i>	56,0
19	1,02 <i>m</i>	48,1	1,32 <i>m</i>	47,1
20	-	31,0	-	30,9
21	1,35 <i>m</i> 1,54 <i>m</i>	35,9	1,20 <i>m</i> 1,85 <i>m</i>	35,9
22	1,95 <i>m</i> 1,05 <i>m</i>	34,7	2,17 <i>m</i> 2,29 <i>m</i>	32,3
23	0,76 <i>s</i>	16,3	0,76 <i>s</i>	16,5
24	0,94 <i>s</i>	21,4	0,95 <i>s</i>	21,7
25	0,97 <i>s</i>	28,7	0,96 <i>s</i>	27,9
26	0,86 <i>s</i>	17,8	0,86 <i>s</i>	17,7
27	1,12 <i>s</i>	24,0	1,10 <i>s</i>	23,3
28	0,85 <i>s</i>	18,4	0,87 <i>s</i>	18,5
29	0,97 <i>d</i> ( <i>j</i> = 8,5 Hz)	28,9	0,97 <i>d</i> ( <i>j</i> = 7,5 Hz)	29,7
30	3,63 <i>m</i>	66,2	3,67 <i>m</i>	65,5

### 2.1.2.11. Identification du composé TAF<sub>11</sub>

Le composé TAF<sub>11</sub> est obtenu sous forme de poudre blanche amorphe. Il répond positivement au test de Liebermann-Burchard, caractéristique des triterpènes. Son spectre de masse LC-ESI-MS basse résolution, en mode positif présente un pic correspondant à l'ion *pseudo*-moléculaire à  $m/z = 443,3373$   $[M+H]^+$ . Cette valeur est en accord avec la formule brute C<sub>30</sub>H<sub>50</sub>O<sub>2</sub> et présentant six degrés d'insaturations.

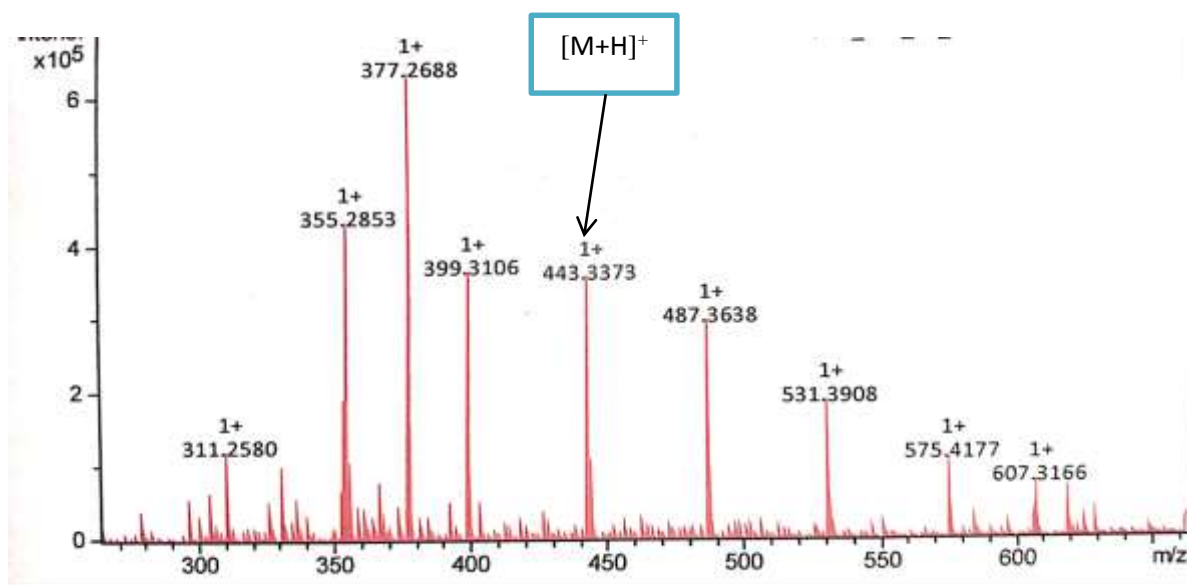
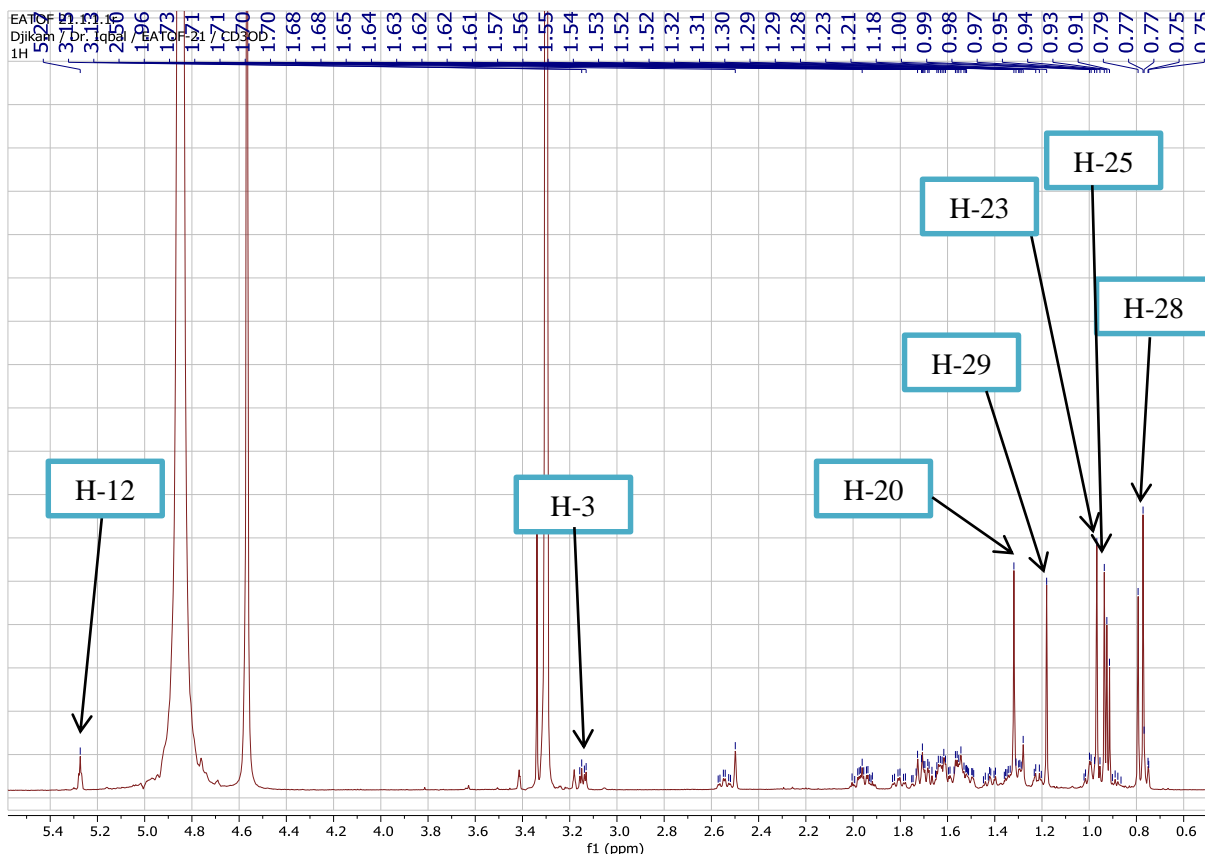


Figure 71 : Spectre de masse LC-ESI-MS du composé TAF<sub>11</sub>.

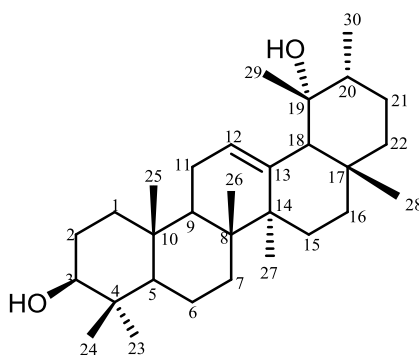
L'analyse de son spectre de RMN <sup>1</sup>H met en évidence sept signaux de méthyles résonnants sous forme de singulet à  $\delta_H$  0,98 (s, H-23) ; 0,80 (s, H-24) ; 0,94 (s, H-25) ; 0,92 (s, H-28) ; 1,32 (s, H-27) ; 0,78 (s, H-26) et 1,18 (s, H-29) et un méthyl doublet à  $\delta_H$  0,91 (d, H-30,  $J = 6,3$  Hz) caractéristique d'un triterpène pentacyclique de type ursane (Ibrahim et al., 2012). Sur ce même spectre on observe le déblindage du proton à  $\delta_H$  5,27 (s, H-12) suggérant la présence d'une double liaison. On observe également un signal de proton méthinique portant un atome oxygéné à  $\delta_H$  3,03 (1H, dd,  $J = 9,5 ; 3,5$  Hz ; H-3) caractéristique d'une fonction alcool secondaire (Chen et al., 2010).



**Figure 72** : Spectre RMN  $^1\text{H}$  (500MHz,  $\text{CD}_3\text{OD}$ ) du composé  $\text{TAF}_{11}$ .

La comparaison des valeurs des déplacements chimiques observées pour l'aglycone de  $\text{TAF}_1$  avec celles obtenues dans le composé  $\text{TAF}_{11}$ , montrent que ces deux composés partagent le même aglycone à savoir le  $\alpha$ -amyrin ( $3\beta$ - $19\alpha$ -hydroxy ursan-12-ène).

Une analyse approfondie des expériences de RMN 1D et 2D de  $\text{TAF}_{11}$  nous a permis d'attribuer tous les signaux des protons et des carbones de  $\text{TAF}_{11}$  ; par comparaison avec les données de la littérature nous avons identifié celui-ci au  **$19\alpha$ -hydroxy- $\alpha$ -amyrine** (Akbar et Malik, 2002).



**$19\alpha$ -hydroxy- $\alpha$ -amyrine**

(156)

**Tableau XVII** : Données de RMN ( $^1\text{H}$ , 500 MHz et  $^{13}\text{C}$ , 125 MHz ;  $\text{CD}_3\text{OD}$ ) de  $\text{TAF}_{11}$  comparées à celles de la littérature (Akbar et Malik, 2002).

Position	TAF <sub>11</sub> ( $\text{CD}_3\text{OD}$ )		19 $\alpha$ -hydroxy- $\alpha$ -amyrine ( $\text{CD}_3\text{OD}$ )	
	$\delta_{\text{H}}$ (J en Hz)	$\delta_{\text{C}}$	$\delta_{\text{H}}$ (J en Hz)	$\delta_{\text{C}}$
1	1,72 m 1,62 m	39,2	1,76 m 1,60 m	38,1
2	1,75 m 1,62 m	26,9	1,81 m 1,68 m	26,8
3	3,05 m	90,1	3,09 dd ( $j = 5,0$ et $10,0$ Hz)	90,7
4	-	40,3	-	40,1
5	0,79 m	57,1	0,78 m	57,1
6	1,54 m	20,0	1,52 m	19,3
7	1,57 m	33,8	1,51 m	33,6
8	-	41,0	-	41,3
9	1,69 m	48,5	1,67 m	48,7
10	-	39,9	-	39,7
11	1,95 m	25,0	1,93 m	24,6
12	5,27 m	129,6	5,27 m	129,3
13	-	140,4	-	140,2
14	-	42,5	-	42,3
15	0,99 m	29,2	1,0 m	29,5
16	1,81 m 1,30 m	26,7	1,83 m 1,32 m	26,9
17	-	42,5	-	42,9
18	2,50 m	55,5	2,51 m	55,1
19	-	73,8	-	73,7
20	1,34 m	43,4	1,33 m	42,9
21	1,22 m	27,4	1,31 m	28,2
22	2,17 m 2,29 m	34,2	1,70 m	35,8
23	0,99 s	28,4	0,98 s	28,3
24	0,79 s	17,6	0,80 s	17,1
25	0,93 s	16,7	0,94 s	16,1
26	0,79 s	17,7	0,78 s	17,3
27	1,33 s	24,7	1,32 s	24,6
28	0,92 s	16,3	0,92 s	16,4
29	1,19 s	27,2	1,18 s	27,0
30	0,91 d ( $J = 6,3$ Hz)	16,5	0,96 d ( $J = 6,2$ Hz)	17,0

## **2.2. Etude phytochimique des feuilles de *Tricalysia oligoneura* S. Schum**

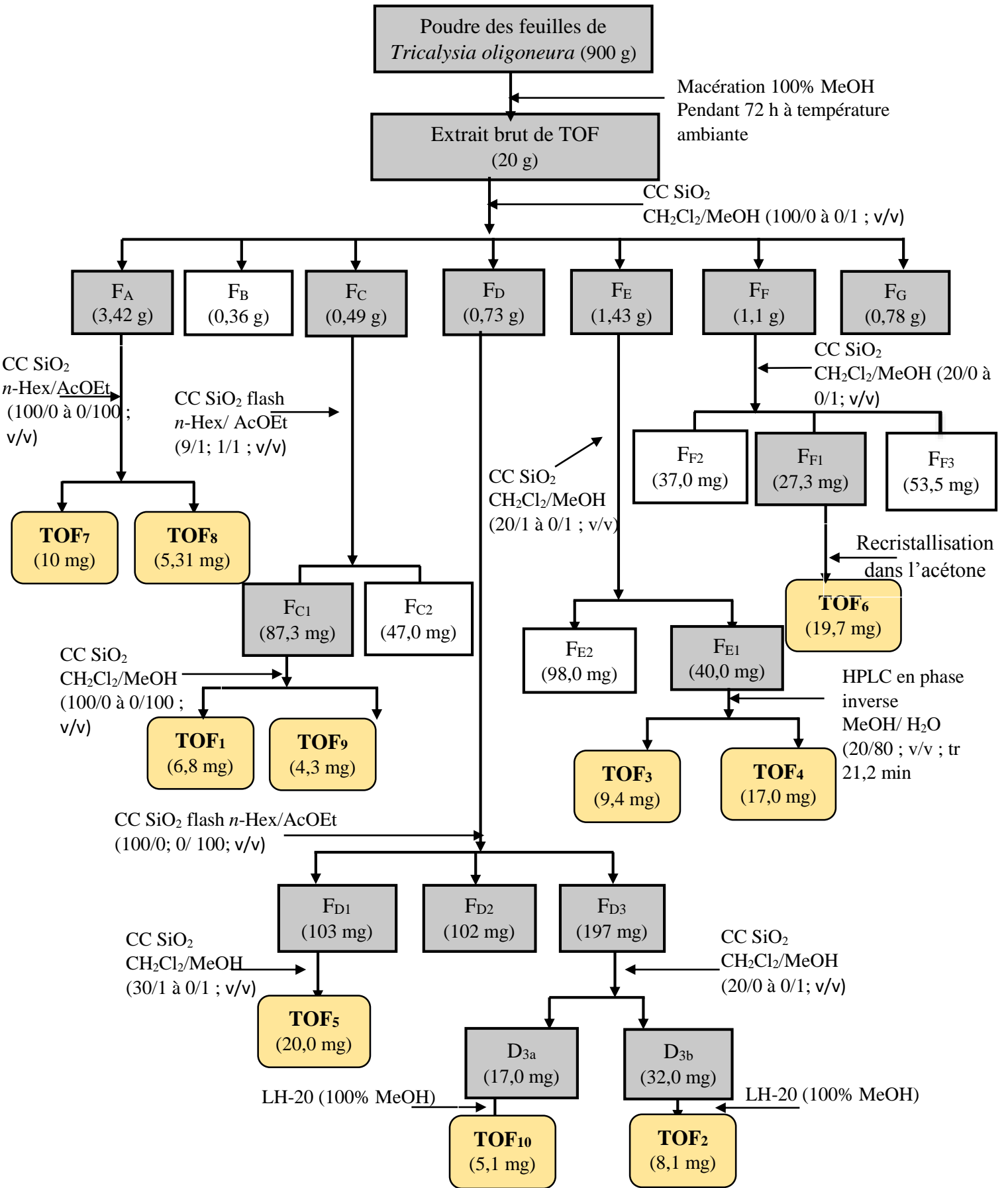
L'étude phytochimique des feuilles de *Tricalysia oligoneura* S. Schum nous a permis d'isoler dix composés parmi lesquels trois sont nouvellement décrits dans la littérature. L'élucidation structurale de ces composés a été réalisée grâce à une analyse approfondie des spectres de RMN 1D ( $^1\text{H}$ ,  $^{13}\text{C}$ ) et 2D (COSY, NOESY, HSQC et HMBC), couplée à la spectrométrie de masse.

### **2.2.1. Extraction, fractionnement et purification des composés**

Nous avons travaillé sur les feuilles de *T. oligoneura* (900g). Ces dernières ont été séchées, broyées et macérées à trois reprises pendant 72h, avec le MeOH (3L). A la fin des extractions par macération, les filtrats ont été regroupés et évaporés à sec à l'aide d'un rotavapor de type BUCHI afin d'obtenir un extrait brut de 35 g. Par la suite, une partie de cet extrait brut (20 g) a été soumise à une chromatographie sur colonne de gel de silice (CC) et éluée au gradient  $\text{CH}_2\text{Cl}_2/\text{MeOH}$  (100/0 à 0/1 v/v), donnant 189 fractions qui ont été combinées en sept principales fractions (indexées A à G) après analyse sur chromatographie sur couche mince.

La purification des fractions par différentes méthodes chromatographiques a permis d'isoler dix composés. Le schéma ci-dessous présente les différentes étapes d'isolement des composés de *T. oligoneura*.



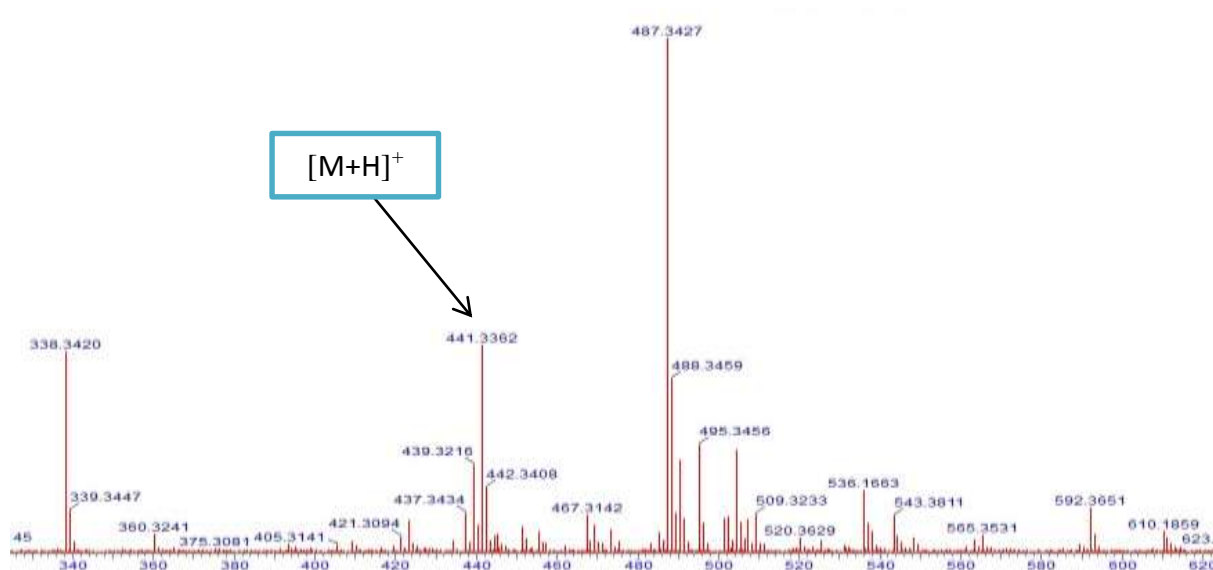


**Schéma 9:** Protocole d'extraction et d'isolement des composés de feuilles de *Tricalysia oligoneura*.

## 2.2.2. Caractérisation des composés isolés

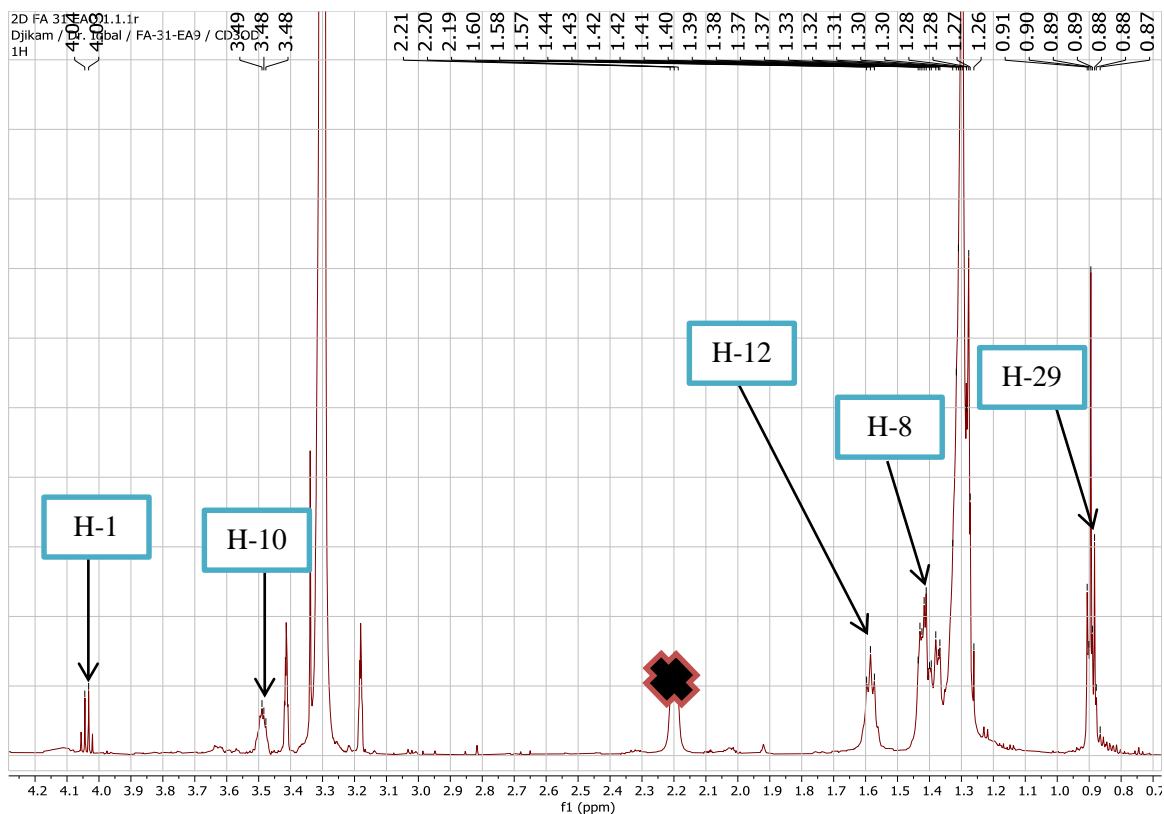
### 2.2.2.1. Détermination structurale du composé **TOF<sub>1</sub>**

Le composé **TOF<sub>1</sub>** est obtenu sous forme d'une poudre blanche amorphe. Il répond positivement au test de Lucas, caractéristique des alcools. L'analyse de son spectre de masse LC-ESI-MS en mode positif exhibe le pic de l'ion *pseudo*-moléculaire à  $m/z = 441,3362$   $[M+H]^+$  et conforme à la formule  $C_{29}H_{60}O_2$ .



**Figure 73** : Spectre de masse LC-ESI-MS du composé **TOF<sub>1</sub>**.

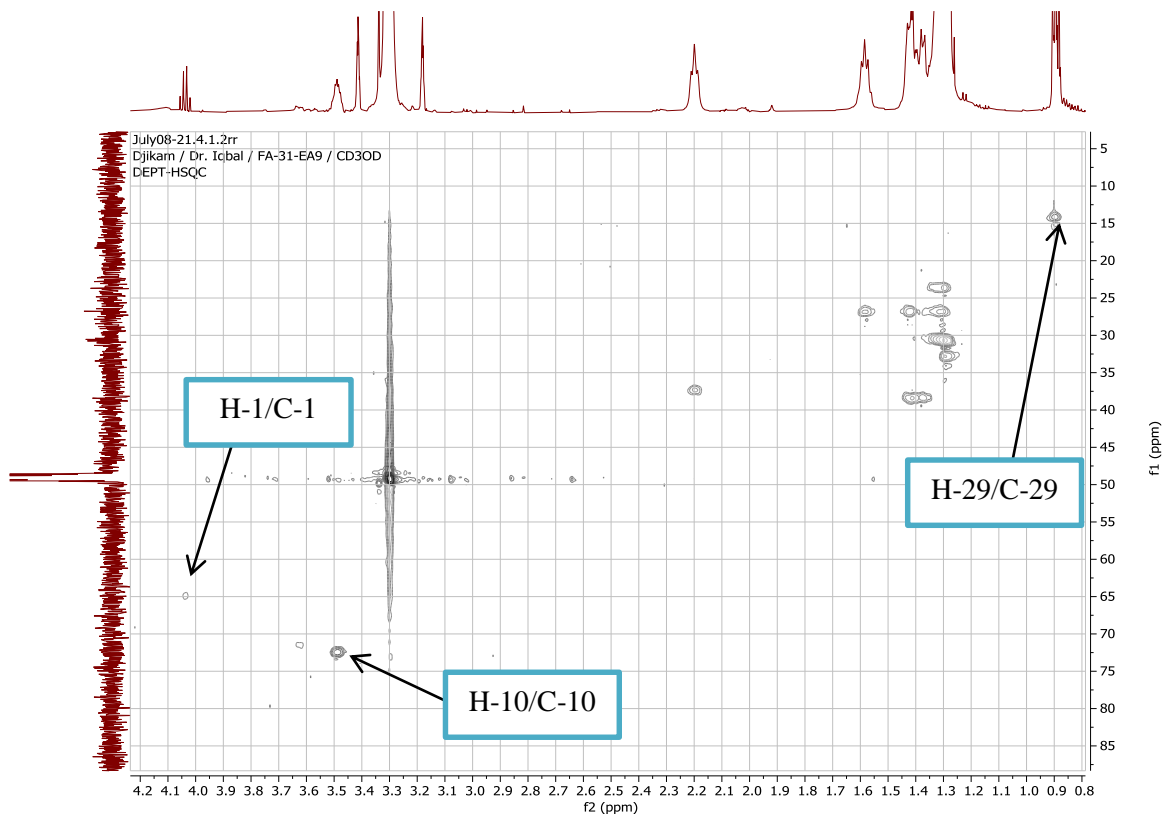
L'analyse du spectre RMN  $^1H$  de **TOF<sub>1</sub>** présente un signal large dans la plage de  $\delta_H$  1,25–1,74 (2H, *m*, groupe  $CH_2$ ) et un triplet à 0,89 (3H, *t*,  $J = 6,7$  Hz, groupes Me terminal, Me-29) attribués à une longue chaîne aliphatique. La présence d'un méthine oxygéné à  $\delta_H$  3,47 dans le composé **TOF<sub>1</sub>** est en accord avec la structure d'un alcool (Sharma et *al.* 2014 ; Khedr et *al.*, 2018). Aussi, en accord avec la structure précitée, nous avons observé le pic caractéristique d'un oxyméthylène terminal à  $\delta_H$  4,03 (H-1) corrélé dans le spectre HSQC avec un carbone à  $\delta_C$  64,7.



**Figure 74** : Spectre RMN  $^1\text{H}$  (500 MHz,  $\text{CD}_3\text{OD}$ ) du composé  $\text{TOF}_1$ .

Le spectre de RMN  $^{13}\text{C}$  révèle la présence des signaux à  $\delta_{\text{C}}$  72,7 (C-10); 64,7 (C-1) attribuables à un méthine oxygéné dans la chaîne et à un méthylène oxygéné terminal respectivement et confirmant le squelette d'un alcool (Natori *et al.*, 1994; Rho et Kim., 2005; Sharma *et al.*, 2014).

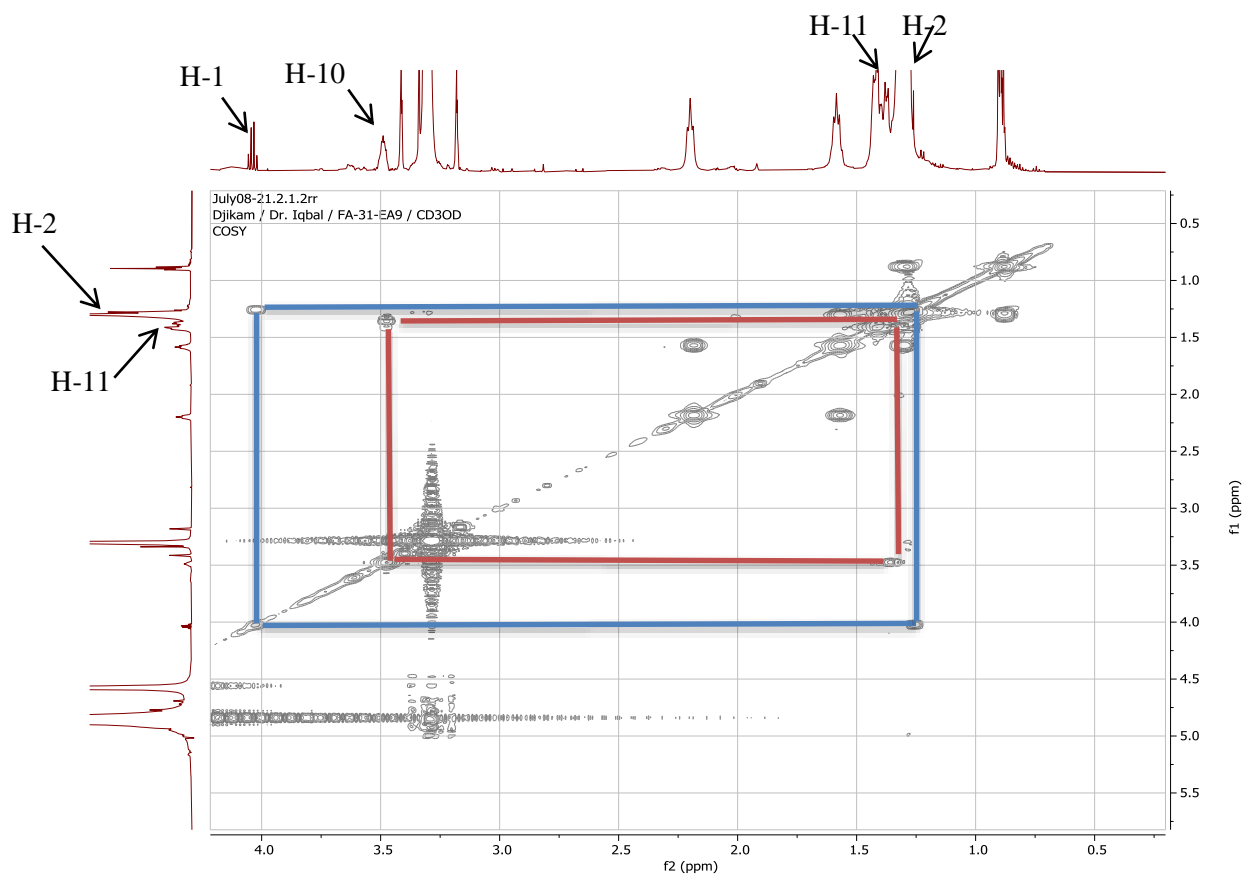
L'analyse de son spectre HSQC (**Fig. 75**) nous a permis de fixer chaque proton au carbone correspondant. Nous avons notamment les tâches de corrélations entre le proton à  $\delta_{\text{H}}$  3,47 (H-10) et le carbone d'un méthine oxygéné à  $\delta_{\text{C}}$  72,3 (C-10); entre un oxyméthylène à  $\delta_{\text{H}}$  4,03 (H-1) qui corrèle avec son carbone à  $\delta_{\text{C}}$  64,7 (C-1); également les protons caractéristiques d'une longue chaîne aliphatique à  $\delta_{\text{H}}$  1,25-1,60 et leur carbone à  $\delta_{\text{C}}$  30,5.



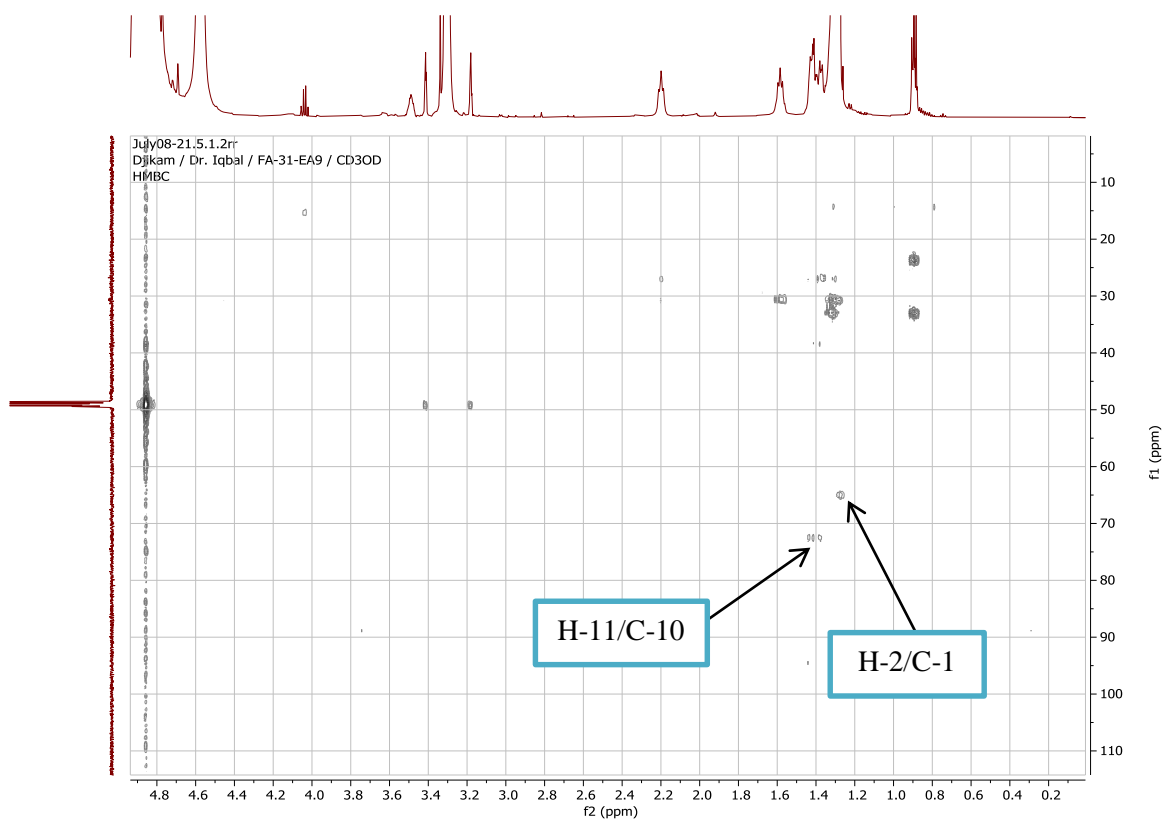
**Figure 75** : Spectre HSQC (500 MHz, CD<sub>3</sub>OD) du composé TOF<sub>1</sub>.

Les assignations de divers protons et carbones dans les spectres RMN ont été faites sur la base d'expériences <sup>1</sup>H-<sup>1</sup>H COSY (**Fig. 76**) et HMBC (**Fig. 77**). Le spectre COSY révèle entre autre le couplage entre le méthine oxygéné à  $\delta_H$  3,47 (H-10) avec le méthylène à  $\delta_H$  1,40 (H-11); entre l'oxyméthylène terminal à  $\delta_H$  4,03 (H-1) et le méthylène à  $\delta_H$  1,25 (H-2). Les données spectrales de TOF<sub>1</sub> sont presque identiques au nonacosane-10-ol (Naz et *al.*, 2013) à l'exception que sur le spectre de TOF<sub>1</sub> on observe un oxyméthylène, ce qui laisserait penser qu'un des deux méthyles du nonacosane-10-ol aurait été oxydé.

Les positions des groupes hydroxyles ont été confirmées grâce au spectre HMBC dans lequel le signal du proton méthylénique à  $\delta_H$  1,27 (H-2) montre des corrélations avec le signal de carbone de l'oxyméthine à  $\delta_C$  64,7 (C-1) ; Le signal du proton méthylénique à  $\delta_H$  1,38 (H-11) présente une corrélation avec l'oxyméthylène à  $\delta_C$  72,3 (C-10).

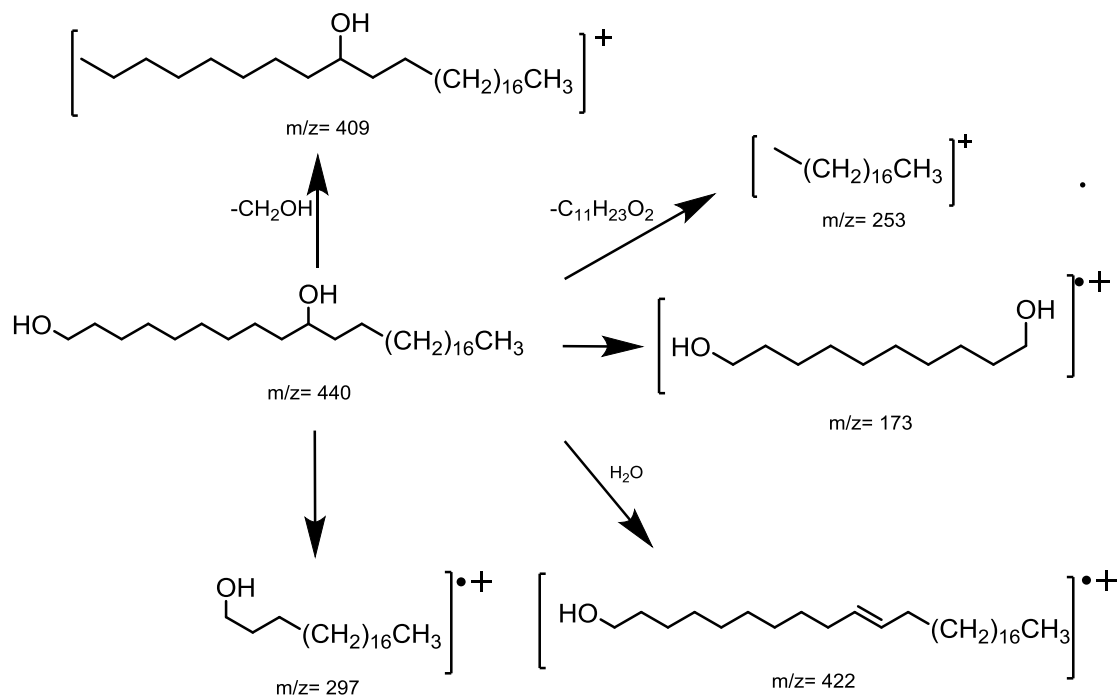


**Figure 76** : Spectre COSY (500 MHz, CD<sub>3</sub>OD) du composé TOF<sub>1</sub>.

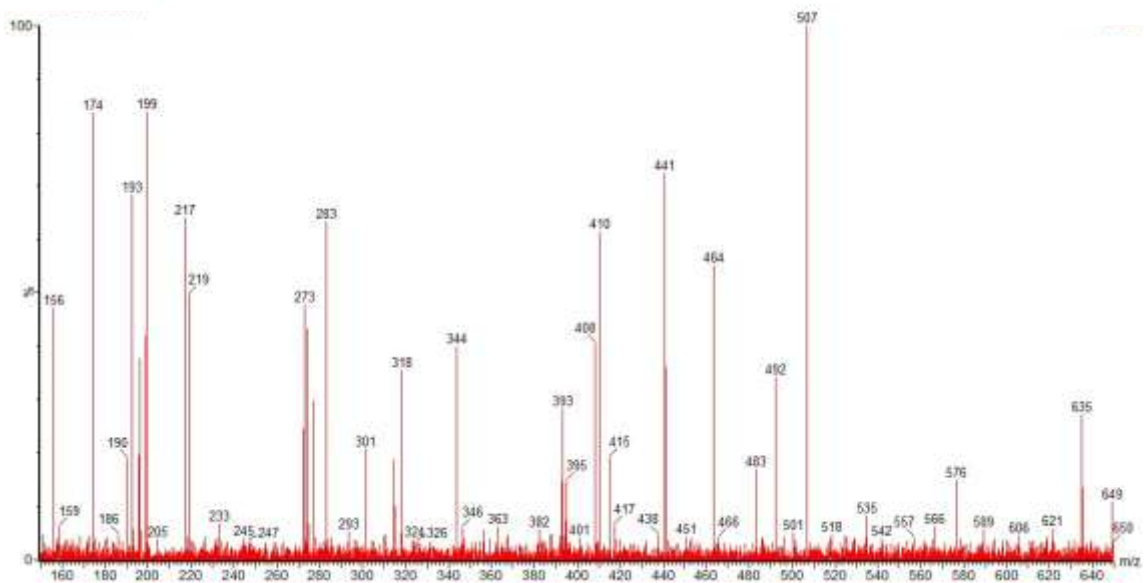


**Figure 77** : Spectre HMBC (500 MHz, CD<sub>3</sub>OD) du composé TOF<sub>1</sub>.

La formule moléculaire a été confirmée par les pics d'ions fragments à  $m/z = 409$  ; 253 ; 173 ; 297 et 422 dans son spectre UPLC (schéma 9).



**Schéma 10** : Schéma de fragmentation de masse de TOF<sub>1</sub>.



**Figure 78** : Pics des ions fragments issus du clivage du composé TOF<sub>1</sub> (UPLC)

La configuration relative de TOF<sub>1</sub> a été déduite de l'analyse de son spectre NOESY (**Fig. 79**) où on observe les corrélations entre H-10 ( $\delta_H$  3,48) et H-13 ( $\delta_H$  1,27) et entre H-28 ( $\delta_H$  1,31) et H-29 ( $\delta_H$  0,89) ; ce qui indique que les protons sont orientés du même côté. Ainsi, la stéréochimie relative déduite pour le stéréo-centre C-10 est présumée être 10S\* en

comparaison avec les données de la littérature (Naz et *al.*, 2013) et du pouvoir rotatoire  $[\alpha]_D^{25}$  = +71.3 (c 0,1 MeOH) de **TOF<sub>1</sub>**.

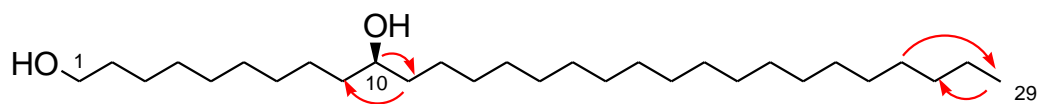


Figure 79: Correlations NOESY du composé TOF<sub>1</sub>.

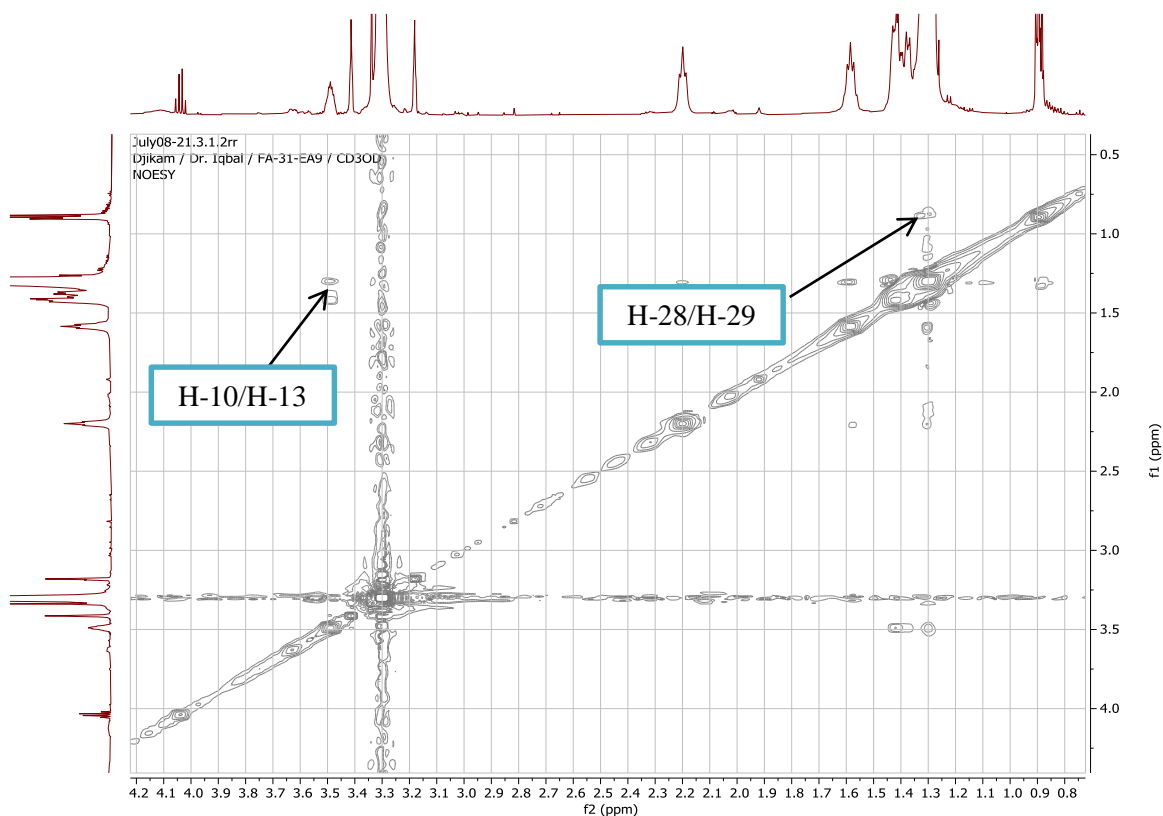
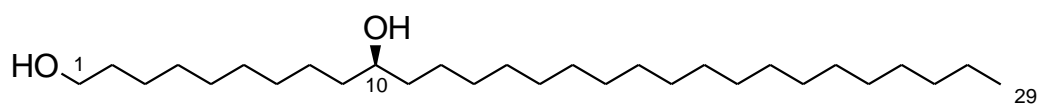


Figure 80: Spectre NOESY (500 MHz, CD<sub>3</sub>OD) de TOF<sub>1</sub>.

Au vu des résultats obtenus, la structure du composé **TOF<sub>1</sub>** a été élucidée comme étant le **nonacosane-1,10-diol**, nouveau composé naturel.



**Nonacosane-1,10-diol**  
(157)

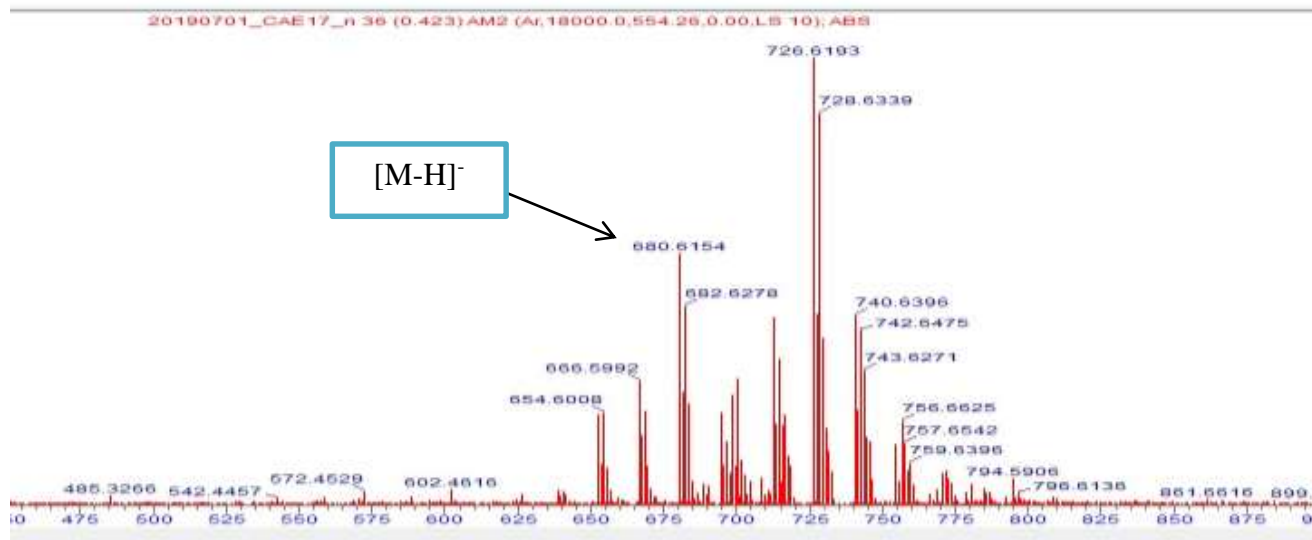
**Tableau XVIII** : Données de RMN ( $^1\text{H}$ , 500 MHz et  $^{13}\text{C}$ , 125 MHz ;  $\text{CD}_3\text{OD}$ ) du composé  $\text{TOF}_1$

Position	TOF <sub>1</sub> (CD <sub>3</sub> OD)	
	$\delta_{\text{H}}$ (J en Hz)	$\delta_{\text{C}}$
1	4,04-4,01 <i>m</i>	64,7
2	1,29-1,27 <i>m</i>	26,7
3-7	1,29-1,27 <i>m</i>	30,5
8	1,41-1,39 <i>m</i>	26,7
9	1,43-1,41 <i>m</i>	38,2
10	3,47 <i>m</i>	72,3
11	1,41-1,40 <i>m</i> 1,37-1,35 <i>m</i>	38,3
12	1,57-1,55 <i>m</i> 1,41-1,39 <i>m</i>	26,7
13-26	1,29-1,27 <i>m</i>	30,5
27	1,29-1,27 <i>m</i>	32,6
28	1,29-1,27 <i>m</i>	23,5
29	0,89 <i>t</i> ( $j = 6,5$ Hz)	14,0



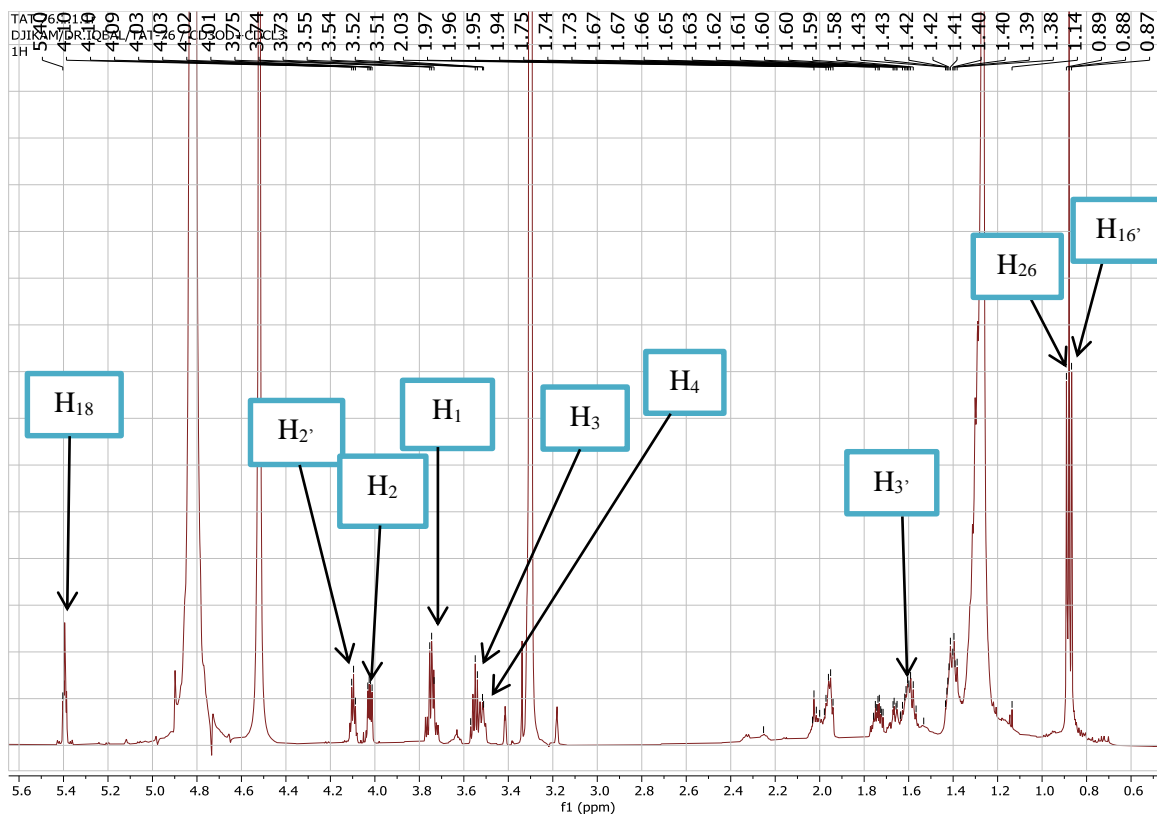
### 2.2.2.2. Détermination structurale du composé TOF<sub>2</sub>

Le composé TOF<sub>2</sub> est isolé sous la forme d'une poudre blanche amorphe. L'analyse de son spectre de masse HR-ESI-SM en mode négatif exhibe un ion quasi-moléculaire à  $m/z$  680,6154 [M-H]<sup>-</sup>, conforme à la formule C<sub>42</sub>H<sub>83</sub>NO<sub>5</sub> (calculée pour C<sub>42</sub>H<sub>83</sub>NO<sub>5</sub> : 681,6192) avec deux degrés d'insaturations. Son spectre IR révèle la présence d'un groupe amino N-H (3331 cm<sup>-1</sup>), de groupes hydroxyle (3350 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 épaulement (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).



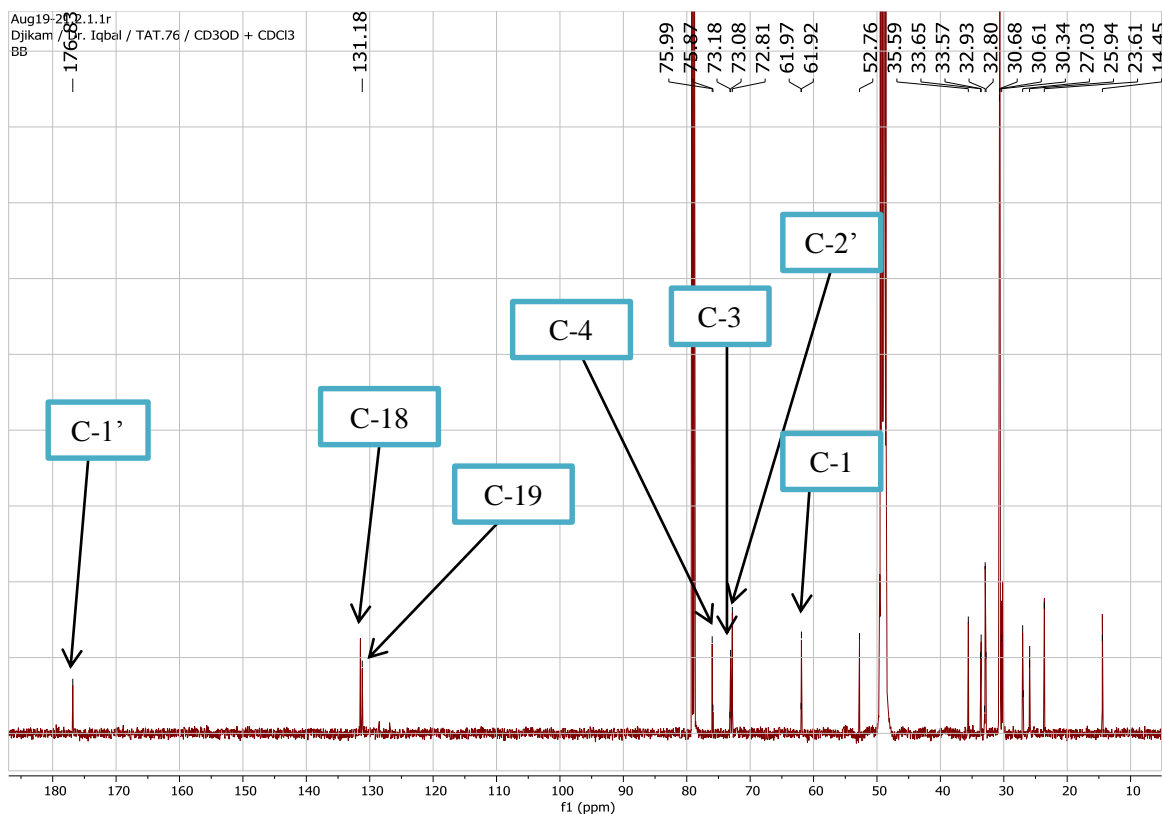
**Figure 81** : Spectre de masse HR-ESI-MS du composé TOF<sub>2</sub>.

L'analyse du spectre de RMN <sup>1</sup>H de TOF<sub>2</sub> présente un signal large dans la plage de  $\delta_H$  1,25–1,74 (2H, *m*, groupe CH<sub>2</sub>) et un triplet à 0,87 (6H; *J* = 6,7 Hz, représentant deux groupes Me terminaux (Me-26 et Me-16')) attribuable à deux longues chaînes aliphatiques. Un signal à  $\delta_H$  5,39 (2H, *m*) caractéristique d'une double liaison de protons oléfiniques (Natori et al., 1994). Ainsi, parmi les deux insaturations de TOF<sub>2</sub>, l'une d'elles pourrait sans ambiguïté être attribuée à la double liaison oléfinique et la deuxième à la fonction amide. Enfin, la présence de trois méthines oxygénées ( $\delta_H$  3,50 ; 3,54 et 4,02) dans le composé TOF<sub>2</sub> est en accord avec la structure d'une céramide (Sharma et al. 2014 ; Khedr et al., 2018). Nous observons également le pic caractéristique d'un oxyméthylène à  $\delta_H$  3,77 (H-1) et le pic d'un méthine lié au NH de l'amide à  $\delta_H$  4,09 (H-2) (Khedr et al., 2018).



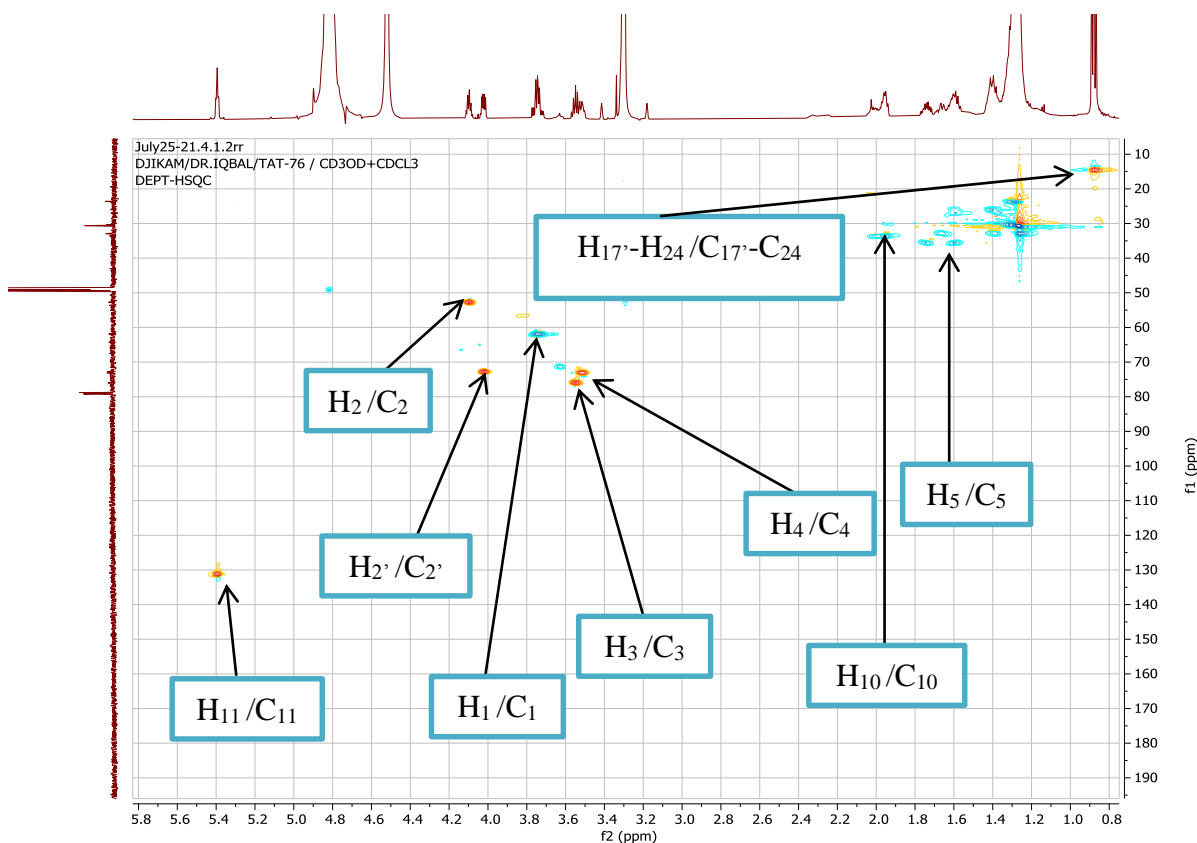
**Figure 82** : Spectre de RMN  $^1\text{H}$  (500 MHz,  $\text{CD}_3\text{OD}/\text{CDCl}_3$ ) du composé  $\text{TOF}_2$ .

Le spectre de RMN  $^{13}\text{C}$  révèle un signal d'un carbonyle à  $\delta_{\text{C}}$  178 et un signal à  $\delta_{\text{C}}$  52,6 (C–N) confirmant la présence d'un groupe amide (Khedr *et al.*, 2018). On observe également deux signaux à  $\delta_{\text{C}}$  131,1 et 131,0 attribuables aux carbones oléfiniques ; trois signaux de méthines oxygénés à  $\delta_{\text{C}}$  72,7 (C-2') ; 73,0 (C-4) et 75,8 (C-3) ; et un signal de méthylène oxygéné à  $\delta_{\text{C}}$  61,9 (C-1) confortant le squelette d'une céramide (Natori *et al.*, 1994; Rho et Kim., 2005; Sharma *et al.*, 2014).



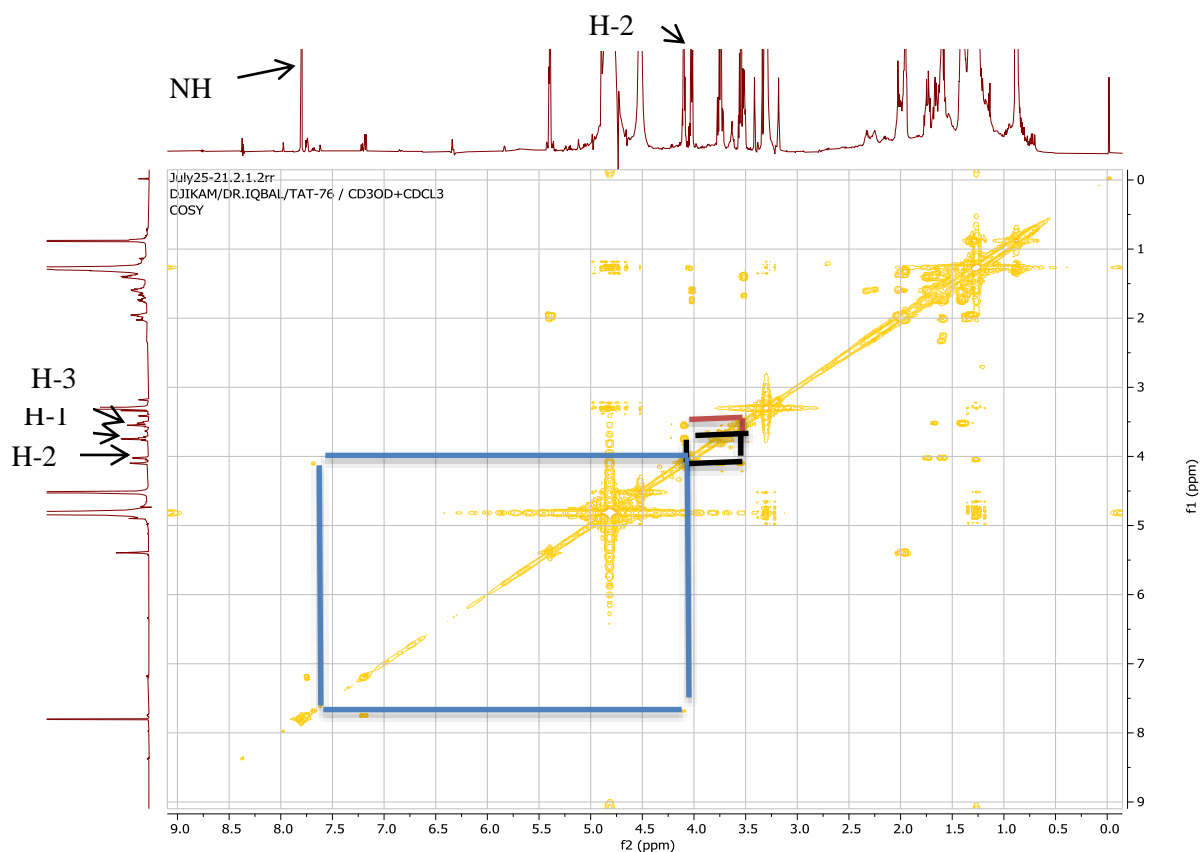
**Figure 83** : Spectres de RMN  $^{13}\text{C}$  (125 MHz,  $\text{CD}_3\text{OD}/\text{CDCl}_3$ ) du composé  $\text{TOF}_2$ .

L'analyse de son spectre HSQC (**Fig. 84**) nous a permis de fixer chaque proton au carbone correspondant. Nous avons notamment les tâches de corrélations entre le proton oléfinique à  $\delta_H$  5,39 (H-18') et le carbone oléfinique à  $\delta_C$  131,1 (C-18'), entre les protons et les carbones des trois méthine oxygénés à  $\delta_H$  3,50 ; 3,54 ; 4,02 et  $\delta_C$  73,0, 75,8 et 72,7 respectivement ; entre un oxyméthylène à  $\delta_H$  3,77 (H-1) qui corrèle avec un carbone à  $\delta_C$  61,9 ; également le pic d'un méthine lié au NH de l'amide à  $\delta_H$  4,09 (H-2) et  $\delta_C$  52,6 (C-2). Nous pouvons également observer la corrélation entre les protons caractéristiques d'une longue chaîne aliphatique à  $\delta_H$  1,25-1,60 et leurs carbones à  $\delta_C$  23,6- 30,8.

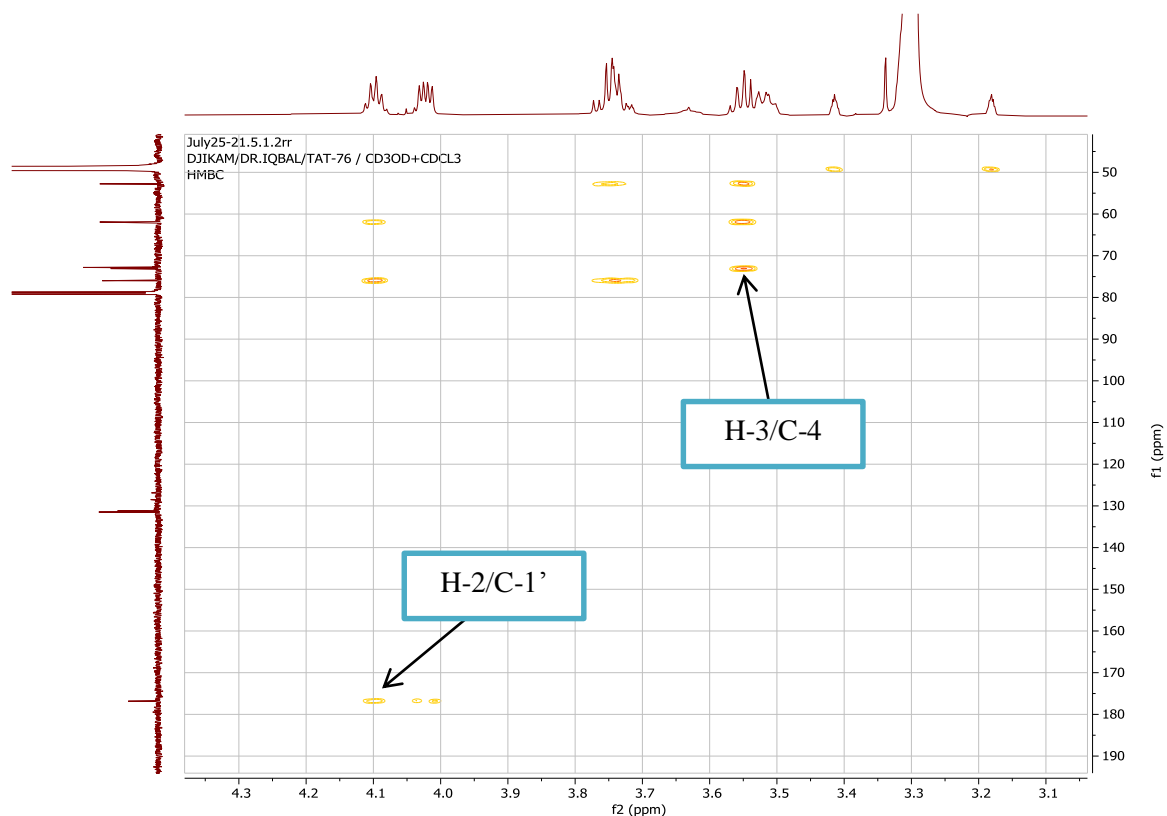


**Figure 84** : Spectre HSQC (500 MHz, CD<sub>3</sub>OD/ CDCl<sub>3</sub>) du composé TOF<sub>2</sub>.

Les assignations de divers protons et carbones dans les spectres RMN ont été faites sur la base d'expériences COSY (**Fig. 85**) et HMBC (**Fig. 86**). Le spectre COSY révèle entre autres les couplages  $^2,3J_{H-H}$ , celui du méthine lié à l'azote à  $\delta_H$  4,09 (H-2) avec l'oxyméthylène à  $\delta_H$  3,76 (H-1) et l'oxyméthine à  $\delta_H$  3,54 (H-3) d'une part, mais également d'autre part, avec le proton de l'azote à  $\delta_H$  7,69 (NH). Les positions des groupes hydroxylés ont été confirmées grâce au spectre HMBC dans lequel le signal du proton de l'oxyméthine à  $\delta_H$  3,54 (H-3) montre des corrélations avec le signal de carbone à  $\delta_C$  73,0 (C-4). Le signal du méthine à  $\delta_H$  4,09 (H-2) présente des corrélations avec le carbonyle à  $\delta_C$  178,0 (C-1'). De plus, la corrélation HMBC entre le signal protonique à  $\delta_H$  4,09 (H-2) et le carbonyle à  $\delta_C$  178,0 (C-1') confirme la présence d'une longue chaîne latérale d'acide gras  $\alpha$ -hydroxylé (Rho et al., 2005).



**Figure 85** : Spectre COSY (500 MHz, CD<sub>3</sub>OD/ CDCl<sub>3</sub>) du composé TOF<sub>2</sub>.

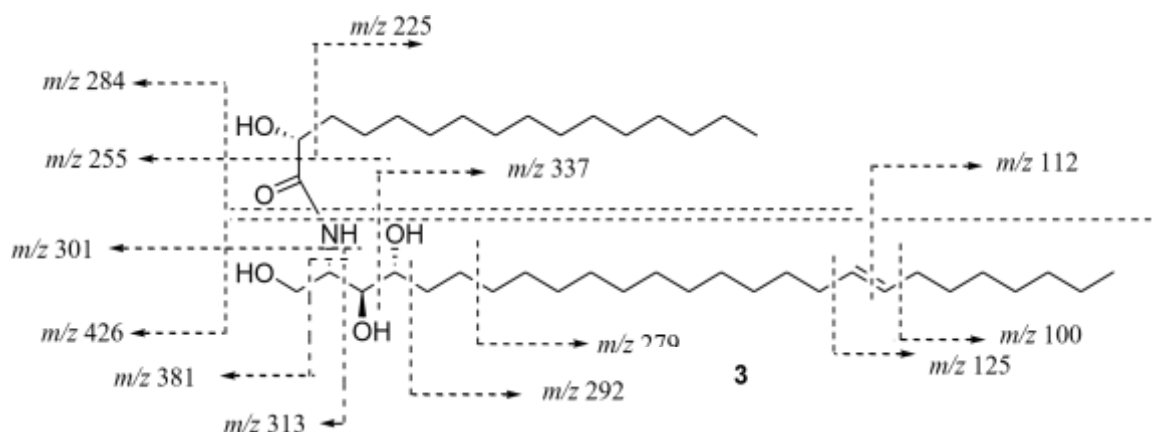


**Figure 86** : Spectre HMBC (500 MHz, CD<sub>3</sub>OD/ CDCl<sub>3</sub>) du composé TOF<sub>2</sub>.

Le spectre de masse, effectué à l'issue de la méthanolyse de **TOF<sub>2</sub>**, montre le pic de l'ion *pseudo*-moléculaire à  $m/z$  284,1 [M-H]<sup>-</sup> reconnu comme l'unité d'ester de méthyl d'acide gras (EMAG) : le 2-hydroxy-hexadécanoate de méthyle. Ceci permet de conclure

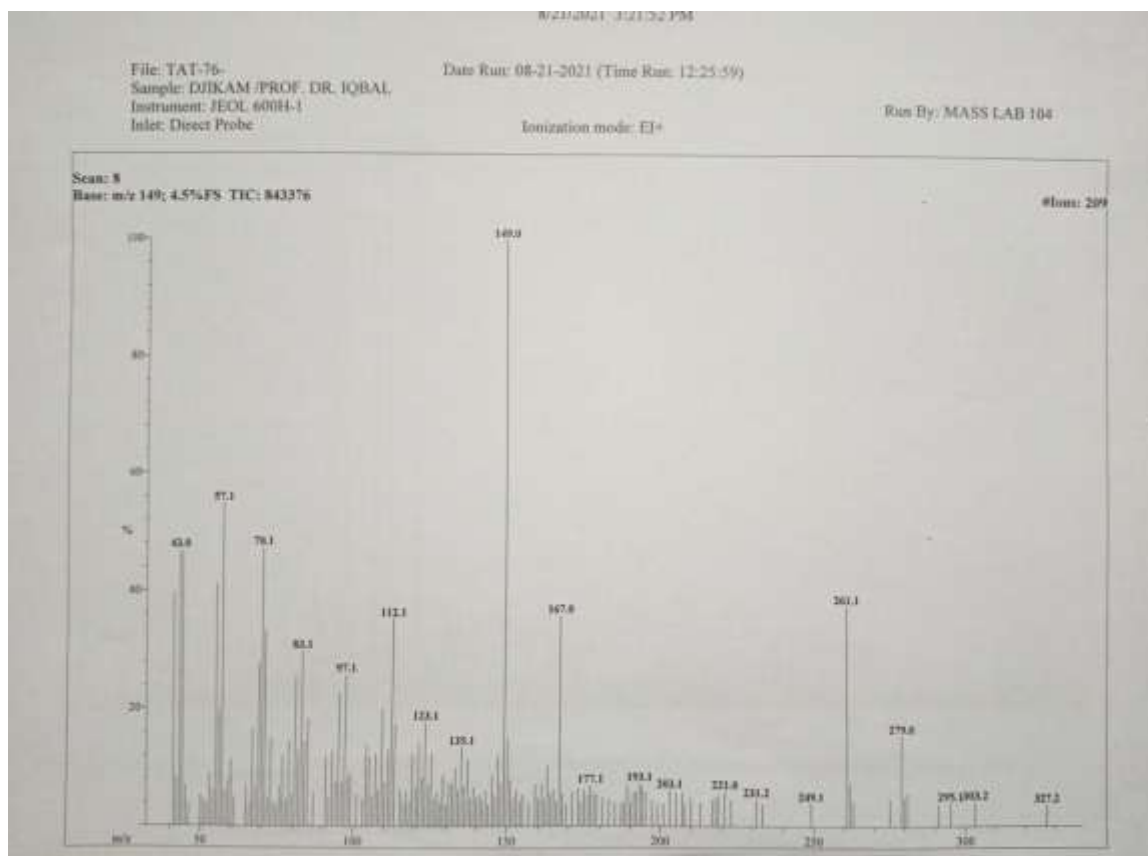
que la longue chaîne d'acide gras (LCAG) de la céramide **TOF<sub>2</sub>** est constituée de 16 atomes de carbones tandis que la longue chaîne basique (LCB) de l'unité sphingosine renferme 26 atomes de carbones avec une liaison oléfinique.

Le positionnement de la liaison oléfinique dans la chaîne latérale a été déduit de l'analyse du spectre de masse du dérivé  $\alpha$ -méthylthiolé correspondant, après réaction de la céramide avec le diméthyldisulfure (DMDS), qui fournit un fragment facilement reconnaissable après bombardement électronique (**Schéma 11**). La réaction de dérivatisation a conduit à un dérivé méthylthiolé, dont le spectre de masse montre un fragment à  $m/z$  112 (clivage C-18 et C-19) indiquant la présence d'une double liaison séparée par trois ou plusieurs groupes méthylènes.



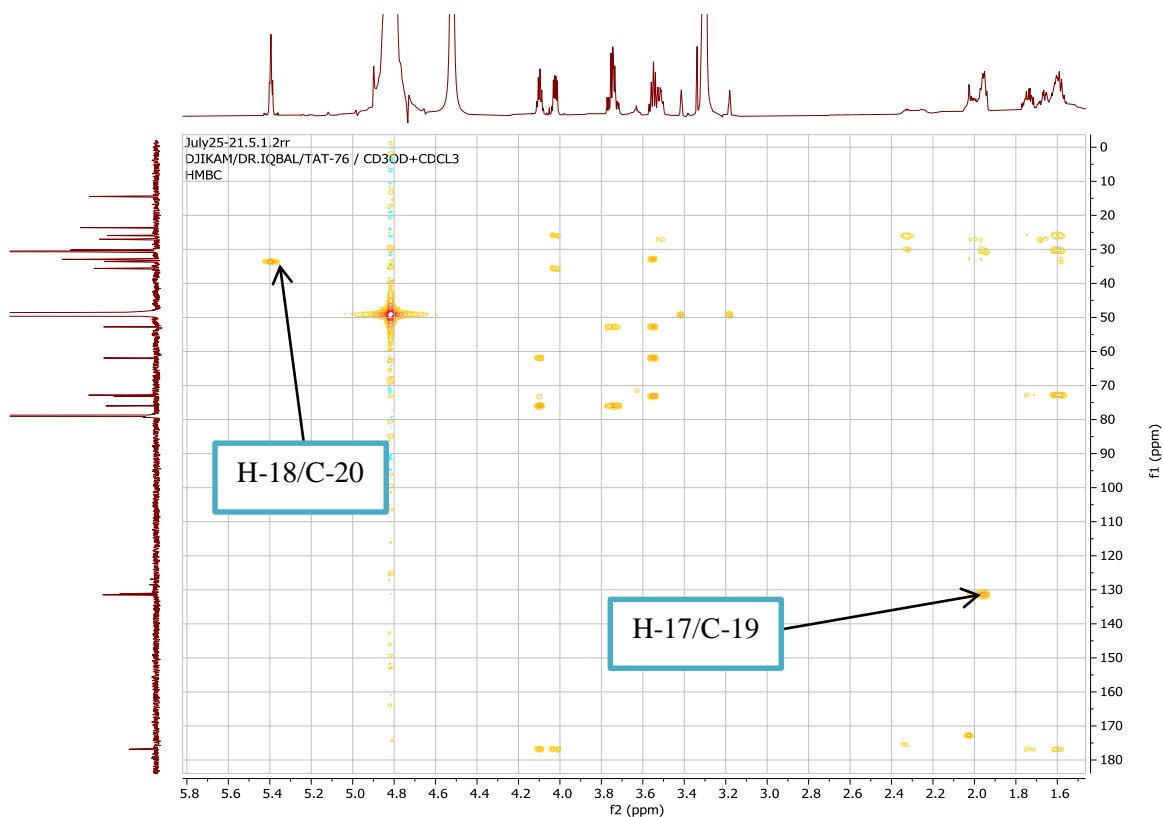
**Schéma 11** : Schéma de fragmentation possible du composé **TOF<sub>2</sub>**.

De plus, la formule moléculaire a été confirmée par les pics d'ions fragments à  $m/z$  = 112 [M- C<sub>34</sub>H<sub>67</sub>NO<sub>5</sub>]<sup>+</sup> ; 125 [M- C<sub>33</sub>H<sub>66</sub>NO<sub>5</sub>]<sup>+</sup> ; 255 [M- C<sub>27</sub>H<sub>52</sub>NO<sub>4</sub>]<sup>+</sup> ; 284 [M- C<sub>26</sub>H<sub>52</sub>NO<sub>3</sub>]<sup>+</sup> ; 301 [M- C<sub>25</sub>H<sub>50</sub>O<sub>3</sub>]<sup>+</sup> ; 426 [M- C<sub>16</sub>H<sub>31</sub>O<sub>2</sub>]<sup>+</sup> ; et dans son spectre IE-MS (**Fig. 78**). La longue chaîne basique 1,3,4, trihydroxylée a été confirmée par la présence de l'ion  $m/z$  = 426 (C<sub>26</sub>H<sub>52</sub>NO<sub>3</sub>).

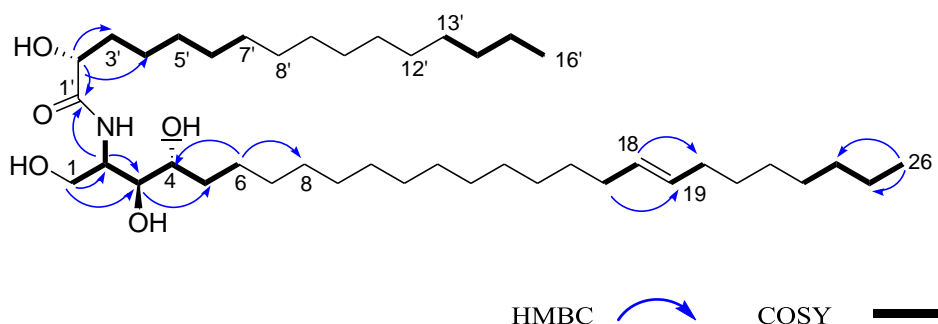


**Figure 87** : Pics d'ions fragments issus du clivage du composé  $\text{TOF}_2$  (IE-MS).

Les observations précédentes ont été renforcées par l'analyse du spectre HMBC (**Fig. 88**) : des pics croisés du proton oléfinique à  $\delta_H$  5,39 avec les atomes de carbone à  $\delta_C$  33,4 (C-17 et C-22) d'une part, et d'autre part entre des protons de méthylènes adjacents, insaturés à  $\delta_H$  1,95 et 2,02 avec le carbone oléfinique à  $\delta_C$  131,5. La double liaison a été déterminée comme étant *trans*, selon les déplacements chimiques des carbones allyliques à  $\delta_C$  33,4 (Ngono et *al.* 2011 ; Dos santos et *al.*, 2012). Les déplacements chimiques de  $\text{TOF}_2$ , comparés aux données déjà rapportées des sphingolipides naturels (Khedr et *al.*, 2018) ont montré des similitudes qui confirment que  $\text{TOF}_2$  est une céramide.



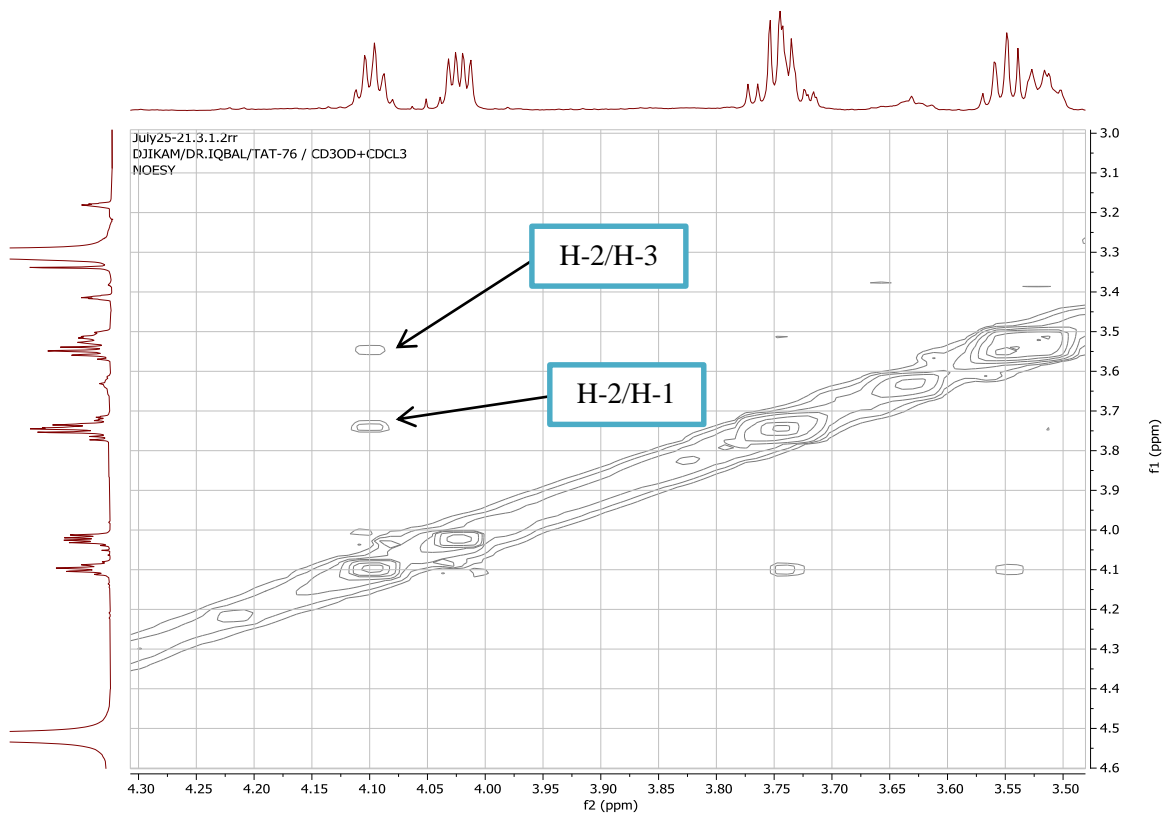
**Figure 88** : Spectre HMBC (500 MHz, CD<sub>3</sub>OD/ CDCl<sub>3</sub>) du composé TOF<sub>2</sub>.



**Figure 89** : Principales corrélations COSY et HMBC du composé TOF<sub>2</sub>.

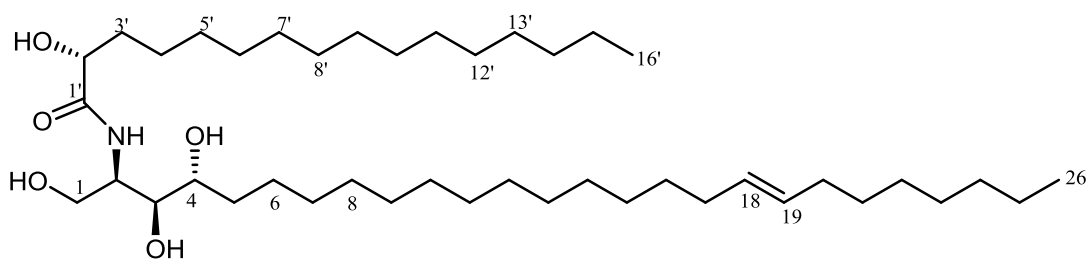
Quant à la stéréochimie des centres chiraux, elle a été établie après comparaison avec des composés analogues (Honda *et al.*, 1991; Khedr *et al.*, 2018; Ramos *et al.*, 2006; Christophe *et al.*, 2008; Sandjo *et al.*, 2008; Dos Santos *et al.*, 2012). Les corrélations NOESY (**Fig. 90**) observées entre H-2 ( $\delta_H$  4,09) et H-3 ( $\delta_H$  3,54) et aussi entre H-2 ( $\delta_H$  4,09) et H-1 ( $\delta_H$  3,74) 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 et C-4 est présumée être respectivement 2S\*, 2'R\*, 3S\* et 4R\* et cela justifie ainsi la présence d'une base longue chaîne et d'un acide gras à longue chaîne  $\alpha$ -hydroxylé dans le composé TOF<sub>2</sub>. De plus, l'activité optique  $[\alpha]_D^{21} = +18,2$  (c 0,1 MeOH) corrobore cette stéréochimie.





**Figure 90:** Spectre NOESY (500 MHz, CD<sub>3</sub>OD/ CDCl<sub>3</sub>) de TOF<sub>2</sub>.

En conclusion, le composé **TOF<sub>2</sub>** a été établi comme étant (2R\*,2'R\*,3S\*,4R\*,18E)-N-[2'-hydroxyhexadecyl]-2-aminohexacos-18-ène-1, 3, 4-triol (**171**), pour lequel le nom trivial **oligoneuramide** a été proposé.



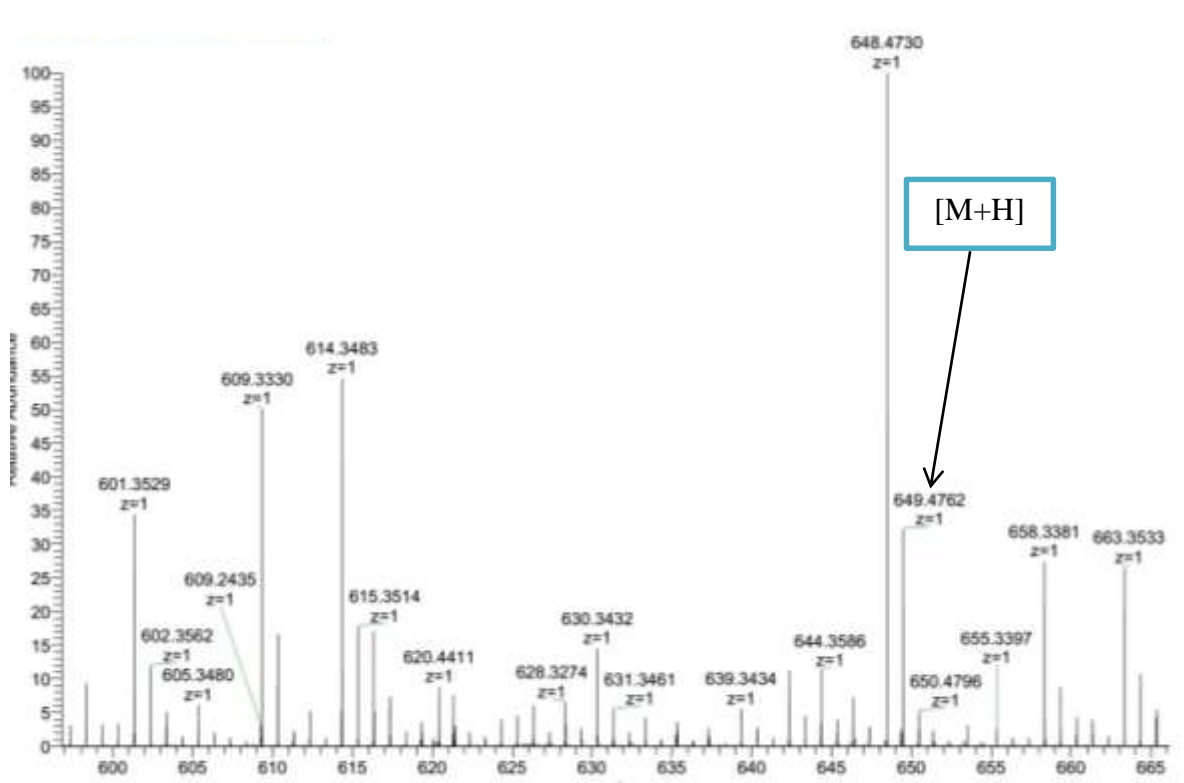
**Oligoneuramide**  
**(158)**

**Tableau XIX** : Données de RMN ( $^1\text{H}$ , 500Mz et  $^{13}\text{C}$ , 125MHz ;  $\text{CD}_3\text{OD}/\text{CDCl}_3$ ) du composé  $\text{TOF}_2$ .

<b>TOF<sub>2</sub> (CD<sub>3</sub>OD/ CDCl<sub>3</sub>)</b>		
<b>Position</b>	<b><math>\delta_{\text{H}}</math> (J en Hz)</b>	<b><math>\delta_{\text{C}}</math></b>
1	3,74 <i>m</i>	61,9
2	4,09 <i>ddd</i> ( <i>j</i> = 4,0 ; 7,9 ; 8,0)	51,4
3	3,54 - 3,52 <i>m</i>	75,8
4	3,50 - 3,48 <i>m</i>	73,0
5	1,65 - 1,63 <i>m</i> 1,38 - 1,36 <i>m</i>	32,7
6	1,59 - 1,57 <i>m</i> 1,37- 1,35 <i>m</i>	26,8
7-16	1,29 - 1,26 <i>m</i>	29,8
17	2,00 - 1,95 <i>m</i>	33,4
18	5,39 <i>m</i>	131,5
19	5,39 <i>m</i>	131,2
20	2,00 - 1,95 <i>m</i>	33,4
21-23	1,26 - 1,28 <i>m</i>	29,8 - 30,5
24	1,26 - 1,24 <i>m</i>	32,8
25	1,27 - 1,25 <i>m</i>	23,6
26	0,87 <i>m</i>	14,4
NH	7,68 <i>m</i>	-
1'	-	176,8
2'	4,02 <i>dd</i> ( <i>j</i> = 3,0 ; 6,5)	72,7
3'	1,74 <i>m</i> 1,60 - 1,58 <i>m</i>	35,6
4'	1,60 - 1,58 <i>m</i> 1,40 - 1,38 <i>m</i>	25,8
5'- 13'	1,26 - 1,28 <i>m</i>	29,8 - 30,5
14'	1,26 - 1,24 <i>m</i>	32,8
15'	1,27 - 1,25 <i>m</i>	23,6
16'	0,87 <i>t</i> ( <i>j</i> = 6,5)	14,4

### 2.2.2.3. Détermination structurale du composé TOF<sub>3</sub>

Le composé **TOF<sub>3</sub>** est obtenu sous forme de poudre blanche amorphe. Il répond positivement au test de Liebermann- Burchard, caractéristique des triterpènes. Son spectre de masse par ionisation par électrospray haute résolution (HR-ESI-SM) en mode positif exhibe un pic correspondant à l'ion *pseudo*-moléculaire à  $m/z$  649,4762  $[M+H]^+$ . Cette valeur est en accord avec la formule brute  $C_{38}H_{66}NO_7$  (calculée pour  $C_{38}H_{66}NO_7$  : 649,4917).



**Figure 91** : Spectre de masse HR-ESI-SM du composé TOF<sub>3</sub>.

L'analyse de son spectre de RMN  $^1H$  met en évidence huit signaux de méthyl à  $\delta_H$  0,95 (s, H-23) ; 0,76 (s, H-24) ; 0,92 (s, H-25) ; 0,93 (s, H-30) ; 0,80 (s, H-28) ; 1,15 (s, H-27) ; 0,84 (s, H-26) et 0,89 (s, H-29) (3H chacun, s) qui corrèlent sur le spectre HSQC avec les carbones à  $\delta_C$  28,4 ; 17,6 ; 15,8 ; 23,9 ; 17,0 ; 26,2 ; 17,2 et 33,4 respectivement, caractéristique d'un triterpène de type oléane (Adesina et *al.*, 1985).

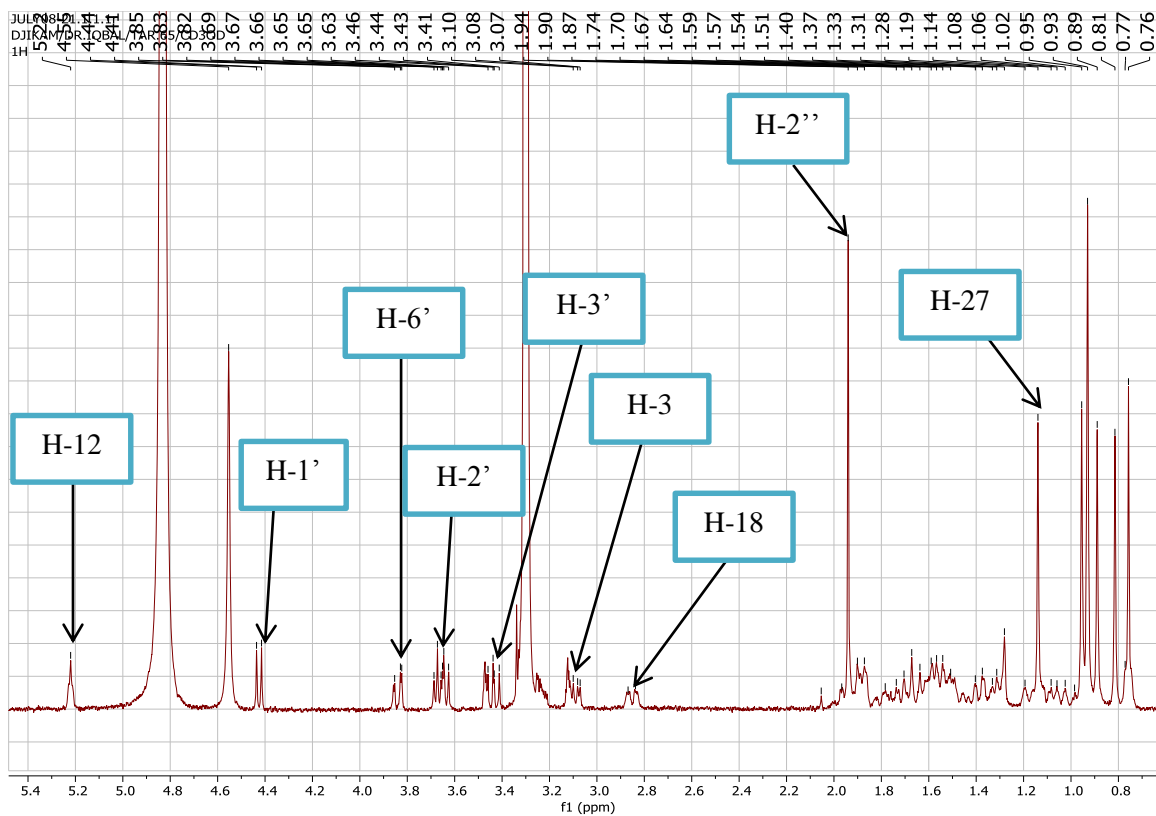


Figure 92 : Spectre RMN  $^1\text{H}$  global (500 MHz,  $\text{CD}_3\text{OD}$ ) du composé  $\text{TOF}_3$ .

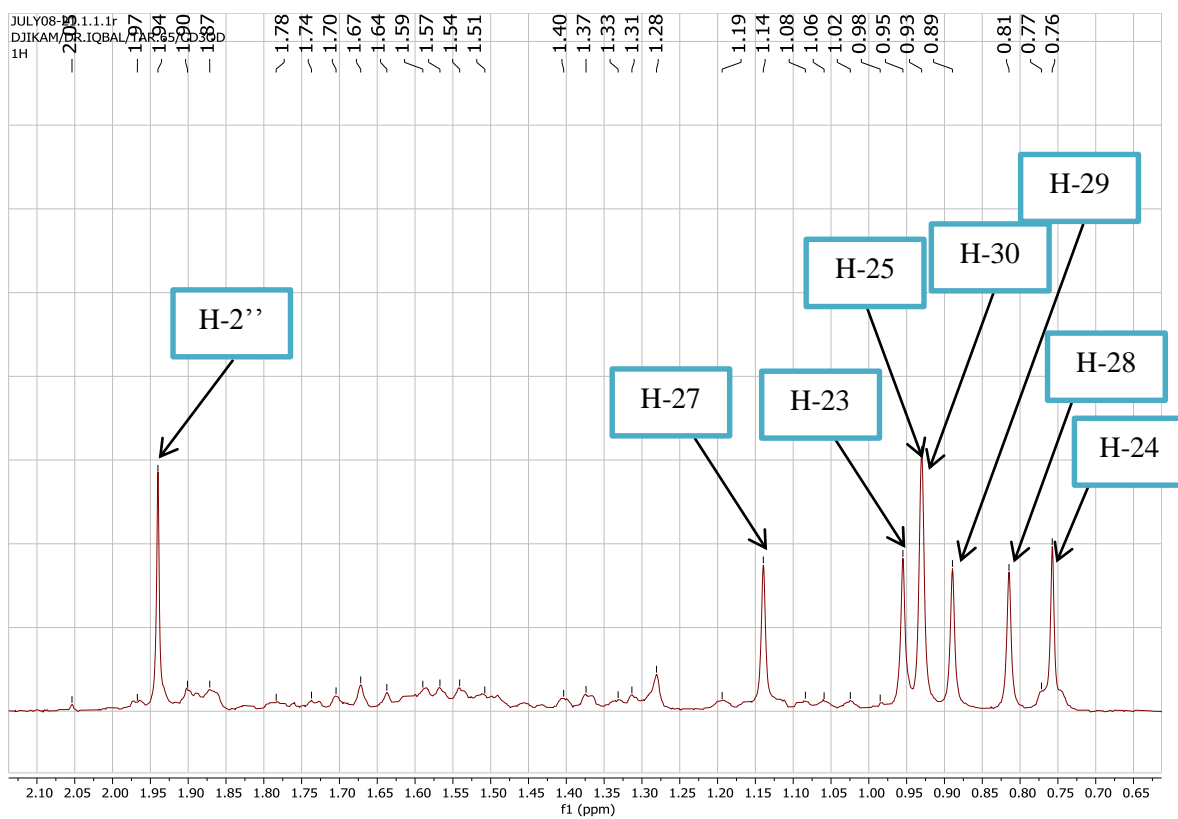
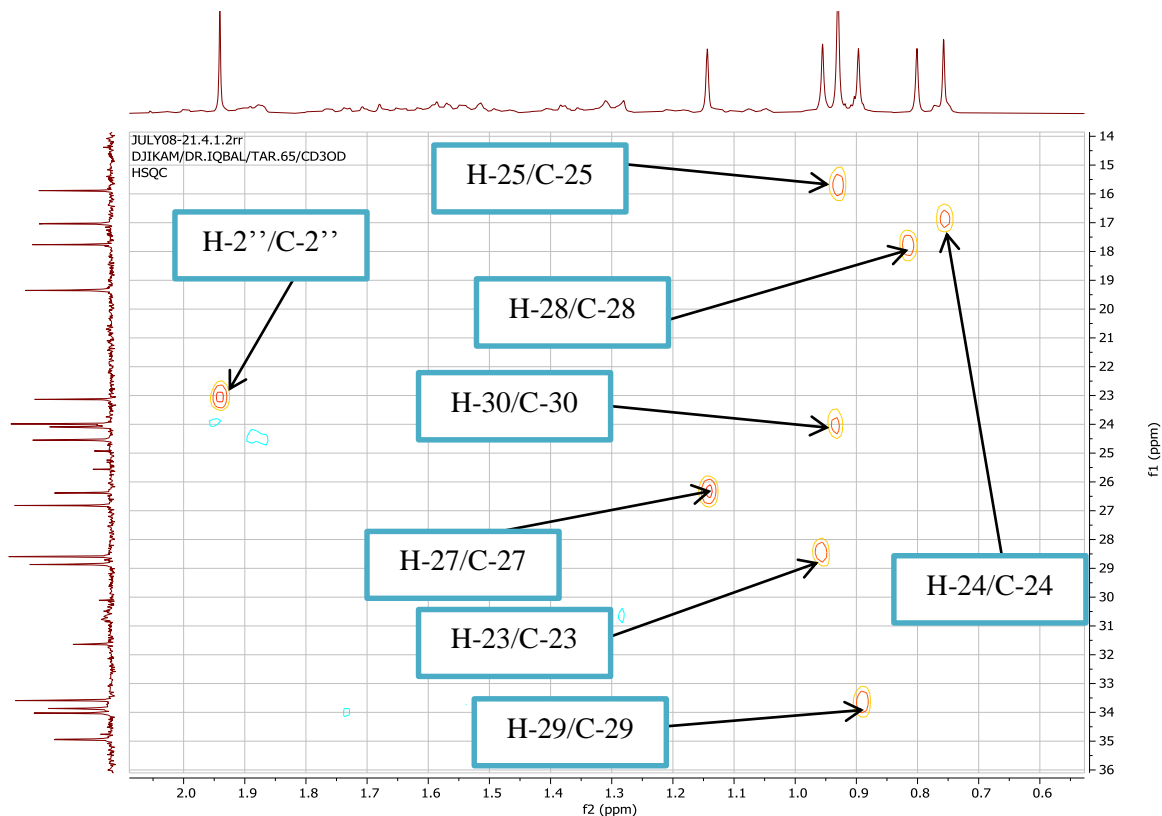


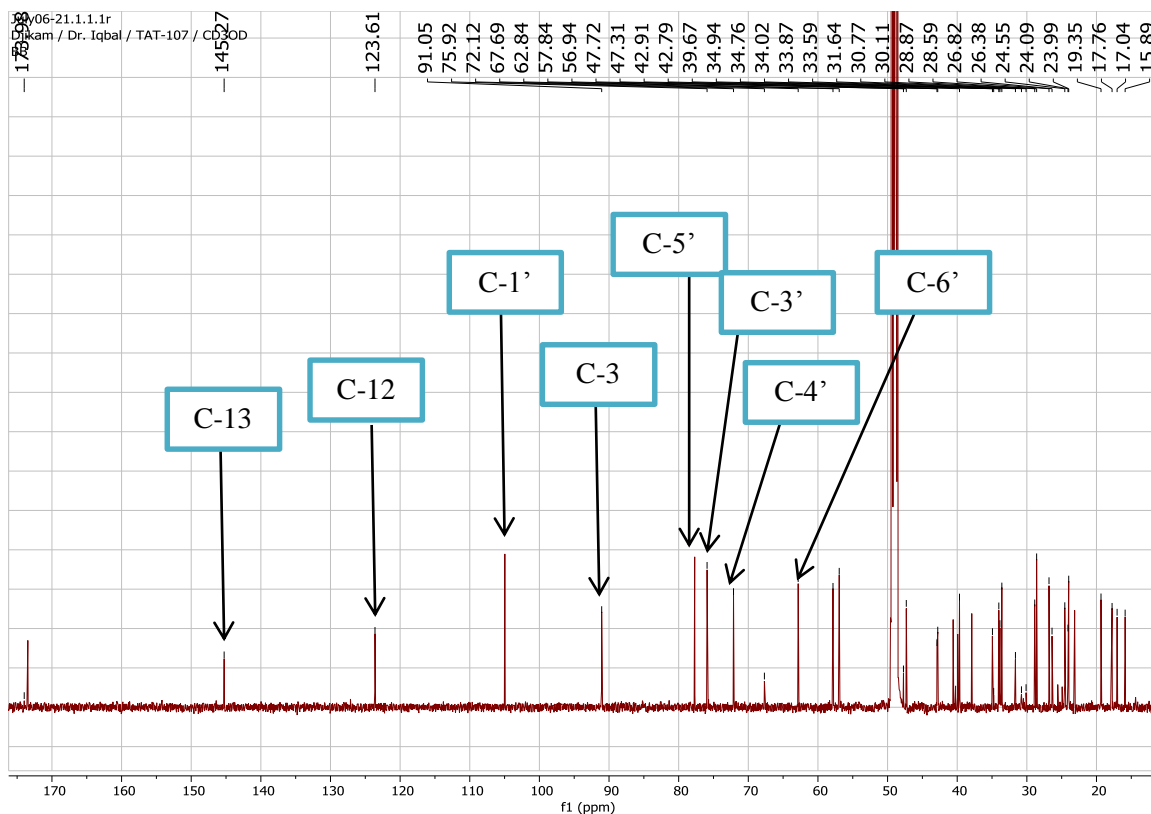
Figure 93 : Spectre RMN  $^1\text{H}$  (500 MHz,  $\text{CD}_3\text{OD}$ ) du composé  $\text{TOF}_3$  montrant les méthyles angulaires.



**Figure 94** : Spectre HSQC (500 MHz, CD<sub>3</sub>OD) du composé TOF<sub>3</sub> montrant les méthyles angulaires.

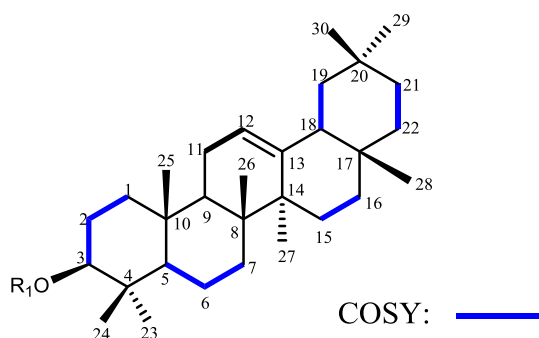
On observe également sur son spectre de RMN <sup>1</sup>H un signal à  $\delta_H$  5,23 (*brs*, H-12), correspondant au proton oléfinique H-12, un signal de proton méthinique à  $\delta_H$  3,10 (*dd*,  $J = 7,6$  Hz, H-3) correspondant à H-3 de l'aglycone.

Sur son spectre de RMN <sup>13</sup>C, on observe deux signaux de carbones éthyléniques à  $\delta_C$  123,7 et 140,2 correspondant aux carbones de la double liaison  $\Delta^{12}$ , un signal de carbone méthinique à  $\delta_C$  90,9 correspondant au carbone 3 de l'aglycone.



**Figure 95** : Spectre de RMN  $^{13}\text{C}$  (125 MHz,  $\text{CD}_3\text{OD}$ ) du composé  $\text{TOF}_3$ .

Ainsi, l'analyse des spectres de RMN  $^1\text{H}$ ,  $^{13}\text{C}$ , COSY, HSQC et HMBC de  $\text{TOF}_3$  a permis d'attribuer tous les signaux de l'aglycone, et par comparaison avec les données de la littérature, nous avons identifié celui-ci à la  $\beta$ - amyryne.

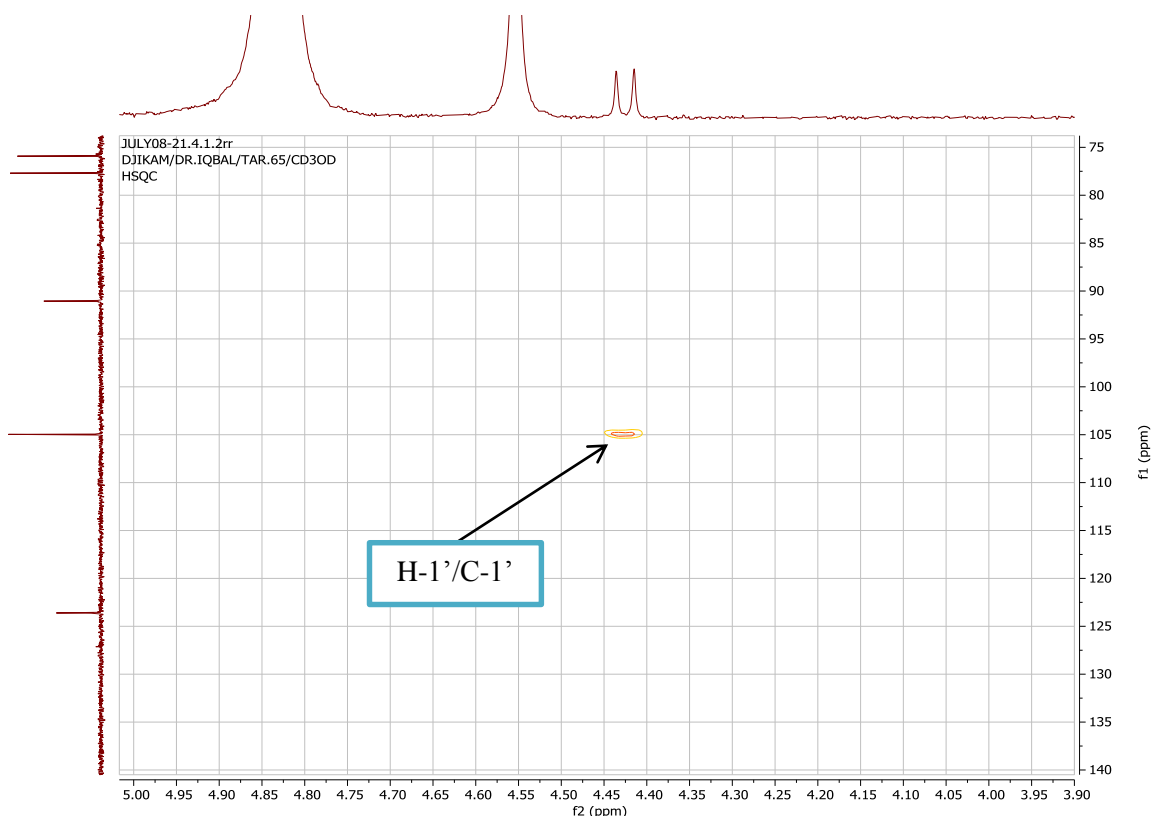


#### Sous structure 1

L'observation des signaux de carbone resonnant à  $\delta_{\text{C}}$  89,6 (C-3) et  $\delta_{\text{C}}$  176,0 (C-28) montre que  $\text{TOF}_3$  est un dérivé 3-mono-osidique de  $\beta$ - amyryne ayant une chaîne osidique attachée respectivement en C-3 au moyen d'une liaison éther (Adesina *et al.*, 1985).

Le sucre de  $\text{TOF}_3$ , a été déterminé comme étant le monosaccharide D-GlcNAC par hydrolyse acide suivie d'une analyse par chromatographie en phase gazeuse et par comparaison avec les échantillons authentiques du laboratoire. Le solvant d'élution utilisé est le  $\text{CHCl}_3$ - MeOH-  $\text{H}_2\text{O}$  (8-5-1) (Chaabi *et al.*, 2010).

L'analyse du spectre HSQC de **TOF<sub>3</sub>** permet de distinguer un signal de proton anomérique résonnant à  $\delta_H 4,42$  ( $d, J = 10$  Hz, H-1') corrélant avec le signal d'un carbone à  $\delta_C 104,9$  ; ce qui prouve la présence d'un sucre.



**Figure 96** : Spectre HSQC élargi (500 MHz, CD<sub>3</sub>OD) montrant le signal de l'anomère du composé TOF<sub>3</sub>.

Tous les protons des sucres ont été identifiés par une analyse approfondie des spectres COSY, HSQC et NOESY. Leurs carbones correspondants ont été, quant à eux, attribués sur la base des corrélations observées sur le spectre HSQC et confirmé par le spectre HMBC.

Le proton anomérique à  $\delta_H 4,42$  a été attribué à une unité de D-GlcNAc. Cela a été confirmé par la corrélation observée dans le spectre HMBC entre le signal à  $\delta_H 4,42$  et le carbonyle à  $\delta_C 173,4$  (NHCOCH<sub>3</sub>) en accord avec les données de la littérature (Adesina et al., 1985).

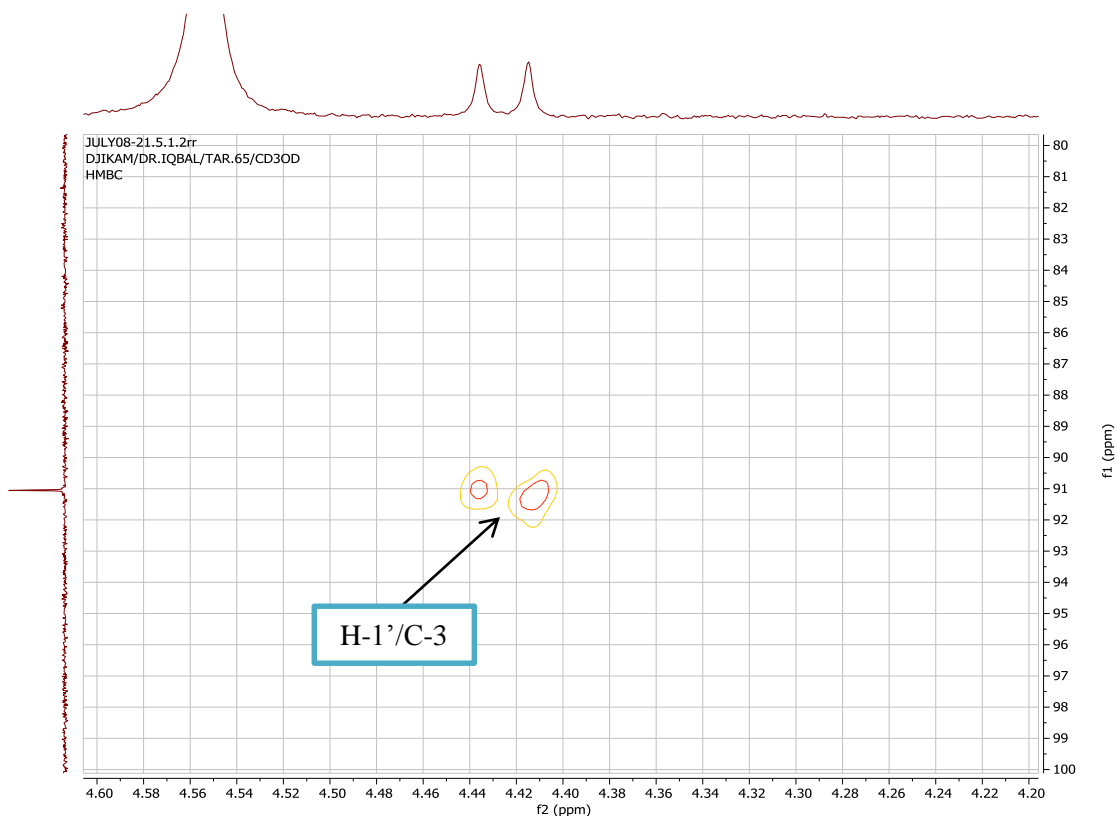
Les données spectrales ci-dessus indiquent que le sucre identifié à savoir GlcNAc, est sous sa forme pyranosyle. (**Tableau 20**).

La configuration  $\beta$  a été attribuée au proton anomérique de GlcNAc sur la base de sa constante de couplage  $^3J_{H-1, H-3}$  qui est de 7,3 Hz.

L'analyse des spectres HMBC et NOESY nous a permis de déterminer le point de jonction du sucre sur l'aglycone ainsi que les liaisons interglycosidiques.

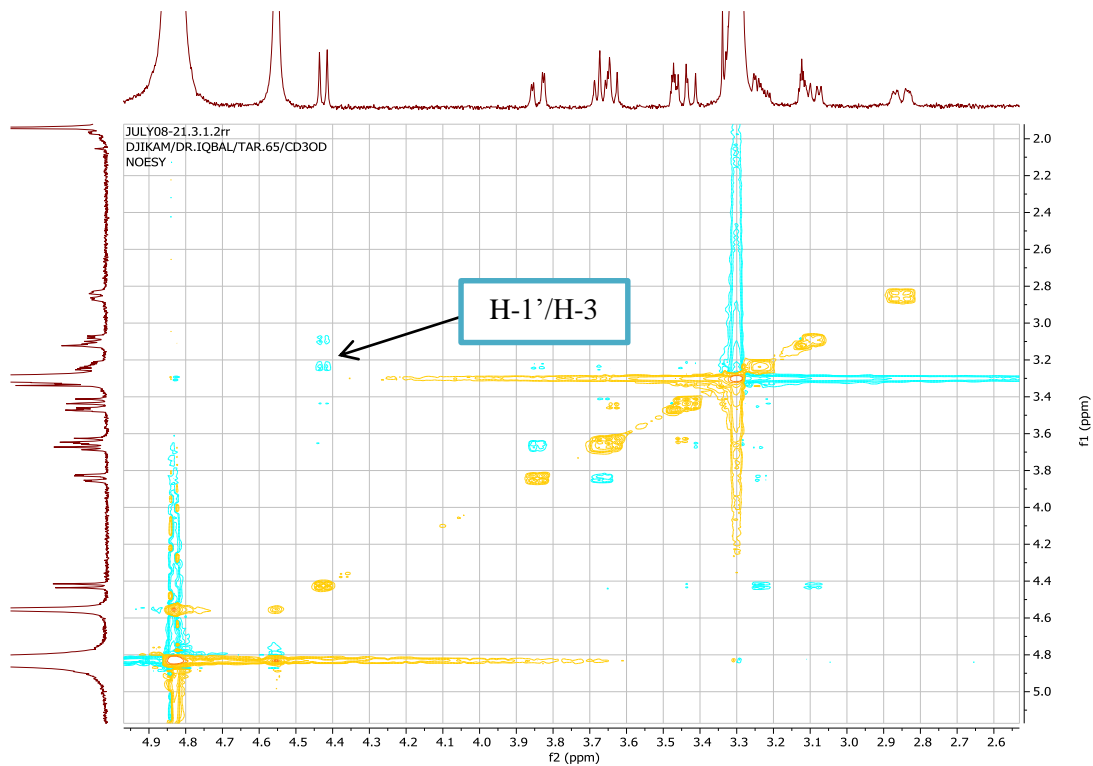
L'observation dans le spectre RMN  $^{13}\text{C}$  d'un signal de carbone à  $\delta_{\text{C}}$  90,9 (C-3) indique que **TOF<sub>3</sub>** est un dérivé mono-osidique de  $\beta$ - amyryne ayant un sucre attaché en C-3 de l'aglycone au moyen d'une liaison éther.

La corrélation observée dans le spectre HMBC entre le signal à  $\delta_{\text{H}}$  4,42 (H-1' de GlcNHAc) et le carbone à  $\delta_{\text{C}}$  90,9 (C-3 de l'aglycone) suggère que le GlcNHAc est lié à la génine en position 3 ; cette liaison est confirmée par la corrélation observée sur le spectre NOESY entre les signaux  $\delta_{\text{H}}$  4,42 (H-1'GlcNHAc) et  $\delta_{\text{H}}$  3,10 (H-3 de l'aglycone).

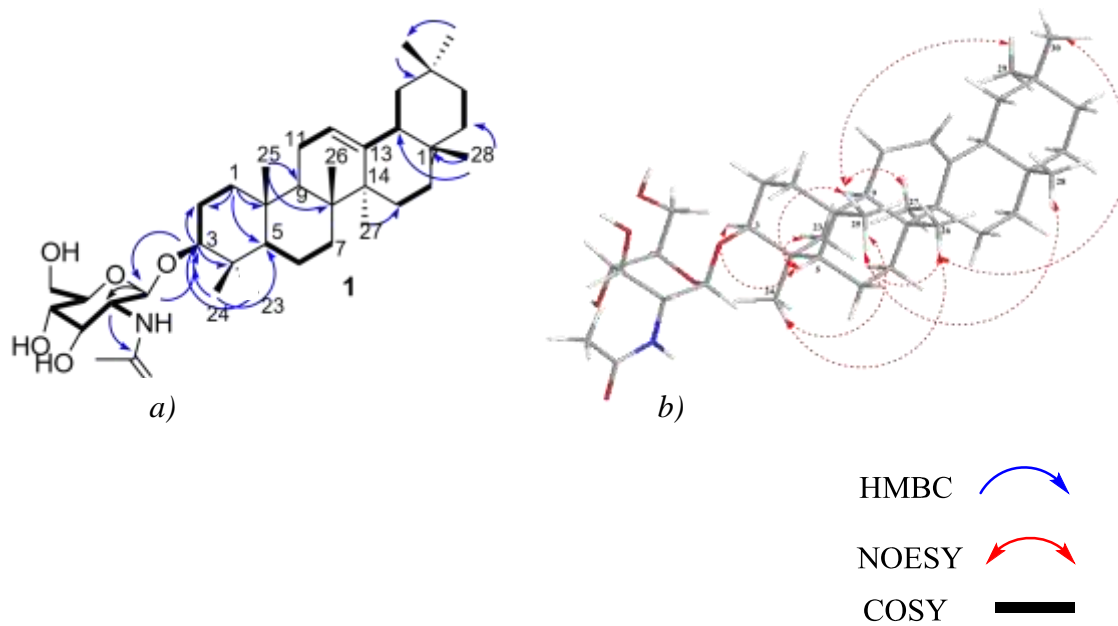


**Figure 97** : Spectre HMBC (500 MHz,  $\text{CD}_3\text{OD}$ ) du composé **TOF<sub>3</sub>** montrant le point de jonction.



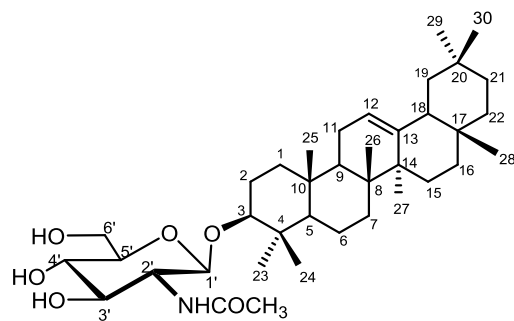


**Figure 98** : Spectre NOESY élargi (b) (500 MHz, CD<sub>3</sub>OD) du composé TOF<sub>3</sub> montrant le point de jonction.



**Figure 99** : Corrélations HMBC (a) et NOESY (b) du composé TOF<sub>3</sub>.

Au vu des résultats obtenus, la structure du composé **TOF<sub>3</sub>** est élucidée comme étant la  $\beta$ -amyrine 3-[O-2-acetamido-2-deoxy]- $\beta$ -D-glucopyranoside, composé nouveau naturel auquel nous avons donné le nom trivial d'**oligoneurine**.



**Oligoneurine**  
**(159)**

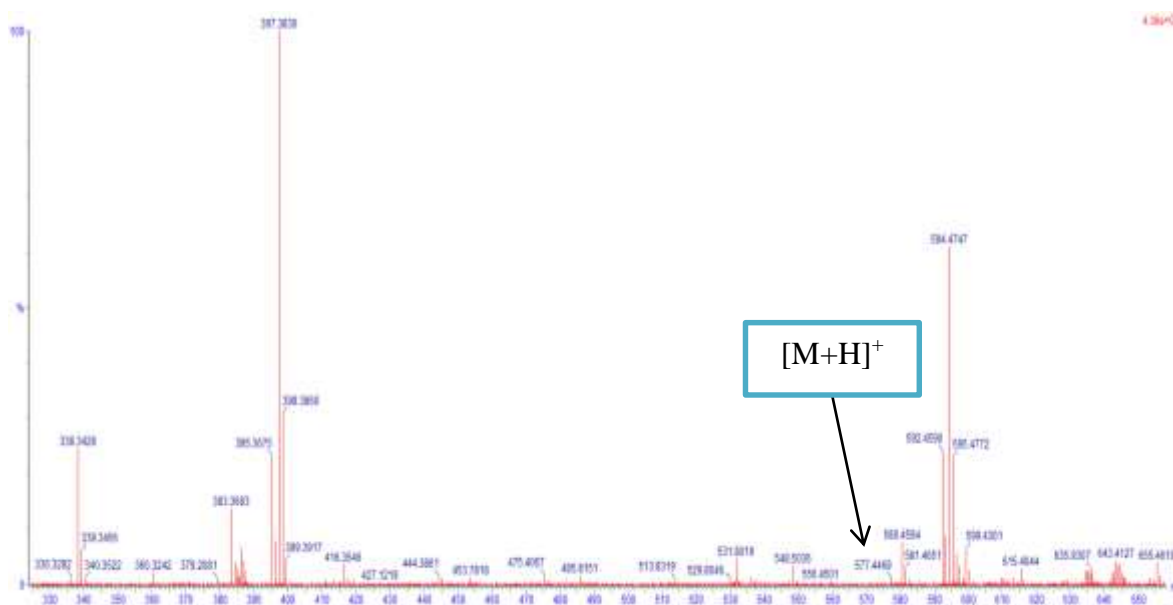
**Tableau XX** : Données de RMN ( $^1\text{H}$ , 500MHz et  $^{13}\text{C}$ , 125MHz ;  $\text{CD}_3\text{OD}$ ) du composé  $\text{TOF}_3$  comparées aux données de l'acide oléanolique (Adesina et *al.*, 1985).

Position	TOF <sub>3</sub> (CD <sub>3</sub> OD)			Acide oléanolique (CD <sub>3</sub> OD)	
	$\delta_{\text{H}}$ (J en Hz)	$\delta_{\text{C}}$	HMBC (H → C)	$\delta_{\text{H}}$ (J en Hz)	$\delta_{\text{C}}$
<b>Aglycone</b>					
1	0,82 (1H, <i>m</i> ) 1,34 (1H, <i>m</i> )	33,9	C-2 ; C-10 ; C-5	0,80 ; 1,34 <i>m</i>	38,5
2	1,65 (1H, <i>m</i> ) 2,17 (1H, <i>m</i> )	26,7		1,74 ; 2,17 <i>m</i>	26,2
3	3,10 <i>dd</i> (7,6)	89,6	C-1' ; C-2 ; C-3	3,24 <i>dd</i> (7,6)	89,1
4	-	40,1		-	39,1
5	0,74 (1H, <i>m</i> )	56,8		0,72 <i>m</i>	55,7
6	1,27 (1H, <i>m</i> ) 1,58 (1H, <i>m</i> )	24,0		1,27 ; 1,47 <i>m</i>	18,4
7	1,44 (1H, <i>m</i> )	33,4		1,27 ; 1,44 <i>m</i>	33,2
8	-	37,5		-	39,6
9	1,57 (1H, <i>m</i> )	46,0		1,59 <i>m</i>	47,9
10	-	40,5		-	36,9
11	1,85 (1H, <i>m</i> )	24,4		1,86 ; 2,09 <i>m</i>	23,6
12	5,23 (1H, <i>m</i> )	129,3		5,64 <i>m</i>	122,3
13	-	140,2		-	144,7
14	-	42,3		-	42,1
15	1,05 (1H, <i>m</i> ) 2,12 (1H, <i>m</i> )	28,9		1,05 ; 2,12 <i>m</i>	28,1
16	1,85 (1H, <i>m</i> ) 1,95 (1H, <i>m</i> )	34,0		1,85 ; 1,95 <i>m</i>	23,7
17	-	37,9		-	46,6
18	2,86 (1H, <i>m</i> )	42,6		3,27 <i>m</i>	41,9
19	1,26 (1H, <i>m</i> ) 1,80 (1H, <i>m</i> )	47,2		1,26 ; 1,80 <i>m</i>	46,4
20	-	31,5		-	30,9
21	1,20 (1H, <i>m</i> ) 1,43 (1H, <i>m</i> )	33,9		1,20 ; 1,43 <i>m</i>	34,1
22	1,81 (1H, <i>m</i> ) 2,03 (1H, <i>m</i> )	34,9		1,81 ; 2,03 <i>m</i>	33,2
23	0,76 (3H, <i>s</i> )	28,4	C-3 ; C-24	1,18 <i>s</i>	28,1
24	0,95 (3H, <i>s</i> )	17,6	C-3 ; C-23	0,97 <i>s</i>	16,9
25	0,92 (3H, <i>s</i> )	23,9	C-9 ; C-8	0,76 <i>s</i>	15,4
26	0,84 (3H, <i>s</i> )	17,5		0,97 <i>s</i>	17,3
27	1,15 (3H, <i>s</i> )	26,2	C-15	1,28 <i>s</i>	26,1
28	0,80 (3H, <i>s</i> )	17,1	C-17 ; C-18 ; C-22		180,1
29	0,89 (3H, <i>s</i> )	33,4	C-20		33,2
30	0,93 (3H, <i>s</i> )	16,5	C-29		23,1
<b>Sucre</b>					
1'	4,42 ( <i>d</i> , $J = 7,3$ Hz)	104,9	C-3 ; C-2'		
2'	3,64	57,7			
3'	3,43	75,8			
4'	3,30	72,1			
5'	3,24	77,5			
6'	3,83- 3,67	62,7			
NHCOCH <sub>3</sub>	1,93	22,9			
NHCOCH <sub>3</sub>	-	173,4			

#### 2.2.2.4. Identification du composé TOF<sub>4</sub>

Le composé TOF<sub>4</sub> se présente sous forme de poudre blanche. Il répond positivement au test de Liebermann-Burchard, caractéristique des stérols. L'analyse de son spectre de masse HR-ESI-MS en mode positif exhibe le pic de l'ion *pseudo*-moléculaire à  $m/z$  577,4469  $[M+H]^+$  (masse calculée 577,4468 pour C<sub>35</sub>H<sub>61</sub>O<sub>6</sub>), correspondant à la formule brute C<sub>35</sub>H<sub>60</sub>O<sub>6</sub> et renfermant six degrés d'insaturations (Chaurasia et Wichtl., 1987).

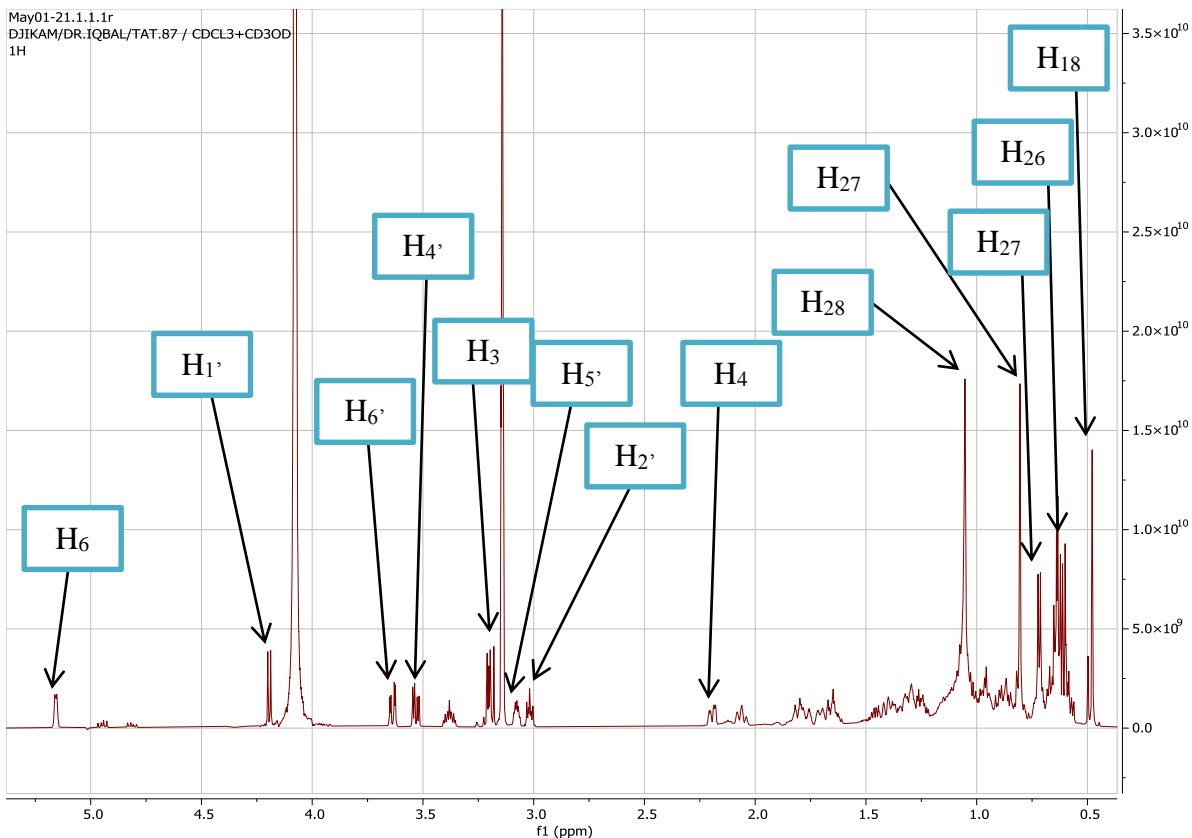
Son spectre IR montre la présence d'un hydroxyle (3430 cm<sup>-1</sup>) et d'une liaison C–O (1100, 1055 cm<sup>-1</sup>), d'une double liaison C=C (1629, 883 cm<sup>-1</sup>) et des groupements CH<sub>2</sub> et CH<sub>3</sub> (2931, 2865, 1465, 1375 cm<sup>-1</sup>).



**Figure 100** : Spectre de masse HR-ESI-MS du composé TOF<sub>4</sub>.

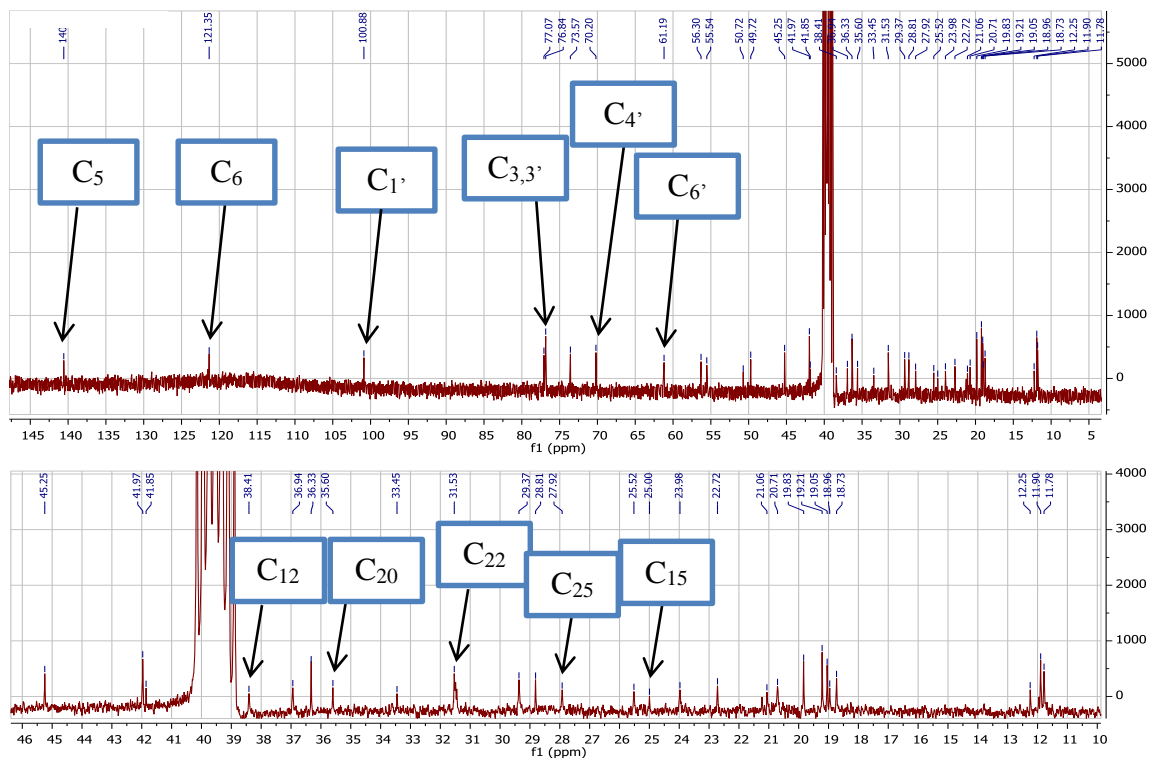
L'analyse de son spectre RMN <sup>1</sup>H (**Fig. 101**) révèle la présence d'un doublet large à  $\delta_H$  5,17 (1H,  $J = 6,1$  Hz) correspondant au proton éthylénique H-6 ; un multiplet d'intégration 1H à  $\delta_H$  3,07 correspondant à un proton méthinique portant un atome d'oxygène, notamment le H-3 d'un stérol ; deux singulet à  $\delta_H$  1,05 et  $\delta_H$  0,80 d'intégration 3H chacun, attribuables aux méthyles 19 et 18 respectivement ; deux doublets et un triplet superposés d'intégration 9H centrés à  $\delta_H$  0,70 et 0,63 correspondant aux deux méthyles isopropyliques (H-27 et H-29) qui sont diastéreoisotopiques et par conséquent magnétiquement non équivalents à  $\delta_H$  1,01 du méthyle (H-29) (Chaurasia et Wichtl., 1987).

Ce spectre montre également la présence d'un proton anomérique (H-1' d'une unité glycosidique et qui apparaît à 4,20 ppm. Les protons H-6' du sucre, notamment le glucose, ont été observés sous forme de doublet dédoublés à  $\delta_H$  3,62 (1H, *dd*,  $J = 12,0$  et 4,9 Hz, H-6'a) et 3,65 (1H, *dd*,  $J = 12,0$  et 2,80 Hz ; H-6'b).



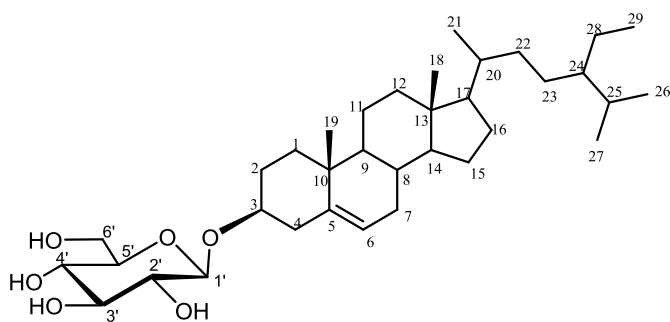
**Figure 101** : Spectre de RMN  $^1\text{H}$  (500 MHz, DMSO) du composé TOF<sub>4</sub>.

Le spectre de RMN  $^{13}\text{C}$  révèle la présence de deux atomes de carbone éthylénique. Le premier correspondant à un CH à  $\delta_{\text{C}}$  122,2 et le second à un atome de carbone quaternaire à  $\delta_{\text{C}}$  140,5 soit des valeurs de déplacement chimiques caractéristiques des positions C-6 et C-5 d'un stérol. Par ailleurs, on note la présence d'un signal du carbone anomérique apparaissant à  $\delta_{\text{C}}$  101,4 (C-1'), ce qui démontre l'emplacement du glycosyle sur l'oxygène de l'aglycone et permet d'en déduire que l'on est en présence d'un *O*-glucosyde (Tableau 21).



**Figure 102** : Spectre de RMN  $^{13}\text{C}$  (125 MHz, DMSO) du composé TOF<sub>4</sub>.

Au vu des résultats obtenus et par comparaison avec les données de la littérature, le composé TOF<sub>4</sub> a été identifié comme étant le sitostérol 3-*O*- $\beta$ -D- glucopyranoside, composé connu et isolé pour la première fois de *Urtica dioica* (Chaurasia et Wichtl., 1987).



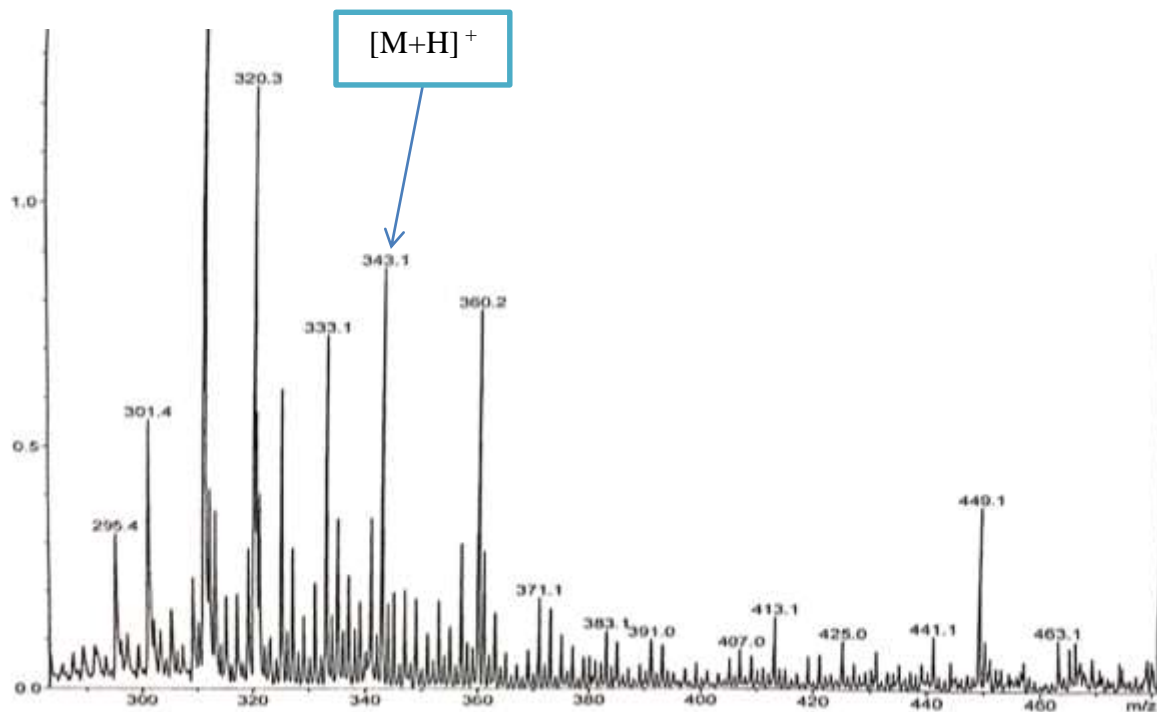
**Sitosterol 3-*O*- $\beta$ -D- glucopyranoside**  
(160)

**Tableau XXI** : Données de RMN ( $^1\text{H}$ , 500 MHz et  $^{13}\text{C}$ , 125 MHz) du composé TOF<sub>4</sub> comparées à celles de la littérature (Chaurasia et Wichtl., 1987).

N°	TOF <sub>4</sub> (CD <sub>3</sub> OD/ CDCl <sub>3</sub> )		Sitosterol 3-O-β-D- glucopyranoside (CD <sub>3</sub> OD/ CDCl <sub>3</sub> )	
	$\delta_{\text{H}}$ (ppm) ; $J$ (Hz)	$\delta_{\text{C}}$ (ppm)	$\delta_{\text{H}}$ (ppm) ; $J$ (Hz)	$\delta_{\text{C}}$ (ppm)
1	1,81 ; 1,01 <i>m</i>	38,5	1,83 ; 1,05 <i>m</i>	37,6
2	1,90 ; 1,50 <i>m</i>	29,9	1,87 ; 1,54 <i>m</i>	30,2
3	3,47 <i>m</i>	76,8	3,52 <i>m</i>	76,9
4	2,27 ; 2,38 <i>m</i>	44,0	2,23 ; 2,36 <i>m</i>	40,1
5	-	140,5	-	140,7
6	5,32 <i>m</i>	122,2	5,33 <i>m</i>	122,4
7	1,93 ; 1,45 <i>m</i>	33,2	1,93 ; 1,44 <i>m</i>	32,2
8	1,42 <i>m</i>	33,1	1,42 <i>m</i>	32,2
9	0,91 <i>m</i>	50,2	0,92 <i>m</i>	50,5
10	-	37,2	-	37,0
11	1,42 ; 1,50 <i>m</i>	21,8	1,41 ; 1,48 <i>m</i>	21,4
12	1,80 ; 1,13 <i>m</i>	40,3	1,98 ; 1,13 <i>m</i>	39,0
13	-	42,9	-	42,6
14	0,99 <i>m</i>	57,3	0,97 <i>m</i>	57,1
15	1,01 <i>m</i>	25,7	1,05 ; 1,55 <i>m</i>	24,6
16	1,93 ; 1,23 <i>m</i>	29,7	1,82 ; 1,24 <i>m</i>	29,2
17	1,07 <i>m</i>	56,3	1,10 <i>m</i>	56,2
18	0,66 <i>s</i>	12,5	0,70 <i>s</i>	12,3
19	0,96 <i>s</i>	19,4	0,97 <i>s</i>	19,5
20	1,33 <i>s</i>	34,4	1,33 <i>m</i>	36,5
21	0,96 <i>s</i>	19,8	0,97 <i>s</i>	19,5
22	1,29 ; 0,98 <i>m</i>	35,7	1,30 ; 0,98 <i>m</i>	34,2
23	1,16 <i>m</i>	25,3	1,13 <i>m</i>	26,3
24	0,86 <i>m</i>	45,6	0,90 <i>m</i>	46,2
25	1,62 <i>m</i>	29,9	1,63 <i>m</i>	29,4
26	0,76 <i>d</i> ( $j = 6,5$ Hz)	18,4	0,76 <i>d</i> ( $j = 6,2$ Hz)	19,2
27	0,77 <i>d</i> ( $j = 4,7$ Hz)	20,5	0,80 <i>d</i> ( $j = 5,1$ Hz)	20,0
28	1,18 ; 1,16 <i>m</i>	23,7	1,25 ; 1,20 <i>m</i>	23,3
29	0,78 <i>t</i> ( $j = 7,2$ Hz)	11,6	0,81 <i>t</i> ( $j = 7,7$ Hz)	12,3
1'	4,22 <i>d</i> ( $j = 7,8$ Hz)	101,6	4,36 <i>d</i> ( $j = 7,0$ Hz)	101,4
2'	3,13 <i>t</i> ( $j = 7,8$ Hz)	74,7	3,19 <i>t</i> ( $j = 7,0$ Hz)	73,9
3'	3,40 <i>m</i>	77,0	3,38 <i>m</i>	76,8
4'	3,38 <i>m</i>	70,9	3,36 <i>m</i>	70,6
5'	3,04 <i>m</i>	76,6	3,24 <i>m</i>	76,3
6'	3,61 ; 3,41 <i>dd</i> ( $j = 5,6 ; 11,4$ Hz)	61,6	3,80 ; 3,70 <i>dd</i> ( $j = 2,8 ; 12,0$ Hz)	62,1

### 2.2.2.5. Identification du composé TOF<sub>5</sub>

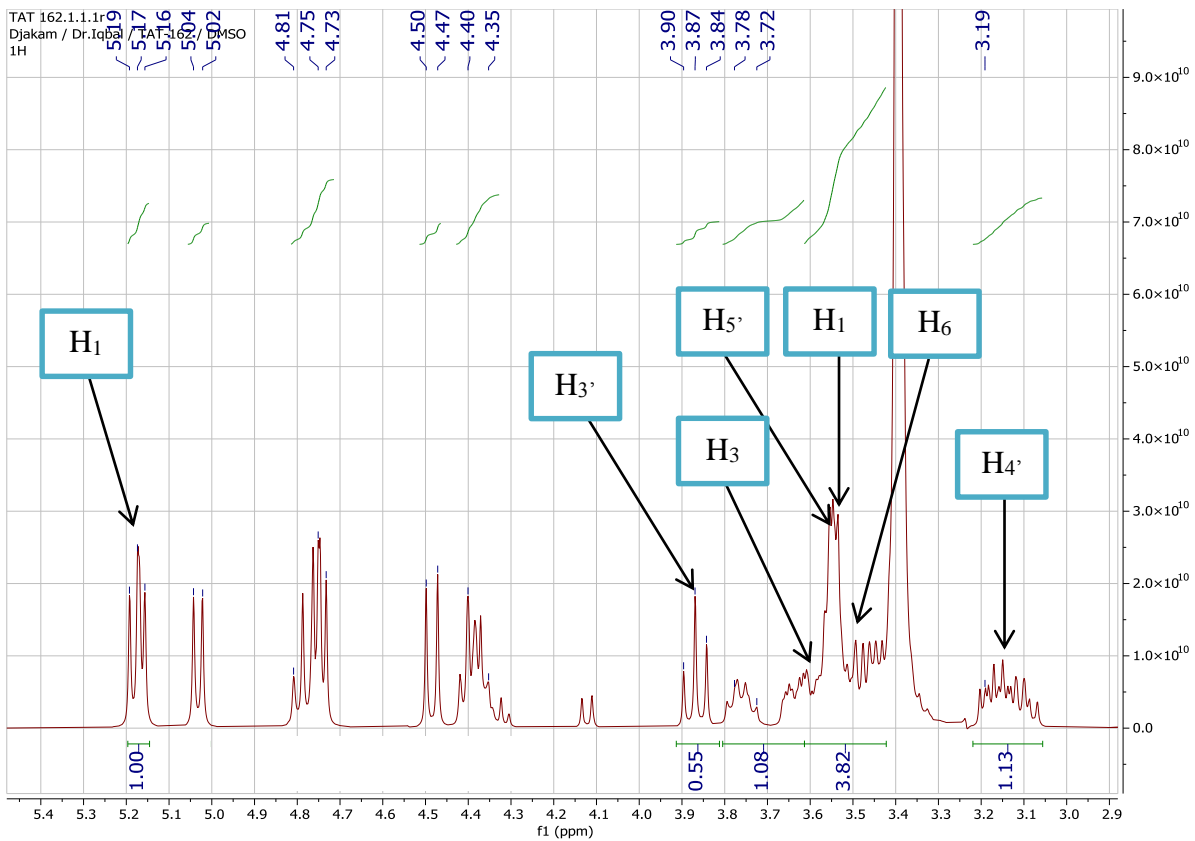
Le composé TOF<sub>5</sub> est isolé sous forme d'un solide blanc et possède un point de fusion variant de 181-183 °C. Il répond positivement au test de Molish, caractéristique des sucres. L'analyse de son spectre de masse ESI-MS, basse résolution en mode positif montre un ion *pseudo*-moléculaire à  $m/z = 343,1$   $[M+H]^+$ , conforme à la formule C<sub>12</sub>H<sub>22</sub>O<sub>11</sub>.



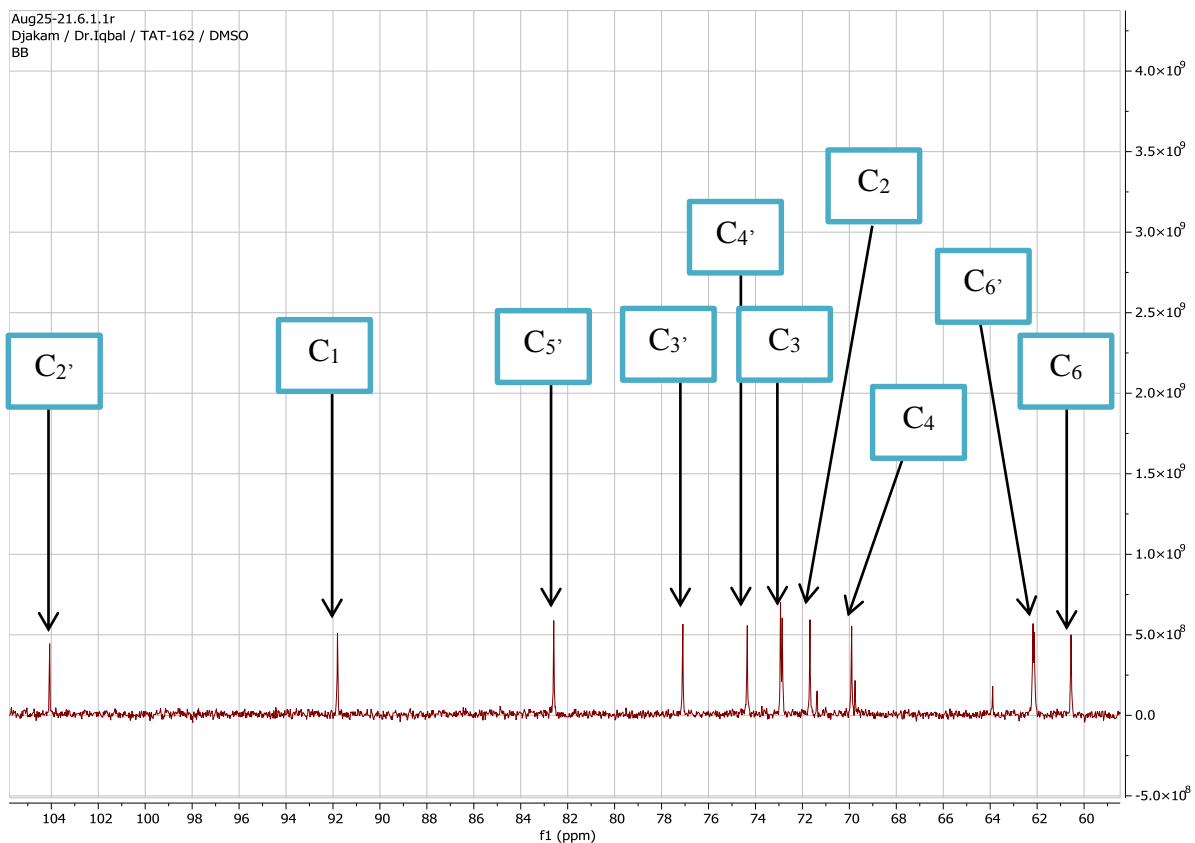
**Figure 103** : Spectre de masse ESI-MS du composé TOF<sub>5</sub>

L'analyse des spectres RMN <sup>1</sup>H (**Fig. 104**) présente des signaux dans les régions allant de  $\delta_H$  3 à 5,5 et de  $\delta_C$  60 à 110 respectivement. Ces observations confirment la présence d'un groupe fructose (Yamamori et *al.*, 2017). Son spectre proton montre également la présence d'un signal dans les champs faibles correspondant à un doublet à  $\delta_H$  5,18 attribuable à un proton anomérique (H-1) avec une constante de couplage de 3,8 Hz caractéristique d'une liaison  $\alpha$  du noyau glucopyranose. Le signal à  $\delta_C$  92,2 appartenant au carbone C-1 du  $\alpha$ -glucose corrélait avec le proton à 5,18 (H-1) dans le spectre HSQC, confirmant la présence du carbone anomérique dans le sucre (yamamori et *al.*, 2017).



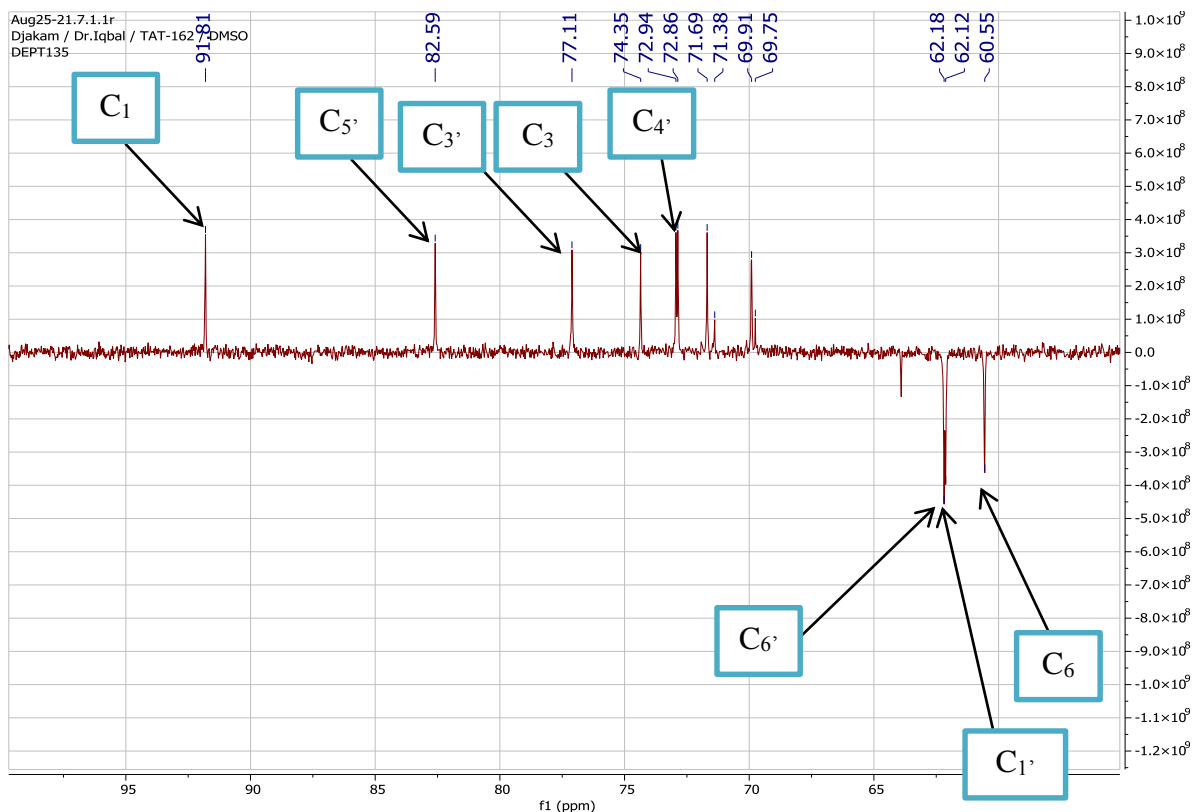


**Figure 104** : Spectre RMN  $^1\text{H}$  (400 MHz, DMSO- $d_6$ ) du composé TOF<sub>5</sub>.



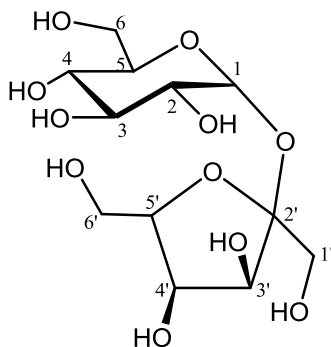
**Figure 105** : Spectre RMN  $^{13}\text{C}$  (100 MHz, DMSO-  $d_6$ ) du composé TOF<sub>5</sub>.

L'analyse de son spectre DEPT 135 (**Fig. 106**) permet de visualiser la présence des signaux concernant l'unité fructose et l'unité osidique à savoir :5 groupements CH du glucose à  $\delta_C$  92,2 (C-1) ; 71,1 (C-2) ; 72,5 (C-3) ; 69,2 (C-4) ; 72,3 (C-5) ; 3 groupements CH du fructose à  $\delta_C$  76,4 (C-3') ; 73,9 (C-4') ; 81,3 (C-5') ; 3 groupements CH<sub>2</sub> dont l'un appartient à l'unité glucose à  $\delta_C$  60,1 (C-6') et les 2 autres à l'unité fructose à  $\delta_C$  61,3 (C-1') et 62,3 (C-6').



**Figure 106** : Spectre DEPT 135 (100 MHz, DMSO-d<sub>6</sub>) du composé TOF<sub>5</sub>.

Au vu des résultats obtenus et par comparaison avec les données de la littérature, le composé TOF<sub>5</sub> a été identifié comme étant le ***β*-D- fructofuranosyl-(1→2)-*α*-D-glucopyranoside**, composé connu et précédemment isolé par yamamori et *al* en 2017.



***β*-D- fructofuranosyl-(1→2)- *α*-D-glucopyranoside**

(161)

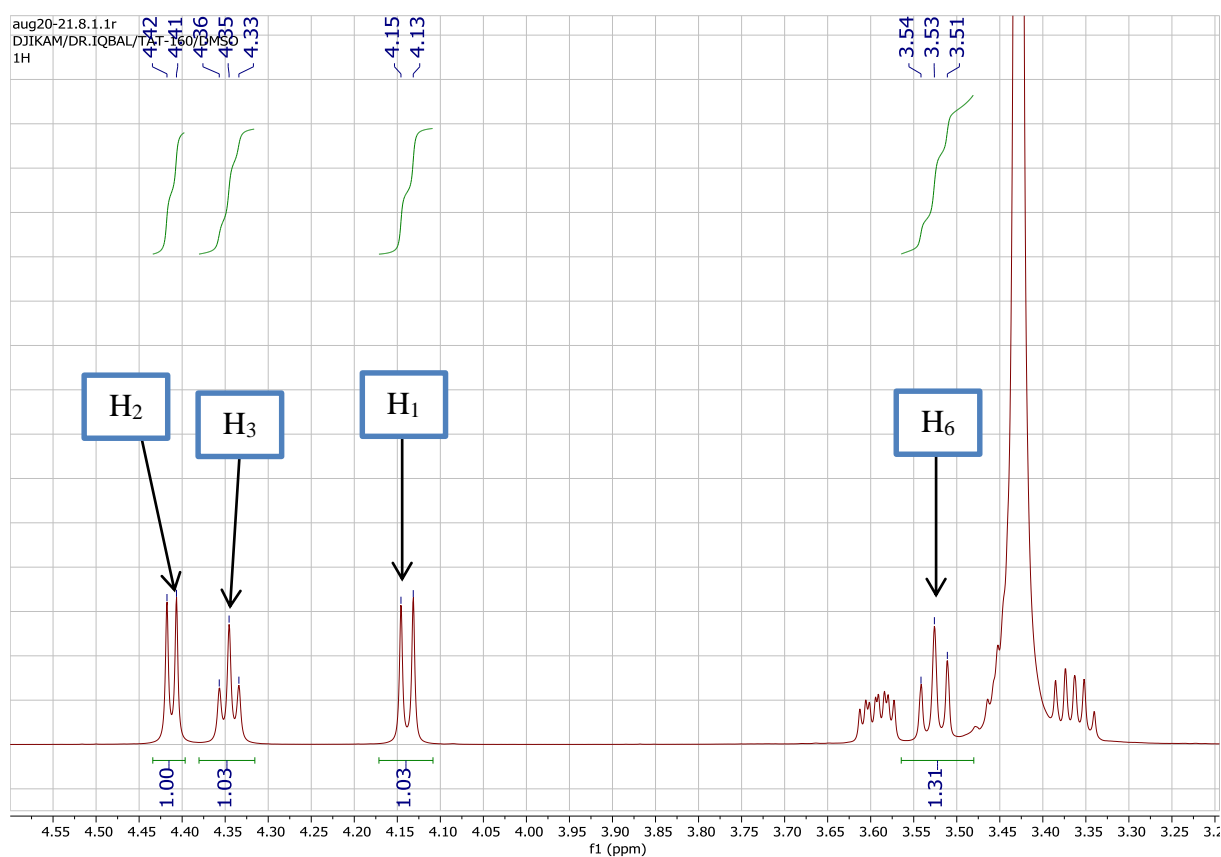
**Tableau XXII** : Données de RMN ( $^1\text{H}$ , 500 MHz et  $^{13}\text{C}$ , 100 MHz ; DMSO) du composé TOF<sub>5</sub> comparées à celle de la littérature (Yamamori et *al.*, 2017).

N°	TOF <sub>5</sub> (DMSO)		$\beta$ -D-fructofuranosyl- $\alpha$ -D-glucopyranoside (DMSO)	
	$\delta_H$ (ppm) ; <i>J</i> (Hz)	$\delta_C$ (ppm)	$\delta_H$ (ppm) ; <i>J</i> (Hz)	$\delta_C$ (ppm)
<b><math>\alpha</math>-Glu</b>				
1	5,18 <i>m</i>	92,2	4,87 <i>d</i> ( <i>j</i> = 8,1Hz)	95,4
2	3,44 <i>m</i>	71,1	3,35 <i>dd</i> ( <i>j</i> = 9,3 ; 8,1 Hz)	73,6
3	3,62 <i>m</i>	72,5	3,54 <i>dd</i> ( <i>j</i> = 9,3 ; 9,0 Hz)	76,6
4	3,53 <i>m</i>	69,2	3,41 <i>dd</i> ( <i>j</i> = 9,9 ; 9,0 Hz)	70,4
5	3,61 <i>m</i>	72,3	3,47 <i>ddd</i> ( <i>j</i> = 9,9 ; 5,6 ; 2,3 Hz)	76,5
6	3,51 <i>m</i>	60,1	3,89 ; 3,71 <i>dd</i> ( <i>j</i> = 12,4 ; 2,3 ; 5,6 Hz)	61,3
<b><math>\beta</math>-Fru</b>				
1'	3,49 <i>m</i>	61,3	3,79 ; 3,68 <i>d</i> ( <i>j</i> = 12,7Hz)	62,0
2'		103,9		105,4
3'	3,87	76,4	4,28 <i>d</i> ( <i>j</i> = 8,7 Hz)	76,6
4'	3,52 <i>m</i>	73,9	4,15 <i>dd</i> ( <i>j</i> = 8,7 ; 8,4 Hz)	74,5
5'	3,55 <i>m</i>	81,3	3,93 <i>ddd</i> ( <i>j</i> = 8,4 ; 6,6 ; 3,0 Hz)	82,5
6'	3,49 <i>m</i>	62,3	3,83 ; 3,78 <i>dd</i> ( <i>j</i> = 12,5 ; 3,0 ; 6,6 Hz)	63,0

### 2.2.2.6. Identification du composé TOF<sub>6</sub>

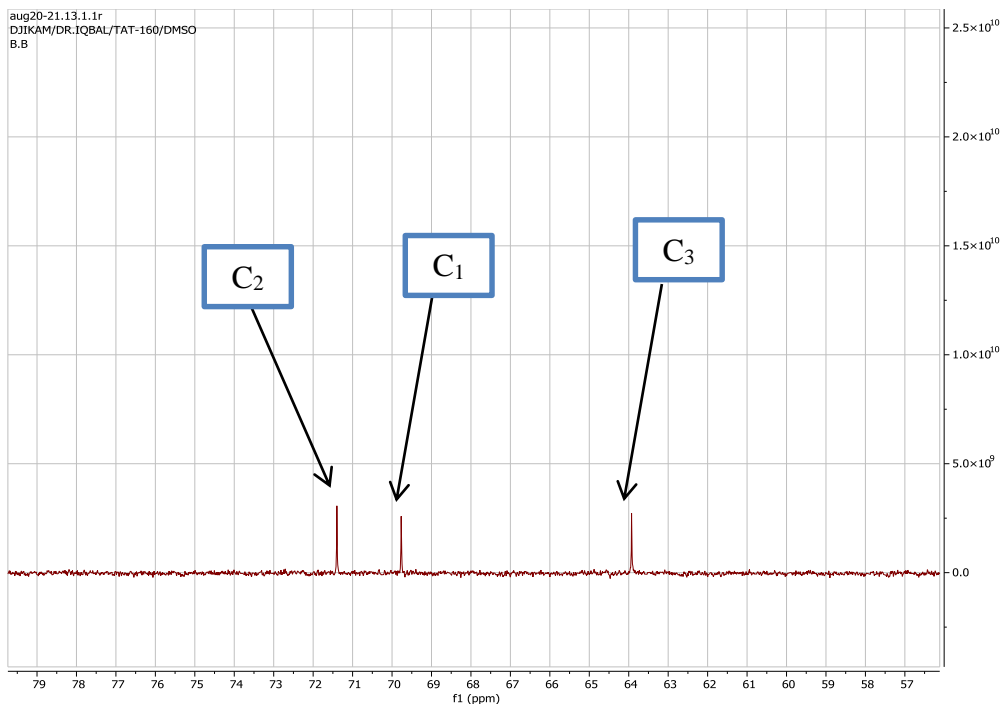
Le composé TOF<sub>6</sub> est isolé sous forme d'un solide blanc et possède un point de fusion variant de 179-181°C. Il répond positivement au test de Molish, caractéristique des sucres. L'analyse de son spectre de masse LC-EI-MS, basse résolution, en mode positif montre un ion *pseudo*-moléculaire à  $m/z = 182,1$   $[M+H]^+$  conforme à la formule C<sub>6</sub>H<sub>14</sub>O<sub>6</sub>.

L'analyse des spectres RMN <sup>1</sup>H et <sup>13</sup>C (**Fig. 107**) présente des signaux dans les régions allant de  $\delta_H$  3 à 4,5 et de  $\delta_C$  60 à 80 respectivement. Son spectre proton montre la présence de quatre signaux de protons hydroxylés à  $\delta_H$  4,40 (1H, d,  $J=4$  Hz, H-2), 4,35 (1H, t, H-3), 4,14 (1H, d,  $J=4$  Hz, H-1), 3,53 (1H, m, H-1') attribuables au proton d'une unité allitol (Hough et Stacey., 1963). Ceci suggère la présence de 2 fragments identiques d'allitol.



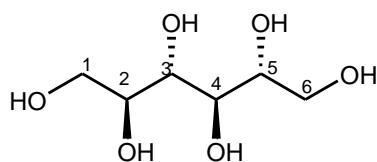
**Figure 107:** Spectre RMN <sup>1</sup>H (400 MHz, DMSO) du composé TOF<sub>6</sub>.

L'analyse de son spectre carbone (**Fig. 108**) permet de visualiser la présence de signaux d'un fragment d'unité allitol à savoir : 2 groupements CH hydroxylé à  $\delta_C$  71,4 (C-2) ; 63,9 (C-3) ; 1 groupement CH<sub>2</sub> hydroxylé à  $\delta_C$  69,9 (C-1).



**Figure 108** : Spectre de RMN  $^{13}\text{C}$  (100 MHz, DMSO) du composé TOF<sub>6</sub>.

Au vu des résultats obtenus et par comparaison avec les données de la littérature, le composé TOF<sub>6</sub> a été identifié comme étant le D- mannitol, composé connu et précédemment isolé de *itea yunnanensis* par Hough et Stacey en 1963.



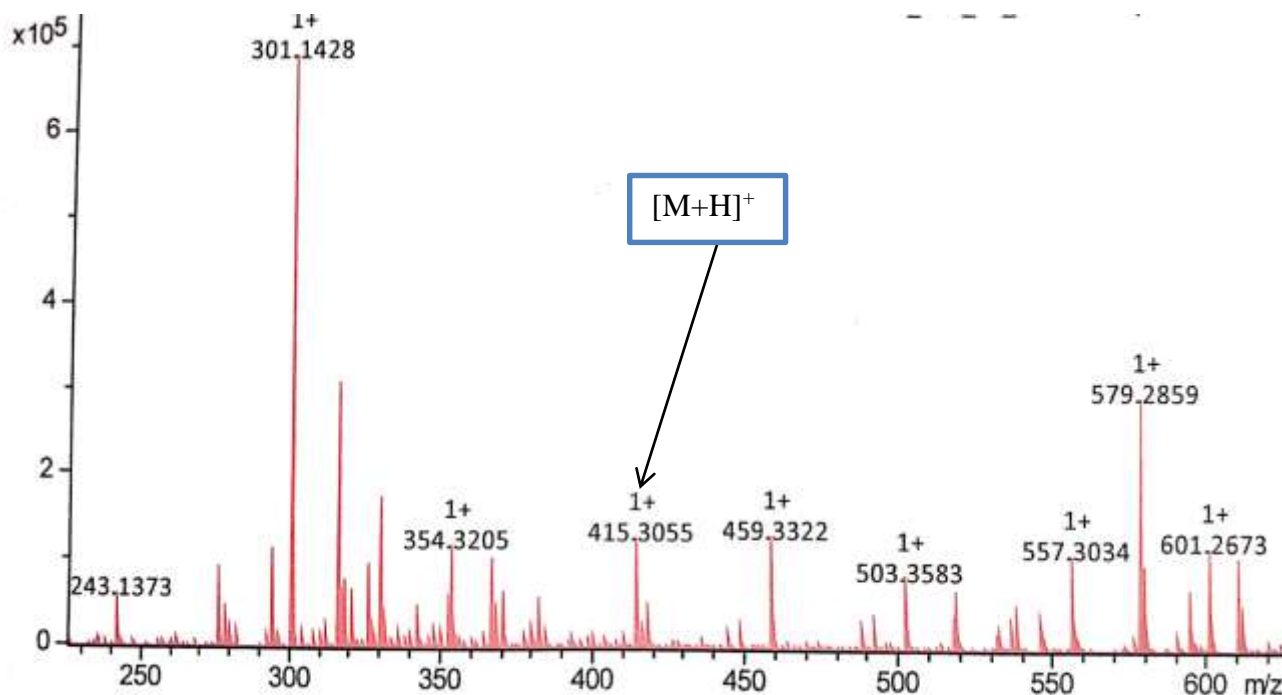
**D-mannitol**  
(162)

**Tableau XXIII** : Données de RMN ( $^1\text{H}$ , 500 MHz et  $^{13}\text{C}$ , 100 MHz ; DMSO) du composé TOF<sub>6</sub> comparées à celle de la littérature.

N°	TOF <sub>6</sub> (DMSO)		D-mannitol (DMSO)	
	$\delta_{\text{H}}$ (ppm) ; $J$ (Hz)	$\delta_{\text{C}}$ (ppm)	$\delta_{\text{H}}$ (ppm) ; $J$ (Hz)	$\delta_{\text{C}}$ (ppm)
1	4,14- 3,53 <i>d</i> (8 Hz)	69,9	4,12- 3,53 <i>m</i>	69,9
2	4,40 <i>d</i> (4 Hz)	71,4	4,42 <i>m</i>	71,7
3	4,35 <i>t</i> (8 ; 12 Hz)	63,2	4,38 <i>m</i>	65,2
4	4,40 <i>d</i> (4 Hz)	71,4	4,43 <i>m</i>	71,8
5	4,35 <i>t</i> (8 ; 12 Hz)	63,2	4,38 <i>m</i>	65,2
6	4,14- 3,53 <i>t</i> (8 ; 12 Hz)	69,9	4,12- 3,53 <i>m</i>	69,9

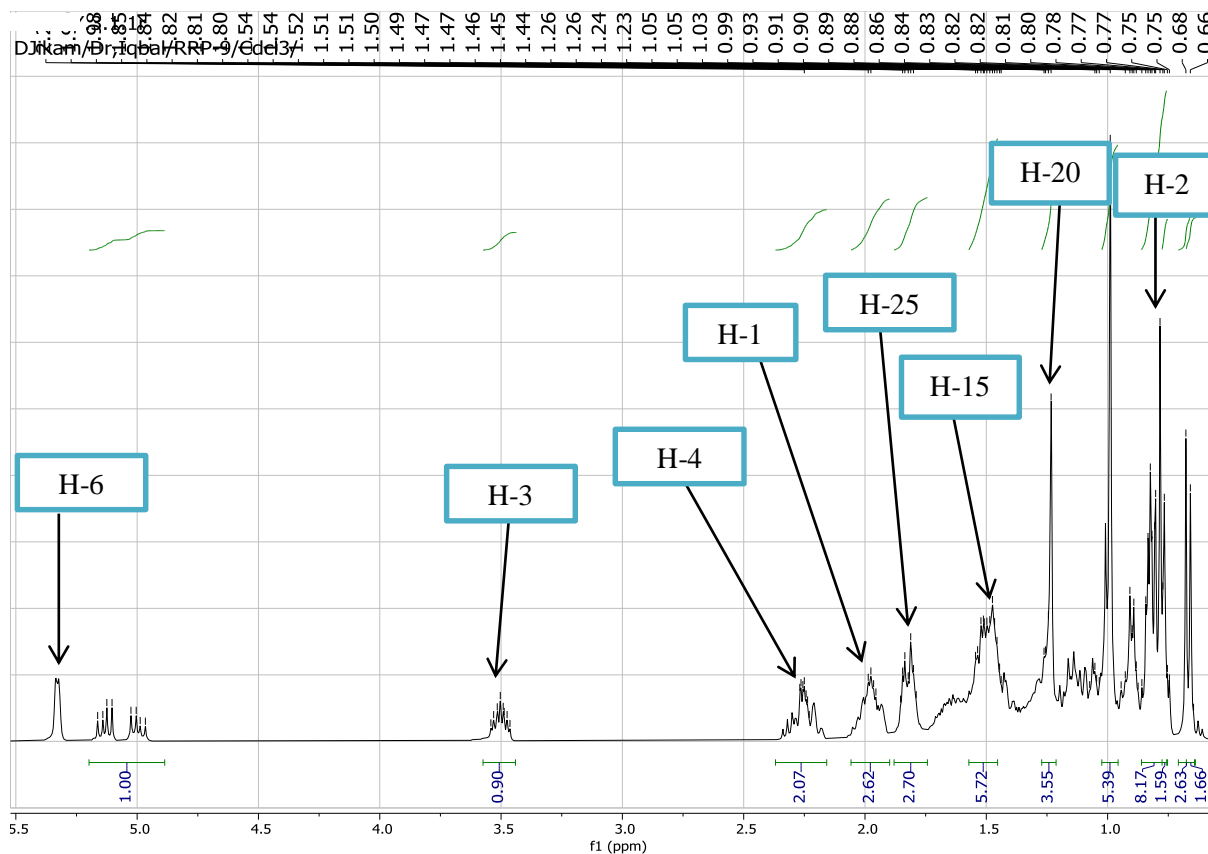
### 2.2.2.7. Identification du composé TOF<sub>7</sub>

Le composé TOF<sub>7</sub> est obtenu sous forme de poudre blanche amorphe, soluble au méthanol. Il répond positivement au test de Libermann-Buchard, caractéristique des stérols. L'analyse de son spectre de masse LC-ESI-SM haute résolution en mode positif, présente le pic de l'ion *pseudo*-moléculaire à  $m/z = 415,3055$   $[M+H]^+$  conduisant à la formule moléculaire C<sub>29</sub>H<sub>50</sub>O, avec cinq degrés d'insaturations.



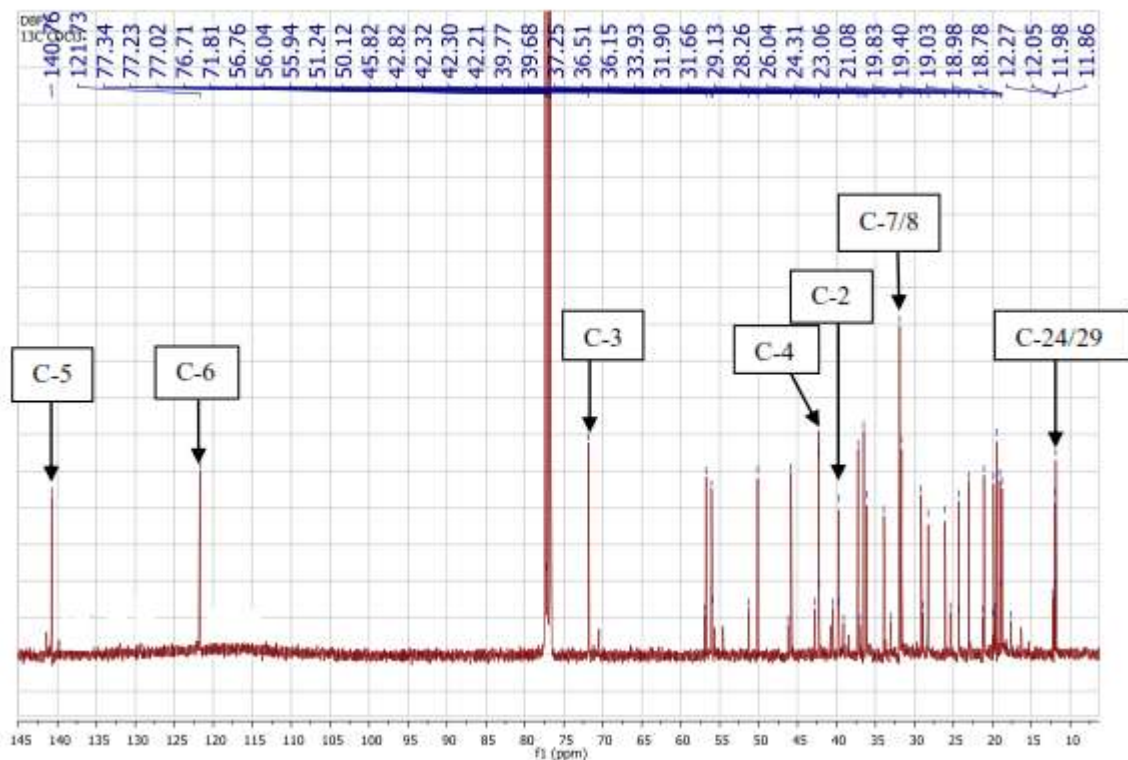
**Figure 109** : Spectre de masse LC-ESI-SM du composé TOF<sub>7</sub>.

L'analyse de son spectre RMN <sup>1</sup>H présente un large doublet à  $\delta_H$  5,26 (1H, *d*,  $J = 6,1$ Hz) correspondant au proton éthylénique H-6 ; un multiplet d'intégration 1H à  $\delta_H$  3,25 ppm correspondant à un proton sur un carbone oxygéné, notamment le H-3 d'un stérol ; deux singulet à  $\delta_H$  1,03 et 0,70 d'intégration 3H chacun, attribuables aux méthyles 19 et 18 respectivement ; deux doublets et un triplet superposés d'intégration 9H centrés à  $\delta_H$  0,81 et  $\delta_H$  0,70 correspondant aux deux méthyles isopropyliques (H-27 et H-28) ; Un singulet  $\delta_H$  1,01 correspondant au méthyle (H-29).



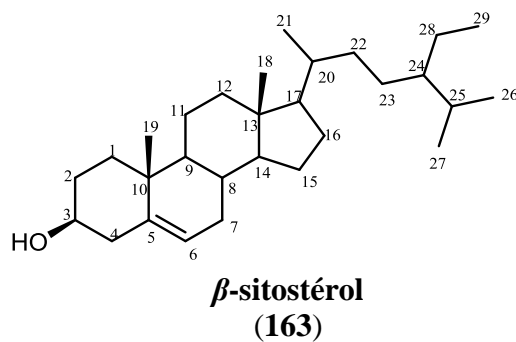
**Figure 110** : Spectre RMN  $^1\text{H}$  (500 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ) du composé TOF<sub>7</sub>.

Le spectre de RMN  $^{13}\text{C}$  montre la présence de deux atomes de carbones éthyléniques. Le premier correspondant à un CH à  $\delta_C$  121,9 et le second à un atome de carbone quaternaire à  $\delta_C$  140,5 soit des valeurs de déplacement chimiques caractéristiques des positions C-5 et C-6 d'un stérol. Par ailleurs, on note la présence d'un signal de carbone méthinique à  $\delta_C$  72,0 correspondant au carbone 3 du stérol.



**Figure 111** : Spectre RMN  $^{13}\text{C}$  (120 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ) du composé TOF<sub>7</sub>.

Par comparaison avec les données de la littérature, l'ensemble de ces données sont en accord avec la structure du  $\beta$ -sitostérol, précédemment isolé de *Saurauia roxburghii* (Ahmed et al., 2013).



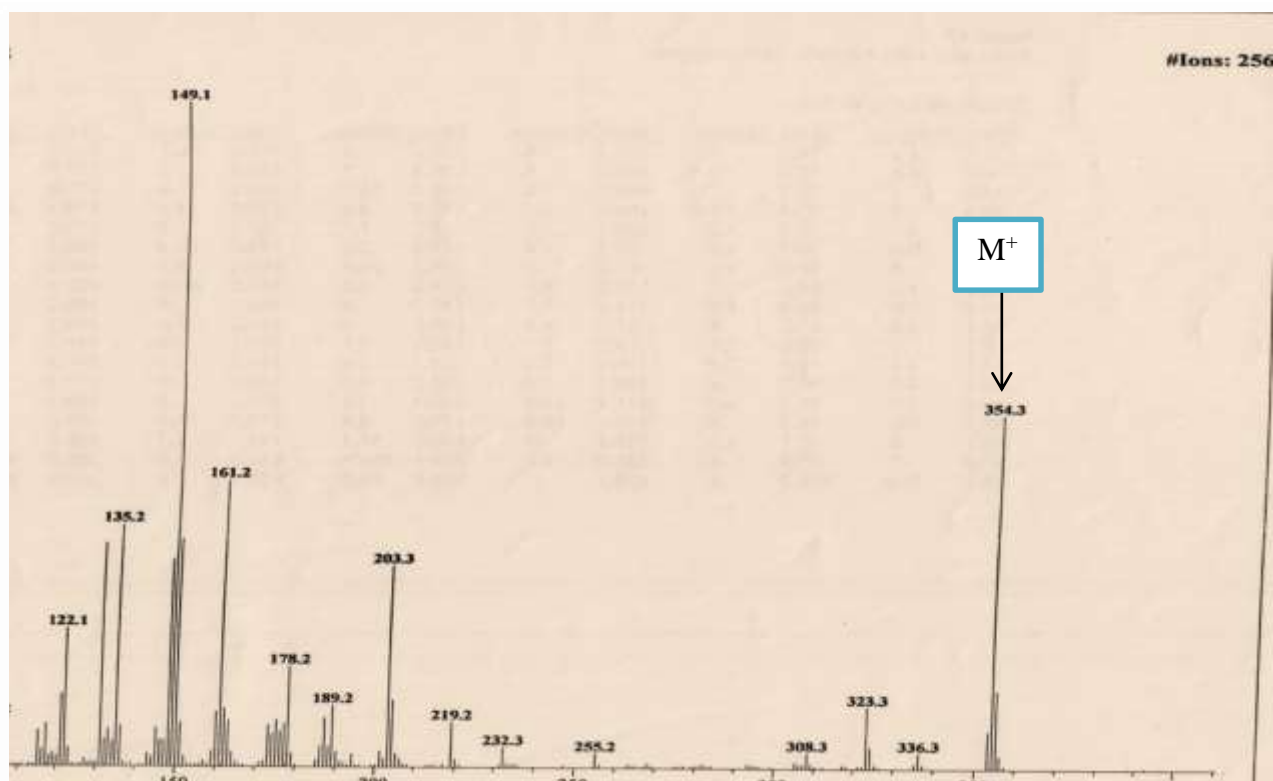


**Tableau XXIV** : Données de RMN ( $^1\text{H}$ , 500MHz et  $^{13}\text{C}$ , 125 MHz) du composé TOF<sub>7</sub> comparé aux données de la littérature (Ahmed et *al.*, 2013).

N°	TOF <sub>7</sub> (CDCl <sub>3</sub> )		$\beta$ -sitostérol (CDCl <sub>3</sub> )	
	$\delta_H$ (ppm) ; <i>J</i> (Hz)	$\delta_C$ (ppm)	$\delta_H$ (ppm) ; <i>J</i> (Hz)	$\delta_C$ (ppm)
1	1,81- 1,01 <i>m</i>	37,5	1,83- 1,05 <i>m</i>	38,8
2	1,90- 1,50 <i>m</i>	31,9	1,87-1,54 <i>m</i>	30,7
3	3,51 <i>tdd</i> (4,5 ; 4,2 ; 3,8 Hz)	72,0	3,45 <i>tdd</i> ( <i>j</i> = 4,5 ; 4,2 ; 3,8 Hz)	71,8
4	2,27	42,5	2,27	37,0
5	-	140,9	-	140,8
6	5,26 <i>t</i> ( <i>j</i> = 6,0 Hz)	121,9	5,26 <i>t</i> ( <i>j</i> = 6,1Hz)	121,7
7	1,47-1,92	32,1	1,47-1,92	31,7
8	1,39-1,55	32,1	1,39-1,55	31,9
9	0,81-0,89	50,3	0,81-0,89	50,2
10		36,7		34,0
11	1,36-1,58	21,3	1,36-1,58	21,2
12	1,10-1,98	39,9	1,10-1,98	39,8
13		42,6		42,3
14	0,91-0,99	56,9	0,91-0,99	56,5
15	1,49-1,58	26,3	1,49-1,58	24,3
16	1,22-1,79	28,5	1,22-1,79	28,3
17	1,03-1,08	56,3	1,03-1,08	54,4
18	0,67	12,3	0,67	11,9
19	0,87 <i>d j</i> = (6,4)	19,2	1,00 <i>d</i> ( <i>j</i> = 6,5 Hz)	19,4
20	1,26-1,30	34,2	1,26-1,30	36,2
21	0,94	18,3	0,92	18,8
22	1,02-1,26	35,1	1,02-1,26	34,0
23	1,08-1,19	23,3	1,08-1,19	26,1
24	0,84 <i>t</i> (7,0 Hz)	12,2	0,81-0,89 <i>t</i> ( <i>j</i> = 7,2 Hz)	44,9
25	1,63 <i>m</i>	29,4	1,63	29,2
26	0,83 <i>d</i> ( <i>j</i> = 6,2 Hz)	20,1	0,75-0,85 <i>d</i> ( <i>j</i> = 6,4 Hz)	19,0
27	0,81 <i>d</i> ( <i>j</i> = 6,2 Hz)	19,6	0,75-0,85 <i>d</i> ( <i>j</i> = 6,4 Hz)	19,8
28	1,18 <i>m</i>	19,0	1,20 <i>m</i>	23,1
29	0,78 <i>m</i>	12,2	0,81 <i>m</i>	12,3

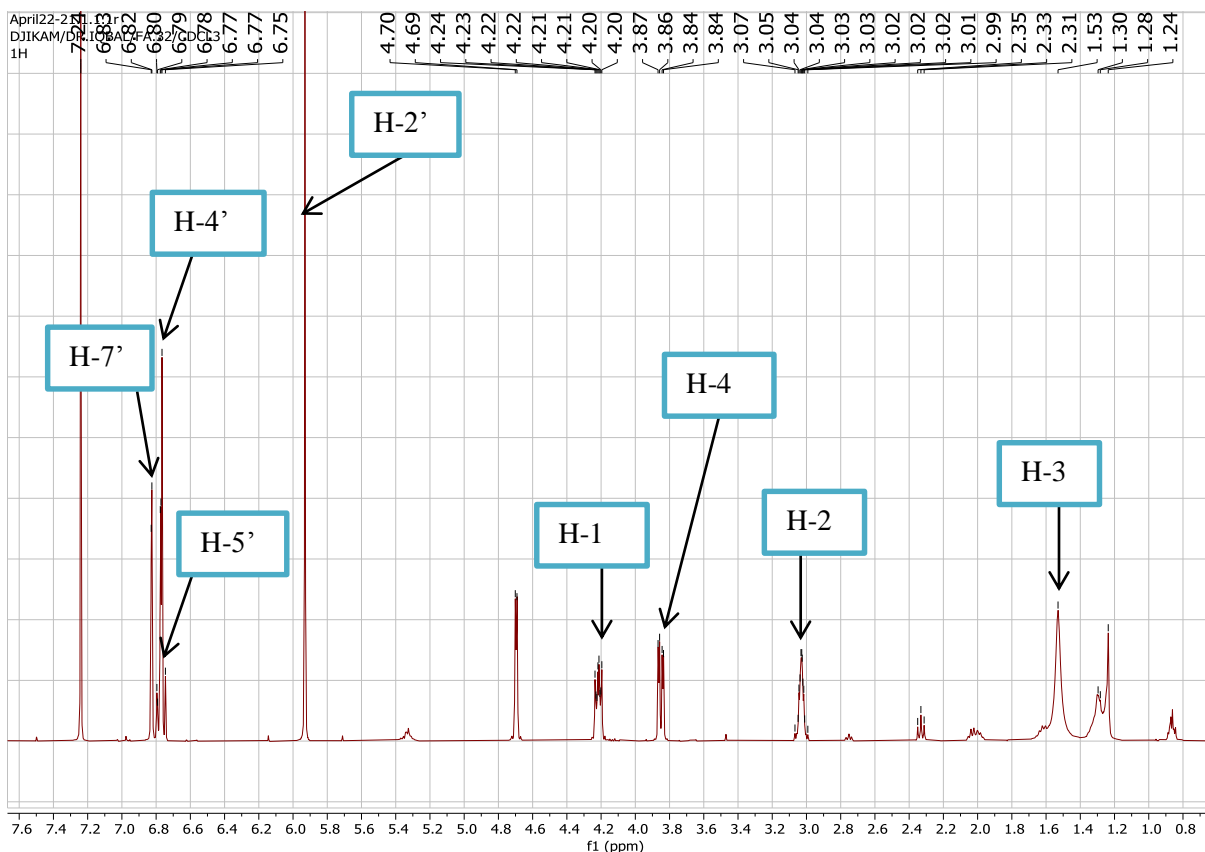
### 2.2.2.8. Identification du composé TOF<sub>8</sub>

Le composé TOF<sub>8</sub> se présente sous forme d'un solide blanc. L'analyse de son spectre de masse EI-MS, basse résolution exhibe le pic de l'ion moléculaire à  $m/z$  354,3 M<sup>+</sup>. Correspondant à la formule moléculaire C<sub>20</sub>H<sub>18</sub>O<sub>6</sub>.



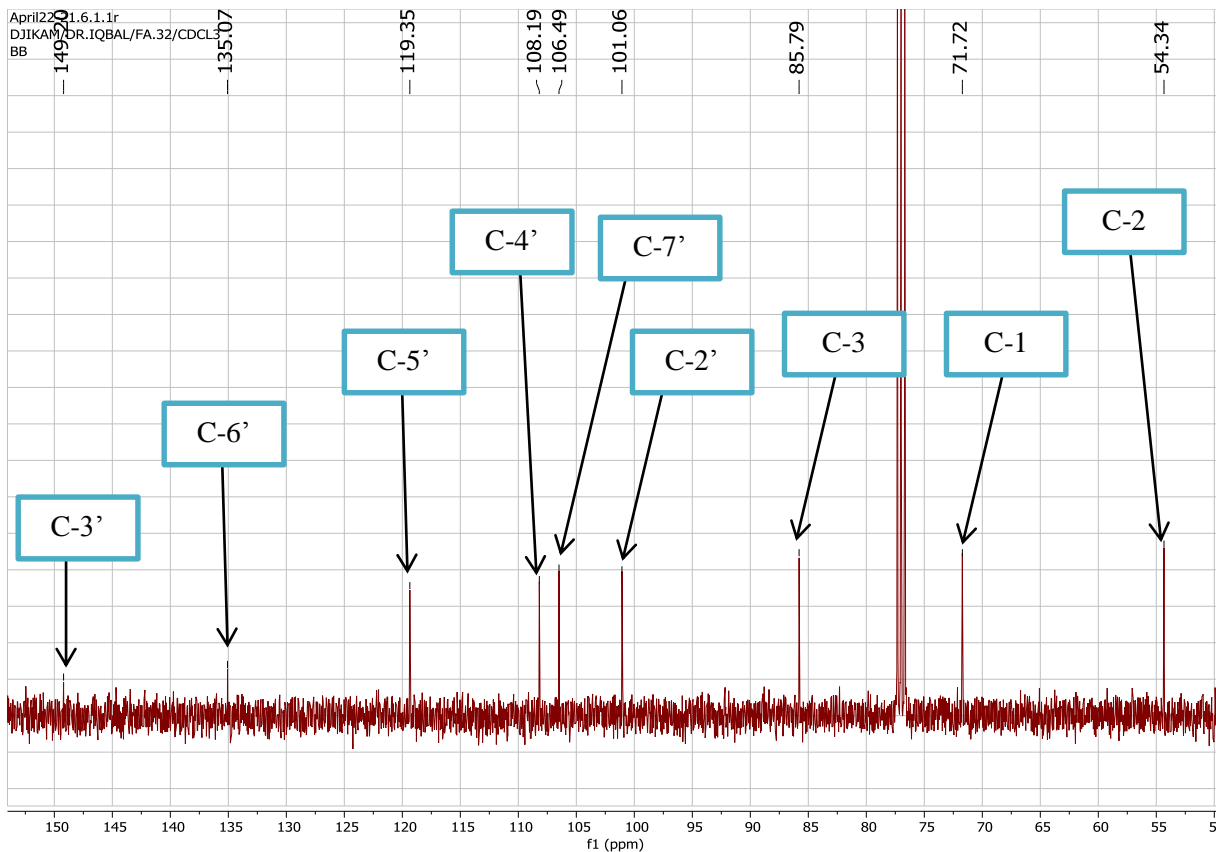
**Figure 112** : Spectre de masse EI-MS du composé TOF<sub>8</sub>.

Le spectre de RMN<sup>1</sup>H présente deux protons sous forme de singulet à  $\delta_H$  5,93 (2H, s, H-2') correspondant aux protons du méthylène dioxo ; un système ABX de deux cycles aromatiques à  $\delta_H$  6,82 (1H, s, H-7') ;  $\delta_H$  6,75 (1H, m, H-4') et  $\delta_H$  6,59 (1H, m, H-5') ; deux cycles accolés notamment l'hexahydrofurole à  $\delta_H$  3,84 (1H, dd,  $J = 3,5 ; 9,5$  Hz ; H-1') ;  $\delta_H$  4,20 (1H, m, H-1'') ;  $\delta_H$  1,6 (1H, s, H-6) et  $\delta_H$  3,04 (1H, m, H-5) (Virinder et al., 1998).



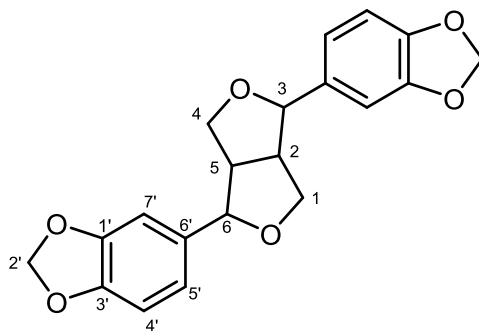
**Figure 113** : Spectre RMN  $^1\text{H}$  (500 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ) du composé  $\text{TOF}_8$ .

Le spectre de RMN  $^{13}\text{C}$  montre la présence du signal d'un carbone lié à deux atomes d'oxygène à  $\delta_C$  101,0 (C-2') correspondant au carbone du méthylène di-oxo ; les carbones d'un noyau benzénique tri substitué accolé au cycle et possédant le méthylène dioxo à  $\delta_C$  106,0 (C-7') ; 119,3 (C-5') ; 108,0 (C-4') ; les signaux de carbone méthiniques et méthyléniques de deux cycles accolés à  $\delta_C$  71,6 (C-1) ; 54,3 (C-2) et 85,2 (C-3) (Virinder et *al.*, 1998).



**Figure 114** : Spectre de RMN  $^{13}\text{C}$  (125 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ) du composé  $\text{TOF}_8$ .

L'ensemble des données spectrales, comparées à celle de la littérature nous a permis de conclure que  $\text{TOF}_8$  est l'asarinine ou le 5-[3-(1,3- benzodioxo-5-yl)-1, 3,3a, 4, 6,6a-hexahydrofuro [3,4-c] furan-6-yl] 1,3- benzodioxole, précédemment isolé des racines de *Piper longum* (Virinder et al., 1998).



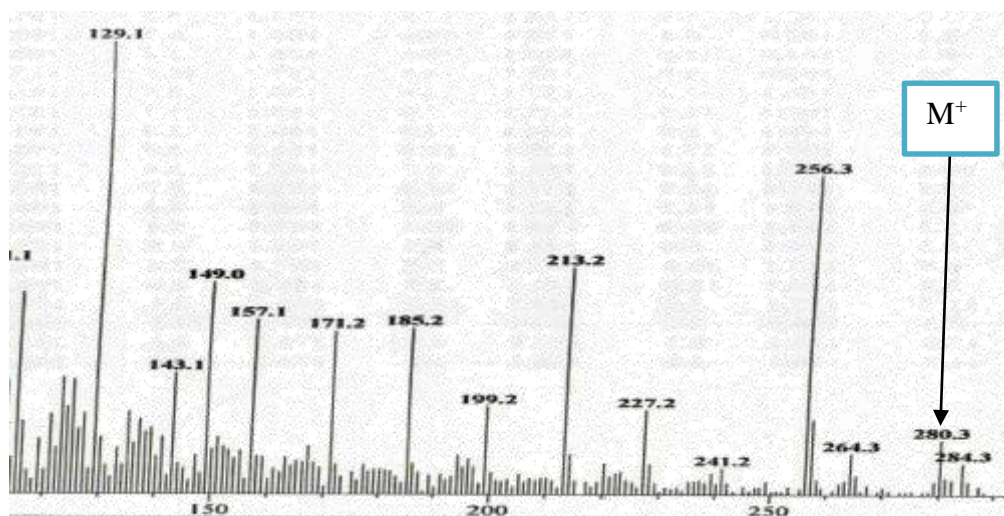
**Asarinine  
(164)**

**Tableau XXIV** : Données de RMN ( $^1\text{H}$ , 500MHz et  $^{13}\text{C}$ , 125 MHz) du composé TOF<sub>8</sub> comparées aux données de la littérature (Virinder et *al.*, 1998).

N°	TOF <sub>8</sub> (CDCl <sub>3</sub> )		Asarinine (CDCl <sub>3</sub> )	
	$\delta_{\text{H}}$ (ppm), <i>J</i> (Hz)	$\delta_{\text{C}}$ (ppm)	$\delta_{\text{H}}$ (ppm), <i>J</i> (Hz)	$\delta_{\text{C}}$ (ppm)
1	4,20 ; 3,84 <i>m</i>	71,6	4,21 ; 3,84 <i>m</i>	71,8
2	1,6 <i>m</i>	85,6	1,62 <i>m</i>	84,2
3	3,04 <i>m</i>	54,3	3,06 <i>m</i>	55,0
4	4,20 ; 3,84 <i>m</i>	71,6	4,21 ; 3,84 <i>m</i>	71,8
5	1,6 <i>m</i>	85,6	1,58 <i>m</i>	85,3
6	3,04 <i>m</i>	54,3	3,06 <i>m</i>	54,0
1'	-	147,8	-	147,0
2'	5,83 <i>s</i>	101,3	5,83 <i>s</i>	100,2
3'	-	147,8	-	147,1
4'	6,72 <i>m</i>	108,2	6,74 <i>m</i>	108,0
5'	6,59 <i>m</i>	119,6	6,6 <i>m</i>	119,0
6'	-	135,1	-	135,0
7'	6,82 <i>m</i>	106,4	6,80 <i>m</i>	106,2
1''	-	147,8	-	147,0
2''	5,83 <i>s</i>	101,3	5,83 <i>s</i>	100,2
3''	-	147,8	-	147,1
4''	6,72 <i>m</i>	108,2	6,74 <i>m</i>	108,0
5''	6,59 <i>m</i>	119,6	6,6 <i>m</i>	119,0
6''	-	135,1	-	135,0
7''	6,82 <i>m</i>	106,4	6,80 <i>m</i>	106,2

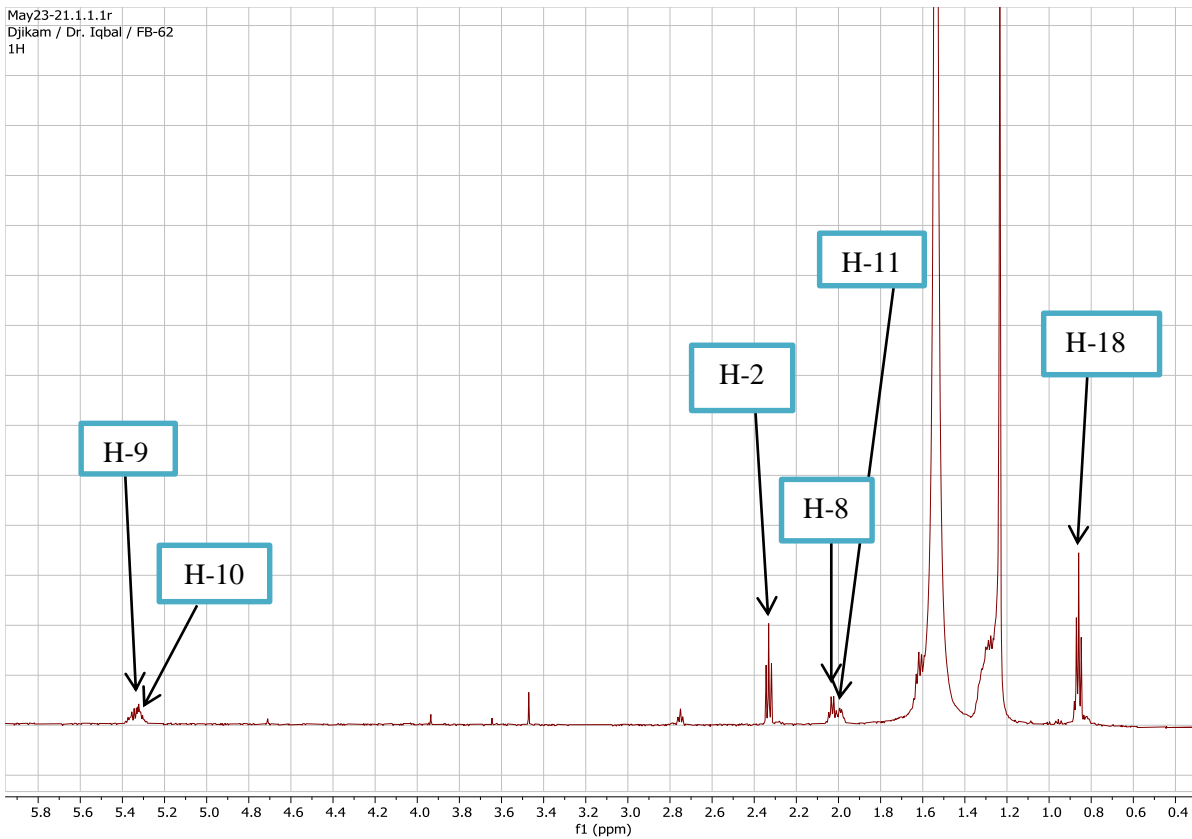
### 2.2.2.9. Identification du composé TOF<sub>9</sub>

Le composé TOF<sub>9</sub> se présente sous forme de poudre blanche, soluble dans le chloroforme. L'analyse de son spectre de masse, à impact électronique, basse résolution, montre le pic de l'ion moléculaire à  $m/z$  280,3 M<sup>+</sup>.



**Figure 115** : Spectre de masse EI-SM du composé TOF<sub>9</sub>.

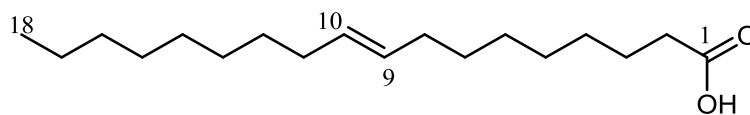
L'analyse de son spectre RMN <sup>1</sup>H présente des signaux caractéristiques correspondant à deux protons oléfiniques de type méthine à  $\delta_H$  5,30 et 5,32 et des protons des groupes méthylènes à  $\delta_H$  1,23 (2H, t,  $J= 6,4$  Hz),  $\delta_H$  2,22 (2H, t,  $J= 7,6$  Hz) et  $\delta_H$  2,02 (4H, m). Ce spectre présente également des protons des groupes méthylènes entre  $\delta_H = 1,25$  et  $\delta_H$  1,23 (16H) et un proton du groupe méthyl à  $\delta_H$  0,87 (3H, t,  $J= 6,9$  Hz) caractéristique d'un dérivé d'acide gras (Chang et al., 2000).



**Figure 116** : Spectre RMN <sup>1</sup>H (500 MHz ; CDCl<sub>3</sub>) du composé TOF<sub>9</sub>.

L'analyse de son spectre RMN <sup>13</sup>C présente : Les carbones caractéristiques du groupe méthylène CH<sub>2</sub> à  $\delta_C$  33,1 (C-2); 24,5 (C-3) ; 27,1 (C-8 et C-11). Les carbones éthyléniques à  $\delta_C$  128,5 et 129,9 correspondants à C-9/10. Le carbone du CH<sub>3</sub> terminal (C-18) à  $\delta_C$  = 13,9 (Chang et *al.*, 2000).

Sur la base des données spectrales et celles de la littérature, le composé **TOF<sub>9</sub>** a été identifié à l'acide (*z*)-9 octadecaénoïque (acide oléique), précédemment isolé de *Bidens pilosa* par Chang et *al.*, 2000.



**Acide oléique**  
**(165)**

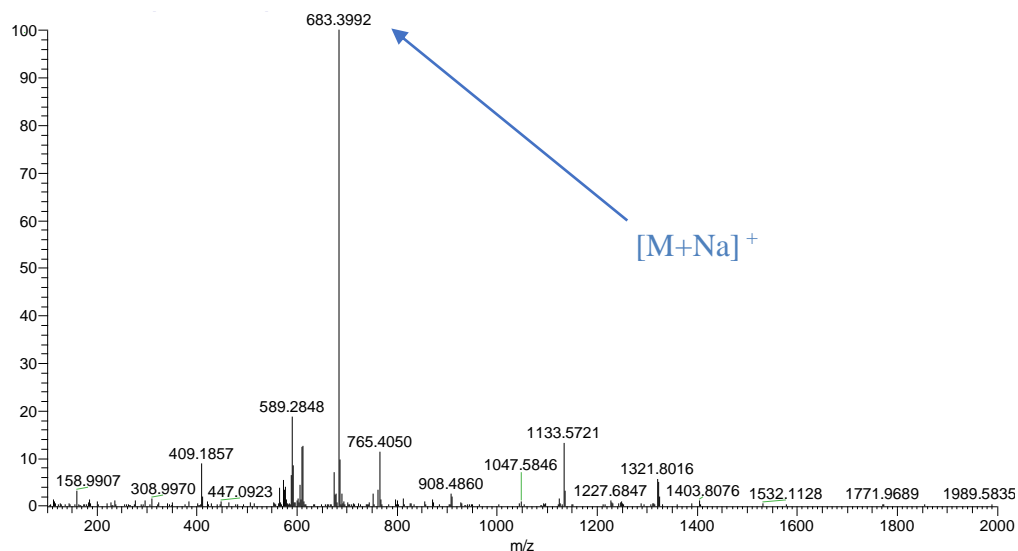
**Tableau XXV** : Données de RMN ( $^1\text{H}$ , 500 MHz et  $^{13}\text{C}$ , 125 MHz ;  $\text{CDCl}_3$ ) du composé TOF<sub>9</sub> comparé à celles de la littérature (Chang *et al.*, 2000).

N°	TOF <sub>9</sub> ( $\text{CDCl}_3$ )		Acide oléique ( $\text{CDCl}_3$ )	
	$\delta_{\text{H}}$ (ppm), <i>J</i> (Hz)	$\delta_{\text{C}}$ (ppm)	$\delta_{\text{H}}$ (ppm), <i>J</i> (Hz)	$\delta_{\text{C}}$ (ppm)
1	-	175,0	-	173,3
2	2,22 <i>t</i> (7,6 Hz)	33,1	2,32 <i>t</i> (7,4 Hz)	34,1
3	1,62 <i>m</i>	24,9	1,58 <i>m</i>	24,6
4	1,25 <i>m</i>	29,9	1,22 <i>m</i>	30,1
5	1,25 <i>m</i>	29,9	1,22 <i>m</i>	30,1
6	1,25 <i>m</i>	29,9	1,22 <i>m</i>	30,1
7	1,25 <i>m</i>	29,9	1,22 <i>m</i>	30,1
8	2,02 <i>t</i> (7,0 Hz)	26,9	2,03 <i>q</i> (7,0 Hz)	27,2
9	5,32 <i>m</i>	129,9	5,34 <i>m</i>	130,2
10	5,30 <i>m</i>	128,5	5,34 <i>m</i>	130,0
11	1,98 <i>t</i> (6,4 Hz)	25,8	1,95 <i>t</i> (5,9 Hz)	25,6
12	1,25 <i>m</i>	29,5	1,25 <i>m</i>	29,1
13	1,25 <i>m</i>	29,5	1,25 <i>m</i>	29,1
14	1,25 <i>m</i>	29,5	1,23 <i>m</i>	29,0
15	1,25 <i>m</i>	29,5	1,23 <i>m</i>	29,0
16	1,23 <i>m</i>	31,7	1,22 <i>m</i>	31,5
17	1,25 <i>m</i>	22,7	1,22 <i>m</i>	22,6
18	0,87 <i>t</i> (6,9 Hz)	13,9	0,85 <i>t</i> (6,8 Hz)	14,1



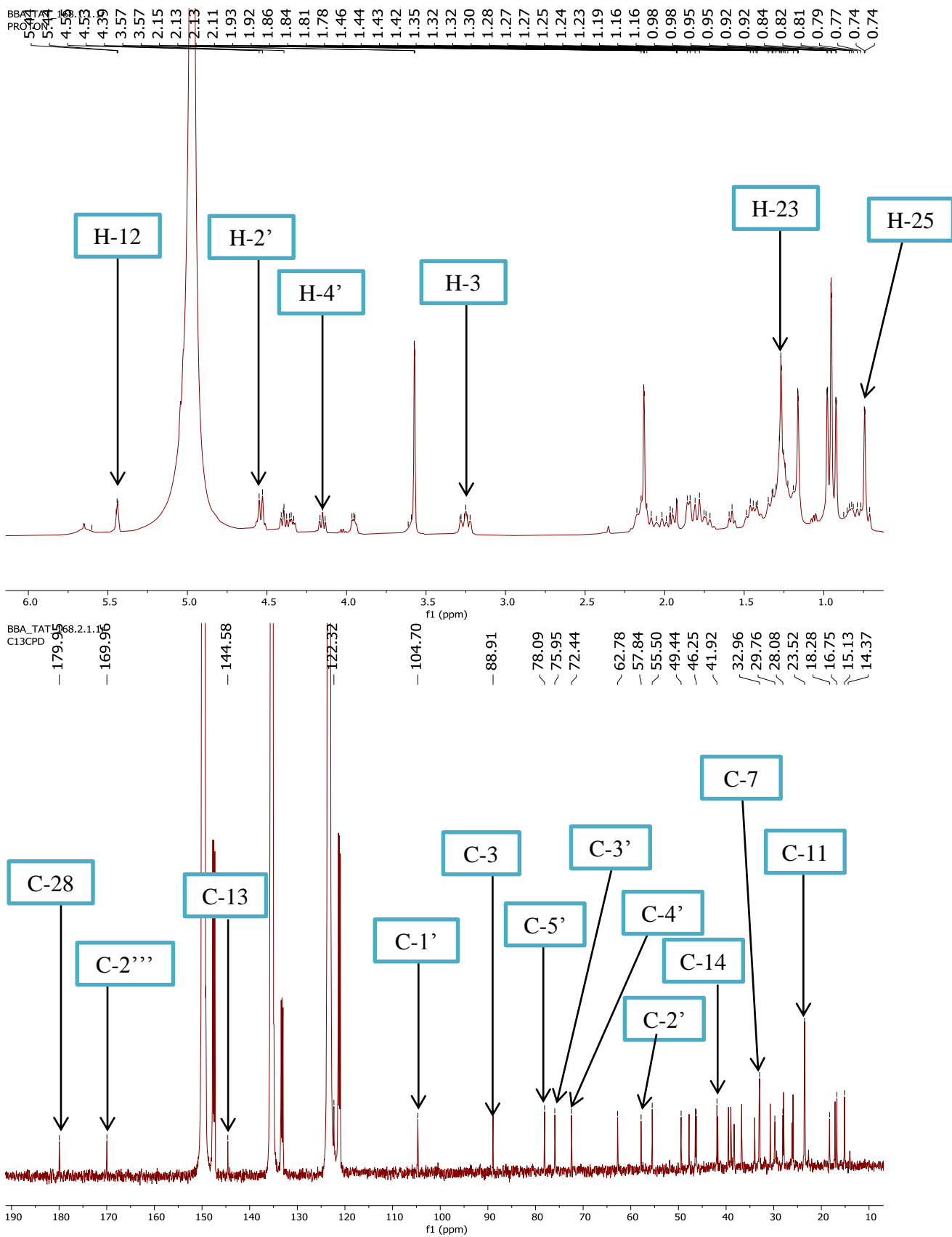
### 2.2.2.10. Identification du composé TOF<sub>10</sub>

Le composé TOF<sub>10</sub> est obtenu sous forme de poudre blanche amorphe. Il répond positivement au test de Liebermann- Burchard. Son spectre de masse par ionisation par électrospray haute résolution (HR-ESI-MS) en mode positif exhibe un pic correspondant à l'ion *pseudo*-moléculaire à  $m/z$  683,3992  $[M + Na]^+$ . Cette valeur est en accord avec la formule brute C<sub>38</sub>H<sub>61</sub>NO<sub>8</sub>.



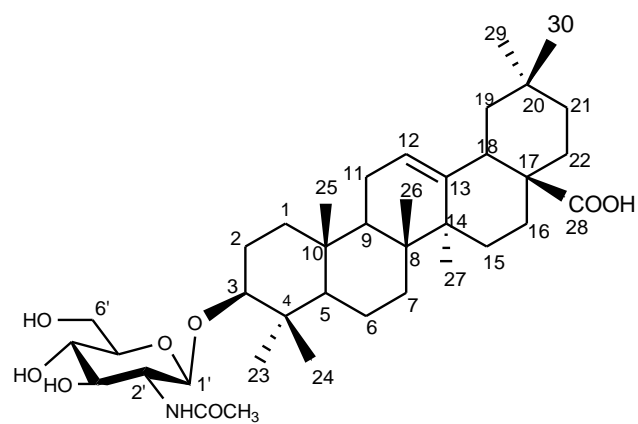
**Figure 117** : Spectre HR-ESI-MS du composé TOF<sub>10</sub>.

La comparaison des valeurs des déplacements chimiques observées pour le composé TOF<sub>3</sub> avec celles obtenues dans le composé TOF<sub>10</sub>, montre que ces deux composés ont le même squelette de base, à savoir le type oléane à l'exception du signal d'un méthyle à  $\delta_H$  0,80 (3H, s, H-28) qui est absent sur le spectre proton de TOF<sub>10</sub> (Fig. 118) et qui est remplacé par le carbonyle résonnant à  $\delta_C$  179,9 (C-28) dans le spectre carbone 13.



**Figure 118 :** Spectre RMN <sup>1</sup>H (500 MHz ; C<sub>5</sub>D<sub>5</sub>N) et RMN <sup>13</sup>C (125 MHz ; C<sub>5</sub>D<sub>5</sub>N) du composé TOF<sub>10</sub>.

Au vu des résultats obtenus et par comparaison avec les données de la littérature, le composé TOF<sub>10</sub> est identifié comme étant l'acide oléanolique 3-[*O*-2-acetamido-2-deoxy]- $\beta$ -D-glucopyranoside, composé connu sur le nom trivial **aridanine** et isolé pour la première fois de *Tetrapleura tetraptera* (Adesina et al., 1985).



**Aridanine**  
**(166)**

**Tableau XXVI** : Données de RMN ( $^1\text{H}$ , 500 MHz et  $^{13}\text{C}$ , 125 MHz ;  $\text{CD}_3\text{OD}$ ) du composé  $\text{TOF}_{10}$  comparé à celles de la littérature (Adesina et *al.*, 1985).

N°	$\text{TOF}_{10}$ ( $\text{CD}_3\text{OD}$ )		Aridanine ( $\text{CD}_3\text{OD}$ )	
	$\delta_{\text{H}}$ (ppm) ; $J$ (Hz)	$\delta_{\text{C}}$ (ppm)	$\delta_{\text{H}}$ (ppm) ; $J$ (Hz)	$\delta_{\text{C}}$ (ppm)
1	0,80 ; 1,34 <i>m</i>	38,2	0,80 ; 1,34 <i>m</i>	38,5
2	1,74 ; 2,17 <i>m</i>	26,1	1,74 ; 2,17 <i>m</i>	26,2
3	3,24 <i>dd</i> (7,6)	88,8	3,24 <i>dd</i> (7,6)	89,1
4	-	39,0	-	39,1
5	0,72 <i>m</i>	55,5	0,72 <i>m</i>	55,7
6	1,27 ; 1,47 <i>m</i>	18,2	1,27 ; 1,47 <i>m</i>	18,4
7	1,27 ; 1,44 <i>m</i>	32,9	1,27 ; 1,44 <i>m</i>	33,2
8	-	39,4	-	39,6
9	1,59 <i>m</i>	47,7	1,59 <i>m</i>	47,9
10	-	36,7	-	36,9
11	1,86 ; 2,09 <i>m</i>	23,4	1,86 ; 2,09 <i>m</i>	23,6
12	5,64 <i>m</i>	122,3	5,64 <i>m</i>	122,3
13	-	144,5	-	144,7
14	-	41,9	-	42,1
15	1,05 ; 2,12 <i>m</i>	28,0	1,05 ; 2,12 <i>m</i>	28,1
16	1,85 ; 1,95 <i>m</i>	23,4	1,85 ; 1,95 <i>m</i>	23,7
17	-	46,4	-	46,6
18	3,27 <i>m</i>	41,7	3,27 <i>m</i>	41,9
19	1,26 ; 1,80 <i>m</i>	46,2	1,26 ; 1,80 <i>m</i>	46,4
20	-	30,7	-	30,9
21	1,20 ; 1,43 <i>m</i>	33,9	1,20 ; 1,43 <i>m</i>	34,1
22	1,81 ; 2,03 <i>m</i>	32,9	1,81 ; 2,03 <i>m</i>	33,2
23	1,18 <i>s</i>	27,8	1,18 <i>s</i>	28,1
24	0,97 <i>s</i>	16,8	0,97 <i>s</i>	16,9
25	0,76 <i>s</i>	15,1	0,76 <i>s</i>	15,4
26	0,97 <i>s</i>	17,2	0,97 <i>s</i>	17,3
27	1,28 <i>s</i>	25,9	1,28 <i>s</i>	26,1
28	-	179,9	-	180,1
29	0,94 <i>s</i>	33,3	0,94 <i>s</i>	33,2
30	0,99 <i>s</i>	23,5	0,99 <i>s</i>	23,1
1'	5,05 <i>d</i> (7,3 Hz)	105,2	5,05 <i>d</i> (7,3 Hz)	104,7
2'	4,53 <i>m</i>	57,8	4,53 <i>m</i>	58,0
3'	4,39 <i>m</i>	75,9	4,39 <i>m</i>	76,0
4'	4,17 <i>m</i>	72,5	4,17 <i>m</i>	72,6
5'	3,95 <i>m</i>	78,2	3,95 <i>m</i>	78,0
6'	4,35 ; 4,56 <i>m</i>	62,7	4,35 ; 4,56 <i>m</i>	62,9
$\text{NHCOCH}_3$	2,14 <i>s</i>	23,5	2,14 <i>s</i>	23,6
$\text{NHCOCH}_3$	-	169,9	-	170,2

## PARTIE B : ETUDES BIOLOGIQUES ET BIOSYNTHESE DE QUELQUES COMPOSÉS ISOLÉS

### 2.3. Activités biologiques des extraits et de quelques composés isolés

#### 2.3.1. Activité antiplasmodiale et cytotoxique *in vitro*.

Le tableau 28 résume les résultats obtenus pour l'évaluation de l'activité antiplasmodiale *in vitro* de quelques composés isolés et de l'extrait méthanolique des feuilles de *Tricalysia atherura* sur deux souches de *Plasmodium falciparum*, l'une chloroquino-sensible (3D7) et l'autre chloroquino-résistante (Dd2). L'activité antiplasmodiale a été évaluée en appliquant la méthode basée sur la fluorescence Sybr-green- I décrite par Rasoanaivo et al (1992) et en utilisant l'artémisinine comme contrôle positif. Concernant le test cytotoxique, il a été évalué en utilisant les cellules Vero (Lignées cellulaire utilisée pour les cultures cellulaires) comme contrôle positif.

**Tableau XXVII** : Activité antiplasmodiale et cytotoxique *in vitro* de l'extrait méthanolique et composés purs de *T. atherura*.

	CI <sub>50</sub> (µg/ml)		CC <sub>50</sub> (µg/ml)	Indice de selectivité (IS)	
	3D7	Dd2	Vero	3D7	Dd2
<b>Extrait des feuilles</b>	7,54 ± 0,53	4,39 ± 0,27	> 100	> 13,26	> 22,78
<b>Atheruramine (148)</b>	> 100	64,99 ± 13,65	NP*	NP*	NP*
<b>Atheruroside A (146)</b>	> 100	92,29 ± 3,78	NP*	NP*	NP*
<b>19α- hydroxy-α-amyrine (156)</b>	> 100	74,88 ± 1,93	NP*	NP*	NP*
<b>Rubrinol (155)</b>	> 100	73,02 ± 1,02	NP*	NP*	NP*
<b>Artemisinine (µM)</b>	0,034 ± 0,004	0,043 ± 0,011	-	-	-
<b>Chloroquine (µM)</b>	0,0292 ± 0,0003	0,0113 ± 0,0003	-	-	-
<b>Doxorubicine (µM)</b>	-	-	0.62 ± 0.04	-	-

NP= Non réalisé

L'échelle de valeur permettant de déterminer l'activité antiplasmodiale d'un échantillon (Cao et al., 2011) est le suivant :

- Très bonne activité pour une CI<sub>50</sub> < 5 µg/mL
- Bonne activité pour une CI<sub>50</sub> comprise entre 5 et 15 µg/mL
- Activité moyenne pour une CI<sub>50</sub> comprise entre 15 et 50 µg/mL
- Activité faible pour une CI<sub>50</sub> > 50 µg/mL
- Activité nulle au-delà de 100 µg/mL

Il ressort de ce tableau, que tous les composés testés à savoir atheruramine (**148**), atheruroside A (**146**), 19 $\alpha$ -hydroxy- $\alpha$ -amyrine (**156**), rubrinol (**155**), possède une activité antiplasmodiale modérée sur la souche de Dd2 de *Plasmodium falciparum* avec des valeurs CI<sub>50</sub> de l'ordre du microgramme par millilitre. Le composé atheruramine (CI<sub>50</sub> = 64,99  $\mu$ M) est plus actif, suivi du composé rubrinol (CI<sub>50</sub> = 73,02  $\mu$ M), et ensuite les composés 19 $\alpha$ -hydroxy- $\alpha$ -amyrine et atheruroside A avec des CI<sub>50</sub> de 74,02 et 92,29  $\mu$ M respectivement. Par contre sur la souche 3D7, ils sont tous inactifs. En revanche, l'extrait méthanolique a montré une très bonne activité antiplasmodiale sur les deux souches avec une activité plus prononcée pour la souche Dd2 (CI<sub>50</sub> de 4,39  $\mu$ M). Au vu de ce résultat, nous pouvons suggérer que les composés testés agissent en synergie pour une meilleure activité. Par ailleurs, les triterpènes et les alcaloïdes sont réputés pour leurs activités antiplasmodiales (He et al., 2005 ; Hady et al., 2002 ; Liu et al., 2008 ; Hayaski et al., 1987).

Concernant le test cytotoxique, l'extrait brut a montré un indice de selectivité (IS) très intéressant qui traduit une toxicité moindre (IS > 13-22). Par conséquent, étant donné que la vertu médicinale pour laquelle nous testons la plante n'est pas répertoriée, celle-ci, au vu des résultats obtenus, pourrait être classée parmi les plantes antiplasmodiales. De plus, pour appuyer notre discussion à ce propos, certaines plantes du genre asiatique ont été révélés comme possédant des vertus antimalariques (Moshi et al., 2012 ; Chuan-pu et al., 2015) corroborant ainsi nos résultats qui valident le potentiel antimalarique du genre *tricalysia*.

### **2.3.2. Activité antileishmaniale et cytotoxique *in vitro***

L'activité antileishmaniale *in vitro* de quelques composés isolés et de l'extrait méthanolique des feuilles de *Tricalysia oligoneura* a été évaluée sur les souches des promastigotes de *Leishmania donovani* 1S (MHOM/SD/62/1S) et sur les cellules macrophages Raw 264,7 afin de déterminer leurs sélectivités vis-à-vis des parasites. Cette activité a été évaluée suivant la méthode basée sur le dosage colorimétrique de la Resazurine. (Callahan et al., 1997 ; Sereno et Lemesre, 2011) et en utilisant l'amphotéricine B comme contrôle positif. Les résultats sont présentés dans le tableau ci-dessous.

**Tableau XXVIII** : Activité antileishmaniale et cytotoxique *in vitro* de l'extrait méthanolique et composés purs de *T. oligoneura*.

	<i>L. donovani</i> CI <sub>50</sub> ±SD* (µg/mL)	Raw 264.7 CC <sub>50</sub> ± SD* (µg/mL)	Indice de selectivité (IS)
<b>Extrait des feuilles</b>	13,62 ± 0,26	68,74 ± 1,83	5,05
<b>Oligoneurine (159)</b>	21,10 ± 1,06	> 100	> 4,74
<b>Nonacosane-1,10-diol (157)</b>	> 50	> 100	-
<b>Oligoneuramide (158)</b>	23,87 ± 1,45	> 100	> 4,18
<b>Asarinine (164)</b>	> 50	> 100	-
<b>Amphotericine B</b>	0,0016 ± 0,0009	-	-
<b>Podophyllotoxine</b>	-	0,80 ± 0,09	-

L'établissement d'une échelle de valeur pour déterminer l'activité d'un extrait dépend du modèle utilisé (promastigotes, amastigotes axéniques, macrophages infectés).

Pour les promastigotes, les amastigotes axéniques et les macrophages infectés, l'échelle de sélection élaborée par Callahan et collaborateurs en 1997 est la suivante :

- Très bonne activité pour une CI<sub>50</sub> < 10 µg/mL
- Bonne activité pour une CI<sub>50</sub> comprise entre 10 et 25 µg/mL
- Activité moyenne pour une CI<sub>50</sub> comprise entre 25 et 50 µg/mL
- Activité faible pour une CI<sub>50</sub> > à 50 µg/mL
- Activité nulle au-delà de 100 µg/mL

L'analyse de ce tableau montre que l'extrait méthanolique des feuilles de *T. oligoneura* possède une bonne activité (valeur CI<sub>50</sub> 13,62 µg/mL) sur promastigote de *L. donovi* et une sélectivité relativement faible (IS= 5,05) qui traduirait une plausible toxicité de la plante pour la consommation humaine (Serene et Lemesre, 2011). Par ailleurs, cet indice de sélectivité observé sur l'extrait suggère que l'activité antileishmaniale modérée observée des isolats devrait probablement provenir de leur cytotoxicité (IS < 10). Par contre, les composés : oligoneurine (159), qui est un dérivé de type oléane et oligoneuramide (158) qui est une céramide de type phytosphingosine, ont présenté des activités leishmanicides modérées avec des valeurs de CI<sub>50</sub> de 21,10 et 23,87 µg/mL respectivement. L'activité de ces types de composés est principalement attribuée à la présence des groupements hydroxyles (OH) greffés dans leur structure. Par ailleurs, les composés nonacosane-1,10-diol (157) et asarinine (164) ont présenté des activités leishmanicides faibles avec des valeurs de CI<sub>50</sub> > 50 µg/mL et une sélectivité non déterminée.

## 2.4. Biogenèse de quelques composés isolés

### 2.4.1. Cas des triterpènes

Les triterpènes isolés dans cette thèse présentent une grande variété structurale. Ils peuvent être regroupés en plusieurs types en fonction de leur biogénèse (oléanane, ursane, lupane...). Leur biosynthèse se produit à travers l'action de l'oxydosqualène cyclase qui génère divers types de triterpènes à partir du 2,3-epoxysqualène après réarrangement du squelette triterpénique (Han et *al.*, 2019). Par la suite, le fragment triterpénique en C-3 dérivé de la  $\beta$ -amyrine subirait une déshydratation intermoléculaire en présence du glycoside (D- apiose ou D- xylose) lors du processus biogénétique pour conduire aux composés indexés TAF<sub>1</sub>, TAF<sub>2</sub>, TAF<sub>11</sub> et TOF<sub>3</sub>.



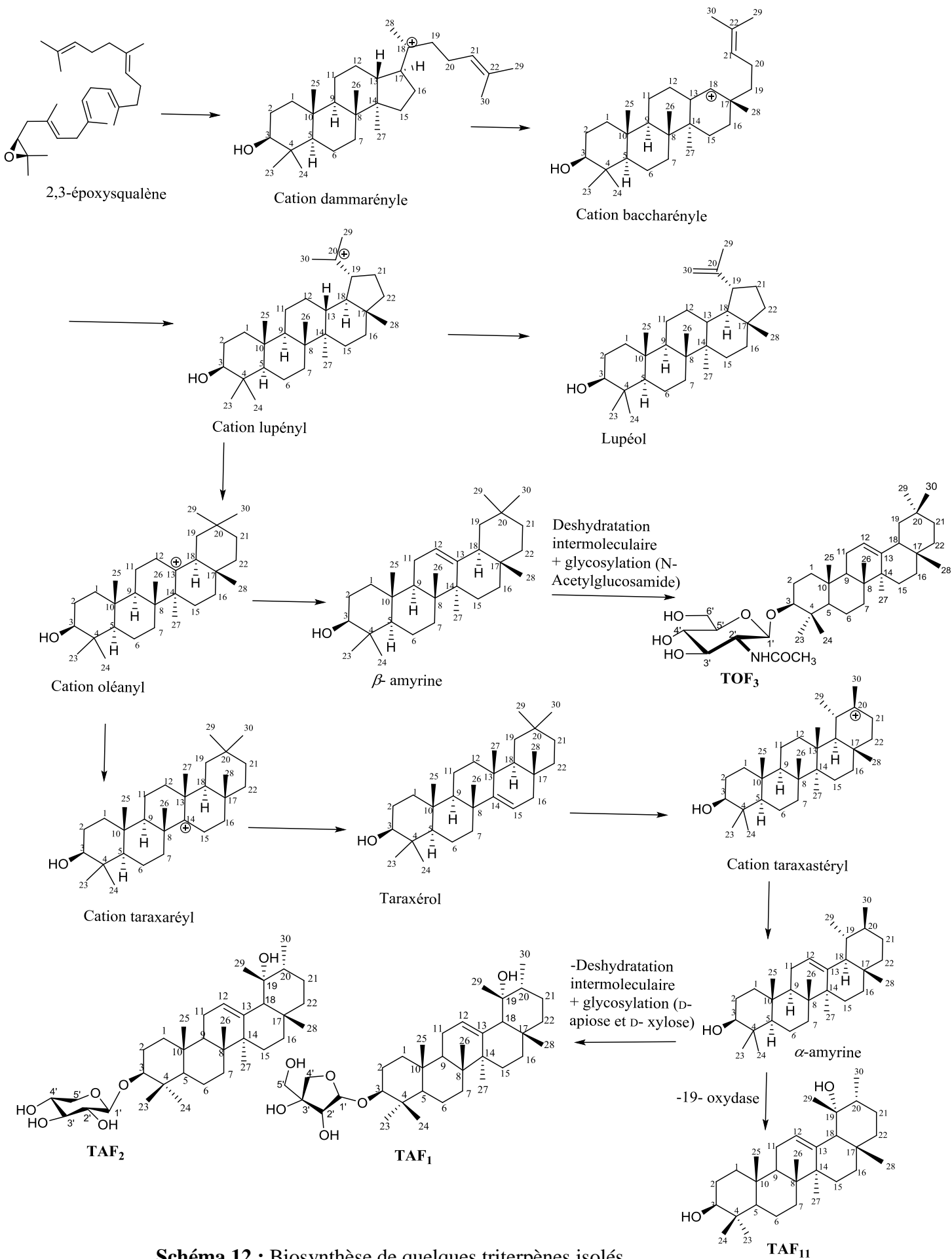
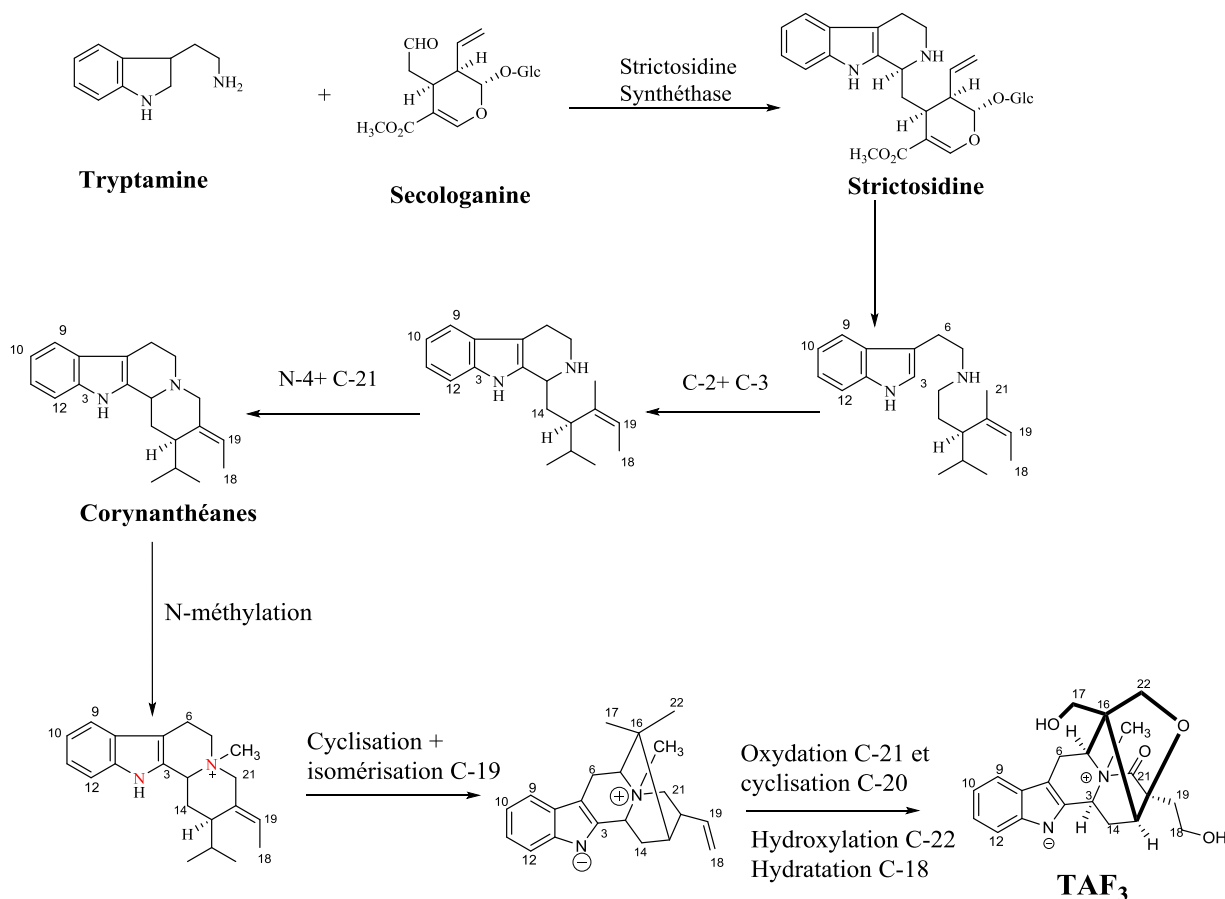


Schéma 12 : Biosynthèse de quelques triterpènes isolés.

## 2.4.2. Cas des alcaloïdes indolomonoterpéniques

Les alcaloïdes indoliques isolés dans cette thèse présentent également une grande variété structurale. Ils peuvent être regroupés en trois classes en fonction de leur biogénèse (corynanthéanes, vincosanes et iboganes) qui présentent chacune un lien biogénétique. Leur biosynthèse utilise comme précurseur le tryptophane qui est acide alpha aminé se réduisant pour donner la tryptamine, qui par la suite réagit avec la sécologanine pour donner la strictosidine, intermédiaire à partir duquel se forme la plupart des alcaloïdes indolomonoterpéniques (Rodney *et al.*, 2000).



**Schéma 13** : Biosynthèse de quelques alcaloïdes indoliques isolés.

## 2.5. Importance Chimiotaxonomique

Les résultats obtenus de ce travail viennent enrichir la panoplie des métabolites secondaires du genre *Tricalysia*. Les études antérieures relevées dans les pages précédentes montrent que le genre est source d'alcaloïdes (Wang *et al.*, 2002), de stéroïdes (Tamaki *et al.*, 2008), d'acides gras (Awouafack *et al.*, 2018), d'alcool lineaire, de sucres, mais principalement des diterpènes (He *et al.*, 2005 ; Xu *et al.*, 2009 ; Shimatoko *et al.*, 2010 ; Shen *et al.*, 2015) qui ont été jusqu'à présent recensés comme les marqueurs du genre. Notre étude associée aux résultats issus de la bibliographie sur le genre, montre qu'en plus de ces composés, les alcaloïdes indoliques et surtout les triterpènes apparaissent au même titre que les diterpènes, comme les marqueurs chimiques du genre.

**CONCLUSION GÉNÉRALE ET PERSPECTIVES**

Nos travaux avaient pour objectif de rechercher des molécules à potentiels antiparasitaires, aux fins de lutter contre le phénomène de résistance aux agents antiplasmodiaux et antileishmaniaux, de valoriser et/ou de classer les usages traditionnels de plantes émanant de la biodiversité camerounaise. Ainsi, l'étude phytochimique de deux plantes de la famille des Rubiaceae (*Tricalysia atherura* N. Hallé et *Tricalysia oligoneura* S. schum) a conduit à l'isolement de vingt-et-un composé, dont sept dérivés nouveaux. Leur caractérisation a été réalisée à l'aide de techniques spectroscopiques (RMN 1D et 2D), spectrométrie, dichroïsme circulaire et par comparaison avec la littérature.

Des feuilles de *Tricalysia atherura* N. Hallé, 11 composés (3 alcaloïdes, 6 triterpènes, 01 composé phénolique et 01 diterpène) ont été isolés parmi lesquels 04 sont décrits pour la première fois ; Il s'agit de : un alcaloïde indolique de type akuammidine (atheruramine), deux triterpènes glycosylés, Atheruroside A et B et un composé phénolique ayant une configuration *thréo* (tricalydiololide).

Des feuilles de *Tricalysia oligoneura* S. schum, 10 composés (4 triterpènes, 2 dérivés d'acide gras, 1 céramide, 02 sucres et 01 lignane) ont été isolés parmi lesquels 3 sont décrits pour la première fois ; dont un alcool *n*-paraffinique, le nonacosane - 1,10 - diol, une céramide de type phytosphingosine, l'oligoneuramide et un triterpène glycosylé (Oligoneurine). Ces composés sont isolés pour la première fois du genre.

Des métabolites secondaires rencontrés dans le genre *Tricalysia*, très peu de triterpènes et d'alcaloïdes indoliques ont été isolés. Les diterpènes et alcaloïdes diterpéniques sont des marqueurs de ce genre. Les acides ursolique, oléanolique et betulinique ont été isolés, mais aucun triterpène glycosylé dans de ce genre. D'un point de vue chimiotaxonomique, nos résultats apportent donc une précieuse contribution à la connaissance de la chimie des plantes du genre *Tricalysia* de la famille des Rubiaceae.

La prochaine étape a été l'évaluation biologique des extraits et composés obtenus. Deux activités biologiques ont été retenues : l'activité antiplasmodiale et l'activité antileishmaniale.

L'activité antiplasmodiale a été évaluée sur l'extrait brut et 04 composés de *T. atherura* sur les souches 3D7 et Dd2 de *P. falciparum*. En effet, l'étude de la bioactivité de l'extrait brut de ladite plante et de certains composés isolés a montré une bonne activité antiplasmodiale pour l'extrait (CI<sub>50</sub> 4,39–7,54 µg/mL) et une activité modérée (CI<sub>50</sub> 64,99–92,29 µg/mL pour les composés testés (souche Dd2 de *P. falciparum*). Ceci suggère une activité convergente des

différents constituants de la plante. Ainsi l'extrait brut de *T. atherura* présente un potentiel considérable et pourrait être exploité comme remède antimalarique.

Enfin, les activités antileishmaniales et cytotoxiques de quelques composés isolés et de l'extrait méthanolique des feuilles de *Tricalysia oligoneura* ont été évalué sur les promastigotes de *Leishmania donovani* 1S (MHOM/SD/62/1S) et sur les cellules macrophages Raw 264,7 respectivement. Il ressort de cette évaluation que les composés oligoneurine et oligoneuramide ont présenté des activités leishmanicides modérées avec des valeurs de  $CI_{50}$  de 21,10 et 23,87  $\mu\text{g/mL}$  respectivement. En revanche, l'extrait brut a montré une bonne activité (valeur  $CI_{50}$  13,62  $\mu\text{g/mL}$ ) sur le parasite et une sélectivité relativement faible ( $IS= 5,05$ ) ce qui traduirait une plausible toxicité de la plante pour la consommation humaine.

Dans la suite de nos travaux, nous envisageons de :

- Poursuivre l'étude phytochimique des autres parties de ces plantes afin d'isoler d'autres classes de métabolites secondaires ;
- Affiner davantage la chimiotaxonomie du genre ;
- Faire des tests antiplasmodiaux et antileishmaniaux sur d'autres composés isolés des feuilles de *Tricalysia atherura* N. hallé et *Tricalysia oligoneura* K. Schum afin d'identifier ceux qui pourraient mieux agir sur les souches résistantes et multirésistante du paludisme et la leishmaniose ;
- Faire les hémisynthèses des composés afin d'optimiser l'activité biologique.

## **CHAPITRE III: MATERIEL ET METHODES**

### 3.1. Matériel végétal

L'identification des espèces ci-dessous a été réalisée par Monsieur NANA Victor, botaniste à l'Herbier National du Cameroun.

#### ***Tricalysia atherura* N. Hallé.**

*Tricalysia atherura* N. Hallé. a été récolté en mars 2019 à Nkolbisson (Région du Centre Cameroun). La plante une fois identifiée à l'Herbier National du Cameroun, un échantillon de référence y a été déposé sous le numéro (23507/HNC).

#### ***Tricalysia oligoneura* S. schum.**

*Tricalysia oligoneura* S. schum a été récolté au Mont Ngongonjié à Akonetyé, région du Sud-Cameroun en Septembre 2020. La plante a été identifiée à l'Herbier National du Cameroun où un échantillon de référence a été déposé sous le numéro (42144/HNC).

### 3.2. Séparation et isolement

#### ➤ **Fractionnement et isolement des composés de *Tricalysia atherura* N. Hallé.**

La poudre séchée des feuilles de *Tricalysia atherura* (500 g) a été extraite par macération au MeOH (2L) à température ambiante trois fois pendant 72h afin d'obtenir l'extrait brut (60 g) après filtration et évaporation sous pression réduite. Cet extrait brut a été dissous dans un mélange H<sub>2</sub>O/ MeOH (20%) et partitionné successivement à l'hexane et à l'acétate d'éthyle respectivement. L'extrait à l'AcOEt (3,86 g) a été soumis à une CC sur gel de silice et élué avec les gradients *n*-Hex/ AcOEt (100/0 ; 90/10 ; 80/20 ; 70/30; 60/40 ; 0/100 v/v), suivi d'AcOEt/ MeOH (100/0 ; 90/10 ; 80/20 ; 70/30 ; 60/40 ; 0/100 v/v) pour donner six fractions principales : A (0,63 g), B (112 mg), C (0,41 g), D (0,75 g), E (452 mg) et F (107 mg). La fraction C (0,41 g) a été purifiée sur gel de silice (CC) élué avec le gradient *n*-Hex/ AcOEt (80/20 à 100/0, v/v) permettant ainsi d'obtenir trois sous-fractions (C<sub>1</sub>-C<sub>3</sub>). La sous-fraction C<sub>1</sub> (23 mg) a été purifié au Sephadex LH-20 avec du MeOH pour obtenir le composé **TAF<sub>9</sub>** (17 mg). La sous-fraction C<sub>3</sub> (17 mg) a également été purifiée sur Sephadex LH-20 pour donner le composé **TAF<sub>10</sub>** (5,4 mg). La fraction D (0,75 g) quant à elle a été soumise à une CC sur gel de silice et éluée au gradient *n*-Hex/AcOEt (100/0 à 0/100 v/v) pour obtenir un mélange de deux composés. Ce mélange a ensuite été séparé par CCM préparative en utilisant le système *n*-Hex/ AcOEt (70/30 v/v) afin d'obtenir deux composés **TAF<sub>11</sub>** (15,0 mg) et **TAF<sub>6</sub>** (7,0 mg). La fraction E (452 mg) a été purifiée sur CC de gel de silice en utilisant le gradient CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>/ MeOH

(30/1 à 5/1 v/v) pour donner trois sous-fractions (E<sub>1</sub>-E<sub>3</sub>). La sous-fraction E<sub>1</sub> (31 mg) a été purifiée par chromatographie sur gel de silice (SiO<sub>2</sub>) avec le système CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>/ MeOH (30/1 à 5/1 ; v/v) pour donner les composés **TAF<sub>7</sub>** (4,7 mg) et **TAF<sub>8</sub>** (3,9 mg). La sous-fraction E<sub>3</sub> (71 mg) a été encore chromatographiée en utilisant le Sephadex LH-20 CC, avec le MeOH comme phase mobile pour donner le composé **TAF<sub>3</sub>** (8,2 mg). La sous-fraction E<sub>2</sub> (100 mg) a ensuite été successivement purifiée par Chromatographie flash avec le CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>/ MeOH (8/1 ; v/v) pour donner les composés **TAF<sub>1</sub>** (10,0 mg) et **TAF<sub>2</sub>** (7,3 mg). La fraction F (107 mg) a ensuite été successivement purifiée en utilisant le séphadex LH-20 CC avec système d'éluion le CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>/ MeOH (50/50 v/v) pour obtenir deux sous-fractions (SF<sub>1</sub>- SF<sub>2</sub>). La sous-fraction SF<sub>2</sub> (0,48 g) a été purifiée davantage sur une phase inverse par chromatographie liquide à haute performance (HPLC ; sil-d-60-80A, 20 ×250 mm, 40 % MeOH à 2,4 mL/ min) pour donner **TAF<sub>4</sub>** (4,0 mg, tr 21,2 min) et **TAF<sub>5</sub>** (5,3 mg).

➤ **Fractionnement et isolement des composés de *Tricalysia oligoneura* K. schum.**

Les feuilles séchées de *Tricalysia Oligoneura* ont été réduites en poudre (900 g) et soumises à une macération au méthanol à 100%. La solution de méthanol a été concentrée sous pression réduite pour donner 35 g d'extrait brut. Une partie de cet extrait brut (20 g) a été soumise à une chromatographie sur colonne de gel de silice (CC) et éluee au gradient de CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>/MeOH (100/0 à 0/1 v/v), donnant 189 fractions qui ont été combinées en sept fractions après analyse CCM. La fraction A (3,42 g) a été chromatographiée sur une colonne de gel de silice, éluee au gradient *n*-Hex/ AcOEt (100/0 à 0/100 v/v) pour donner les composés **TOF<sub>7</sub>** (10 mg) et **TOF<sub>8</sub>** (5,31 mg). La fraction C (0,49 g) issue de cette procédure a été soumise à une chromatographie flash sur colonne de gel de silice, éluee au gradient *n*-Hex/ AcOEt (9/1 à 1/1 v/v) pour donner 2 sous-fractions. La sous-fraction C<sub>1</sub> (87,3 mg) a été purifiée sur une colonne de gel de silice en utilisant du CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>/ MeOH (100/0 à 0/100 v/v) pour obtenir les composés **TOF<sub>1</sub>** (6,8 mg) et **TOF<sub>9</sub>** (4,3 mg). La fraction D (0,73 g) quant à elle a été soumise à une chromatographie sur gel de silice flash éluee au *n*-Hex/ AcOEt (100/0 à 0/100 v/v) pour obtenir trois sous-fractions. La sous-fraction D<sub>1</sub> (103 mg) a été purifiée sur une colonne de gel de silice en utilisant le système CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>/ MeOH (30/1 à 0/1 v/v), pour obtenir le composé **TOF<sub>5</sub>** (20 mg). La sous-fraction D<sub>3</sub> (197 mg) a été purifiée sur une colonne de gel de silice en utilisant le système CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>/ MeOH (20/1 à 0/1 v/v), pour donner deux sous-fractions (D<sub>3a</sub> et D<sub>3b</sub>). Les sous-fractions D<sub>3b</sub> (32 mg) et D<sub>3a</sub> (17 mg) ont été par la suite chromatographiées sur un séphadex LH-20 en utilisant MeOH



comme solvant, pour donner les composés **TOF<sub>2</sub>** (8,1 mg) et **TOF<sub>10</sub>** (5,1 mg). La fraction E (1,43 g) quant à elle a été soumise à une chromatographie sur gel de silice, en éluant au gradient CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>/ MeOH (20/1 à 0/1, v/v), donnant deux sous-fractions (E<sub>1</sub> et E<sub>2</sub>). La sous-fraction E<sub>1</sub> (40 mg) a été purifiée sur une phase inverse par chromatographie liquide à haute performance (HPLC ; sil-d-60-80A, 20 ×250 mm, 20% MeOH à 2,4 mL/ min) pour donner les composés **TOF<sub>3</sub>** (9,4 mg) et **TOF<sub>4</sub>** (17 mg). Par ailleurs, La fraction F (1,1 g) a été soumise à la même procédure chromatographique précédente, ce qui a donné trois sous- fractions (F<sub>1</sub>-F<sub>3</sub>). La sous-fraction F<sub>1</sub> (27,3 mg) a été recueillie et ensuite recristallisée avec de l'acétone, pour donner le composé **TOF<sub>6</sub>** (19,7 mg).

### **3.3. Méthodes chromatographiques**

#### **3.3.1. Chromatographie sur couche mince**

La chromatographie sur couche mince (CCM) est une technique de chromatographie dont la phase mobile est liquide. Elle est couramment utilisée pour séparer des composants dans un but d'analyse (CCM analytique) ou de purification (CCM préparative). Elle comprend :

- Une phase stationnaire : une couche mince de matériel adsorbant (usuellement du gel de silice, de l'oxyde d'aluminium ou de la cellulose) ;
- Une phase liquide, dite phase mobile ou éluant : un solvant ou un mélange de solvants qui va entraîner les composés à se séparer le long de la phase stationnaire.

Le développement de ces plaques s'effectue dans des cuves en verre, saturées avec l'éluant approprié, constitué généralement d'un mélange binaire ou tertiaire de solvants selon le type de séparation souhaité.

#### **Conditions chromatographiques :**

##### **Phase stationnaire**

Plaque de silice CCM (60 Å, F<sub>254</sub>, *Silicycle*),

##### **Phase mobile**

CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>/MeOH; 20:1, 10:1, 8:1 (v/v)

n-Hex/AcOEt ; 100:0 à 0: 100 (v/v)

##### **Révélation**

Les plaques sont observées avant et après révélation. Les révélateurs utilisés sur les plaques de silice sont la lampe UV à 254 et 366 nm, la vanilline, l'acide sulfurique (mélange à 10% de solution concentrée de H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> et 90% d'éthanol).

### 3.3.2. Chromatographie sur gel perméable

La chromatographie par perméation de gel (GPC), également appelée chromatographie d'exclusion stérique (SEC) ou chromatographie par filtration sur gel (GFC), est une technique chromatographique qui sépare les molécules dissoutes selon leur taille en les pompant dans des colonnes spéciales contenant un matériau de garniture microporeux. On utilise les granules de gel poreux Sephadex® LH-20. Les premières molécules à sortir de la colonne remplie du gel sont les grosses molécules au diamètre supérieur aux pores du gel. Les petites molécules quant à elles, vont donc sortir les dernières, car incluses dans le gel.

#### Conditions chromatographiques :

##### Phase stationnaire

Sephadex® LH-20 (*Pharmacia*) est un dextrane, un polymère linéaire de glucose, semi-rigide, possédant des ramifications par l'hydroxypropyle.

##### Phases mobiles

Méthanol, MeOH 100 %

Chlorure de Méthylène/ Méthanol, CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>/ MeOH 50 %.

### 3.3.3. Chromatographie Liquide Haute Performance (HPLC)

La chromatographie en phase liquide à haute performance (CLHP) dont l'abréviation anglaise HPLC (high performance liquid chromatography ou plus rarement high pressure liquid chromatography) est une technique de séparation analytique et/ou préparatrice de molécules présentes dans un mélange. Cela permet d'adapter les méthodes chromatographiques usuelles (voir Colonne) sur un montage haute pression. Cette forme de chromatographie est fréquemment utilisée en biochimie, ainsi qu'en chimie analytique.

#### Conditions chromatographiques

##### Phase stationnaire :

La chromatographie en phase liquide haute pression (HPLC) semi-préparative, a été réalisée avec une pompe Gilson M 305, équipée d'un logiciel Trilution LC utilisant la colonne Nucleodur 100-5 C18ec (21x250 mm, 5 µm). Quant à la silice utilisée elle est fonction du type de composé à isoler. Nous pouvons avoir : Silice en phase inverse sil-d-60-80A, 20 ×250 mm,

##### Phase mobile

Les systèmes d'élutions employés sont généralement des mélanges binaires en gradient de polarité : 40% MeOH/ H<sub>2</sub>O à 2,4 mL/ min.



**Figure 119** : Appareil de HPLC (photo Djikam, Hej-ICCBS, Université de Karachi, 2021).

### **3.3.4. Chromatographie en phase liquide couplée à la spectrométrie de masse LC/MS**

Les spectres de masse à haute résolution ont été obtenus avec un spectromètre QTOF (Bruker, Allemagne) équipé d'une source HESI. Le spectromètre a fonctionné en mode positif (plage de masse : 100-1500, avec une vitesse de balayage de 1,00 Hz) avec un contrôle automatique du gain pour fournir des mesures de masse de haute précision avec une déviation de 2 ppm en utilisant le formiate de Na comme calibrant. Les paramètres suivants ont été utilisés pour les expériences : tension de pulvérisation de 4,5 kV, température du capillaire de 200°C. De l'azote a été utilisé comme gaz de gaine (10 l/min). Le spectromètre était attaché à un système HPLC Ultimate 3000 (Thermo Fisher, USA) composé d'une pompe LC, d'un détecteur à réseau de diodes (DAD) ( $\lambda$  : 215, 254, 280, 330 nm), d'un échantillonneur automatique (volume d'injection 5 l) et d'un four à colonne (50 °C). Les séparations ont été réalisées à l'aide

d'une colonne Synergi MAX-RP 100A (50x2 mm, taille des particules 2.5 $\mu$ ) avec un gradient H<sub>2</sub>O (+0.1 % HCOOH) (A)/acétonitrile (+0.1 % HCOOH) (B) (débit 500  $\mu$ L/min). Les échantillons ont été analysés en utilisant un programme de gradient comme suit : 95 % A isocratique pendant 1,5 min, gradient linéaire jusqu'à 100 % B sur 6 min, après 100 % B isocratique pendant 2 min, le système est revenu à sa condition initiale (90 % A) en 1 min, et a été équilibré pendant 1 min.

### **3.4. Méthodes physico-chimiques**

#### **3.4.1. Spectrométrie de masse**

Les spectres EI-MS, HRESI-MS et HRFAB-MS ont été enregistrés en utilisant un spectromètre Bruker JEOL JMS-60H.

#### **3.4.2. Spectroscopie IR**

Les spectres d'absorption IR sont enregistrés sur un spectromètre FT-IR Tensor 27 (Bruker). Les composés solides, sont inclus dans une pastille de KBr. Les nombres d'onde des bandes d'absorption correspondant aux différentes vibrations sont exprimés en  $\text{cm}^{-1}$ , à leurs intensités maximales. Les spectres IR des molécules ont été réalisés au moyen des spectrophotomètres FT-IR Tensor 27 (Bruker) et Shimadzu 8900 FT-IR sur une lame de AgCl et dans des pastilles de KBr respectivement.

Pour cela, une quantité de 1 mg d'échantillon a été mélangée à 100 mg de KBr (qualité IR). La pastille a été obtenue à l'aide d'une presse Shimadzu 8900FT-IR. Le balayage des nombres d'onde a été fait entre 4000 et 600  $\text{cm}^{-1}$  sur une durée de 20 minutes. D'autre part 1 mg d'échantillon a été dissout dans le CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> et déposé sur une lame de AgCl et introduit dans le spectrophotomètre FT-IR Tensor 27. Le balayage des nombres d'onde a été fait entre 4000 et 600  $\text{cm}^{-1}$  sur une durée de 5 minutes.

#### **3.4.3. Spectroscopie UV**

L'enregistrement des spectres UV s'est fait à l'aide d'un spectrophotomètre Hitachi U-320, piloté par un logiciel adapté, développé par la même entreprise.

#### **3.4.4. Spectroscopie de Résonance Magnétique Nucléaire (RMN)**

L'enregistrement des spectres RMN s'est fait à l'aide d'un spectromètre Bruker Avance 400, Avance 500, Avance 600 MHz en utilisant le TMS comme standard interne, avec les déplacements chimiques enregistrés comme valeurs  $\delta$ . Les déplacements chimiques sont exprimés en ppm et les constantes de couplage sont en Hz. En ce qui concerne les solvants de

RMN utilisés pour analyser nos composés, nous avons fait recours au méthanol deutéré ( $\text{CD}_3\text{OD}$ ), Chloroforme deutéré ( $\text{CDCl}_3$ ), le diméthylsulfoxyde deutéré ( $\text{DMSO-d}_6$ ), la pyridine deutéré ( $\text{C}_5\text{D}_5\text{N-d}_5$ ).



**Figure 120** : Appareil de RMN (photo Djikam, Hej- ICCBS, Université de Karachi, 2021).

### 3.4.5. Hydrolyse acide

Cette technique permet la libération de toutes les unités osidiques engagées dans des liaisons *O*-glycosidiques, ainsi leur identification sera possible par comparaison à des sucres standards. Tous les triterpènes glycosilés (2 mg) sont hydrolysés avec 2 ml de HCl 2M à 85 °C pendant 2 h. Après refroidissement, le solvant est éliminé sous pression réduite. Le mélange de sucre est extrait de la phase aqueuse (10 ml) et lavé avec  $\text{CH}_2\text{Cl}_2$  (3x 5 ml). Les extraits combinés de  $\text{CH}_2\text{Cl}_2$  sont lavés avec de l'eau distillée pour donner après évaporation le fragment aglycone. Les sucres sont d'abord analysés par CCM sur gel de silice ( $\text{CHCl}_3 - \text{MeOH} - \text{H}_2\text{O}$ , 8: 5: 1) par comparaison avec des échantillons standards. La configuration absolue de chaque monosaccharide a été déterminée à partir d'une analyse GC-MS de leurs dérivés

triméthylsilylés par comparaison avec des échantillons authentiques en utilisant la méthode décrite précédemment (Chaabi *et al.*, 2010).

#### **3.4.6. Pouvoir rotatoire**

Les rotations optiques ont été mesurées avec un polarimètre numérique automatique P2000 à la longueur d'onde de la raie D du sodium ( $\lambda = 589 \text{ nm}$ ) dans une cuve de 1 dm à 20°C. Le pouvoir rotatoire spécifique  $[\alpha]_D$ , exprimé en degré, est calculé à partir de la formule suivante :  $[\alpha]_D = 1000 \cdot \alpha / l \cdot c$ , ( $\alpha$  : angle de rotation, en degré, lu sur le polarimètre,  $l$  : longueur de la cuve en dm,  $c$  : concentration de la molécule en solution en g/L).

#### **3.4.7. 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.

### **3.5. Méthodes biologiques**

#### **3.5.1. Evaluation de l'activité antiplasmodiale *in vitro***

##### **3.5.1.1. Culture *in vitro* de *Plasmodium falciparum***

Des souches 3D7 (*Pf* 3D7) sensibles à la chloroquine et Dd2 (*Pf*Dd2) résistantes à la chloroquine de *P. falciparum* ont été maintenues au laboratoire de recherche du paludisme, International Centre for Genetic Engineering and Biotechnology, New Delhi, Inde, et ont été utilisées pour tester *in vitro* l'activité antiplasmodiale des extraits et fractions de plantes au stade sanguin. La culture de *Plasmodium falciparum* a été maintenue selon la méthode décrite par Trager et Jensen (1976) avec des modifications mineures (Kaushik *et al.* 2015), dans des érythrocytes humains frais O positifs en suspension à 4% d'hématocrite dans du RPMI 1640 16,2 g/L (Sigma-Aldrich, New Delhi, Inde) contenant 25 mM HEPES, 11.11 mM de glucose, 0,2% de bicarbonate de sodium (Sigma-Aldrich, New Delhi, Inde), 0,5% d'albumax I (Gibco, Waltham, MA USA), 45 mg/L d'hypoxanthine (Sigma-Aldrich, New Delhi, Inde) et 50 mg/L de gentamicine (Gibco, Waltham, MA USA) puis incubés à 37 °C sous un mélange gazeux de 5% O<sub>2</sub>, 5% CO<sub>2</sub> et 90% N<sub>2</sub>. Chaque jour, les érythrocytes infectés ont été transférés dans un milieu complet frais pour propager la culture. Lorsque la parasitémie était supérieure à 10%, les cultures étaient diluées dans des globules rouges sains afin de réduire le pourcentage de parasitémie à 1-2% et de maintenir les cultures dans des conditions sans stress.

### 3.5.1.2. Essai *in vitro* de *Plasmodium falciparum*

L'extrait brut et les fractions ont été évalués pour leur activité antiplasmodiale contre les souches 3D7 et Dd2 de *P. falciparum*. Pour le criblage des médicaments, le test de fluorescence à base de SYBR green I a été mis en place comme décrit par Smilkstein et *al.* (2004). Précisément, 100 µL de parasites synchronisés au sorbitol (Lambros et Vanderberg 1979) ont été incubés dans des conditions de culture normales (37 °C, 5 % de CO<sub>2</sub>, 5 % d'O<sub>2</sub>, 90 % de N<sub>2</sub>) à 1 % de parasitémie et 2 % d'hématocrite dans des plaques à 96 puits à fond plat (Corning, États-Unis) en l'absence ou en présence de concentrations croissantes d'extraits bruts ou de fractions pendant 48 heures. La chloroquine (Sigma-Aldrich, New Delhi, Inde) a été utilisée comme témoin positif, tandis que le DMSO à 0,4 % (v/v) a servi de témoin négatif. Après l'incubation, 100 µL de tampon de lyse SYBR green I (Tris (20 mM ; pH 7,5), EDTA (5 mM), saponine (0,008 %, p/v) et Triton X-100 (0,08 %, v/v) ont été ajoutés à chaque puits et mélangés doucement deux fois, puis incubés dans l'obscurité à 37 °C pendant 1 heure. La fluorescence a ensuite été mesurée à l'aide d'un lecteur de plaques multipuits à fluorescence Victor (Perkin Elmer, Waltham, MA, USA) avec des bandes de longueur d'onde d'excitation et d'émission centrées sur 485 et 530 nm, respectivement. Les comptes de fluorescence ont été tracés en fonction de la concentration du médicament et la concentration inhibitrice de 50 % (CI<sub>50</sub>) a été déterminée par analyse des courbes dose-réponse à l'aide d'une régression non linéaire.

### 3.5.1.3. Activité antileishmaniale *in vitro*

Les promastigotes de *Leishmania donovani* 1S (MHOM/SD/62/1S) ont été cultivés à 28°C dans un milieu de culture axénique M199 (Sigma Aldrich) complété par 10 % de sérum fœtal bovin (FBS) inactivé par la chaleur (Sigma Aldrich) et 1 % de streptomycine/pénicilline (Sigma Aldrich). L'activité antileishmaniale des échantillons testés a été déterminée comme décrit précédemment (Siqueira et *al.* 2010) en utilisant le test à base de résazurine. Les composés ont été dilués en série dans du milieu M199 incomplet et 10 µL de chaque composé ont été introduit dans 90 µL de promastigotes de *L. donovani* (4×10<sup>5</sup> parasites) provenant d'une culture en phase exponentielle en milieu complet. Ils ont tous été criblés à des concentrations finales de 100-0,16 µg/mL pour les extraits et les fractions et de 50-0,08 µg/mL pour les composés et les plaques de tests ont été incubées pendant 28 h à 28°C, suivie de l'ajout de 1 mg/mL de résazurine. Les contrôles négatifs et positifs étaient respectivement le DMSO à 0,1 % et l'amphotéricine B (Sigma Darmstadt, Allemagne) (10-0,016 µg/mL). Après une incubation supplémentaire de 44 h, les plaques ont ensuite été lues sur un lecteur de plaques multipuits à

fluorescence Magelan Infinite M200 (Tecan) à une longueur d'onde d'excitation et d'émission de 530 et 590 nm, respectivement. Pour chaque échantillon, les pourcentages de croissance ont été calculés et des courbes dose-réponse ont été construites pour déterminer la concentration inhibitrice de 50 % (CI<sub>50</sub>) à l'aide du logiciel GraphPad-version 5.0.

#### **3.5.1.3.1. Essai de cytotoxicité**

Le profil de cytotoxicité de l'extrait et des composés a été évalué en utilisant l'essai au bleu d'Alamar (Bowling et *al.*, 2012) contre les cellules RAW 264,7 cultivées dans un milieu d'Eagle modifié de Dulbecco (DMEM) complet.

Modified Eagle's Medium (DMEM) contenant 13,5 g/L de DMEM (Sigma Aldrich), 10 % de sérum fœtal de bovin (Sigma Aldrich), 0,2 % de bicarbonate de sodium (m/V) (Sigma Aldrich) et 50 µg/mL de gentamicine (Sigma Aldrich). Globalement, les macrophages ont étéensemencés dans des plaques à fond plat de 96 puits de culture cellulaire à une densité de 104 cellules dans 100 µL de milieu complet/puits et incubés pendant 24 h à 37°C, 5 % de CO<sub>2</sub> pour permettre l'adhésion des cellules. Dix microlitres de chaque solution d'échantillons à tester diluée en série ont été ajoutés dans des puits triples de plaques d'essai et ont ensuite été incubés pendant 48 h dans les mêmes conditions expérimentales. Des puits de contrôle de croissance (0,1 % DMSO-100 % de croissance) et de contrôle positif [podophyllotoxine (Sigma Darmstadt, Allemagne) à 20 µM] ont été inclus dans les plaques d'expérimentation. La prolifération cellulaire a été vérifiée en ajoutant 10 µL d'une solution mère de résazurine (0,15 mg/mL dans du PBS stérile) à chaque puits, puis en incubant les plaques pendant 4 h. La fluorescence a ensuite été lue sur un lecteur de plaques multi-puits à fluorescence Tecan Infinite M200 (Tecan) à une excitation/émission de 530/590 nm. Les résultats ont été exprimés en concentrations cytotoxiques à 50 % (CC<sub>50</sub>) et les indices de sélectivité (CC<sub>50</sub> cellule mammalienne/CI<sub>50</sub> *L. donovani*) ont été calculés pour chaque substance testée.

#### **3.5.1.3.2. Analyse des données**

Toutes les données d'activité représentent la moyenne ± l'écart-type (SD) de trois expériences indépendantes. Le logiciel Microsoft Excel a été utilisé pour calculer le pourcentage d'inhibition. Les valeurs CI<sub>50</sub> et CC<sub>50</sub> ont été déterminées à l'aide du logiciel Graph Pad prism 5.0, les données étant ajustées par régression non linéaire.



### 3.6. Screening phytochimique des extraits

Un screening phytochimique a permis de déterminer les grands groupes de composés présents (**tableau XXIX**).

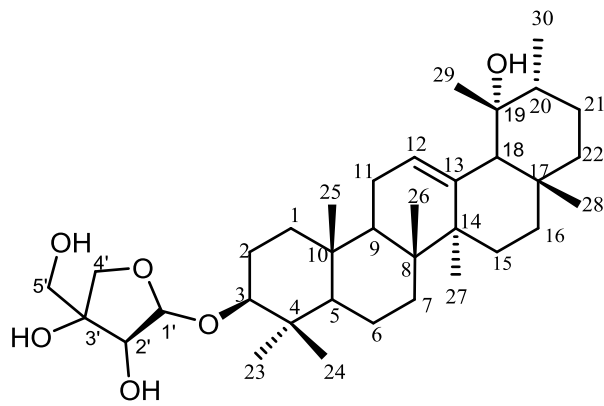
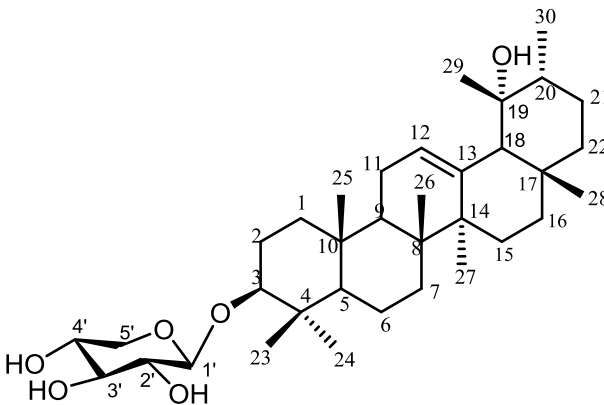
Tableau XXIX : **Protocole du screening phytochimique des extraits de plantes.**

Classe des composés	Tests caractéristiques
Alcaloïdes (Test de Dragendorff)	Préparer une solution composée de 0,85 g de nitrate basique de bismuth et 10 mL d'acide acétique dans 40 mL d'eau (= A) et une solution contenant 16 g de KI dans 40 mL d'eau (= B). Mélanger extemporanément 5 mL de A, 5 mL de B, 100 mL d'eau et 20 mL d'acide acétique. Vaporiser le mélange sur la plaque. Les alcaloïdes apparaissent sous forme de taches orange après chauffage de la plaque (Wagner et Bladt, 1996).
Triterpénoïdes et phytostérols (Test de Liebermann-Burchard)	A 2 mL de l'extrait contenu dans un tube à essai, on y ajoute 2 mL de chloroforme. Le filtrat est par la suite traité avec quelques mL d'anhydride acétique à chaud, puis refroidi. La formation d'une interface rouge foncé indique la présence de triterpénoïdes et de phytostérols (Cook, 1961).
Sucres (Test de Molisch)	A 2 mL de l'extrait contenu dans un tube à essai, on y ajoute deux gouttes de solution alcoolique de $\alpha$ -naphthol (20%). Le mélange est agité, puis 1 mL d'acide sulfurique concentré est ajouté lentement le long du tube puis refroidi dans de la glace. La présence des sucres est indiquée par la formation d'une interface de couleur violette (Foulger, 1931). Le solvant utilisé pour l'identification des sucres est : $\text{CHCl}_3\text{-MeOH-H}_2\text{O}$ (8-5-1) (Chaabi et al., 2010).
Composés phénoliques (Test au chlorure Ferrique)	A 2 mL de l'extrait contenu dans un tube à essai, on y ajoute 3 à 4 gouttes d'une solution de chlorure Ferrique (5%). La présence des composés phénoliques est indiquée par la formation d'une coloration bleue (Wagner et Bladt, 1996).

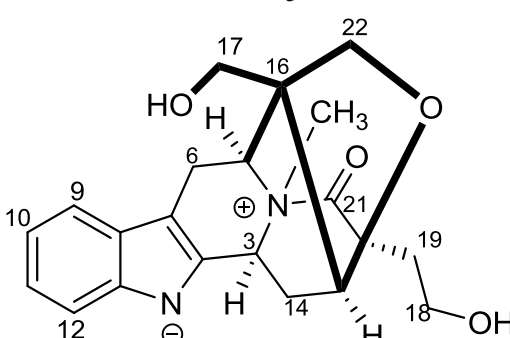
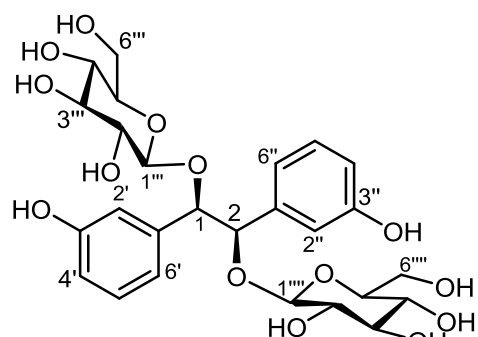
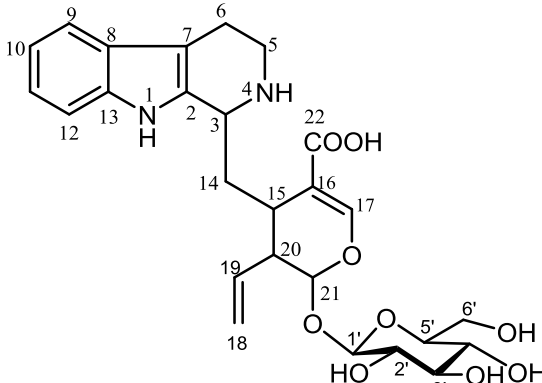
Alcools (Test de Lucas)	<p>Dans un tube à essai, introduire 10 mL d'acide chlorhydrique concentré et une spatule de chlorure de zinc anhydre de façon à saturer l'acide. Agiter et décanter. Ensuite ajouter au mélange obtenu quelques gouttes de l'alcool à tester. Pour un alcool primaire, le précipité blanc se forme très lentement ; pour un alcool secondaire, un précipité de chlorure d'alkyle se forme lentement ; pour un alcool tertiaire, le précipité blanc se forme instantanément (Kjonaas <i>et al.</i>, 1991).</p>
-------------------------	---

### 3.6. Caractéristiques physico-chimiques

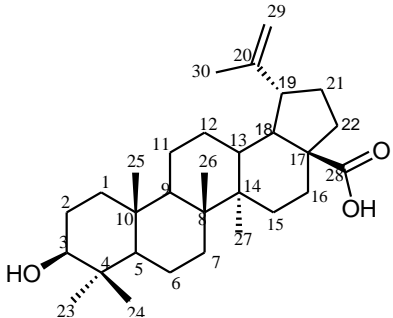
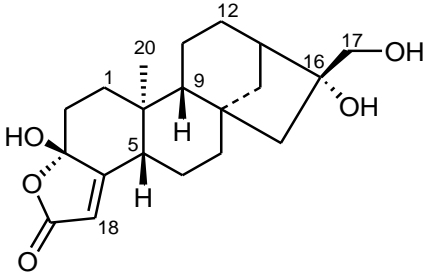
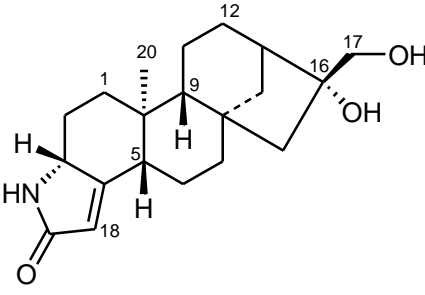
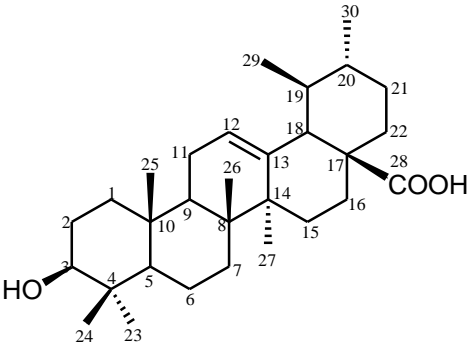
**Tableau XXX** : Données spectrales et constantes physiques des composés isolés

Composés isolés	Caractéristiques spectroscopiques
<p style="text-align: center;"><b>TAF<sub>1</sub></b></p>  <p style="text-align: center;"><b>Atheruroside A</b></p>	<p><b>LC-ESI-SM mode positif</b> : pic de l'ion <i>pseudo</i>-moléculaire à <math>m/z</math> 575,4066 [M + H]<sup>+</sup></p> <p><b>Formule brute</b> : C<sub>35</sub>H<sub>58</sub>O<sub>6</sub></p> <p><b>RMN <sup>1</sup>H et <sup>13</sup>C</b> méthanol (CD<sub>3</sub>OD) : 500 et 125MHz</p> <p><b>Aspect physique</b> : poudre amorphe blanche</p> <p><b>Test de Lieberman-Burchard</b> : positif</p>
<p style="text-align: center;"><b>TAF<sub>2</sub></b></p>  <p style="text-align: center;"><b>Atheruroside B</b></p>	<p><b>LC-ESI-SM mode positif</b> : pic de l'ion <i>pseudo</i>-moléculaire à <math>m/z</math> 575,4068 [M + H]<sup>+</sup></p> <p><b>Formule brute</b> : C<sub>36</sub>H<sub>60</sub>O<sub>7</sub></p> <p><b>RMN <sup>1</sup>H et <sup>13</sup>C</b> méthanol (CD<sub>3</sub>OD) : 500 et 125MHz</p> <p><b>Aspect physique</b> : poudre amorphe blanche</p> <p><b>Test de Lieberman-Burchard</b> : positif</p>

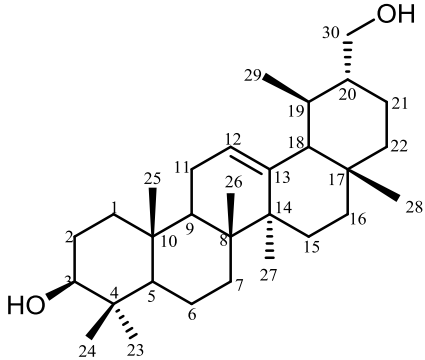
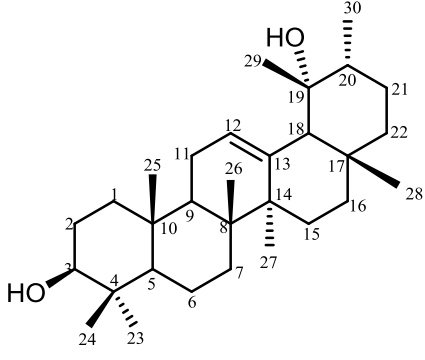
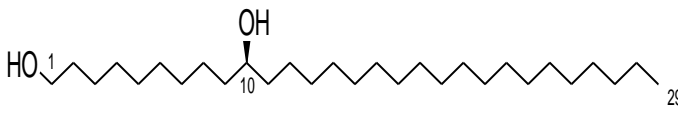
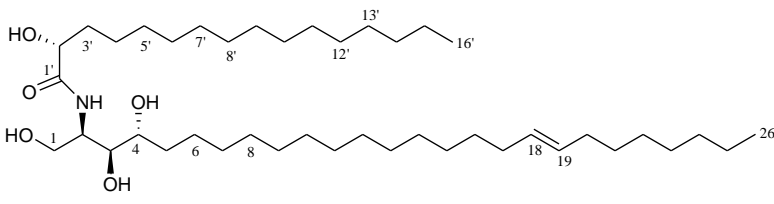
**Tableau XXX** : Données spectrales et constantes physiques des composés isolés (suite)

<p style="text-align: center;"><b>TAF<sub>3</sub></b></p>  <p style="text-align: center;"><b>Atheruramine</b></p>	<p><b>LC-ESI-SM mode positif</b> : pic de l'ion <i>pseudo</i>-moléculaire à <math>m/z</math> 369,1805 [M + H]<sup>+</sup></p> <p><b>Formule brute</b> : C<sub>21</sub>H<sub>24</sub>N<sub>2</sub>O<sub>4</sub></p> <p><b>RMN <sup>1</sup>H et <sup>13</sup>C</b> méthanol (CD<sub>3</sub>OD) : 500 et 125MHz</p> <p><b>Aspect physique</b> : poudre amorphe blanche</p> <p><b>Test de Dragendorff</b> : positif</p>
<p style="text-align: center;"><b>TAF<sub>4</sub></b></p>  <p style="text-align: center;"><b>Tricalydiolide</b></p>	<p><b>LC-ESI-SM mode positif</b> : pic de l'ion <i>pseudo</i>-moléculaire à <math>m/z</math> 571,2086 [M + H]<sup>+</sup></p> <p><b>Formule brute</b> : C<sub>26</sub>H<sub>34</sub>O<sub>14</sub></p> <p><b>RMN <sup>1</sup>H et <sup>13</sup>C</b> méthanol (CD<sub>3</sub>OD) : 500 et 125MHz</p> <p><b>Aspect physique</b> : solide jaune amorphe</p> <p><b>Test de Molish et au Chlorure Ferrique</b>: positif</p>
<p style="text-align: center;"><b>TAF<sub>5</sub></b></p>  <p style="text-align: center;"><b>Acide strictosidinique</b></p>	<p><b>ESI-SM mode négatif</b> : pic de l'ion <i>pseudo</i>-moléculaire à <math>m/z</math> 515,3717 [M - H]<sup>-</sup>.</p> <p><b>Formule brute</b> : C<sub>27</sub>H<sub>34</sub>N<sub>2</sub>O<sub>9</sub></p> <p><b>RMN <sup>1</sup>H et <sup>13</sup>C</b> méthanol (CD<sub>3</sub>OD) : 500 et 125MHz</p> <p><b>Aspect physique</b> : poudre amorphe blanche</p> <p><b>Test de Dragendorff</b> : positif</p>

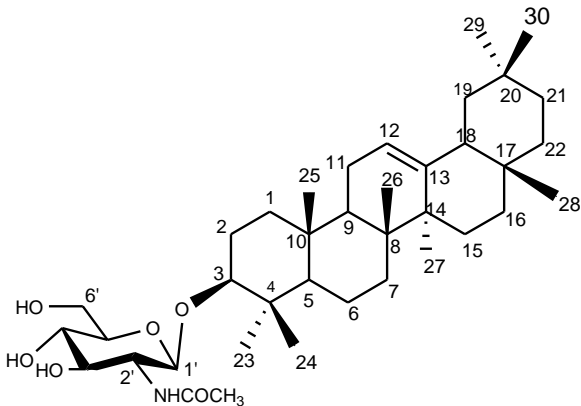
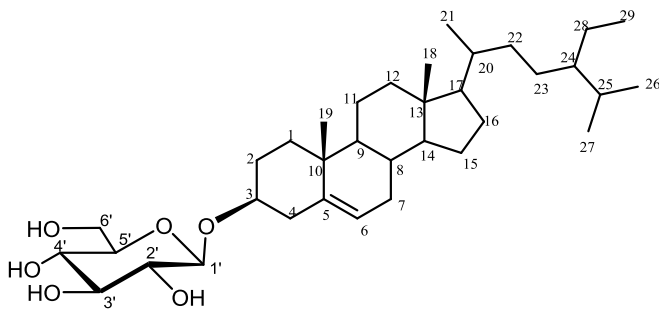
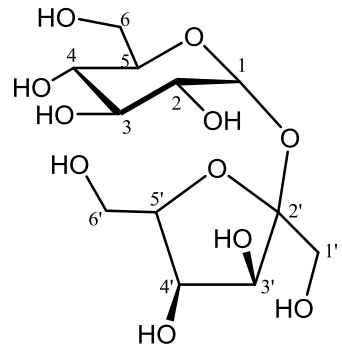
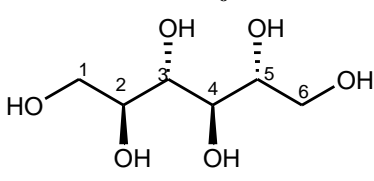
**Tableau XXX** : Données spectrales et constantes physiques des composés isolés (suite)

<p style="text-align: center;"><b>TAF<sub>6</sub></b></p>  <p style="text-align: center;"><b>Acide bétulinique</b></p>	<p><b>ESI-SM mode positif</b> : pic de l'ion <i>pseudo</i>-moléculaire à <math>m/z</math> 479,3497 [M + Na]<sup>+</sup>.</p> <p><b>Formule brute</b> : C<sub>30</sub>H<sub>48</sub>O<sub>3</sub></p> <p><b>RMN <sup>1</sup>H et <sup>13</sup>C</b> méthanol (CD<sub>3</sub>OD) : 500 et 125 MHz</p> <p><b>Aspect physique</b> : poudre amorphe blanche</p> <p><b>Test de Lieberman-Burchard</b> : positif</p>
<p style="text-align: center;"><b>TAF<sub>7</sub></b></p>  <p style="text-align: center;"><b>Tricalysiolide B</b></p>	<p><b>ESI-SM mode positif</b> : pic de l'ion <i>pseudo</i>-moléculaire à <math>m/z</math> 349,1 [M + H]<sup>+</sup></p> <p><b>Formule brute</b> : C<sub>20</sub>H<sub>28</sub>O<sub>5</sub></p> <p><b>RMN <sup>1</sup>H et <sup>13</sup>C</b> méthanol (CD<sub>3</sub>OD) : 500 et 125MHz</p> <p><b>Aspect physique</b> : poudre amorphe blanche</p>
<p style="text-align: center;"><b>TAF<sub>8</sub></b></p>  <p style="text-align: center;"><b>Tricalysiamide D</b></p>	<p><b>EI-MS mode positif</b> : pic de l'ion moléculaire à <math>m/z</math> 347,1 M<sup>+</sup></p> <p><b>Formule brute</b> : C<sub>20</sub>H<sub>29</sub>NO<sub>4</sub></p> <p><b>RMN <sup>1</sup>H et <sup>13</sup>C</b> méthanol (CD<sub>3</sub>OD) : 500 et 125MHz</p> <p><b>Aspect physique</b> : poudre amorphe blanche</p> <p><b>Test de Dragendorff</b> : positif</p>
<p style="text-align: center;"><b>TAF<sub>9</sub></b></p>  <p style="text-align: center;"><b>Acide ursolique</b></p>	<p><b>ESI-MS mode négatif</b> : pic de l'ion <i>pseudo</i>-moléculaire à <math>m/z</math> 455,5 [M-H]<sup>-</sup></p> <p><b>Formule brute</b> : C<sub>30</sub>H<sub>48</sub>O<sub>3</sub></p> <p><b>RMN <sup>1</sup>H et <sup>13</sup>C</b> méthanol (CD<sub>3</sub>OD) : 500 et 125MHz</p> <p><b>Aspect physique</b> : poudre amorphe blanche</p> <p><b>Test de Lieberman-Burchard</b> : positif</p>

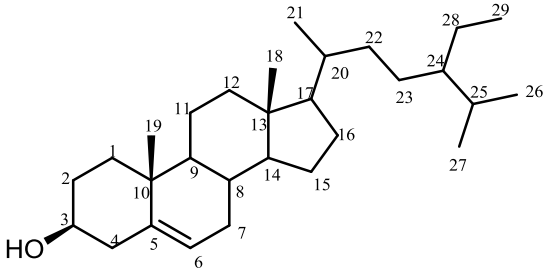
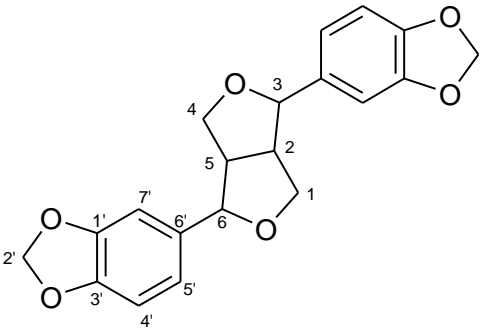
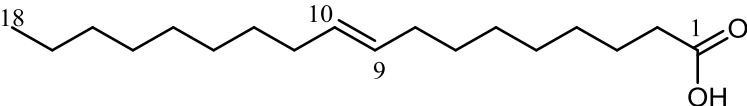
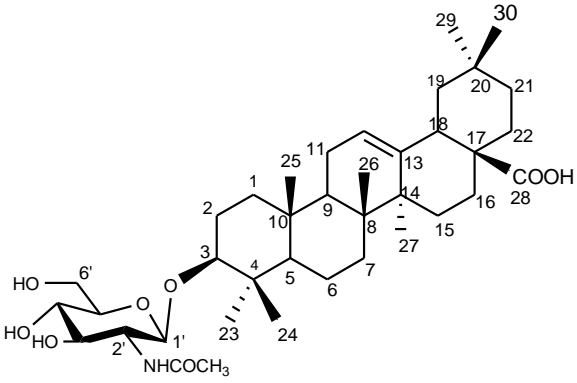
**Tableau XXX : Données spectrales et constantes physiques des composés isolés (suite)**

<p><b>TAF<sub>10</sub></b></p>  <p><b>Rubrinol</b></p>	<p><b>ESI-MS mode positif</b> : pic de l'ion <i>pseudo</i>-moléculaire à <math>m/z</math> 445,1963 [M + H]<sup>+</sup>.</p> <p><b>Formule brute</b> : C<sub>30</sub>H<sub>50</sub>O<sub>2</sub></p> <p><b>RMN <sup>1</sup>H et <sup>13</sup>C</b> méthanol (CD<sub>3</sub>OD) : 500 et 125MHz</p> <p><b>Aspect physique</b> : poudre amorphe blanche</p> <p><b>Test de Liberman-buchard</b> : positif</p>
<p><b>TAF<sub>11</sub></b></p>  <p><b>19α- hydroxy-α- amyrine</b></p>	<p><b>ESI-MS mode positif</b> : pic de l'ion <i>pseudo</i>-moléculaire à <math>m/z</math> 443,3373 [M+H]<sup>+</sup>.</p> <p><b>Formule brute</b> : C<sub>30</sub>H<sub>50</sub>O<sub>2</sub></p> <p><b>RMN <sup>1</sup>H et <sup>13</sup>C</b> méthanol (CD<sub>3</sub>OD) : 500 et 125 MHz</p> <p><b>Aspect physique</b> : poudre amorphe blanche</p> <p><b>Test de Lieberman-Burchard</b> : positif</p>
<p><b>TOF<sub>1</sub></b></p>  <p><b>Nonacosane-1,10-diol</b></p>	<p><b>LC-ESI-MS mode positif</b> : pic de l'ion <i>pseudo</i>-moléculaire à <math>m/z</math> 441,3362 [M+H]<sup>+</sup></p> <p><b>Formule brute</b> : C<sub>29</sub>H<sub>60</sub>O<sub>2</sub></p> <p><b>RMN <sup>1</sup>H et <sup>13</sup>C</b> Dichlorométhane (CD<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>) : 500 et 125MHz</p> <p><b>Aspect physique</b> : poudre amorphe blanche</p> <p><b>Test de Lucas</b> : positif</p>
<p><b>TOF<sub>2</sub></b></p>  <p><b>Oligoneuramide</b></p>	<p><b>LC-EI-MS mode négatif</b> : pic de l'ion <i>pseudo</i>-moléculaire à <math>m/z</math> 680,6154 [M-H]<sup>-</sup></p> <p><b>Formule brute</b> : C<sub>42</sub>H<sub>83</sub>NO<sub>5</sub></p> <p><b>RMN <sup>1</sup>H et <sup>13</sup>C</b> Dichlorométhane /méthanol (CD<sub>3</sub>OD/CD<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>) : 500 et 125MHz</p> <p><b>Aspect physique</b> : poudre amorphe blanche</p>

**Tableau XXX** : Données spectrales et constantes physiques des composés isolés (suite)

<p style="text-align: center;"><b>TOF<sub>3</sub></b></p>  <p style="text-align: center;"><b>Oligoneurine</b></p>	<p><b>LC-ESI-MS mode positif</b> : pic de l'ion <i>pseudo</i>-moléculaire à <math>m/z</math> 649,4762 [M+H]<sup>+</sup>.</p> <p><b>Formule brute</b>: C<sub>38</sub>H<sub>66</sub>NO<sub>7</sub></p> <p><b>RMN <sup>1</sup>H et <sup>13</sup>C</b> méthanol (CD<sub>3</sub>OD) : 500 et 125MHz</p> <p><b>Aspect physique</b> : poudre amorphe blanche</p> <p><b>Test de Lieberman-Burchard</b> : positif</p>
<p style="text-align: center;"><b>TOF<sub>4</sub></b></p>  <p style="text-align: center;"><b><i>β</i>-sitosterol-3-<i>β</i>-O-D-glucopyranoside</b></p>	<p><b>EI-MS mode positif</b> : pic de l'ion <i>pseudo</i>-moléculaire à <math>m/z</math> 576,4469 [M+H]<sup>+</sup>.</p> <p><b>Formule brute</b> : C<sub>35</sub>H<sub>60</sub>O<sub>6</sub></p> <p><b>RMN <sup>1</sup>H et <sup>13</sup>C</b> méthanol (CD<sub>3</sub>OD) : 500 et 125MHz</p> <p><b>Aspect physique</b> : poudre amorphe blanche</p> <p><b>Test de Lieberman-Burchard</b> : positif</p>
<p style="text-align: center;"><b>TOF<sub>5</sub></b></p>  <p style="text-align: center;"><b><i>β</i>-D-fructofuranosyl-<i>α</i>-D-glucopyranoside</b></p>	<p><b>EI-MS mode positif</b> : pic de l'ion <i>pseudo</i>-moléculaire à <math>m/z</math> 343,1 [M+H]<sup>+</sup></p> <p><b>Formule brute</b> : C<sub>6</sub>H<sub>14</sub>O<sub>6</sub></p> <p><b>RMN <sup>1</sup>H et <sup>13</sup>C</b> méthanol (CD<sub>3</sub>OD): 400 et 100MHz</p> <p><b>Aspect physique</b> : solide blanc</p> <p><b>Test de Molisch</b> : positif</p>
<p style="text-align: center;"><b>TOF<sub>6</sub></b></p>  <p style="text-align: center;"><b>D-mannitol</b></p>	<p><b>EI-MS mode positif</b> : pic de l'ion <i>pseudo</i>-moléculaire à <math>m/z</math> 182,1 [M+H]<sup>+</sup>.</p> <p><b>Formule brute</b> : C<sub>12</sub>H<sub>22</sub>O<sub>11</sub></p> <p><b>RMN <sup>1</sup>H et <sup>13</sup>C</b> méthanol (CD<sub>3</sub>OD): 400 et 100MHz</p> <p><b>Aspect physique</b> : solide blanc</p> <p><b>Test de Molisch</b> : positif</p>

**Tableau XXX** : Données spectrales et constantes physiques des composés isolés (suite et fin)

<p style="text-align: center;"><b>TOF<sub>7</sub></b></p>  <p style="text-align: center;"><b><math>\beta</math>-sitostérol</b></p>	<p><b>EI-MS mode positif</b> : pic de l'ion <i>pseudo</i>-moléculaire à <math>m/z</math> 415,3055 [M+H]<sup>+</sup>.</p> <p><b>Formule brute</b> : C<sub>29</sub>H<sub>50</sub>O<sub>1</sub></p> <p><b>RMN <sup>1</sup>H et <sup>13</sup>C</b> méthanol (CD<sub>3</sub>OD) : 500 et 125MHz</p> <p><b>Aspect physique</b> : poudre blanche</p> <p><b>Test de Lieberman-Burchard</b> : positif</p>
<p style="text-align: center;"><b>TOF<sub>8</sub></b></p>  <p style="text-align: center;"><b>Asarinine</b></p>	<p><b>EI-MS mode positif</b> : pic de l'ion moléculaire à <math>m/z</math> 354,3 M<sup>+</sup>.</p> <p><b>Formule brute</b> : C<sub>20</sub>H<sub>18</sub>O<sub>6</sub></p> <p><b>RMN <sup>1</sup>H et <sup>13</sup>C</b> méthanol (CD<sub>3</sub>OD) : 400 et 100 MHz</p> <p><b>Aspect physique</b> : solide blanc</p>
<p style="text-align: center;"><b>TOF<sub>9</sub></b></p>  <p style="text-align: center;"><b>Acide oléique</b></p>	<p><b>EI-MS mode positif</b> : pic de l'ion moléculaire à <math>m/z</math> 280,3 M<sup>+</sup>.</p> <p><b>Formule brute</b> : C<sub>18</sub>H<sub>32</sub>O<sub>2</sub></p> <p><b>RMN <sup>1</sup>H et <sup>13</sup>C</b> méthanol (CD<sub>3</sub>OD) : 500 et 125MHz</p> <p><b>Aspect physique</b> : poudre blanche</p>
<p style="text-align: center;"><b>TOF<sub>10</sub></b></p>  <p style="text-align: center;"><b>Aridanine</b></p>	<p><b>LC-ESI-MS mode positif</b> : pic de l'ion <i>pseudo</i>-moléculaire à <math>m/z</math> 683,39 [M + Na]<sup>+</sup>.</p> <p><b>Formule brute</b> : C<sub>38</sub>H<sub>61</sub>NO<sub>8</sub></p> <p><b>RMN <sup>1</sup>H et <sup>13</sup>C</b> méthanol (CD<sub>3</sub>OD) : 500 et 125MHz</p> <p><b>Aspect physique</b> : poudre amorphe blanche</p> <p><b>Test de Lieberman-Burchard</b> : positif</p>

## **RÉFÉRENCES BIBLIOGRAPHIQUES**



- Adesina S.K., Reisch J. (1985). A Triterpenoid glycoside from *Tetrapleura tetraptera* fruit, *Phytochemistry*. 24 (12): 3003-3006.
- Ahmed Y., Rahman S., Akhtar P., Islam F., Rahman M., Yaakob Z. (2013). Isolation of steroids from n-hexane extract of the leaves of *Saurauia roxburghii*. *International Food Research Journal*. 20 (5): 2939- 2943.
- Akbar E., Malik A. (2002). Antimicrobial triterpenes from *Debregeasia salicifolia*. *Natural Product letters*. 16(5): 339- 344.
- Akhoundi M., Kuhls K., Cannet A., Votýpka J., Marty P., Delaunay P., Sereno D. (2016). A Historical Overview of the Classification, Evolution, and Dispersion of *Leishmania* Parasites and Sandflies. *Neglected Tropical Diseases*. 10(6): e0004770.
- Akhtar, N., Malik, A., Ali, S.N., Kazmi, S.U. (1994). Rubrinol, a new antibacterial triterpenoid from *Plumeria rubra*. *Fitoterapia*. 65 (2): 162–166.
- Akinyemi K.O., Oladapo O., Okawara C.E., Ibe C.C., Fasure K.A. (2005). Screening of crude extracts of six medicinal plants used in South-West Nigerian unorthodox medicine for antimethicillin resistant *Staphylococcus aureus* activity, *Complementary Alternative Medecine*. 5: 1-6.
- Anandhi G., Pragasam A. (2013). Phytochemical screening of the methanolic extract of stem of *Tricalysia sphaerocarpa* (Dalzell ex hook. f.) Gamble, *International Journal Phytotherapy*. 3: 65-69.
- Aoun K., Bouratbine A. (2014). Cutaneous leishmaniasis in North Africa., a review. *Institut Pasteur de Tunis*., laboratoire de parasitologie, 13 (74) : 1002.
- Ashour M., Wink M., Gershenzon J. (2010). Biochemistry of terpenoids: monoterpenes, sesquiterpenes and diterpenes, *Annual Plant Reviews*. 40: 258–303.
- Awouafack MD., Tane P., Morita H. (2018). Tricalycoside, a new cerebroside from *Tricalysia coriacea* (Rubiaceae). *Chemistry Biodiversity*. 15:1–6.
- Battersky AR., Yeowell DA. (1964). Alkaloid of calabash- curare and *Strychnos* species. Part III. Structure and absolute Stereochemistry of macusine- A, macusine- B, and macusine- C. *Journal of Chemistry Society*. 0: 4419- 4427.

- Belazzoug S., Addadi K., Mokrani T., Hafirassou N., Hamiriou B., Belkaid M. (1983). Nouveau foyer de leishmaniose cutanée à M'sila (Algérie). Infection naturelle de *Psammomys obesus* (Rodentia, Gerbillidae). *Bulletin de la Société de Pathologie Exotique*. 76 (2): 146-149.
- Benallal K., Gassem B., Bouiba L., Depaquit G., Harrat Z. (2013). Entomology investigation following the resurgence of human visceral Leishmaniasis in southern Africa.
- Botineau M. (2010). Botanique systématique et appliquée des plantes à fleurs, *Lavoisier*. 981.
- Bouquet A. (1972). Plantes médicinales du Congo- Brazzaville, Travaux et documents de l'ORSTOM, Paris, France. 112.
- Bourdoiseau G et Denerolle Ph. (2000). Traitement de la leishmaniose canine : actualité. *Revue de Médecine Vétérinaire*. 151(5): 395-400.
- Bouzeko I. L.T., Dongmo F.L.M., Ndontsa B.L., Ngansop C.A.N., Keumoe R., Bitchagnoa G.T.M., Jouda J.B., Mbouangouere R., Tchegnitegni B.T., Boyom F.F, Sewald N., Lenta B.N, Tane P., Ngouela S.A, Tene M. (2021). Chemical constituents of *Mussaenda erythrophylla* Schumach. & Thonn. (Rubiaceae) and their chemophenetic significance, *Biochemistry Systematics Ecology*. 98: 104329.
- Bowling T., Mercer L., Don R., Jacobs R., Nare B. (2012). Application of a resazurin-based highthroughput screening assay for the identification and progression of new treatments for human African trypanosomiasis, *International Journal of Parasitol Drugs Resistance*. 2 : 262–270. <https://doi.org/10.1016/j.ijpddr.2012.02.002>.
- Breitmaier E. (2006). Dans Terpenes, Flavors, Fragences, Pharmaca, Pheromones, Ed. Wiley-VCH. Journal of Natural Products. 70: 4, 711 ISBN-13 978-3-527-31786-8.
- Breteller. (1933). *Tricalysia atherura* N. Halle, s.nov. *Flore du Gabon*. PL.68 (6) 293.
- Bridson DM., Verdcourt .B. (2003). Rubiaceae in G. V. Pope (editor), *Flora Zambesiaca.*, Royal Botanic Gardens, Kew, UK. 5 (3): 379-720.
- Brown RT, Charalambides AA. (1974). 5a-Carboxytetrahydroalstonine. *Tetrahedron Letters*. 17: 1649–1652.
- Bruneton J. (1999). Pharmacognosie, Phytochimie, plantes médicinales, 3<sup>e</sup> édition, Paris, Eds Tec & Doc. Partie 3 : 661-709.

- Bruneton J. (2009). Pharmacognesie, phytochimie, plantes Médicinales, 4<sup>eme</sup> éd., Tec et doc, paris.
- Caesar L.K., Cech N.B. (2019). Synergy and antagonism in natural product extracts: when 1+1 does not equal 2. *Natural Product Report*. 36: 6869–888. <https://doi.org/10.1039/C9NP00011A>.
- Callahan H. L., Portal A. C., Devereaux R., Grogl M. A. X. (1997). An axenic amastigote system for drug screening. *Antimicrobial agents and chemotherapy*. 41(4): 818-822.
- Cao J., Chen L., Li M., Cao F., Zhao L., Su E. (2018). Two- phase systems developed it hydrophilic and hydrophobic deep eutectic solvents for simultaneously extracting various bioactive compound with differents polarities, *Green chemistry*. 20: 1879- 1886.
- Cao M., Muganga R., Tits M., Angenot L., Frédérick M. (2011). 17-*O*-Acetyl-10-hydroxycorynantheol, a selective antiplasmodial alkaloid isolated from *Strychnos usambarensis* leaves. *Planta Medecine*. 77 : 2050–2053.
- Carnet S., Coquerel Y., Gianini A., Banchelin T., Deprès J.P. (2006). Synthèse totale de terpenoides naturels possédant le squelette bicyclo [5.3.0] décane, *Acta Chemica*. 294: 24-25.
- Chaabi, M., Chabert, P., Vonthron-Sénécheau, C., Weniger, B., Ouattara, M., Corstjens, H., Sente, I., Declercq, L. & Lobstein, A. (2010). Acylated flavonol pentaglycosides from *Baphia nitida* leaves. *Phytochemistry Letters*. (3): 70–74.
- Chang M.H., Wang G.J., Kuo Y.H., Lee C.K. (2000). The low Polar Constituents from *Bidens pilosa* L.var.Minor (Blume) Sherff. *Journal Chinese Chemical Society*. 47: 1131- 1136.
- Chapell J. (2002). The genetics and molecular genetics of terpene and sterol origami, *Current Opinion in Plant Biology*. 5: 151-157.
- Chaurasia N., Wichtl M. (1987). Sterols and glycosides from *Urtica dioicca*, *Journal of Natural Product*. 50: 881-885.
- Cheesbrough M. (1987). Medical laboratory manual for tropical countries. Second edition. *Cambridge University Press*, Cambridge, Great Britain. 1: 605.
- Chen H. L., Lin K. W., Huang A. M., Tu H. Y., Wei B. L., Hour T. C., Lin C. N. (2010). Terpenoids induce cell cycle arrest and apoptosis from the stems of *Celastrus kusanoi*

associated with reactive oxygen species. *Journal of agriculture and food chemistry*. 58(6): 3808-3812.

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 benjamina* (Moraceae). *Biochemistry and Systematics Ecology*. 36:238-243.

Chuan-Pu S., Jian-Guang L., Ming-Hua Y., and Ling-Yi K. (2015). Cafestol-Type Diterpenoids from the Twigs of *Tricalysia fruticosa* with Potential Anti-inflammatory Activity, *Journal of Natural Products*. 06.

Cichewicz R., Kouzi S. (2004). Chemistry, biological activity, and chemotherapeutic potential of betulinic acid for the prevention and treatment of cancer and HIV infection. *Medical Research. Reviews*. 24:90-114.

Cook R. (1931). Reactions of Steroids with aceticanhydride and Sulphuric acid (the Liebermann- Burchard test), *Analyst Journal*. 86: 373- 381.

Cretep. (1965) Systématique des Angiospermes Masson et Cie, Précis de Botanique Tome II. 385.

Cronquist A. (1981). An Integrated System of Classification of Flowering Plants, New York, *Columbia University Press*.

Davis A. P., Chester M., Maurin O., Fay M. (2007). Searching for the relatives of Coffeae (Rubiaceae, Ixoraoidae): The circumscription and phylogeny of Coffee based on plastid sequence data and morphology, *American Journal of Botanic*. 94: 313–329.

Dedet J.P. (2009). Leishmanies, leishmanioses : biologie, clinique et thérapeutique. *EMC* (Elsevier Masson SAS, Paris), Maladies infectieuses, 8: 506-10.

Dewick P. (1999). The biosynthesis of C<sub>5</sub>–C<sub>25</sub> terpenoid compounds, *Natural Product Report*. 16 : 97-130.

Dieye P.I., Sarr S.O. (2021). Lutte contre la COVID-19 : la phytothérapie africaine au secours de la médecine moderne en panne, *Afrique Science*. 18 (3): 13 – 21.

Dike I. P., Obembe O.O., Adebisi F.E. (2012). Ethnobotanical survey for potential anti-malarial plants in South- Western Nigeria. *Journal of Ethnopharmacology*. 144: 618- 626.

- Djibrilla Kaou B., Ripert C., Ravisse P., Durand B., Carrie J. (1979). Epidemiologic study of the focus of cutaneous leishmaniasis in Mokolo (North Cameroon). *Bulletin de la Société de Pathologie Exotique Filiales*. 72(5-6) : 442-50.
- Dondji B. (2001). Leishmaniose et phlébotomes du Cameroun : le point sur les données actuelles, *Bulletin de la société de Pathologie Exotique*. 94 (3) : 277- 279.
- 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 Communication*. 7: 781-783.
- Dubey V., Bhalla R., Luthra R. (2003). An overview of the non-mevalonate pathway for terpenoid biosynthesis in plants, *Journal of Biosciences*. 5 : 637-646.
- Duvigneaud p., Van bockstal l. (1973 – 1975) Systématique des plantes supérieures vol 2 : Dicotyledones, *Press universitaire de Bruxelles*. 289.
- El Hady S., Bukuru J., Kesteley B., van Puyvelde L, De Kimpe N., Van T.N. (2002). New pyranonaphthoquinone and pyranonaphthohydroquinone from the roots of *Pentas longiflora*, *Journal of Natural Products*. 65: 1377–1379.
- Evina J.N., Bikobo DSN., Zintchem AA., Nyemeck NM., II Ndedi EDFM., Dibouie PHB., Nyegue MA., Atchade AT., Pegnyemb DE., Koert U. (2017). *In vitro* antitubercular activity of extract and constituents from the stem bark of *Distemonantus benthamianus*. *Brazilian Journal of Pharmacology*. 27(6): 739- 743.
- Fabri R.L, Nogueira M.S, Braga F.G, Coimbra es and Scio E. (2012). *Mitracarpus frigidus* aerial parts exhibited potent antimicrobial, antileishmanial, and antioxidant effects. *Bioresource Technology*. 100: 428-433.
- Fidock D.A. (2010). Drug discovery - Priming the antimalarial pipeline, *Nature*. 465: 297-298.
- Foley P. (2003). Beans, roots and leaves: A history of the chemical therapy of *Parkinsonism* Tectum verlag.
- Foubert K., Gorella T., Faizal A., Cos P., Maes L., Apers S., Geelen D., Pieters L. (2016). Triterpenoid saponins from *Maesa argentea* leaves, *Planta Medica*. 82 (18):1568–1575.
- Gamo F.J., Sanz L.M., Vidal J., De Cozar C., Alvarez E., Lavandera J.L., Vanderwall D.E., Green D.V.S., Kumar V., Hasan S., Brown J.R., Peishoff C.E., Cardon L.R., Garcia-Bustos

- J.F. (2010). Thousands of chemicals starting points for antimalarial lead identification, *Nature*. 465 : 305-310.
- Gentillini M., Caumes E., Duflo B. (1993). Médecine tropicale, *Médecine science, flammation, Paris*. 5.928.
- Ghenoudon S. S.J., Padonou G.G., Azonvide., Kouakanou, Sna H., Degbelo J., Deh-Tchokpon J., Walther M., Baba- Moussa, Nwakanma D. (2016). Mutations conférant la résistance aux antipaludiques chez les enfants en crise du paludisme au benin : implication sur le repone immunitaire. *Journal de Recherche Scientifique, Université de Lomé (Togo)*. 18 (4): 217-225.
- Gojman G., Turrens F., Marini-Bettolo B., Stoppani O., (1984). Inhibition of growth and macromolecular biosynthesis in *Trypanosoma cruzi* by natural products. Effects of miconidine and tingenone. *Journal of Herbal Medicine Pharmacology*. 44 (4): 361–370.
- Golembiewska E., Shalicka- Wozniak K., Glowniak K. (2013). Methods for the isolation and identification of triterpenes and sterols in medicinal plants. *Current issues in Pharmacy and Medical Sciences*. 26: 26- 32.
- Gradoni L., Soteriadou K., louzir H., Dakkak A., Ozensoy Toz S. (2008). Drug Regimens for visceral leishmaniasis in Mediterranean countries. *Tropical Medicine and International Health*. 13 : 1272–1276.
- Granier M. (2013). Etude de la perception du vaccin contre la leishmaniose par les vétérinaires et les propriétaires de chiens en zone d'enzootie sur le territoire de France métropolitaine. *Thèse pour obtenir le grade de docteur vétérinaire*. Présentée et soutenue publiquement devant l'université Paul-Sabatier de Toulouse.
- Guinko S. (1989). Opothérapie : Quelques usages médicaux du miel dans l'Ouest du Burkina Faso, *Bulletin de Médecine Traditionnelle*. 3 (2) : 11-115.
- Guinko S., Millogo R.J., boussim M. J. (1995). Caractéristiques de quelques familles d'angiospermes représentées dans l'Ouest Africain, *Travaux pratiques et dirigés de botaniques*.
- Gyapong J. and Boatman B. (2016). *Neglected tropical diseases-sub-Saharan African*. Springer.

- Han Y., Jo H., Kwon E., Choi Y. (2019). Cloning and Characterization of Oxidosqualene Cyclases Involved in Taraxasterol, Taraxerol and Bauerenol Triterpene Biosynthesis in *Taraxacum coreanum*, *Plant and Cell Physiology*. 7: 1595-1603.
- Hayashi T., Smith F.T., Lee K.H. (1987). Antitumor agents of Psychorubrin, a new cytotoxic naphthoquinone from *Psychotria rubra* and its structure-activity relationships. *Journal of Medicinal Chemistry*. 30, 18: 2005–2008.
- He D. H., Otsuka H., Hirata E., Shinzato T., Bando M., Takeda Y. (2002). Tricalysiosides A-G: rearranged ent- kauranoid glycosides from the leaves of *Tricalysia dubia*. *Journal of Natural Products*. 65 (5): 685–688.
- He D.H., Matsunami K., Otsuka H., Shinzato T., Aramoto M., Bando M., Takeda. (2005). Tricalysiosides H- O: rearranged ent- kauranoid glycosides from the leaves of *Tricalysia dubia*. *Phytochemistry*. 66: 2857-2864.
- Hervé. (1937). Note sur la leishmaniose cutanée au Cameroun. *Annual of Médecine Pharmacology Colon*. 35: 928- 934.
- Hoareau L., Da silva E.J. (1999). Medicinal plants, a re-emerging health aid. *Electronic Journal of Biotechnology*. 2: 56-70.
- 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.
- Hough L., Stacey B.E. (1963). The occurrence of D-Ribohexulose in *itea ilicifolia* and *itea yunnanensis*. *Phytochemistry*. 2: 315-320.
- Ibrahim SRM., Mohamed GA., Shaala LA., Banuls LMY., Van Goietsenoven G., Kiss R., Youssef DTA. (2012). New ursane-type triterpene from the root bark of *Calotropis procera*. *Phytochemistry letter*. 5 (3): 490- 495.
- Isah M.B., Ibrahim M.A., Mohammed A., Aliyu A.B., Masola B., Coetzer H.T.T. (2016). Systematic review of pentacyclic triterpenes and their derivatives as chemotherapeutic agents against tropical parasitic diseases. *Parasitology*. 143 (10): 1219–1231. <https://doi.org/10.1017/S0031182016000718>.
- Jamila N., khairuddean M., Khan N.S., Khan N. (2014). Phytochemicals from the Bark of *Garcinia hombroniana* and Their Biological Activities. *Records of Natural Product*. 8: 312-316.

- Jouogo N.D.C., Tamokou J-D, Teponno R.B., Takongmo G.M., Nazabadioko L.V., Tapondjou A.L., Ngnokam D. (2022). "Chemotaxonomy and Antibacterial Activity of the Extracts and Chemical Constituents of *Psychotria succulenta* Hiern. (Rubiaceae)", *BioMedical Research International*. 10.
- Kaptué L., Zekeng L., Fomekong E., Nsangou A., Tagu JP Sanofi. (1992). La leishmaniose viscérale au Cameroun. A propos de quelques observations et d'une prospection clinique dans la région de Kousseri, Extrême-Nord Camerounais. *Bulletin de la Société de Pathologie Exotique*. 85 : 156-158.
- Kaur K, Jain M, Kaur T, Jain R. (2009). Antimalarials from nature. *Bioorganic Medecine and Chemistry*. 17(9) : 3229- 56.
- Kaushik S., Cuervo A. M. (2015). Proteostasis and aging. *Natural Medicine*. 21(12): 1406-1415.
- Khedr A., Ibrahim S.R., Mohamed G.A., Ross S.A, Yamada K. (2018). Panduramides A-D, new ceramides from *Ficus pandurata* fruits. *Phytochemistry Letter*. 23: 100-105.
- Kokwaro JO. (2010). Medicinal Plants of East Africa, Nairobi: University of Nairobi Press, 247–24.
- Krotoski A., Garnham C., Bray S., Krotoski M., Killick-Kendrick R., Draper C., Targett A., Guy W. (1982). Observations on early and late post-sporozoite tissue stages in primate malaria. Discovery of a new latent form of *Plasmodium cynomolgi* (the hypnozoite), and failure to detect hepatic forms within the first 24 hours after infection. *American Journal of Tropical Medicine and Hygiene*. 31(1): 24-35.
- Leger N., Depaquit J. (1999). Les phlébotomes ; In : Dedet JP, editor. Les Lishmanioses. Paris : Ellipses, 89-108.
- Li J, Tang MJ, Wu Q, Chen H, Niu XT, Guan XL, Li J, Deng SP, Su XJ, Yang RY. (2012a). Water-soluble Constituents of the Heartwood of *Streblus asper*. *Natural Product Communication*. 7:497–500.
- Li J., Tang MJ., Wu Q., Chen H., Niu XT., Guan XL., Li J., Deng SP., Su XJ., Yang RY. (2012a). Water- soluble constituents of the Heartwood of *Sateblus asper*. *Natural Product Commnications*.7: 497- 500.



- Li LQ, Li J, Huang Y, Wu Q, Deng SP, Su XJ, Yang RY, Huang JG, Chen ZZ, Li S.(2012b). Lignans from the heartwood of *Streblus asper* and their inhibiting activities to hepatitis B virus. *Fitoterapia*. 83(2):303–309.
- Li LQ., Li J., Huang Y., Wu Q., Deng SP., Su XJ., Yang RY., Huang JG., Chen ZZ., Li S. (2012b). Lignans from the heartwood of *Streblus asper* and their inhibiting activities to hepatitis B virus. *Fitoterapia*. 83 (2): 303- 309.
- Lim QY, Tan SP, Tan HY, Liew WK, Lau YL, Nafiah MA. (2021). Compounds Isolated from Bark of *Phyllanthus acidus* (L.) Skeels. *Malaysian Journal of Chemistry*. 23:165–172.
- Liu R., Lu Y., Wu T., Pan Y. (2008). Simultaneous isolation and purification of mollugin and two anthraquinones from *Rubia cordifolia* by HSCCC, *Chromatographia, Journal of Natural Products*. 68: 95–99.
- Long- Ze L., Geoffrey A. C. (1990). <sup>1</sup>H and <sup>13</sup>C Nuclear Magnetic Resonance Assignments of Polyneuridine, 19-(2)- Akuammidine and 16-Epi-voacarpin. *Phytochemistry Analysis*. 1: 26-30.
- Lusakibanza M. (2012). Étude phytochimique et pharmacologique de plantes antipaludiques utilisées en médecine traditionnelle congolaise, Mémoire présenté en vue de l'obtention du grade de Docteur en Sciences Biomédicales et Pharmaceutiques.
- Mabberley D. (1997). The Plant- book: A Plant- book: A portable Dictionary of the Vascular Plants Utilizing Kubitzki's the families and genera of vascular plants. 2<sup>nd</sup> edition, *Cambridge University Press*.
- Marquardt W.H. (1997). Biology of deases vactors. 0 (12) 473276-3.
- Martins D., Nunez V. (2015). Secondary metabolites from Rubiaceae species. Bioprospection and Biotechnology Laboratory, *Technological Innovation of Coordination*. 20: 13423.
- Marty P., Pomares-Estran C., Hasseine L., Delaunay P., Haas H. (2009). Leishmaniasis in France: an update. *Archives de Pédiatrie*. 2 (16). 96–100.
- Mishina V., Krishna S., Haynes K., Meade C. (2007). Artemisinins inhibit *Trypanosoma cruzi* and *Trypanosoma brucei rhodesiense* *in vitro* growth. *Antimicrobial Agents Chemotherapy*. 51 (5): 1852–1854. <https://doi.org/10.1128/aac.01544-06>.

- Mishra D.P., Khan M.A., Yadav D.K., Rawat A.K., Singh R.K., Ahamad T., Hussain M.K., Saquib M., Khan M.F. (2018). Monoterpene Indole Alkaloids from *Anthocephalus cadamba* Fruits Exhibiting Anticancer activity in Human Lung Cancer Cell Line H1299. *ChemistrySelect*. 3: 8468–8472.
- Monteiro E.M., França-Silva J.C., Costa R.T., Costa D.C., Barata R.A., Paula E.V., Machado-Coelho G.L.L, Rocha M.F., Fortes-Dias C.L., Dias E.S. (2005). Leishmaniose visceral: estudo de flebotomíneos e infecção canina em Montes Claros, Minas Gerais. *Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical*. 38: 147-152.
- Moshi M.J., Otieno D.F., Mbabazi P.K., Weisheit A. (2009). The Ethnomedicine of the Haya people of Bugabo ward, Kagera region, north western Tanzania, *Journal of ethnomedicine*. 5: 24.
- Moshi M.J., Otieno D.F., Weisheit A. (2012). Ethnomedicine of the Kagera Region, North Western Tanzania. Part 3: plants used in traditional medicine in Kikuku village, Muleba District. *Journal of Ethnobiology and Ethnomedicine*. 8: 14.
- Mostafa AE, El-Hela AA, Mohammad A-EI, Cutler SJ, Ross SA. (2016). New triterpenoidal saponins from *Koelreuteria paniculata*. *Phytochemistry Letters*. 17: 213–218.
- Muhammad I., Dunbar D.C., Khan S.I., Tekwani B.L., Bedir E., Takamatsu S., Ferreira D., walker L.A. (2003). Antiparasitic alkaloids from *Psychotria klugii*, *Journal of Natural Products*. 66: 962-967.
- Nascimento D.C.A., Gomesa M. S., Liãoa L.M., De Oliveira C.M. A., Katoa L., Da Silvab C. C., and Tanaka C. M. A. (2006). Alkaloids from *Palicourea coriacea* (Cham.) K. Schum. *Z. Nature*. 61b: 1443 – 1446.
- 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.
- Naz I., Saifullah., Khan M.R. (2013). Nematicidal activity of Nonacosane- 10- ol and 23 a Homostigmast- 5-en-3 $\beta$ - ol isolated from the roots of *Fumaria parviflora* (Fumariaceae), *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. 61(24): 5689- 5695.

- 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.
- Ngouateu O.B., Kollo P., Ravel C., Derreure J., Kamtchouing P., Same-Ekobo A., *et al.* (2012). Clinical features and epidemiology of cutaneous leishmaniasis and *Leishmania major*/HIV co-infection in Cameroon: results of a large cross-sectional study. *Transactions of the Royal Society of Tropical Medicine and Hygiene*. 106: 137-142.
- Nishimura K., Hitotsuyanagi Y., Sakakura K.I., Fujita K., Tachihara S., Fukaya H., Aoyagi Y., Hasuda T., Kinoshita T., Takeya K., (2007). Three new diterpenoids, tricalysiolide H and tricalysiones A and B, from *Tricalysia dubia*. *Tetrahedron*, 63: 4558-4562.
- Nishimura K., Hitotsuyanagi Y., Sugeta N., Fukaya H., Aoyagi Y., Hasuda T., Kinoshita T., Takeya K. (2007). Tricalysiamides A-D, diterpenoid alkaloids from *Tricalysia dubia*. *Journal of Natural Products*. 70: 758-762.
- Nishimura K., Hitotsuyanagi Y., Sugeta N., Sakakura K., Fujita K., Fukaya H., Aoyagi Y., Hasuda T., Kinoshita T., He D.H., Otsuka H., Takeda Y., Takeya K. (2006). Tricalysiolides A- F, new rearranged ent- kaurane diterpenes from *Tricalysia dubia*. *Tetrahedron*, 62 (7): 1512–1519.
- Njih Tabah E., Ministry of Public Health. (2010). Consultative Meeting on The Control of Leishmaniasis in the African Region WHO/AFRO Addis Ababa, 23-25 Feb.
- Nogueira PCN., Araujo RM., Viana GSB., Braz Filho R., Silveira ER. (2014). Plumeran Alkaloids and Glycosides from the Seeds of *Aspidosperma pyrifolium* Mart. *Journal Brazilian Chemical Society*. 25: 2108- 2120.
- Onana J-M. (2013). Synopsis des espèces végétales vasculaires endémiques et rares du Cameroun : check- liste pour la gestion durable et la conservation de la biodiversité, Yaoundé, Ministère de la Recherche scientifique et de l'innovation, coll. *Flore du Cameroun*. 40, p. 193.
- Organisation Mondiale de la Santé. (1968). Statistic reports. 21.
- Pages F., Orlandi-Pradines E., Corbel V. (2007). Vecteurs du paludisme : biologie, diversité, contrôle et protection individuelle. *Médecine et mqlqdie infectieuse*. 37 : 153-161.

- Palma D., Mercuriali L., Figuerola J., Montalvo T., Bueno-Mari R., Millet J.P., *et al.* (2021). Trends in the epidemiology of leishmaniasis in the city of Barcelona, *Front Veterinary Science*. 26: 653-999.
- Peters R.J. (2010). Two rings in them all: the labdane- related diterpenoids, *Natural product reports*. 27 (11): 1521-1530.
- Plan Strategique National de Lutte contre le Paludisme au Cameroun 2019- 2023. <https://Insp-Cam.org/wp-content/>.
- Ramos F., Takaishi Y., Kawazoe K., Osorio C., Duque C., Acuña R., Fujimoto Y., Sato., Okamoto M., Oshikawa T., Ahmed S.U. (2006). Immunosuppressive diacetylenes, ceramides and cerebrosides from *Hydrocotyle leucocephala*. *Phytochemistry*. 67:1143-1150.
- 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.
- Richard D. (1996). Pearson., Anastacio de Queiroz Sousa. *Clinical Infectious Diseases*. 22 (1) 1-11.
- Ripert C., Pajot F.X., Vincendeau P., Esquerdo-Gomez F. (1996). Epidemiologie des maladies parasitaires, Tome 1 : *Protozooses*. Ed. Med. Int, Paris, P 390. In : Morin A.C., 2011. Etude épidémiologique et clinique de la leishmaniose canine a *L. infantum* en France : analyse de 2892 sérums de chiens leishmaniens par le laboratoire de parasitology- mycology de Montpellier. Thèse pour l'obtention de diplôme de doctorat en vétérinaire. Université CLAUDE- BERNARD- LYON I, 108p.
- Roberts L.S., Janovy J.J., Gerald D., Schmidt et Larry S. (2000). Roberts Foundations of Parasitology. McGraw-Hill Higher Education, Boston; in: Djezzar-Mihoubi Ilhem. 2006. Etude des leishmanioses diagnostiquées au centre hospitalo-universitaire Ben Baddis de Constantine.
- Rodney C., Toni K., Norman L. (2000). Natural Product (secondary metabolites) in Biochemistry and Molecular Biology and plants by Buchanan B., Gruissem w., *Jones Report*, 1250-1318.

- Sanchez L.M., Lopez D., Vesely B.A., Togna G.D., Gerwick W.H., Kyle D.E., Linington R.G. (2010). Almiramides A-C: Discovery and Development of a New Class of Leishmaniasis lead Compounds. *Journal of Medicinal Chemistry*. 53: 4187-4197.
- 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*. 91:1 326-1335.
- Sando T., Takaoka C., Mukai Y., Yamashita A., Hattori M., Ogasawara N., Fukusaki E., Kobayashi A. (2008). Cloning and characterization of mevalonate pathway genes in a natural rubber producing plant, *Hevea brasiliensis*. *Bioscience Biotechnology and Biochemistry*, 72, 2049–60.
- Schumann K., Bot.Jahrb. (1897). *Tricalysia oligoneura* K. schum. *Flore du gabon*. PL.74 (23) 23: 448.
- Sereno D., Lemesre J.L. (2011). Axenically culture damastigote forms as an *in vitro* model for investigation of antileishmanial agents, *Antimicrobial Agents Chemotherapy*. 41: 972–976.
- 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.
- Shen C. P., Luo J. G., Yang M. H., Kong L. Y. (2015). Cafestol-type diterpenoids from the twigs of *Tricalysia fruticosa* with potential anti-inflammatory activity, *Journal of Natural Products*. 78: 1322-1329.
- Shitamoto J., Sugimoto S., Matsunami K., Otsuka H., Shinzato T., Takeda Y. (2010). Tricalysionoside A, a Megastigmane Gentiobioside, Sulfatricalysines A—F, and Tricalysiosides X—Z, ent-Kaurane Glucosides, from the leaves of *Tricalysia dubia*. *Chemical and Pharmaceutical Bulletin*. 59(1): 72—77.
- Silva BP, Parente JP. (2004). New Steroidal Saponins from Rhizomes of *Costus spiralis*. *Zeitschrift fur Naturforschung- Section C Journal of Bioscience*. 59(1-2):81–85.
- Soladoye M.O., Amusa N.A., Raji-Esan S.O., Chukwuma E.C., Taiwo A.A. (2010). Ethnobotanical Survey of Anti-Cancer Plants in Ogun State, Nigeria., *Annals of Biological Research*. 1 (4): 261-273.

- Souza V., Lorenzi H. (2008). Botânica sistemática: Guia ilustrado para identificação de Fanegas nativas e exóticas no Brasil, baseado em APG II. *Instituto Plantarum*.
- Tadeusz A. (2017). Alkaloids - Secrets of Life: Alkaloid Chemistry, Biological significance, Applications and Ecological role. *Biochemistry Genetics and molecular Biology*, 111-112.
- Tajuddeen N., Swart T., Hoppe H.C., Van Heerden F.R. (2021a). Antiplasmodial and cytotoxic flavonoids from *Pappea capensis* (Eckl. & Zeyh.) Leaves, *Molecules*. 26, 13: 3875.
- Tajuddeen N., Swart T., Hoppe H.C., Van Heerden F.R. (2021b). Antiplasmodial and cytotoxic activities of extract and compounds from *Ozoroa obovata* (Oliv.) R. & A. Fern. Var. *obovata*, *Chemistry Biodiversity*. 18: e2100240.
- Tajuddeen N., Van Heerden F.R. (2019). Antiplasmodial natural products: an update, *Malaria Journal*. 18, 1: 404.
- Talkmore N., Charlotte I.E.A., Klooster V., Joo T.V.M., Jong D., Jan H., Westhuizen V. (2015). Medicinal plants used by traditional healers for the treatment of malaria in the Chipinge district in Zimbabwe. *Journal of Ethnopharmacology*. 159: 224- 237.
- Tamaki T., Nakashima T., Ueda T., Tomii K., Kouno I. (2007). ent-Kaurane Glycosides from *Tricalysia okelensis*. *Chemical and Pharmaceutical Bulletin*. 55: 899-901.
- Tosh J., Aaron P. D., Dessein S., De Block P., Huysmans S., Fay M.F., Smets E., Robbrecht E. (2009). Phylogeny of *Tricalysia* (Rubiaceae) and its Relationships with Allied Genera Based on Plastid DNA Data: Resurrection of the Genus *Empogona*. *Annals of Missouri Botanical Garden*. 96(1): 194-213
- Trager W., Jensen B.J. (1976). Human malaria parasites in continuous culture. *Science*. 193 (4254): 673- 675.
- Tshisekedi T., Mutwale K.P., Kabongo K.M.J., Tujibikila M.A., Dibungi T., Kalenda., Alembert T., Tchinda A.A., Mouithys-Mickalad O., Jansen E., Cieckiewicz M., Tits L., Angenot M., Frédérick. (2016). Antiplasmodial activity of *Heinsia crinita* (Rubiaceae) and identification of new iridoids, *Journal of Ethnopharmacology*. DOI: <http://dx.doi.org/10.1016/j.jep.2016.11.041>.

- Udia P.M., Antai A.B., Lapah P.T., Ekeuwei E.B. (2013). Phytochemistry, proximate and elemental compositions of extracts from the leaves of *Rothmannia longiflora* and *Rothmannia hispida*. *Journal of Natural Products*. 3 (5): 41–47.
- Vara Y., Aldaba E., Arrieta A., Pizarro J., Arriortua M., Cossío F. (2008). "Regiochemistry of the microwave-assisted reaction between aromatic amines and  $\alpha$ -bromoketones to yield substituted 1H-indoles". *Organic and Biomolecular Chemistry*. 6(10) : 1763.
- Villedieu-Percheron E. V. (2011). Etude d'une famille de diterpènes d'origine naturelle ayant une activité anti-inflammatoire., *Thèse de doctorat*. Université d'Orléans. 278.
- Virinder P. S., Subhash J.C., Sangita G. (1998). Polyphenols and alkaloids from *Piper species*. *Phytochemistry*. 49 (4): 1069-1078.
- Wang F.P., Liang X.T., Cordell G.A. (2002). In the Alkaloids/Chemistry and Biology; Ed, *Elsevier Science: New York*. 59: 1-280.
- Watts K.R., Tenney K., Crews P. (2010). The structural diversity and promise of antiparasitic marine invertebrate-derived small molecules. *Current Opinion in Biotechnology*. 21: 808-818.
- Wells T.N.C., Alonso P.L., Gutteridge W.E. (2009). New medicines to improve control and contribute to the eradication of malaria, *Nature Review Drug Discovery*. 8: 879-891.
- Wonkam A.K.N., Ngansop C.A.N., Wouamba S.C.N., Jouda J.B., Happi G.M., Boyom F.F., Sewald N., Lenta B.N. (2020). Rothmanniamide and other constituents from the leaves of *Rothmannia hispida* (K. Schum.) fagerl. (Rubiaceae) and their chemophenetic significance, *Biochemistry and Systematics Ecology*. 93: 104-137.
- World Health Organisation (2021). WHO recommends groundbreaking malaria vaccine for Children at risk? Available from <https://www.WHO.Int/news/item/06-10-2021-Who-recommends-groundbreaking-malaria-vaccine-for-Children-at-risk>. Accessed on 31<sup>st</sup> October, 2021.
- World Health Organisation (2022). Weekly epidemiological record. Available from <http://www.who.int/wer/> 4 March 2022, 97<sup>e</sup> année, No 9, 2022, 97: 61–80
- World Health Organization. (2020). Leishmaniasis. Regional Office for Africa. URL: <http://www.afro.who.int/health-topics/Leishmaniasis>.

- World Health Organization. (2020). World Malaria Report. The “World malaria report 2020” at a glance. WHO: Geneva, Switzerland. Available from <http://www.who.int/teams/global-malaria-programme/report/world-malaria-report-2020>. Accessed on 3rd March, 2021.
- Xu W.H., Jacob M.R., Agarwal A.K., Clark A.M., Liang Z.S., LI X.C. (2009). Ent-Kaurane Glycosides from *Tricalysia okelensis*. *Chemical and Pharmaceutical Bulletin*. 58 (2): 261-264.
- Xu WH, Jacob MR, Agarwal AK, Clark AM, Liang ZS, Li XC. (2010). Ent-Kaurane Glycosides from *Tricalysia okelensis*. *Chemical and Pharmaceutical Bulletin* (Tokyo). 58 (2):261–264.
- Yamamori A., Takata Y., Fukushi E., Kawabata J., Okada H., Kawazoe Naoki., Ueno K., Onodera S., Shiomi N. (2017). Structural analysis of novel Low-Digestible Sucrose Isomers synthesized from D-Glucose and D-Fructose by Thermal Treatment. *Journal of Applied Glycoscience*. 64: 15-19.





**COMMUNICATIONS SCIENTIFIQUES**

- **Doctoriales\_ URFD\_Chimie et Applications Université de Yaounde 1 Septembre 2022** : Métabolites secondaires isolés des feuilles de *Tricalysia atherura* N.Halle et *Tricalysia oligoneura* K.Schum- Evaluation de leurs activités antiplasmodiale. **GS Djikam**\*, DS Ngonon Bikobo, DE Pegnyemb. MI Choudhary. Poster.
- **Conférence Nationale Yaoundé 28-29 Avril 2022**: « 3MCC 2022 » entitled "Made in Cameroon for Industrialization and Sustainable Economic Development". Metabolites secondaires isolés des feuilles de *Tricalysia atherura* N. Halle. **GS Djikam**\*, DS Ngonon Bikobo, DE Pegnyemb. MI Choudhary. Communication orale.
- **Conférence Nationale Douala 05-07 Mars 2022**: "Academic Research at the Service of Development and well-being in Pandemic context": Isolement et caractérisation des phytoconstituants de deux plantes de la famille des Rubiaceae : *Tricalysia atherura* N.Halle et *Tricalysia oligoneura* K. Schum ; Evaluation de leurs activités antiplasmodiale. **GS Djikam**\*, DS Ngonon Bikobo, DE Pegnyemb. MI Choudhary. Communication orale.
- **Conférence Internationale Islamabad- Pakistan 15-16 Juin 2021**: " An Advanced Training Course on ‘How to establish Halal Products testing Laboratory?’ : Participante
- **Colloque International Karachi- Pakistan 07 Juillet 2021**: "Online Meeting on Recent Developments in Drug Discovery and Medicinal Chemistry": Participante

**PUBLICATION**

## PUBLICATION

**Gwladys Djikam Sime**, Norbert Mbabi Nyemeck II, Auguste Abouem A Zintchem, Natasha October, Marius Balemaken Missi, Rabia Farooq, Khalid Mohammed Khan, Dominique Serge Ngono Bikobo, Muhammad Iqbal Choudhary & Dieudonné Emmanuel Pegnyemb (2022): Secondary metabolites of the leaves of *Tricalysia atherura* N. Hallé (Rubiaceae) and their potential antiplasmodial activity, *Natural Product Research*, 37: 17, 2830- 2840. DOI: <http://doi.org/10.1080/14786419.2022.2137796>.