

REPUBLIQUE DU CAMEROUN

Paix – Travail - Patrie

UNIVERSITE DE YAOUNDE I

FACULTE DES SCIENCES

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

UNITE DE RECHERCHE ET DE
FORMATION DOCTORALE 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

RESEARCH AND POSTGRADUATE
TRAINING UNIT FOR CHEMISTRY
AND APPLICATIONS

DEPARTEMENT DE CHIMIE ORGANIQUE
DEPARTMENT OF ORGANIC CHEMISTRY

LABORATOIRE DE PHARMACOCHEMIE DES SUBSTANCES NATURELLES ET
PHYTOPROTECTION

LABORATORY OF PHARMACOCHEMISTRY OF NATURAL PRODUCTS AND
PHYTOPROTECTION

Etude chimique de la fraction à l'acétate d'éthyle des feuilles de *Piper capense* Linn (Piperaceae)

Mémoire rédigé et présenté publiquement en accomplissement partiel en vue de l'obtention du diplôme de
Master en Chimie Organique

Présenté par:

KENGNI MENKEU Merveille Ornela

Matricule: 19W2807

Licenciée en Chimie

Sous la direction de:

KAMTO Eutrophe Le Doux

Maître de Conférences

Année académique 2023-2024



REPUBLIQUE DU CAMEROUN

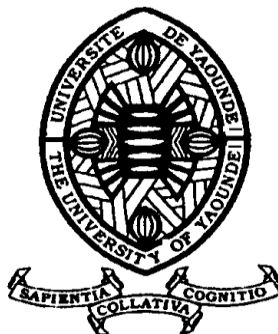
Paix – Travail - Patrie

UNIVERSITE DE YAOUNDE I

FACULTE DES SCIENCES

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

UNITE DE RECHERCHE ET DE
FORMATION DOCTORALE 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

RESEARCH AND POSTGRADUATE
TRAINING UNIT FOR CHEMISTRY
AND APPLICATIONS

DEPARTEMENT DE CHIMIE ORGANIQUE
DEPARTMENT OF ORGANIC CHEMISTRY

LABORATOIRE DE PHARMACOCHEMIE DES SUBSTANCES NATURELLES ET
PHYTOPROTECTION

*LABORATORY OF PHARMACOCHEMISTRY OF NATURAL PRODUCTS AND
PHYTOPROTECTION*

Etude chimique de la fraction à l'acétate d'éthyle des feuilles de *Piper capense* Linn (Piperaceae)

*Mémoire rédigé et présenté publiquement en accomplissement partiel en vue de l'obtention du diplôme de
Master en Chimie Organique*

Présenté par:

KENGNI MENKEU Merveille Ornela

Matricule: **19W2807**

Licenciée en Chimie

Sous la direction de:

KAMTO Eutrophe Le Doux

Maître de Conférences

Année académique: 2023-2024

DEDICACE

A

MA FAMILLE

REMERCIEMENTS

La présente recherche, conduite au sein du Laboratoire de Pharmacochimie des Substances Naturelles et Phytoprotection rattaché au Département de Chimie Organique de l'Université de Yaoundé I, n'aurait pu aboutir sans la précieuse collaboration d'un nombre significatif de personnes. Qu'elles trouvent ici l'expression de ma sincère gratitude.

Au Pr. Dieudonné Emmanuel PEGNYEMB (Professeur), Chef de Département de Chimie Organique (DCO) de l'Université de Yaoundé I et Chef de Laboratoire de Pharmacochimie des Substances Naturelles et Phytoprotection (LPSNP) qui a bien voulu m'accepter dans son équipe de recherche et pour son dévouement au suivi académique des étudiants.

Au Dr. Eutrophe Le Doux KAMTO (Maître de Conférences), mon directeur de mémoire pour avoir accepté de diriger ce travail et de m'initier à la recherche. Sa disponibilité sans faille, sa rigueur intellectuelle et ses précieux conseils ont été déterminants pour la réussite de ce travail. Je tiens à lui exprimer toute ma gratitude et reconnaissance.

Aux Dr. Joséphine NGO MBING (MC), Dr. Dominique BIKOBO NGONO (MC), Dr. Olivier Placide NOTE (MC), Dr. Joseph Thierry NDONGO (MC), Dr. Auguste ABOUEM (MC), Dr. Mc Jésus KINYOK, Dr. Angélique MESSI, Dr. Line SIMO, Dr. Norbert MBABI, Dr. Eric TIAM, Dr. Lin Marcellin AMBASSA MESSI, Dr. Guy EBEDE, Dr. Andrée BITOMBO, Dr. Jeanne Louise NKOT, Dr. Gwladys DJIKAM SIME et Dr. Jean Faustin ATANGANA pour leurs encouragements.

A tous les enseignants du département de Chimie Organique pour le suivi et la transmission rigoureuse des connaissances.

A mes aînés de laboratoire: Morel Maryl TAGNE MAMDOM, Leonel Boris TEKELA, Péguiane METANG KENNE, Thierry MAKUETE, Pélagie Clémence MEDZO WAMBA, Marie Germaine PEMGNIGNI, Micado SONE EKAMBI, Emmanuel BIAN MOFFI, Alexie NAMA, Onésime MAYEGA, Beltus FOFACK, Bertrand TADJOUTSAP TSEKENG, Yolande NGIMBOUS,

Aurore BELLA BELINGA, Paul SEKE, Zouberou Lamanje NJOYA, Roberto Charles BILONGO, Moïse Landry MBELEK, Daniel Dorvin SANJO, Ulrich SAADIO, Alain KOULARAMBAYE, Ghislain SIEBETCHE, Ives Roland BAILAR, Moria-El BABANE, Stella PUESSI, Damienne Durelle KEPTA, Guy-Arnold THOUKAM, Arnold SIDZE, Illona FANKAM, Daniella NKWENTI, Bryan AWONO, Larissa TCHOWA, Annick Rachel BILO'O, Manuella AVOMO, Tiffany ADJANKE et Corine NANKAM pour leurs conseils et les riches expériences qu'ils ont bien voulu partager avec moi au cours de ce travail.

A mes camarades de promotion: Sergio KENNE TANGA, Mispah Ousmanou YONKEU ATCHOUNKEU, Owen Schopper TEDJONG, Diderot Giresse SEGNO TCHIO, Mermalisse FEUMBA MBAKOP, Joel MAVIA et Yann BASSECK avec qui j'ai eu le privilège de partager de nombreuses expériences de travail enrichissantes.

A la famille SAPE et à Mr. FOSSO Achille pour leur soutien indéfectible et leurs prières constantes.

A tous ceux qui de près ou de loin, m'ont apporté leur aide et leur encouragement dans l'accomplissement de ce travail. Je prie ceux que j'ai pu omettre de nommer de trouver ici l'expression de ma sincère reconnaissance.

TABLE DE MATIERES

DEDICACE.....	i
REMERCIEMENTS.....	ii
TABLE DE MATIERES	iv
LISTE DES SCHEMAS.....	vi
LISTE DES TABLEAUX	vii
LISTE DES FIGURES.....	viii
LISTE DES ABREVIATIONS ET SYMBOLES	ix
RESUME.....	xi
ABSTRACT	xii
INTRODUCTION.....	1
CHAPITRE I: REVUE DE LA LITTERATURE.....	3
I.1. Famille des Piperaceae	4
I.1.1. Description botanique des Piperaceae.....	4
I.1.2. Répartition géographique des Piperaceae	5
I.1.3. Usages ethnomédicinaux des Piperaceae	5
I.1.4. Travaux pharmacologiques antérieurs sur les Piperaceae	6
I.1.5. Travaux chimiques antérieurs sur la famille des Piperaceae.....	7
I.2. Le genre <i>Piper</i>	9
I.2.1. Description botanique du genre <i>Piper</i>	9
I.2.2. Répartition géographique du genre <i>Piper</i>	10
I.2.3. Usages ethnomédicinaux du genre <i>Piper</i>	12
I.2.4. Travaux pharmacologiques antérieurs sur le genre <i>Piper</i>	12
I.2.5. Travaux chimiques antérieurs sur le genre <i>Piper</i>	13
I.3. <i>Piper capense</i>	19
I.3.1. Classification botanique	19
I.3.2. Description botanique de <i>Piper capense</i>	20
I.3.3. Origine et distribution géographique de <i>P. capense</i>	20

I.3.5. Travaux pharmacologiques antérieurs sur <i>P. capense</i>	22
I.4. Généralités sur les métabolites secondaires.....	26
I.4.1. Composés phénoliques.....	26
I.4.1.1. Définition	26
I.4.1.2. Classification et structures chimiques des composés phénoliques.....	26
I.4.1.3. Biosynthèse des composés phénoliques	30
I.4.1.4. Intérêts biologiques des composés phénoliques.....	31
I.4.1.5. Méthodes d'isolement et de caractérisation des composés phénoliques	32
I.4.2. Les triterpènes.....	35
I.4.2.1. Définition	35
I.4.2.2. Classification et structures chimiques des triterpènes.....	35
I.4.2.3. Biosynthèse des triterpènes	37
I.4.2.4 Intérêts biologiques des triterpènes.....	37
I.4.2.5. Méthodes d'isolement et de caractérisation des triterpènes	38
CHAPITRE II: RESULTATS ET DISCUSSION.....	41
II.1. Etude chimique de <i>Piper capense</i>	42
II.2- Description des composés isolés.....	45
II.2.1 Détermination structurale de PC1	45
II .2.2 Détermination structurale de PC2.....	52
CONCLUSION ET PERSPECTIVES	59
CHAPITRE III: MATÉRIEL ET MÉTHODES.....	61
III.1 Appareillage et matériel végétal	62
III.1.1 Appareillage et techniques chromatographiques.....	62
III.1.2 Matériel végétal.....	63
III.2 Extraction, isolement et caractérisation des composés isolés.....	63
III.2.1 Préparation de l'extrait brut	63
III.2.2 Techniques d'isolement et de purification.....	64
III.2.2.1 Partition et fractionnement.....	64
III.2.2.2 Purification de la sous fraction B	65
III.2.2.3 Purification de la sous fraction D	65
III.3 Propriétés physico-chimiques et spectroscopiques des composés isolés	66
III.4. Tests caractéristiques	66
III.4.1. Test des phénols	66
III.4.2. Test de Libermann buchard (test des stéroïdes et triterpènes)	66
REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES	67

LISTE DES SCHEMAS

Schéma 1: Voie du Shikimate pour la production des composés phénoliques chez les plantes.....	31
Schéma 2: Voie de biosynthèse des triterpènes (Heller et Forkmann, 1988)	37
Schéma 3: Protocole d'extraction et de fractionnement des feuilles de <i>Piper capense</i>	43
Schéma 4: Protocole de purification et d'isolement des composés de la sous fraction B	44
Schéma 5: Protocole de purification et d'isolement des composés de la sous fraction D	44

LISTE DES TABLEAUX

Tableau I: Classification classique des Piperaceae selon Cronquist	4
Tableau II: Usages ethnomédicinaux de quelques espèces de la famille des Piperaceae	6
Tableau III: Quelques activités biologiques reportées dans la famille des Piperaceae.....	7
Tableau IV: Quelques métabolites secondaires reportés de la famille des Piperaceae	7
Tableau V: Usages ethnomédicinaux de quelques espèces du genre <i>Piper</i>	12
Tableau VI: Activités biologiques de quelques espèces du genre <i>Piper</i>	13
Tableau VII: Quelques alcaloïdes isolés du genre <i>Piper</i>	14
Tableau VIII: Quelques flavonoïdes isolés du genre <i>Piper</i>	15
Tableau IX: Quelques lignanes isolés du genre <i>Piper</i>	16
Tableau X: Quelques saponines isolées du genre <i>Piper</i>	17
Tableau XI: Quelques stéroïdes isolés du genre <i>Piper</i>	18
Tableau XII: Quelques triterpènes isolés du genre <i>Piper</i>	19
Tableau XIII: Taxonomie de <i>P. capense</i>	19
Tableau XIV: Usages ethnomédicinaux de <i>P. capense</i>	22
Tableau XV: Quelques propriétés biologiques de <i>P. capense</i>	22
Tableau XVI: Quelques alcaloïdes isolés de <i>P. capense</i>	23
Tableau XVII: Flavonoïdes et chalcones isolés de l'espèce <i>P. capense</i>	24
Tableau XVIII: Quelques néolignanes isolées de <i>Piper capense</i>	24
Tableau XIX: Stéroïdes isolés de <i>Piper capense</i>	25
Tableau XX: Quelques triterpènes isolés de <i>Piper capense</i>	25
Tableau XXI: Classification de quelques composés phénoliques.....	27
Tableau XXIII: Différents squelettes de base des flavonoïdes	29
Tableau XXIII: Quelques intérêts biologiques reportés des classes de composés phénoliques	32
Tableau XXIV: Quelques groupes structuraux des triterpènes	36
Tableau XXV: Quelques activités biologiques reportées des triterpènes.....	38
Tableau XXVI: Valeurs des déplacements chimiques RMN ¹ H (CDCl ₃ , 600 MHz), RMN ¹³ C (CDCl ₃ , 150 MHz) de PC1.....	51
Tableau XXVII: Valeurs de déplacements chimiques RMN ¹ H (D ₂ O, 600 MHz), RMN ¹³ C (D ₂ O, 150 MHz) de PC2	58

LISTE DES FIGURES

Figure 1: Répartition mondiale des Piperaceae	5
Figure 2: Fruits, feuilles et fleurs de quelques espèces du genre <i>Piper</i>	10
Figure 3: Repartition géographique des espèces du genre <i>Piper</i>	11
Figure 4: <i>Piper capense</i>	20
Figure 5: Repartition géographique de <i>Piper capense</i> dans le monde	21
Figure 6: Spectre de masse du composé PC1	45
Figure 7: Spectre RMN ^1H (CDCl_3 , 600 MHz) du composé PC1	46
Figure 8: Spectre RMN ^{13}C (CDCl_3 , 150 MHz) du composé PC1	47
Figure 9: Spectre DEPT 135 (CDCl_3 , 150 MHz) du composé PC1	47
Figure 10: Spectre APT (CDCl_3 , 150 MHz) du composé PC1	48
Figure 11: Spectre HSQC (CDCl_3) du composé PC1	48
Figure 12: Spectre HMBC (CDCl_3) du composé PC1	50
Figure 13: Spectre de masse du composé PC2	52
Figure 14: Spectre RMN ^1H (D_2O , 600 MHz) du composé PC2	53
Figure 15: Spectre RMN ^{13}C (D_2O , 150 MHz) du composé PC2	54
Figure 16: Spectre DEPT 135 (D_2O , 150 MHz) du composé PC2	54
Figure 17: Spectre HSQC (D_2O) du composé PC2	55
Figure 18: Spectre HMBC (D_2O) du composé PC2	56
Figure 19: Spectre COSY (D_2O) du composé PC2	57
Figure 20: Évaporateur rotatif de marque HEIDOLPH	63
Figure 21: Etapes d'extraction de la poudre de <i>P. capense</i>	64
Figure 22: Partition à l'acétate d'éthyle (A) et CC de fractionnement sur VLC (B)	64
Figure 23: CC de purification sur gel de silice	65

LISTE DES ABREVIATIONS ET SYMBOLES

δ	Déplacement chimique
μm	Micromètre
AcOEt	Acétate d'éthyle
^{13}C	Carbone 13
CC	Chromatographie sur Colonne
CCM	Chromatographie sur Couche Mince
CDCl_3	Chloroforme deutéré
COSY	<i>Correlation Spectroscopy</i>
D	Diamètre
d	Doublet (RMN)
dd	Doublet de doublé (RMN)
DEPT	<i>Distortionless Enhancement by Polarisation Transfert</i>
D_2O	Eau deutéré
ESI	<i>ElectroSpray Ionisation</i>
Fig.	Figure
Glu	Glucose
^1H	Proton
Hex	Hexane
Hz	Hertz
HMBC	<i>Heteronuclear Multiple Bond Correlation</i>
HSQC	<i>Heteronuclear Single Quantum Coherence</i>
IR	Infra rouge
J	Constante de Couplage en Hertz
L	Litre
Ln	Longueur
m	Multiplet
mL	Millilitre
MS	<i>Mass Spectrum</i>

MeOH	Méthanol
MHz	Mégahertz
n-BuOH	n-Butanol
NOESY	<i>Nuclear Overhauser Effect Spectroscopy</i>
ppm	Partie par million
P.	<i>Piper</i>
RMN	Résonance Magnétique Nucléaire
s	Singulet
t	Triplet
UV	Ultraviolet
VLC	<i>Vaccum Liquid Chromatography</i>

RESUME

Ce travail porte sur l'étude chimique de la fraction à l'acétate d'éthyle des feuilles de *Piper capense* Linn (Piperaceae). La poudre des feuilles de cette plante a été soumise à une macération exhaustive dans un mélange de solvant MeOH-H₂O (8:2). L'extrait brut ainsi obtenu a été fractionné par partition liquide-liquide successive en utilisant l'hexane (Hex), l'acétate d'éthyle (AcOEt) et le n-butanol (n-BuOH) saturé d'eau. La fraction à l'acétate d'éthyle a été soumise à une chromatographie flash (VLC) sur gel de silice, avec un gradient de solvants CH₂Cl₂-MeOH-H₂O pour donner six fractions sur la base de leur profil chromatographique. Deux des fractions résultantes ont été soumises à des CC sur gel de silice et/ou gel de Sephadex LH-20 pour donner trois composés purs qui ont été indexés PC1, PC2 et PC3. Les analyses structurales des composés PC1 et PC2 ont été faites à l'aide des méthodes spectroscopiques usuelles 1D (RMN ¹H, RMN ¹³C) et 2D (COSY, HMBC, HSQC et NOESY) couplées à la spectrométrie de masse et par comparaison avec les données de la littérature. Ces composés ont été identifiés comme étant un triterpène (lupéol) et un composé phénolique (acide 3-O-caffeoyl-1-méthylquinique).

Mots clés: Piperaceae, *Piper capense*, triterpène, acide phénolique, RMN.

ABSTRACT

This work focuses on the chemical study of the ethyl acetate fraction of the leaves of *Piper capense* Linn (Piperaceae). The leaf powder of this plant was submitted to an exhaustive maceration with a solvent mixture of MeOH-H₂O (8:2). The obtained crude extract was fractionated by successive liquid-liquid partition using hexane (Hex), ethyl acetate (EtOAc), and n-butanol (n-BuOH) saturated with water. The ethyl acetate fraction was subjected to vacuum liquid chromatography over silica gel using gradient mixture of CH₂Cl₂-MeOH-H₂O to yield six fractions based on their chromatographic profiles. Two of the resulting fractions were further purified over silica and/or Sephadex LH-20 gels CC, leading to the isolation of three pure compounds PC1, PC2 and PC3. Structural analysis of compounds PC1 and PC2 were carried out using one-dimensional (¹H NMR, ¹³C NMR) and two-dimensional (COSY, HMBC, HSQC, and NOESY) spectroscopic methods, coupled with mass spectrometry and by comparison with literature data. These compounds were identified as a triterpene (lupeol) and a phenolic compound (3-O-caffeoyl-1-methyl quinic acid).

Key words: Piperaceae, *Piper capense*, triterpene, phenolic acid, NMR

INTRODUCTION

L'exploration du règne végétal à des fins thérapeutiques est une pratique aussi ancienne que l'humanité elle-même. La phytothérapie qui est donc fondée sur l'utilisation des plantes médicinales, a constitué pendant des siècles la principale source de médicament. Aujourd'hui encore et face aux défis posés par l'émergence de nouvelles maladies et l'apparition de résistances des agents pathogènes aux médicaments, les mutations des agents pathogènes, ainsi que des réactions allergiques provoquées par les médicaments, l'intérêt pour les molécules d'origine naturelle reste toujours aussi vif. A cet effet, les laboratoires pharmaceutiques, se tournent de plus en plus vers la biodiversité végétale, une source inépuisable de composés aux propriétés thérapeutiques, afin de découvrir de nouveaux principes actifs et comprendre leurs mécanismes d'actions. Les plantes médicinales devenues de ce fait une source majeure de découverte de nouveaux principes actifs occupent à cet effet une place centrale dans la recherche pharmaceutique.

Dans le cadre de la recherche des molécules bioactives d'origine végétale, notre équipe s'est intéressée à *Piper capense*, précisément à l'étude chimique de la fraction à l'acétate d'éthyle des feuilles de *Piper capense* Linn (Piperaceae); une espèce de poivre largement répandue en Afrique. Le choix de cette plante s'explique par son utilisation traditionnelle dans la pharmacopée locale dans le traitement et par les résultats prometteurs obtenus à la suite d'études similaires sur d'autres espèces du genre *Piper*, car de nombreux composés bioactifs, aux propriétés anti-inflammatoire, antioxydante et antimicrobienne ont notamment été isolées de différentes espèces du genre *Piper* (Mothana et *al.*, 2016).

Ce mémoire écrit en accomplissement partiel en vue de l'obtention du diplôme de Master, est consacré à l'isolement et la caractérisation des métabolites secondaires de la fraction suscitée. Cette étude à caractère théorique et expérimentale s'inscrit dans le cadre d'une démarche scientifique visant à explorer les potentialités chimique et pharmacologique de la chimie végétale. Pour se faire, après une revue exhaustive de la littérature scientifique existante, nous avons procédé à l'extraction, au fractionnement, à la purification et enfin à la caractérisation des composés isolés. Ce document qui synthétise l'ensemble de nos travaux est structuré comme suit: une revue de la littérature, les résultats obtenus et discussion, une partie expérimentale et enfin une liste des documents exploités.

CHAPITRE I: REVUE DE LA LITTERATURE

I.1. Famille des Piperaceae

I.1.1. Description botanique des Piperaceae

La famille des Piperaceae, communément appelée famille du poivre, constitue un groupe de plantes à fleurs extrêmement diversifié, comprenant environ 3700 espèces. Cette famille se subdivise en 12 genres dont 7 ont été décrits (Stevens, 2008). Parmi les genres les plus représentatifs, on retrouve: *Lepianthes*, *Macropiper*, *Manekia*, *Ottonia*, *Peperomia*, *Piper* et *Sarcorhachis*. Les genres moins connus incluent *Heckeria*, *Lindenipiper*, *Piperanthera*, *Trianaeopiper* et *Verhuellia* (Agardh, 2002). Les genres *Piper* et *Peperomia* sont particulièrement importants et regroupent respectivement environ 2000 et 1500 espèces (Samain et al., 2010).

La famille des Piperaceae regroupe des plantes herbacées parfois ligneuses, présentant une grande diversité morphologique. Ses espèces, annuelles ou vivaces, peuvent adopter des diverses portées: herbacées, arbustives, lianescentes, voire arborées. Certaines espèces sont épiphytes. Les premières feuilles lors de la germination appelées prophylls sont parfois présentes et peuvent être soudées au pétiole. Le feuillage est simple, généralement alterne, mais peut être opposé ou verticillé (disposé en anneau) chez les *Peperomia*. Le limbe foliaire est entier et la nervation (disposition des nervures) est le plus souvent palmée ou pennée (Agardh, 2002).

Conformément aux classifications traditionnelles pré-moléculaires (Cronquist, 1988), les Piperaceae sont des plantes dicotylédones appartenant à l'ordre des Pipérales, ordre qui comprend également les *Chlorantaceae* et les *Saururaceae*. La classification classique est basée essentiellement sur les critères morphologique et anatomique (**Tableau I**).

Tableau I: Classification classique des Piperaceae selon Cronquist

Règne	Plantae
Sous-règne	Tracheobionta (plantes vasculaires)
Embranchement	Spermaphytes (plantes à graines)
Sous-embranchement	Angiosperme (plantes à fleurs)
Classe	Magnoliopsida (dicotylédones)
Sous-classe	Magnoliidae
Ordre	Pipérales
Famille	Piperaceae

I.1.2. Répartition géographique des Piperaceae

Les Piperaceae trouvent principalement leur habitat dans les forêts tropicales de l'Amérique du Sud, avec une présence notable, quoique moins importante en Asie tropicale. Quelques espèces existent tout de même en Afrique tropicale (Cronquist, 1988). Au Cameroun, les genres *Piper* et *Peperomia* sont particulièrement représentés dans les régions du Centre, de l'Est, du Littoral et du Sud-ouest (Tchoumboungang et *al.*, 2009).



● Zones marquées par la présence des Piperaceae dans le monde

Figure 1: Répartition mondiale des Piperaceae (Stevens, 2008)

I.1.3. Usages ethnomédicinaux des Piperaceae

Dans le cadre de la pharmacopée traditionnelle, les extraits de plantes préparés sous diverses formes telles que les décoctions, macérations et les infusions sont utilisés pour traiter un large éventail de maladies. De nombreuses parties des plantes de la famille Piperaceae sont utilisées pour soulager diverses affections. Des études ont d'ailleurs mis en évidence les effets bénéfiques de nombreuses espèces de cette famille sur la santé. Le tableau II ci-dessous présente un aperçu des usages traditionnels de quelques espèces représentatives de cette famille.

Tableau II: Usages ethnomédicinaux de quelques espèces de la famille des Piperaceae

Espèces	Parties utilisées	Utilisations	Pays	Références
<i>Piper guineense</i>	Feuille	Traitement des maladies intestinales, de la toux et des bronchites.	Nigeria	Nwachukwu et <i>al.</i> , 2010
<i>Piper nigrum</i>	Feuille	En décoction pour réduire la fièvre. En infusion pour traiter la diarrhée et les douleurs abdominales.	Cameroun	Ndze et <i>al.</i> , 2014 Ayissi et <i>al.</i> , 2016
<i>Peperomia pellucida</i>	Feuille	Traitement de la fièvre et pour le bandage des plaies.	Bangladesh	Khan et <i>al.</i> , 2008
<i>Piper umbellatum</i>	Feuille et fruit	En préparation (macération, infusion) pour traiter les troubles gastriques tels que: la diarrhée et la dysenterie.	Brésil	Durant-Archibold et <i>al.</i> , 2018

I.1.4. Travaux pharmacologiques antérieurs sur les Piperaceae

Les plantes de la famille des Piperaceae ont fait l'objet de nombreux travaux pharmacologiques visant à étayer leurs utilisations traditionnelles en médecine. Les chercheurs se sont intéressés aux différentes parties de ces plantes pour identifier les molécules actives responsables de leurs propriétés thérapeutiques. Les résultats de ces recherches ont mis en évidence un large spectre d'activités biologiques comme énoncé dans le tableau III.

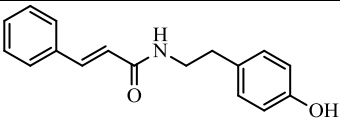
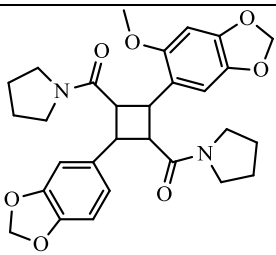
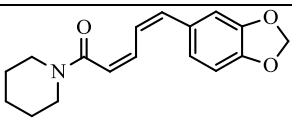
Tableau III: Quelques activités biologiques reportées dans la famille des Piperaceae

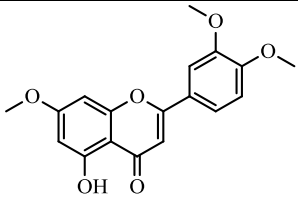
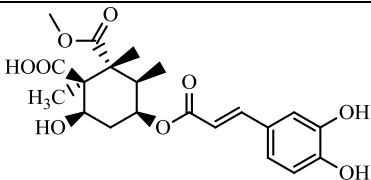
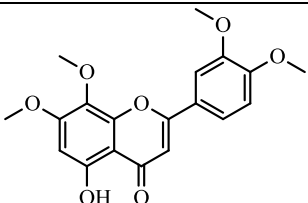
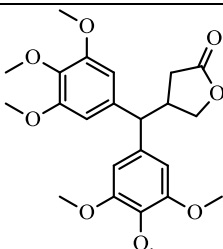
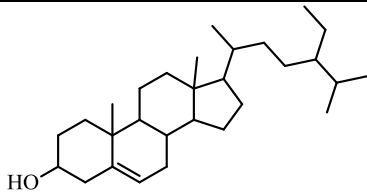
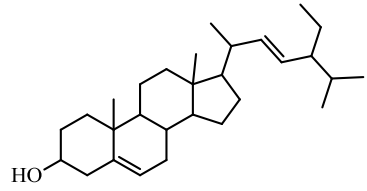
Espèces	Parties utilisées	Activités biologiques	Références
<i>Piper guineense</i>	Feuille et graine	Anti-inflammatoire	Akinloye et <i>al.</i> , 2020
<i>Piper longum</i>	Racine	Antioxydante Antidiabétique	Nabi et <i>al.</i> , 2013
<i>Peperomia pellucida</i>	Feuille	Antioxydante Anti-inflammatoire	Zhi xiang et <i>al.</i> , 2020
<i>Piper umbellatum</i>	Feuille	Anti-inflammatoire Antifongique Antioxydante	López-Hortas et <i>al.</i> , 2018

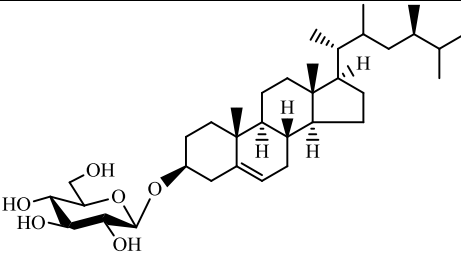
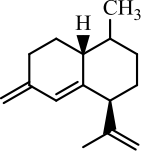
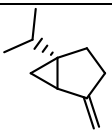
I.1.5. Travaux chimiques antérieurs sur la famille des Piperaceae

Les études chimiques antérieures menées sur la famille des Piperaceae ont révélées la présence de nombreuses classes de métabolites secondaires parmi lesquels: les alcaloïdes/amides, les terpènes, les flavonoïdes, les lignanes et les stéroïdes entre autres.

Tableau IV: Quelques métabolites secondaires reportés de la famille des Piperaceae

Noms des composés	Structures	Sources	Références
N-(4-Hydroxyphenyl) ethylène cinnamamide	 1	<i>Piper steerni</i>	Posso et <i>al.</i> , 1994
Cyclobutane-2-(1,3-benzodioxol-5-methoxy-6-yl)-4-(1,3-benzodioxol-6-yl)-1,3-dicarboxapyrrolidide	 2	<i>Piper peepuloide</i>	Dhar et <i>al.</i> , 1995
Chavicine	 3	<i>Piper nigrum</i>	Liu et <i>al.</i> , 2011

5-Hydroxy-7,3',4'-trimethoxyflavone	 4	<i>Peperomia dindygulensis</i>	Wang et al., 2012
Acide-4-O-caffeoyl-2-C-methoxycarbonyl-1-C-methyl-2,3,6-trihydroxycyclohexanecarboxylique	 5	<i>Piper guineense</i>	Kamto et al., 2014
5-Hydroxy-3',4',7,8-tetramethoxy Flavone	 6	<i>Peperomia cavaleriei</i>	Li et al., 2018
Pépéromine C	 7	<i>Peperomia tetraphylla</i>	Wang et al., 2021
β -Sitostérol	 8	<i>Peperomia vulcanica</i>	Li et al., 2011
Stigmastérol	 9	<i>Peperomia tetraphylla</i>	Chouna et al., 2021

β -Sitostérol-3-O- β -D-glucoside	 10	<i>Peperomia vulcanica</i>	Chouna et al., 2021
Bicyclosesquiphellandrene	 11	<i>Piper cubeba</i>	Terhune et al., 1974
Sabinène	 12	<i>Piper guineense</i>	Dorman et Deans, 2000

I.2. Le genre *Piper*

I.2.1. Description botanique du genre *Piper*

Les plantes appartenant au genre *Piper* se présentent sous forme d'arbustes ou de lianes ligneuses à feuillage persistants. Plus rarement, on peut observer de petits arbres ou des plantes herbacées vivaces, plus ou moins aromatiques. Les tiges sont munies de prophylls, premières feuilles écailleuses apparaissant lors de la germination, souvent caduques et parfois soudées aux pétioles (partie rétrécie de certaines feuilles vers la tige). Les feuilles, simples et entières, sont alternes et présentent une nervation pennée. Elles sont fréquemment pubescentes (couvertes de poils fins). Les fleurs actinomorphes (présence d'une symétrie axiale) sont très généralement unisexuées ou plus secondairement bisexuées et groupées en épis denses, terminaux ou opposés aux feuilles. Les sessiles (directement fixées à la tige) se composent pour les mâles de 2 à 6 étamines libres avec des anthères biloculaires (deux cavités) et pour les fleurs femelles, d'un ovaire supère à semi-infère, uniloculaire, constitué par 3 à 5 carpelles (enveloppe renferment les ovules) soudés. Les fruits, souvent sessiles, sont des drupes (charnues à noyaux) généralement glabres (dépourvus de poils) (Agardh, 2002).



Piper nigrum



Piper umbellatum



Piper longum



Piper crassinervium

Figure 2: Fruits, feuilles et fleurs de quelques espèces du genre *Piper* (Agardh, 2002)

I.2.2. Répartition géographique du genre *Piper*

Le genre *Piper* est l'un des plus vastes de la famille des Piperaceae. Ces plantes, souvent aromatiques, sont largement répandues dans les forêts tropicales humides du monde entier (Frodin, 2004) (**Fig. 3**). En Afrique, le genre *Piper* est présent à partir de la Guinée jusqu'à l'Éthiopie et de l'Angola jusqu'au Mozambique, avec des espèces principales comme *P. betle*, *P. capense*, *P. cubeba*, *P. nigrum*, *P. umbellatum*, *P. sylvestre*, *P. subeltatum* et *P. guineense* (Schmelzer et al., 2008). Seules quatre de ces espèces (*P. capense*, *P. nigrum*, *P. umbellatum* et *P. guineense*) ont été répertoriées au Cameroun jusqu'à présent (Tchoumboungang et al., 2009).

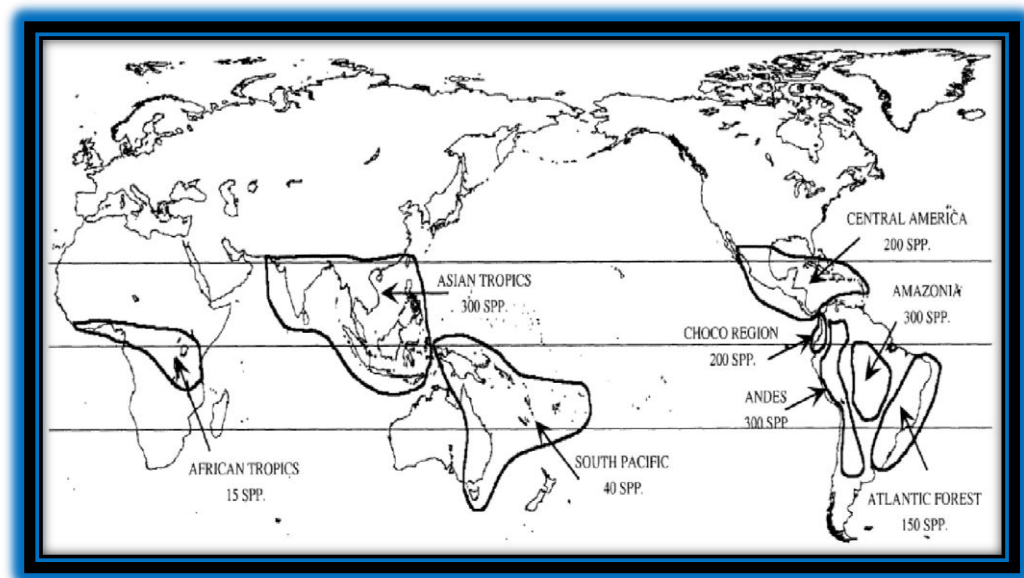


Figure 3: Répartition géographique des espèces du genre *Piper* (Jaramillo et Manos, 1988)

I.2.3. Usages ethnomédicinaux du genre *Piper*

Les espèces du genre *Piper* sont réputées pour leurs propriétés thérapeutiques variées. (Felipe et *al.*, 2007). Les usages ethnopharmacologiques de certaines espèces du genre *Piper* sont répertoriés dans le tableau V.

Tableau V: Usages ethnomédicinaux de quelques espèces du genre *Piper*

Espèces	Parties	Utilisations et indications	Pays	Références
<i>P. amalago</i>	Feuille	Traitement des brûlures.	Porto Rico et les Caraïbes	Durant-Archibold et <i>al.</i> , 2018
<i>P. kadsura</i>	Ecorce du tronc	En infusion pour soigner l'asthme.	Taïwan	Juliani, 2013
<i>P. nigrum</i>	Feuille	Traitement du choléra, des vertiges, de l'obésité, de la sinusite et de la fièvre.	Inde	Sashidar, 2002
	Fruit	Traitement des maladies de la peau.		Sashidar, 2002
<i>P. tuberculatum</i>	Fruit	Utilisés comme antidote contre les morsures des serpents.	Brésil	Felipe et <i>al.</i> , 2007
<i>P. umbellatum</i>	Feuille	Traitement des œdèmes, des filaires, du rhumatisme et des hémorroïdes.	Cameroun	Tabopda et <i>al.</i> , 2008
		En décoction pour le traitement de la toux, du diabète et l'hypertension	Comores	Kaou et <i>al.</i> , 2008

I.2.4. Travaux pharmacologiques antérieurs sur le genre *Piper*

S'appuyant sur leurs usages en médecine traditionnelle, le genre *Piper* a fait l'objet de nombreuses investigations scientifiques dans le but de justifier leur utilisation. Ces recherches ont mis en évidence diverses activités biologiques intéressantes chez plusieurs espèces. Le tableau VI répertorie quelques travaux pharmacologiques antérieurs de certaines espèces du genre *Piper*.

Tableau VI: Activités pharmacologiques de quelques espèces du genre *Piper*

Espèces	Activités biologiques	Références
<i>P. aduncum</i>	Antifongique	Valadares et <i>al.</i> , 2018
<i>P. arboreum</i>		Regasini et <i>al.</i> , 2009
<i>P. betle</i>	Antibactérienne	Pauli, 2002
<i>P. cubeba</i>	Antioxydante Antimicrobienne Hepatoprotective Anti-inflammatoire	Mothana et <i>al.</i> , 2016
<i>P. gaudichaudianum</i>	Insecticide	Puhl, et <i>al.</i> , 2011
<i>P. longum</i>	Immunomodulateur Anticancéreuse Antidépresseur	Sunila et Kuttan, 2004
<i>P. methysticum</i>	Analgésique Anticonvulsante Anti-anxiété	Scott et <i>al.</i> , 2004
<i>P. nigrum</i>	Anti-inflammatoire	Singh, 2008
<i>P. solmsianum</i>	Antibactérienne	Navickienne et <i>al.</i> , 2000
<i>P. umbellatum</i>	Insecticide	Tabopda et <i>al.</i> , 2008

I.2.5. Travaux chimiques antérieurs sur le genre *Piper*

Les investigations chimiques menées sur les espèces du genre *Piper* ont permis d'isoler et la caractériser de plusieurs classes de métabolites secondaires dont les plus représentatives sont:

- Les alcaloïdes
- Les flavonoïdes
- Les lignanes
- Les saponines
- Les stéroïdes
- Les triterpènes

➤ Alcaloïdes

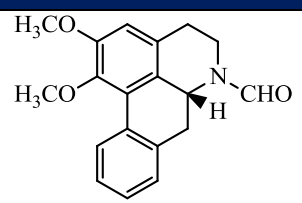
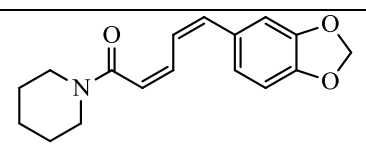
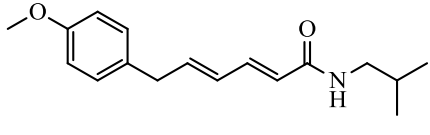
Le terme alcaloïde désigne les substances naturelles réagissant comme des bases (Bruneton, 1993). On peut considérer les alcaloïdes comme des substances basiques qui contiennent un ou

plusieurs atomes d'azote engagés le plus souvent dans un cycle. Ils sont classés en trois groupes (Bruneton, 1993):

- ✓ Les alcaloïdes vrais pour qui l'azote est inclus dans le système hétérocyclique et qui bio génétiquement dérivent des acides aminés;
- ✓ Les proto-alcaloïdes qui sont des amines simples dont l'azote n'est pas inclus dans les systèmes hétérocycliques. Ils sont réalisés in vitro à partir des acides aminés;
- ✓ Les pseudo-alcaloïdes qui présentent toutes les caractéristiques des alcaloïdes vrais à la seule différence qu'ils ne dérivent pas des acides aminés. Il s'agit dans la majorité des cas connus d'isoprénoides et on parle d'alcaloïdes terpéniques.

Certaines de ces molécules sont notamment répertoriées ci-dessous.

Tableau VII: Quelques alcaloïdes isolés du genre *Piper*

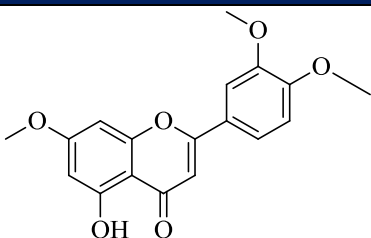
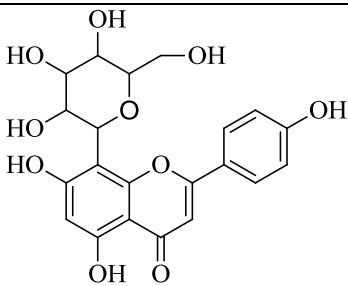
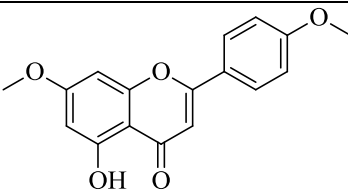
Noms	Structures	Sources	Références
N-Formylnornuciferine	 13	<i>P. argyrophyllum</i>	Rukachaisirikul, 2002
Chavicine	 3	<i>P. nigrum</i>	Liu et al., 2011
Piperovatine	 14	<i>P. piscatorum</i>	Tatsuya et Seiji, 2018

➤ Les flavonoïdes

Ce sont les pigments très répandus dans le monde végétal. Leur structure caractéristique, composée de 15 atomes de carbone disposés suivant l'enchaînement C₆-C₃-C₆. Les flavonoïdes sont des polyphénols hydrosolubles répandus dans le règne végétal et sont responsables de la couleur des fleurs et des fruits. (Bruneton, 1993). Ils ont des propriétés antiinflammatoires (Paulino et al., 2006), anti-allergiques, hépatoprotectrices, cytotoxiques, antitumorales, antispasmodiques hypocholestérolémiantes, diurétiques, antibactériennes, antivirales et certains d'entre eux exhibent

l'activité vitrocystostatique (Poumale, 2007). Certains flavonoïdes isolés du genre *Piper* sont recensés dans le tableau VIII.

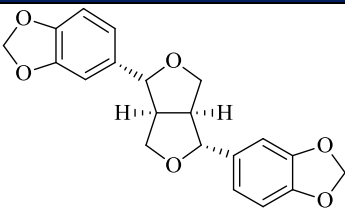
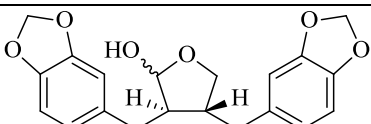
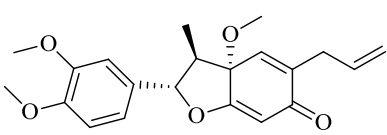
Tableau VIII: Quelques flavonoïdes isolés du genre *Piper*

Noms	Structures	Sources	Références
5-Hydroxy-7,3',4'-trimethoxyflavone	 6	<i>P. porphyrophyllum</i>	Rajudin et <i>al.</i> , 2010
Vitexine	 15	<i>P. marginatum</i>	Ghosh et <i>al.</i> , 2014
5-Hydroxy-7,4'-dimethoxyflavone	 16	<i>P. bonii</i>	Ding et <i>al.</i> , 2016

➤ Les lignanes

Les lignanes constituent une classe de composés organiques naturels caractérisés par leur structure dimérique. Ces molécules, résultant de la combinaison de deux unités phénylpropéniques, sont fréquemment rencontrées dans le règne végétal. Le tableau suivant illustre quelque lignanes isolées des plantes du genre *Piper*.

Tableau IX: Quelques lignanes isolés du genre *Piper*

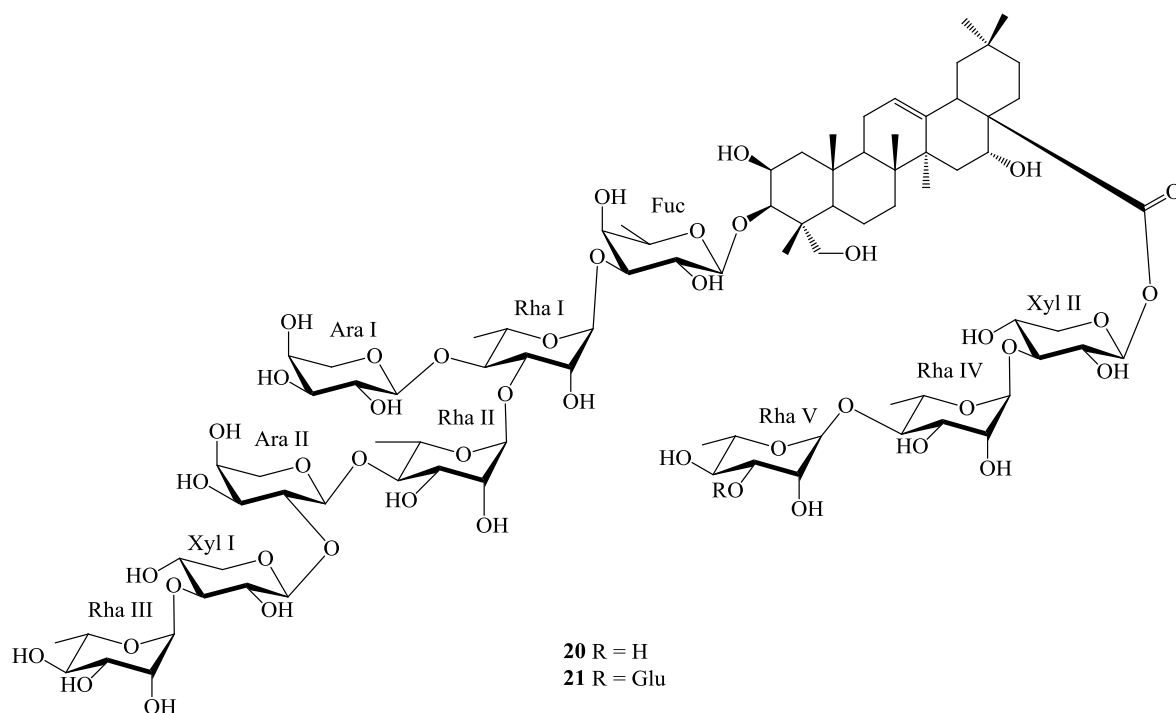
Noms	Structures	Sources	Références
Sesamine	 17	<i>P. peepuloides</i>	Dhar et Raina, 1973
(-)-Cubebene	 18	<i>P. lacunosum</i>	Vanegas et al., 1984
Kadsurenone	 19	<i>P. futokadsura</i>	Chang et al., 1985

➤ Les saponines

Les saponines, des molécules complexes aux propriétés tensioactives, (diminution de la tension superficielle entre deux liquides) et moussantes (capacité à produire de la mousse), sont des molécules rencontrées dans de nombreuses plantes, y compris celle du genre *Piper*. (Bruneton, 2009). De nombreuses études effectuées sur les plantes du genre *Piper* ont mis en lumière la présence de diverses saponines comme illustre ci-dessous.

Tableau X: Quelques saponines isolées du genre *Piper*

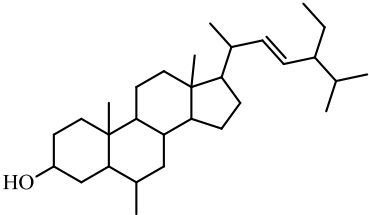
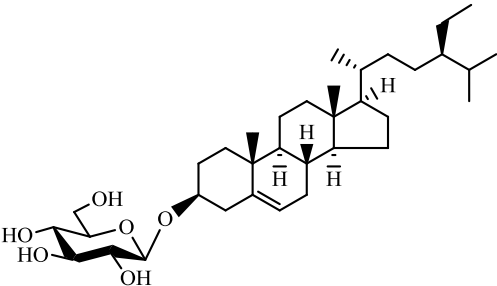
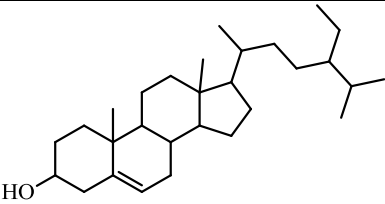
Noms	Structures	Sources	Références
Guineenoside A	20	<i>P. guineense</i>	Kamto et al., 2021
Guineenoside B	21		



➤ Les stéroïdes

Les stéroïdes sont des lipides complexes dont la structure moléculaire repose sur un noyau caractéristique formé de quatre cycles carbonés fusionnés. Ils jouent un rôle essentiel dans la régulation de nombreux processus biologique notamment la régulation des hormones. Le genre *Piper*, riche en espèces aux propriétés médicinales, renferme-lui aussi quelques variétés de stéroïde. Le tableau XI présente un aperçu de quelques-uns ces composés.

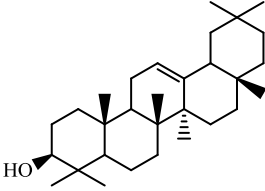
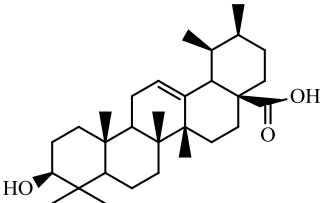
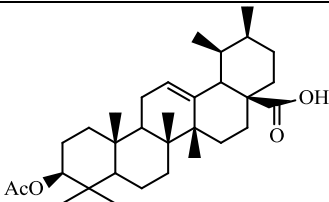
Tableau XI: Quelques et stéroïdes isolés du genre *Piper*

Noms	Structures	Sources	Références
Stigmastérol	 9	<i>P. glabratum</i>	Leitao et al., 2020
β -Sitostérol-3-O- β -D-glucoside	 10	<i>P. betle</i>	Yin et al., 2009
β -Sitostérol	 8	<i>P. betle</i> <i>P. glabratum</i>	Ghosh et al., 2019 Leitao et al., 2020

➤ Les triterpènes

Les triterpènes constituent une classe composés organiques naturels caractérisés par une structure moléculaire de base à 30 atomes de carbone. Ces molécules, résultant de l'assemblage de six unités isopréniques, sont largement répandues dans le règne végétal. Leur diversité structurale leur confère un large spectre d'activité biologique. Le genre *Piper*, en particulier est une source remarquable de triterpènes, comme le témoigne le tableau suivant qui récénces quelques-uns de ces composés isolés de différentes espèces du genre *Piper*.

Tableau XII: Quelques triterpènes isolés du genre *Piper*

Noms	Structures	Sources	Références
Acide ursolique	 22	<i>P. betle</i>	Saeed et al., 1993
β -Amyrine	 23	<i>P. amalga</i>	Dominguez et Alcorn, 1985
Acide ursolique 3 β -acétate	 24	<i>P. betle</i>	Saeed et al., 1993

I.3. *Piper capense*

I.3.1. Classification botanique

P. capense occupe la position suivante dans la classification classique des plantes.

Tableau XIII: Taxonomie de *P. capense* (Kochhar, 1998)

Embranchement	Spermaphytes
Sous embranchement	Angiospermes
Classe	Magnolopsides
Sous classe	Magnoliidae
Ordre	Piperales
Famille	Piperaceae
Genre	<i>Piper</i>
Espèce	<i>Piper capense</i>

I.3.2. Description botanique de *Piper capense*

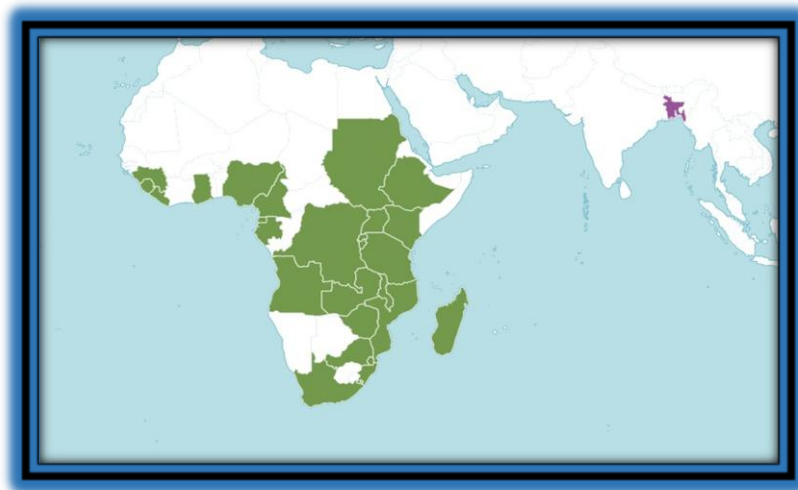
P. capense est une plante herbacée ou arbustive pouvant atteindre 2 m de haut. Cette espèce végétale se distingue par son port ou tige érigé parfois grimpant. (Edwards et *al.*, 2000). Ses Feuilles simples et alternes, à limbe largement ovale, sont composées de pétioles de 2 à 6 cm de long. Les inflorescences, solitaires ou opposées aux feuilles portent des fleurs unisexuées ou bisexuées réunis en épis dense. Ces épis de couleur verdâtre sont souvent situés à l'aisselle des feuilles. Les fruits, de petites tailles et de couleur blanche, sont des baies charnues regroupées en épis denses (Bernard.,1996; Edwards et *al.*, 2000).



Figure 4: *Piper capense* (https://fr.freepik.com/photos-premium/piper-capense-poivre-long-africain-poivre-long-ethiopien-timiz-dans-jardin_42345681.htm)

I.3.3. Origine et distribution géographique de *P. capense*

P. capense, un membre de la famille des poivriers, est largement répandu à travers le continent africain, particulièrement dans les régions tropicales et subtropicales. La figure 5 est une carte de répartition qui nous permet de visualiser l'aire géographique de *P. capense*.



●: Kenya, Éthiopie, Tanzanie, Ouganda, Soudan, Angola, Ghana, Nigeria, Burundi, Comores, Cameroun, RDC, Madagascar.

Figure 5: Repartition géographique de *Piper capense* en Afrique
(<https://powo.science.kew.org/taxon/urn:lsid:ipni.org:names:682369-1>)

I.3.4. Usages ethnomédicinaux de l'espèce *P. capense*

P. capense, véritable trésor de la pharmacopée traditionnelle africaine, est reconnu depuis des siècles pour ses nombreuses vertus thérapeutiques. Les propriétés thérapeutiques de cette espèce sont particulièrement étendues. En effet cette plante est utilisée pour traiter un large éventail d'affections allant des paralysies, aux infections virales en passant par les troubles digestifs, les maladies métaboliques (diabète) et les maladies parasitaires (paludisme) (**tableau XIV**).

Tableau XIV: Usages ethnomédicinaux de *P. capense*

Parties utilisées	Usages ethnomédicinaux	Pays	Références
Fruit	Soins des Troubles urinaires; Traitement des cancers.	Cameroun	Mbaveng et <i>al.</i> , 2017 Eyob et <i>al.</i> , 2018
	Traitement de l'hypertension artérielle	République Démocratique du Congo	Kasali et <i>al.</i> , 2021
Partie aérienne	Traitement des blessures, de l'infertilité, des pertes vaginales, des maux de gorges, des douleurs à la langue.	Afrique du sud	Koch et <i>al.</i> , 2005
	Traitement des affections telles que: la diarrhée, la toux et les douleurs abdominales.	Ile des Comores	Kaou et <i>al.</i> , 2008
	Traitement du Paludisme et des indigestions.	Ethiopie	Debebe et <i>al.</i> , 2018
Partie aérienne et racine	Traitement du Paludisme	Kenya	Koch et <i>al.</i> , 2005

I.3.5. Travaux pharmacologiques antérieurs sur *P. capense*

L'intérêt pour *P. capense* en tant que source potentielle de nouvelles molécules bioactives a suscité de nombreuses études pharmacologiques au cours de ces dernières années. La diversité des propriétés pharmacologiques de l'espèce *P. capense* est illustrée ci-dessous.

Tableau XV: Quelques propriétés biologiques de *P. capense*

Espèces	Activités biologiques	Références
<i>Piper capense</i>	Antibactérienne	Steenkamp et <i>al.</i> , 2007
	Antifongique	Samie et <i>al.</i> , 2010
	Antimicrobienne	Kpoviessi et <i>al.</i> , 2014
	Anticancereux	Kamsu et Ndebias, 2024
	Antiépileptique	

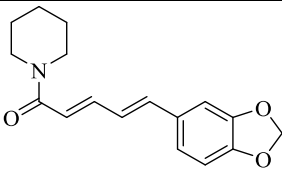
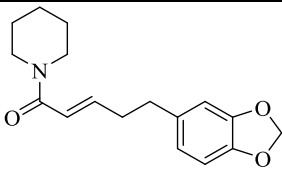
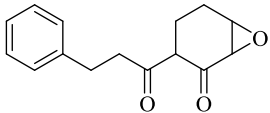
I.3.6. Investigations phytochimiques antérieures sur *P. capense*

Les études phytochimiques menées sur *P. capense* ont permis d'identifier une diversité de métabolites secondaires à l'instar de: les alcaloïdes, les flavonoïdes, les néolignanes, les stéroïdes, et les triterpènes.

➤ Alcaloïdes

Parmi les composés identifiés de *P. capense*, les alcaloïdes occupent une place importante. Les travaux de recherches ont permis d'isoler et de caractériser plusieurs alcaloïdes, dont les structures sont représentées dans le tableau XVI.

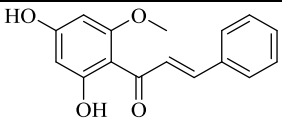
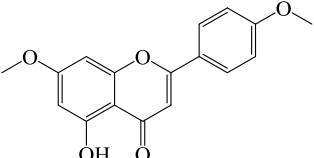
Tableau XVI: Quelques alcaloïdes isolés de *P. capense*

Noms	Structures	Parties	Références
Pipérine	 25	Racine	Pedersen et <i>al.</i> , 2009
4,5-Dihydropipérine	 26	Racine	Pedersen et <i>al.</i> , 2009
Kaousine	 27	Partie aérienne	Kaou et <i>al.</i> , 2010

➤ Flavonoïdes et chalcones

Au sein de la grande famille des flavonoïdes, les chalcones occupent une place de précurseurs. Ces composés organiques se distinguent par leur structure caractéristique composée de deux cycles aromatiques reliés par une chaîne à trois atomes de carbone. De nombreux flavonoïdes, dont certaines ont été isolés de *P. capense* et présentées dans le tableau XVII suivant partagent cette architecture moléculaire fondamentale.

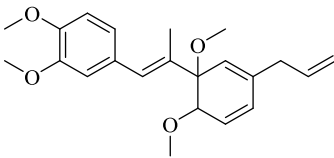
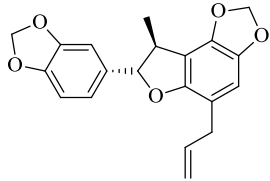
Tableau XVII: Flavonoïdes et chalcones isolés de l'espèce *P. capense*

Noms	Structures	Références
Cardamomine	 28	Terreaux et <i>al.</i> , 1998
5-Hydroxy-4',7-dimethoxyflavone	 29	Kaou et <i>al.</i> , 2010

➤ Néolignanes

Ce sont des lignanes présentant des modifications structurales supplémentaires. Elles sont issues de la dimérisation d'unités phénylpropéniques et présentent tout aussi une grande diversité structurale. Certaines néolignanes isolées de *Piper capense* sont représentées ci-dessous.

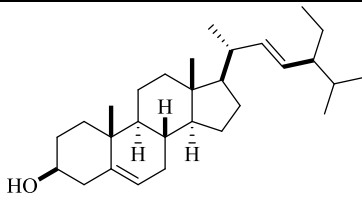
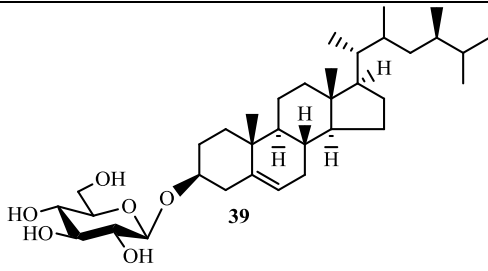
Tableau XVIII: Quelques néolignanes isolées de *Piper capense*

Noms	Structures	Références
Wallichinine	 30	Green et <i>al.</i> , 1991
7-(1,3-benzodioxol-5-yl)-7,8-dihydro-8-methyl-5-(2-propenyl)-furo[3,2-e]-1,3-benzodioxole	 31	Green et <i>al.</i> , 1991

➤ Stéroïdes

Les stéroïdes sont des lipides dérivant du squalène qui est un triterpène possédant un noyau cyclopentanophénanthrénique. Ce noyau est constitué de 4 cycles carbones fusionnés: 3 cyclohexanes et 1 cyclopentane. Les différentes molécules de stéroïdes se distinguent par les groupements fonctionnels attachés à ce noyau de base.

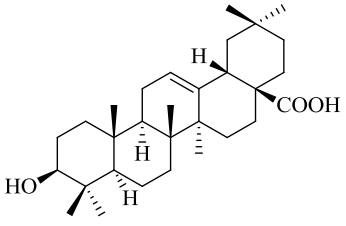
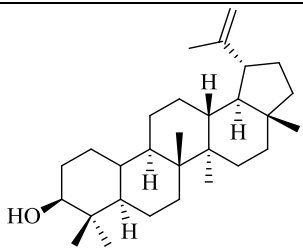
Tableau XIX: Stéroïdes isolés de *Piper capense*

Noms	Structures	Références
Stigmastérol	 9	Mahato et kundu, 1994
β -Sitostérol-3-O- β -D-glucoside	 10	Mbaveng et al., 2021

➤ Triterpènes

Les triterpènes sont des métabolites secondaires produits par la voie du mévalonate. Constitués de trente unités isopréniques reliées entre elles de manière variée, ils présentent une grande diversité structurale. Le tableau ci-contre illustre cette diversité en présentant quelques triterpènes isolés de la plante *Piper capense*.

Tableau XX: Quelques triterpènes isolés de *Piper capense*

Noms	Structures	Références
Acide oléanique	 32	Mahato et kundu, 1994
Lupéol	 33	Mahato et kundu, 1994

Malgré cette forte diversité des classes de métabolites secondaires, les composés phénoliques et les triterpènes font partie des classes majoritaires couramment reportées de cette espèce.

I.4. Généralités sur les métabolites secondaires

I.4.1. Composés phénoliques

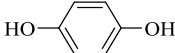
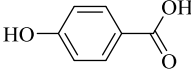
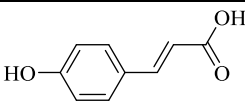
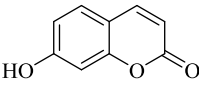
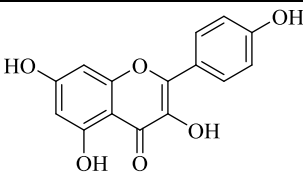
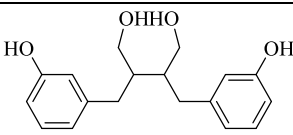
I.4.1.1. Définition

Les composés possédant plusieurs cycles aromatiques ou un seul cycle aromatique couplé à un ou plusieurs groupes hydroxyles sont communément appelés phénoliques. Ils constituent les métabolites secondaires végétaux les plus courants avec plus de 8 000 structures connues. Ils vont des composés phénoliques simples comme les acides phénoliques aux composés complexes comme les tannins. Ces composés participent à la défense des plantes contre les ultraviolets (UV), les agents pathogènes et autres prédateurs. Leur présence dans tous les organes des plantes en fait un ingrédient essentiel de l'alimentation humaine (Balasundram et *al.*, 2006; Shah et *al.*, 2018).

I.4.1.2. Classification et structures chimiques de quelques sous classes composés phénoliques

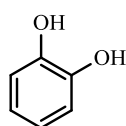
La complexité structurale de ces composés varie considérablement, allant des molécules simples, telles que les acides phénoliques, aux molécules plus complexes comme les tannins (Bruneton, 1999). Ces molécules sont réparties en plusieurs sous-classes et quelques-uns sont illustrés dans le tableau suivant:

Tableau XXI: Classification de quelques composés phénoliques (Bruneton, 1999)

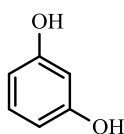
Squelettes	Sous-classes	Composés	Structures	Sources
C ₆	Phénols simples	Hydroquinone	 34	Busserole
C ₆ -C ₁	Acides phénoliques	Acide <i>p</i> -hydroxy benzoïque	 35	Épices, fraises
C ₆ -C ₃		Acide <i>p</i> -coumarique	 36	Tomates, ail
C ₆ -C ₃	Coumarines	Ombelliférone	 37	Carotte, coriandre
C ₆ -C ₃ -C ₆	Flavonoïdes	Kaempférol	 38	Fraises
(C ₆ -C ₃) ₂	Lignanes	Entérodiol	 39	Bactéries

❖ Les phénols simples

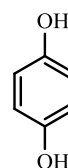
Les phénols simples sont des molécules aromatiques de base, constitués d'un cycle benzénique auquel est directement lié au moins un groupe hydroxyle. Ce groupe peut être substitué par divers groupes fonctionnels en position ortho (*o*), méta (*m*) ou para (*p*) du cycle aromatique (Albuquerque et *al.*, 2021). Quelques composés de cette sous classe sont représentés ci-dessous.



Catechol 40



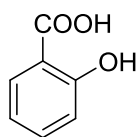
Resorcinol 41



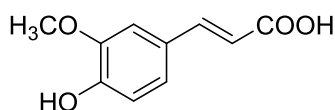
Hydroquinone 42

❖ Les acides phénoliques

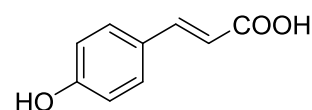
Les acides phénoliques peuvent être classés en deux catégories: les dérivés de l'acide benzoïque (acide salicylique) et ceux de l'acide cinnamique tels que l'acide coumarique et l'acide férulique. Les acides hydroxybenzoïque ont une structure générale de base est de type (C₆-C₁); tandis que, les acides hydroxycinnamiques, ont une structure de base en (C₆-C₃). Les acides hydroxycinnamiques entrent dans la composition de nombreux végétaux et existent sous forme hydrosolubles (acide caféique) ou insolubles quand ils sont associés aux fibres (acide férulique). (Dai et Mumper, 2010). Les structures de quelques acides phénoliques sont représentées ci-dessous.



Acide salicylique 43

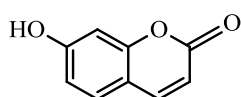


Acide férulique 44

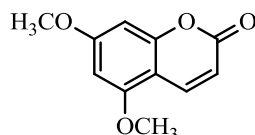
Acide *p*-coumarique 45

❖ Les coumarines

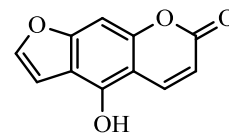
Les coumarines, issues d'une transformation chimique des acides hydroxycinnamiques par cyclisation interne de la chaîne latérale, présentent une grande diversité de structure. Les coumarines ont fréquemment un rôle écologique ou biologique. Elles se trouvent dans la nature soit à l'état libre ou bien combinées avec des sucres (Cowan, 1999). La structure de base des coumarines est un point de départ pour comprendre leur diversité structurale et fonctionnelle. Les exemples suivant illustrent la variété de structure chimique que peuvent adopter les coumarines.



Umbelliferone 46



Limettine 47

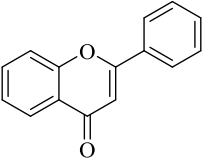
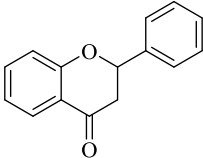
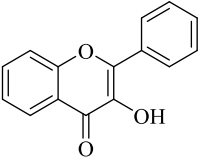
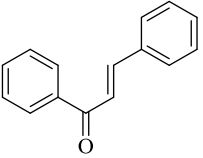
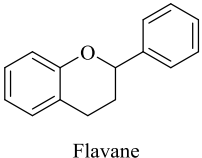
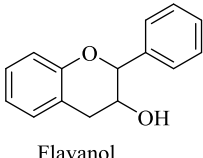
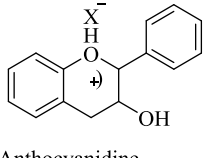
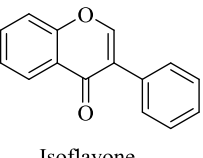


Bergapten 48

❖ Les flavonoïdes

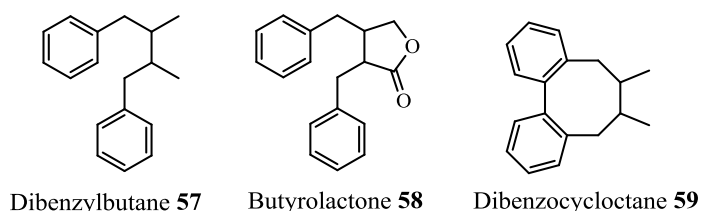
Les flavonoïdes sont les principaux polyphénols présents dans l'alimentation humaine. Structuellement, les flavonoïdes sont composés d'un noyau flavane avec 15 atomes de carbone disposés en 3 cycles tels que C₆-C₃-C₆ étiquetés A, B et C. Il existe plusieurs sous-groupes de flavonoïdes, à savoir les flavones, les flavanones, les flavonols, les flavanols, les flavanes, les anthocyanes et les isoflavones. Les différences de structure sont caractéristiques de chaque sous-groupe et sont en partie attribuées au modèle et au degré d'hydroxylation, de prénylation, de glycosylation ou de méthylation (D'Archivio et *al.*, 2007; Dai et Mumper, 2010).

Tableau XXIII: Différents squelettes de base des flavonoïdes (Heller et Forkmann, 1988)

 Flavone 49	 Flavanone 50	 Flavonol 51	 Chalcone 52
 Flavane 53	 Flavanol 54	 Anthocyanidine 55	 Isoflavone 56

❖ Les lignanes et lignines

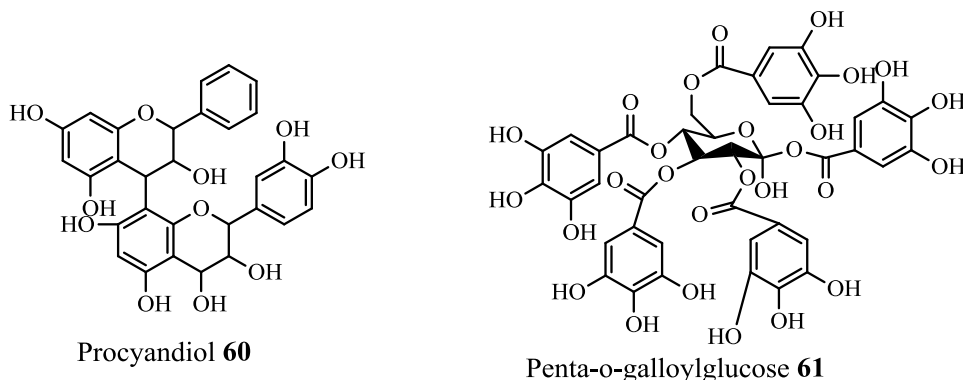
Les lignanes sont des composés organiques issues de la condensation de deux unités phénylpropaniques (C₆-C₃) (Bruneton, 2009). La lignine quant à elle, résulte d'une polymérisation des lignanes formant une structure tridimensionnelle très complexe. Cette structure confère au bois sa rigidité (Buchanan et *al.*, 2000; Bruneton, 2009). Quelques structures de ces composés sont représentées ci-dessous:



❖ Les tannins

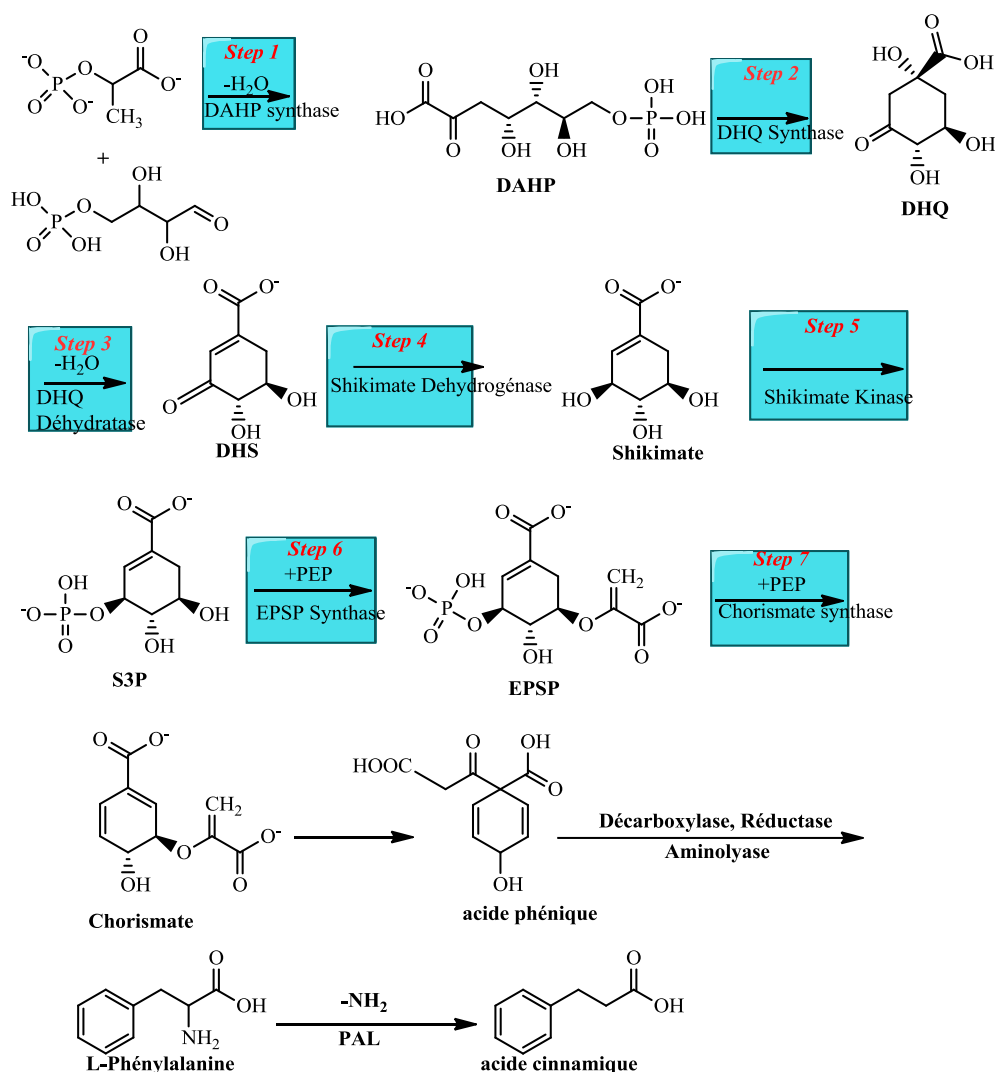
Les tannins sont généralement subdivisés en deux groupes: les tannins hydrolysables et les tannins condensés. Les tannins hydrolysables contiennent un noyau central de glucose sous forme estérifiée avec de l'acide gallique. La formation de liaisons oxydatives entre les composants de ces structures explique les grandes différences de leurs structures. Plusieurs composés oligomères de poids moléculaire (MW) allant de 200 à 5000 Da sont formés à partir de diverses réactions d'oxydation intermoléculaires (Khanbabaee et van Ree, 2001). En ce qui concerne les tannins condensés, il s'agit soit d'oligomères, soit de polymères de flavan3-ol liés par la liaison carbone

interflavane (Naumann et *al.*, 2017). Les structures ci-dessous font parties de cette sous classe de composés.



I.4.1.3. Biosynthèse des composés phénoliques

Les plantes synthétisent leurs composés phénoliques par deux voies principales: celle du malonate et celle du shikimate. La voie du malonate est impliquée dans la production d'acides gras secondaires et de certains composés phénoliques comme les flavonoïdes, tandis que la voie du shikimate, plus complexe et comprenant sept étapes enzymatiques, est responsable de la synthèse de la majorité des composés phénoliques. Cette dernière voie démarre avec la condensation de l'érythrose-4-phosphate et du phosphoénolpyruvate, aboutissant finalement à la formation de chorismate, un précurseur clé de nombreux métabolites secondaire phénoliques (Singh et Christendat, 2006).



PEP: phosphoénolpyruvate, E4P: érythrose-4-phosphate, DAHP: 3-désoxy-D-arabinoheptulosonate 7-phosphate, DHQ: 3-déhydroquinat, S3P: shikimate 3-phosphate, EPSP: 5-énolpyruvylshikimate3-phosphate, PAL: Phénylalanine Ammonium Lyase (Marchiosi et *al.*, 2020).

Schéma 1: Voie du shikimate pour la production de composés phénoliques chez les plantes.

I.4.1.4. Intérêts biologiques des composés phénoliques

Les composés phénoliques, largement répandus dans le règne végétal, exercent une multitude d'activités biologiques. Le tableau suivant présente un aperçu de leurs principales propriétés, soulignant leur importance dans les interactions plante-environnement et leur intérêt potentiel en santé humaine.

Tableau XXIII: Quelques intérêts biologiques reportés des classes de composées phénoliques

Classes	Activités biologiques	Références
Acides phénoliques	Antibactérienne	Salaheen <i>et al.</i> , 2017
Coumarines	Antipyrétique Analgésique Antioédémateuse Anti-convulsivante	Mpondo <i>et al.</i> , 2015
Flavonoïdes	Anticancéreuse Antiallergique Anti-inflammatoire Antioxydant	Scalbert <i>et al.</i> , 2002 Ghedina, 2005 Mohammedi, 2006 Oussaid <i>et al.</i> , 2017
Tannins	Inhibitrice microbienne	Scalbert, 1991 Lin <i>et al.</i> , 2011

I.4.1.5. Méthodes d'isolement et de caractérisation des composés phénoliques

Deux facteurs majeurs jouent un rôle essentiel dans la recherche des produits naturels. Ce sont la séparation et la purification des constituants bioactifs dans les échantillons de plantes brutes ou leurs fractions obtenues à partir des sources naturelles et leur identification structurale précise.

I.4.1.5.1. Méthodes d'isolement des composés phénoliques

L'isolement des composés phénoliques à partir de matrice végétale des plantes par extraction est généralement une opération délicate. La diversité chimique de ces matrices rend l'obtention de composés purs et stables particulièrement complexes. Il est en effet nécessaire de mettre en œuvre des protocoles d'extraction rigoureux afin de minimiser les réactions d'oxydations et d'isomérisations qui peuvent altérer la nature des composés recherchés (Antolovich *et al.*, 2002). Afin de protéger les composés phénoliques durant le processus d'extraction, il faut prendre des précautions spécifiques. La fidélité entre le profil phénolique initial, la matrice végétale et celui de l'extrait obtenu constituent un enjeu majeur. Par conséquent, les conditions opératoires doivent être rigoureusement contrôlées afin d'éviter toute altération chimique ou biochimique susceptible de compromettre la qualité des composés recherchés. Il existe plusieurs méthodes d'extraction des polyphénols à partir des plantes, alternant celles classiques des nouvelles dites alternatives.

❖ Méthodes classiques

La macération, technique d'extraction par trempage prolongé, est particulièrement adaptée aux composés phénoliques sensible à la chaleur. Bien qu'elle nécessite des temps d'extractions importants et de grande quantité de solvant, elle permet de préserver l'intégrité structurale de ces molécules en évitant les conditions opératoires extrême (Spigno et De Faveri, 2007).

L'extraction par Soxhlet: c'est une méthode simple permettant de répéter infiniment le cycle d'extraction avec du solvant pur jusqu'à l'épuisement complet du soluté contenu dans la matière première. Elle est relativement moins coûteuse et permet un gain de temps. Cependant, l'extraction à chaud peut dégrader certaines substances chimiques.

❖ Méthodes alternatives

La demande en faveur des procédés d'extractions plus performants, tant en termes de rendement que de respect de l'environnement, est en constante augmentation. Les chercheurs s'intéressent particulièrement aux techniques d'extractions assistées par ultrason, l'extraction assistée par micro-onde, l'extraction accélérée par solvant et l'extraction par fluide supercritique qui offre une alternative intéressante aux méthodes traditionnelles, notamment en réduisant les temps d'extraction et la quantité de solvants organiques utilisés (D'Alessandro, 2013).

I.4.1.5.2. Méthodes de caractérisation des composés phénoliques

Les composés phénoliques, une vaste famille de métabolites secondaires, regroupent une multitude de sous-classes. Pour caractériser ces polyphénols, ce paragraphe se concentrera spécifiquement dans l'élucidation structurale de ces composés phénoliques en s'appuyant sur les méthodes telles que: la spectroscopie de masse, l'infrarouge (IR), l'ultraviolet (UV), résonance magnétique nucléaire 1D et 2D.

➤ Spectroscopie IR

Les spectres IR fournissent des informations sur les groupements fonctionnels présents dans la molécule. Pour ce qui est des flavonoïdes, les spectres IR de ces composés phénoliques révèlent des bandes d'absorption caractéristiques associées aux vibrations des groupements fonctionnels nous présentent principalement les bandes d'absorption des groupements hydroxyles et carbonyles présents dans la molécule. En effet, la plupart des flavones, flavanones, isoflavones hydroxylés, chalcones et dihydrochalcones présentent une large bande de vibration entre 3300-3600 cm^{-1} due à la présence du groupement hydroxyle. La bande de vibration caractéristique du groupement carbonyle quant à elle, est observée autour de 1680 cm^{-1} . De plus, la formation des liaisons

hydrogène intramoléculaires entre le groupe carbonyle et hydroxyle en position 5 entraîne un déplacement de cette bande vers des fréquences plus basses (diminue jusqu'à 1620 cm^{-1}). Les doubles liaisons aromatiques quant à elle, donnent lieu à une bande d'absorption caractéristique autour de 1600 cm^{-1} (Harbone, 1993).

➤ **Spectroscopie UV**

La spectroscopie UV-visible est une technique analytique essentielle pour étudier les composés phénoliques. Les analyses spectrophotométriques couvrant la région de 190 à 600 nm sont particulièrement intéressantes pour balayer la zone d'absorption des composés phénoliques avec des bandes situées principalement entre 200 et 400 nm. Ces bandes sont fortement influencées par la structure chimique du composé, notamment par la présence de différents groupes fonctionnels et par les substitutions sur le cycle aromatique. En analysant la position et l'intensité de ces bandes, il est possible d'obtenir des informations précieuses sur la nature et la structure des composés phénoliques présents dans un échantillon. Cette technique est donc largement utilisée pour l'identification et la quantification de ces molécules dans divers domaines, tels que l'agroalimentaire, la pharmacutique et l'environnement (Lin et *al.*, 2012).

➤ **Spectroscopie de Résonance Magnétique Nucléaire à une dimension (RMN 1D)**

La RMN monodimensionnelle se révèle être une technique analytique performante pour l'élucidation structurale des composés phénoliques.

▪ **La Résonance Magnétique Nucléaire du proton (RMN ^1H)**

La RMN ^1H permet d'identifier les protons des cycles et les protons des groupes hydroxyles et ceux des groupes méthoxyles. Plusieurs composés phénoliques, sont caractérisés par la présence d'au moins un noyau phénolique; ceux-ci portent des protons apparaissant dans l'intervalle 6-7,9 ppm. Pour les flavones par exemple, les protons H-2', H-5', H-6' apparaissent sous forme de multiplets complexes entre 6,7 et 7,1 ppm. Les protons des groupements méthoxy ($-\text{OCH}_3$) apparaissent entre 3,5 et 4,1 ppm alors que ceux des groupements hydroxyles ($-\text{OH}$) apparaissent entre 9,5 et 13 ppm (Markham, 1982).

▪ **La Résonance Magnétique Nucléaire du proton (RMN ^{13}C)**

Les spectres de RMN ^{13}C sont généralement enregistrés dans une fenêtre spectrale allant de 0-250 ppm. En utilisant le découplage protonique, chaque carbone apparaît sous forme de singulet. Les déplacements chimiques des carbones sont principalement influencés par leur densité

électronique. Les carbones présentant une faible densité électronique, tels que ceux présent dans les groupes carbonyle ou des cycles aromatiques résonnent à des champs faibles (130-185 ppm). A l'inverse, les carbones aliphatiques par exemple, plus riche en électrons présentent des signaux a des champs plus fort 0-110 ppm (Jurd, 1968).

➤ Spectrométrie de masse

La spectrométrie de masse est une technique utilisée pour déterminer les poids moléculaires et établir la distribution des substituants. Le principe repose sur l'ionisation des molécules dans une chambre à vide suivie de la séparation des ions produit en fonction de leur rapport masse/charge. L'ion moléculaire M^+ apparaît normalement sur le spectre sous la forme d'un pic majoritaire dont l'intensité permet de calculer la composition élémentaire de l'aglycone du composé phénolique étudié. On peut également détecter les ions $[M-1]^+$ (perte d'un hydrogène), $[M-17]^+$ (perte d'un radical OH), $[M-31]^+$ (perte de 31 u.m.a correspondant à un radical OCH_3) (Markham, 1982).

I.4.2. Les triterpènes

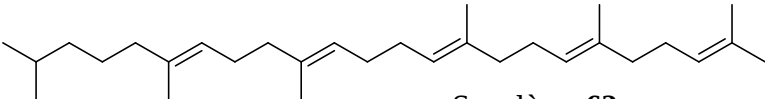
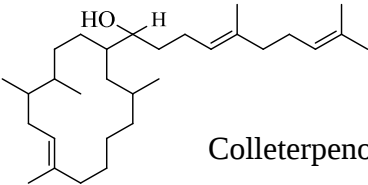
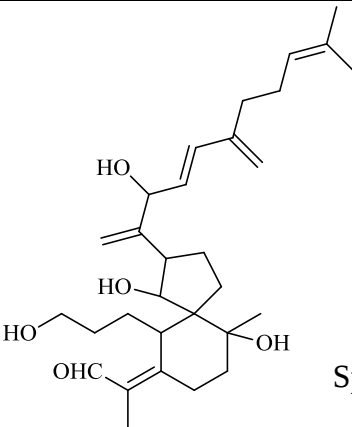
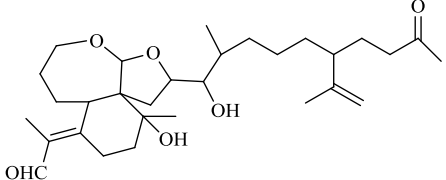
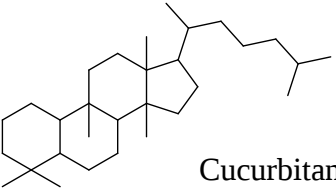
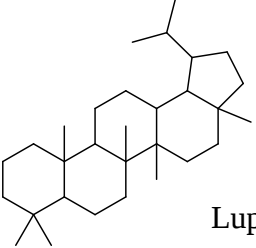
I.4.2.1. Définition

Les triterpènes constituent une classe de métabolites secondaires renfermant dans leurs squelettes de base une trentaine d'atomes de carbone. La formule de base des triterpènes est $C_{30}H_{48}$; selon le nombre de cycles, ces métabolites sont regroupés en triterpènes monocycliques, bicycliques, tricycliques, tétracycliques et pentacycliques.

I.4.2.2. Classification et structures chimiques des triterpènes

Les triterpènes se subdivisent en 6 sous-classes: Les triterpènes acycliques, monocycliques, dicycliques, tricycliques, tétracycliques et pentacycliques, cette dernière classe est la plus répandue (Mahato et *al.*, 1994). Les triterpènes sont classés en plusieurs groupes structuraux illustrés dans le tableau XXIV.

Tableau XXIV: Quelques groupes structuraux des triterpènes

Sous-classes	Structures et noms
Acycliques	 Squalène 62
Monocycliques	 Colleterpenol 63
Dicycliques	 Spirioiridoconfal C 64
Tricycliques	 Iritectol G 65
Tétracycliques	 Cucurbitane 66
Pentacycliques	 Lupane 67

I.4.2.3. Biosynthèse des triterpènes

Les triterpènes sont des molécules organiques constituées de 30 atomes de carbones pour la structure de base et renfermant 6 unités isopréniques (Poumale, 2007). La biosynthèse des triterpènes se déroule dans les cellules vivantes à partir de l'acetyl-CoA. Ce processus, connu sous le nom de voie mévalonique implique une série de réactions chimiques complexes telles que des aldolisations. En résumé, l'acetyl-CoA est transformé en acide mévalonique, puis en Isopentenyl pyrophosphate IPP, une unité isoprénique active. Six de ces unités sont ensuite assemblées pour former le squelette des triterpènes dérivant tous du squalène dont la formation à partir de l'isopenténylpyrophosphate (IPP) et de son isomère le diméthylallylpyrophosphate (DMAPP) est représentée ci-dessous.

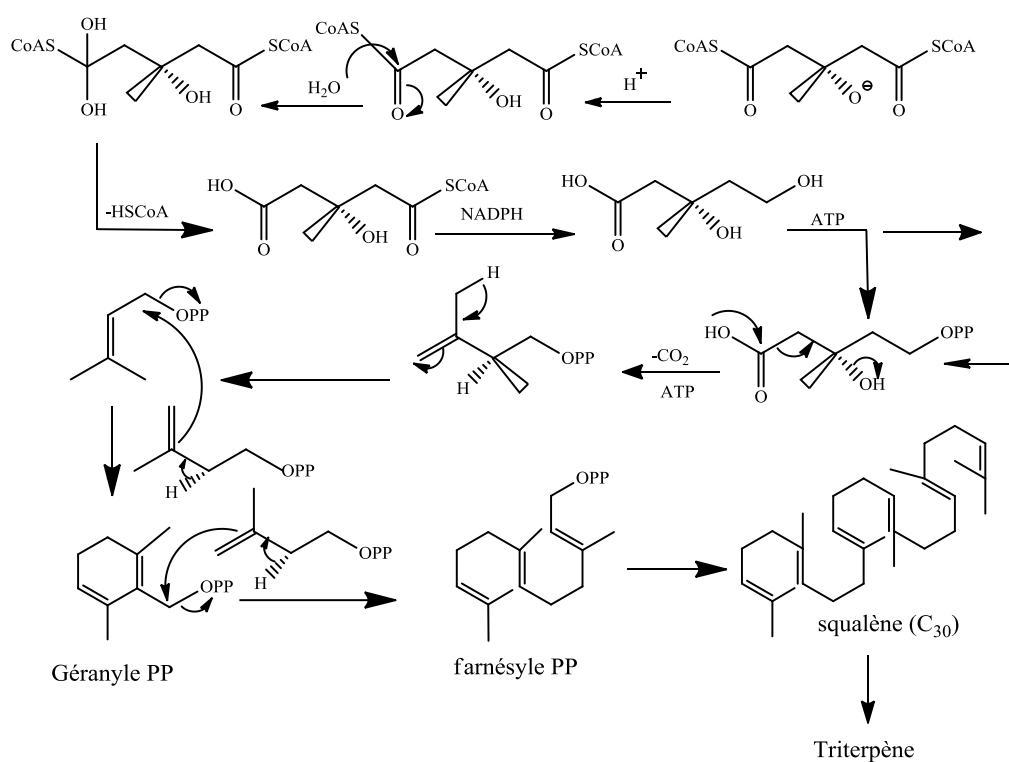


Schéma 2: Voie de biosynthèse des triterpènes (Heller et Forkmann, 1988)

I.4.2.4 Intérêts biologiques des triterpènes

Les triterpènes jouent un rôle crucial tant dans le métabolisme des plantes qui les produisent que dans les organismes qui les ingèrent, notamment l'Homme. Ces composés organiques sont impliqués dans une multitude de fonction biologique.

Tableau XXV: Quelques activités biologiques reportées des triterpènes

Classes	Activités biologiques	Références
Triterpènes	Antitumorale	Kloos et <i>al.</i> , 1982
	Antitoxique	Duh et <i>al.</i> , 1987
	Antibactérienne	Eisa et <i>al.</i> , 2000
	Antifongique	Gonzalez et <i>al.</i> , 2010
	Antidiabétique, Antiphrastrique Antivirale	

I.4.2.5. Méthodes d'isolement et de caractérisation des triterpènes

I.4.2.5.1. Méthodes d'isolement des triterpènes

La méthode d'obtention des triterpènes est surtout basée sur l'extraction du matériel végétal avec des solvants organiques dûment choisis tels que l'éther de pétrole, le chloroforme, l'acétate d'éthyle, le méthanol et le DCM pour ne citer que ceux-là (Boiteau et *al.*, 1964). Il n'existe pas de méthodes spécifiques de purification des triterpènes. Ils sont séparés à l'aide des techniques chromatographiques usuelles (colonne ouverte à moyenne ou à haute pression etc.), sur des supports classiques (silice, alumine, gel de dextrans). Cependant, ceux comportant des fonctions acides et alcools peuvent être traités de manière particulière pour une purification plus aisée. Ainsi, un mélange de triterpènes polyhydroxylés, très polaire peut être transformé en dérivés peracétylés moins polaires et facilement purifiables. De même, des acides triterpéniques se purifient plus aisément lorsqu'ils sont transformés en esters méthyliques (Tapondjou, 1996).

I.4.2.5.2. Méthode de caractérisation des triterpènes

L'élucidation structurale des triterpènes se fait essentiellement au moyen des techniques usuelles telles que la spectrométrie de masse, RMN ^1H et RMN ^{13}C soutenue par leurs variantes à deux dimensions (COSY, HMBC, NOESY, etc.).

➤ La spectrométrie de masse

La spectrométrie de masse permet de proposer à partir de quelques pics caractéristiques observés sur le spectre, le squelette des triterpènes, la position de la double liaison ainsi que la nature des substituants (Mahato et *al.*, 1994).

➤ La résonnance magnétique nucléaire du proton

Les spectres RMN ^1H des triterpènes pentacycliques sont très caractéristiques. Ils permettent facilement de distinguer les dérivés de l'oléanane, de l'ursane et du lupane. En effet, les dérivés de l'oléanène et de l'ursène présentent généralement en RMN ^1H , un large triplet entre 5,1 et 5,5 ppm, avec une constante de couplage de l'ordre de 3 Hz caractéristique du proton vinylique H-12. Dans le cas des lupènes, on a généralement un singulet de deux protons entre 4,2 et 5 ppm caractéristiques de deux protons vinyliques portés par le carbone 29 (Cheung et *al.*, 1969).

Les signaux des méthyles souvent groupés entre 0,5 et 2,0 ppm permettent de différencier les types de squelette des triterpènes pentacycliques par exemple, les triterpènes non oxydés des séries oléan-12-ène et lup-20(29)-ène présentent respectivement 8 et 7 singulets attribuables à 8 et 7 méthyles tertiaires, alors que ceux de la série urs-12-ène présentent 6 singulets et 6 doublets attribuables respectivement à 6 méthyles tertiaires et 2 méthyles secondaires (Doddred et *al.*, 1974).

➤ La résonnance magnétique du carbone-13

L'utilisation des données de la RMN ^{13}C permet de distinguer les séries urs-12-ène et oléan-12-ène. En effet, ces séries peuvent être différenciées de deux manières: par le nombre d'atomes de carbone et par les déplacements chimiques des carbones vinyliques; les carbones 12 et 13 des dérivés de l'urs-12-ène résonnent à 122,5 et 139,5 ppm et ceux d'oléan-12-ène résonnent à 122,5 ppm (d) et 144,5 ppm (s). En général, dans les composés de type oléanane et ursane, les 8 méthyles angulaires résonnent entre 14,0-33,0 ppm, dans la série des composés de type friedelane, ils apparaissent entre 6,8-35,0 ppm. Dans les composés de type lupane, les 7 méthyles résonnent entre 14,0-28,0 ppm (Mahato et *al.*, 1994).

Toutes ces expériences se sont avérées insuffisantes dans la détermination des structures des triterpènes ayant des structures complexes. D'où la venue de la RMN bidimensionnelle (RMN 2D) pour aider dans l'élucidation des structures de ces molécules complexes.

➤ RMN bidimensionnelles (Gunther, 1994).

Les expériences de RMN 2D reposent sur une succession de trois intervalles de temps, le temps de préparation, le temps d'évolution et le temps de détection. Dans certaines expériences, il peut s'ajouter une autre période avant la détection, c'est le temps de mixage.

○ Corrélations homonucléaires

✓ **COSY** (^1H - ^1H): Cette expérience fournit des informations sur les couplages homonucléaires $2J$ et $3J$ (protons séparés par deux ou trois liaisons) entre les protons voisins et ceux qui sont adjacents.

✓ **NOESY** (^1H - ^1H): Elle permet d'observer les corrélations dans l'espace (effets over Hauser) entre protons d'une même molécule.

○ **Corrélations hétéronucléaires**

✓ **HMQC** ($^1J_{\text{H-C}}$): Cette technique permet d'observer les couplages chimiques entre les protons et les carbones directement liés. Toutefois, elle ne permet pas d'observer les déplacements chimiques des atomes de carbones quaternaires.

✓ **HMBC** ($^2J_{\text{H-C}}$ $^3J_{\text{H-C}}$): Elle permet la détection des couplages longue distance $^2J_{\text{H-C}}$, $^3J_{\text{H-C}}$.

CHAPITRE II: RESULTATS ET DISCUSSION

II.1. Etude chimique de *Piper capense*

Les feuilles de *Piper capense* ont été récoltées le 29 Novembre 2023 à Bangangté dans la région de l'Ouest-Cameroun. Un échantillon de référence a été identifié et enregistré au N° (6018/SFR/Cm), par Mr. NANA botaniste à l'Herbier National du Cameroun (Yaoundé).

Après, celles-ci ont été découpées, séchées pendant 2 semaines puis broyées pour donner 600 g de poudre végétale. Cette poudre (400 g) a été répartie dans 04 erlenmeyers puis chaque portion a subi l'une après l'autre une extraction exhaustive par macération dans un mélange de solvant MeOH-H₂O dans les proportions (80:20) respectivement pour 100 g de poudre.

Après filtration, le filtrat a été concentré à l'aide d'un évaporateur rotatif, conduisant à l'obtention d'un extrait brut de masse 81,61 g. Une partie de celle-ci (50 g) a été dissoute dans 150 mL d'eau distillée et soumise à une partition successive à l'hexane (150 mL x 7), à l'acétate d'éthyle (150 mL x 7) puis, au n-butanol saturé d'eau (150 mL x 7). Les solutions obtenues de chaque solvant ont été combinées et évaporées. Cette expérience a conduit à l'obtention de quatre fractions: une fraction hexanique (7,00 g), une fraction à l'acétate d'éthyle (8,13 g), une fraction butanolique (12,17 g) et une fraction aqueuse (19,50 g) après évaporation.

La fraction à l'acétate d'éthyle (7,00 g) a été soumise à une VLC avec le système de solvant DCM-MeOH-H₂O avec le gradient (95:5:0 à 82:18:0,5) pour donner six sous-fractions: A (1,00 g), B (900 mg), C (587 mg), D (856,12 mg), E (1,05 g) et F (1,40 mg). Par la suite, la sous-fraction B (900 mg) a été purifiée via une CC sur gel de silice (63-200 µm) et éluée avec le système de solvant DCM-MeOH-H₂O (70:30:5) pour donner le composé pur indexé PC1 (14 mg). Similairement, la sous-fraction D (856,12 mg) a été soumise via une CC sur gel de silice (63-200 µm) et éluée avec le système de solvant AcOEt-MeOH-H₂O (85:10:5) pour donner cinq sous fractions D₁ (50 mg); D₂ (100 mg); D₃ (90 mg); D₄ (230 mg) et D₅ (250 mg). La sous-fraction D₃ (90 mg) a été purifiée via une CC sur gel de Sephadex LH-20 avec le MeOH comme éluant pour donner PC2 (12 mg) et PC3 (8 mg).

Recolté à Bangangté
le 29 Novembre 2023

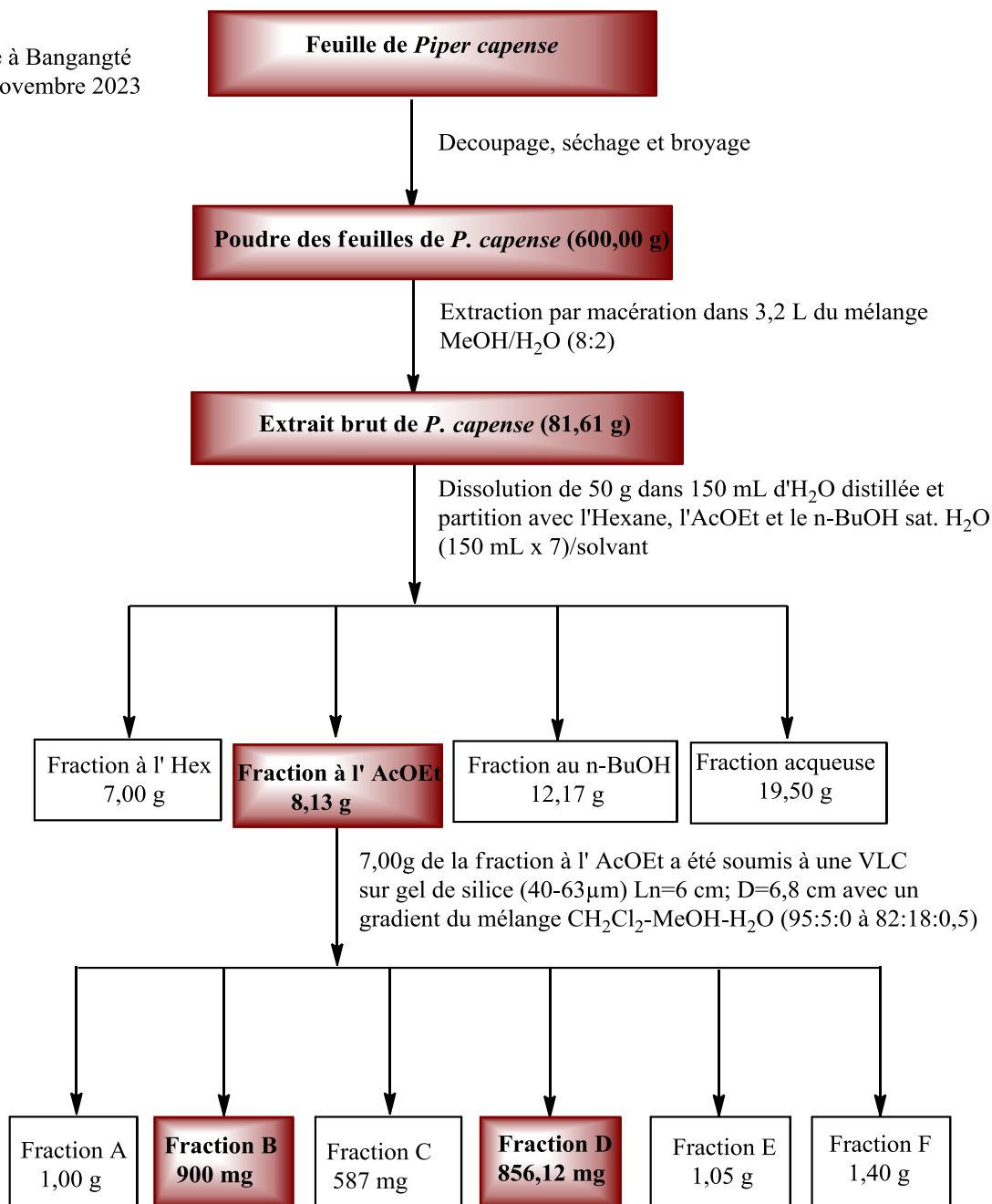


Schéma 3: Protocole d'extraction et de fractionnement des feuilles de *Piper capense*

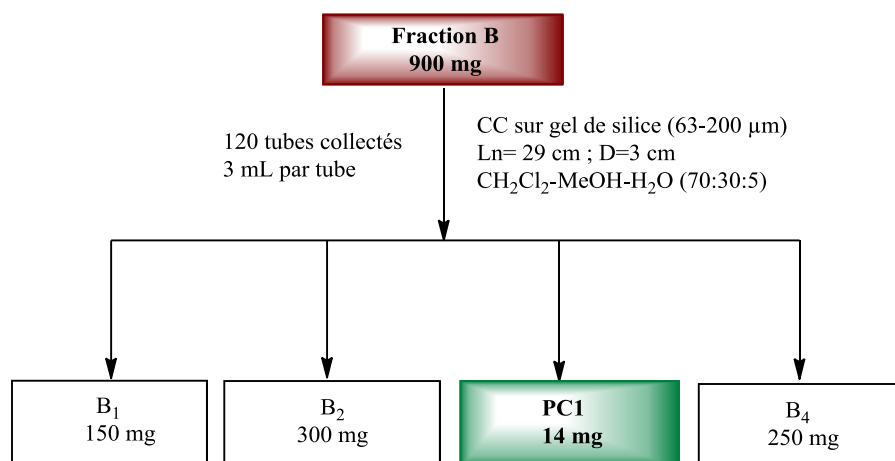


Schéma 4: Protocole d'isolement et de purification des composés de la sous fraction B obtenue de la fraction à l'acétate d'éthyle des feuilles de *Piper capense*

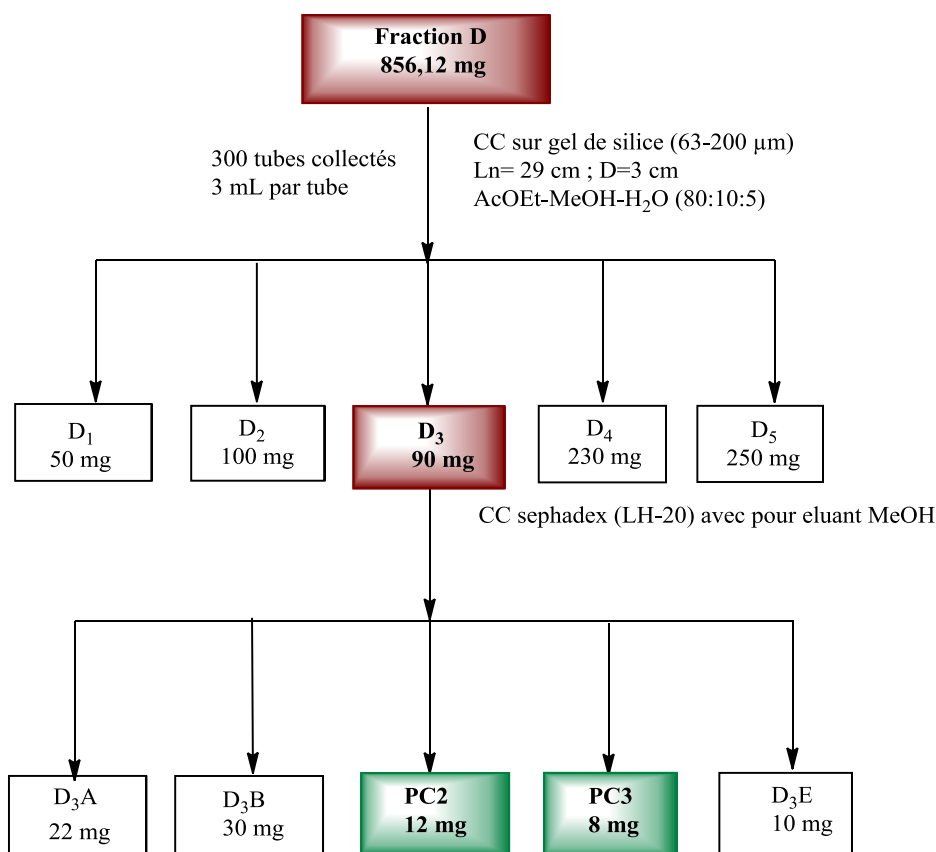


Schéma 5: Protocole d'isolement et de purification des composés de la sous fraction D obtenue de la fraction à l'acétate d'éthyle des feuilles de *Piper capense*

II.2- Description des composés isolés

II.2.1 Détermination structurale de PC1

Le composé PC1 se présente sous forme de poudre blanche soluble dans le chloroforme. Il répond positivement au test de Liebermann-Buchard (couleur violacée) caractéristique des triterpènes et des stéroïdes. Le spectre ESI-MS en mode positif de PC1 (**Fig. 6**) montre le pic de l'ion moléculaire protoné $[M+H]^+$ à m/z 427,45 en accord avec la formule brute $C_{30}H_{50}O$ renfermant 6 degrés d'insaturations.

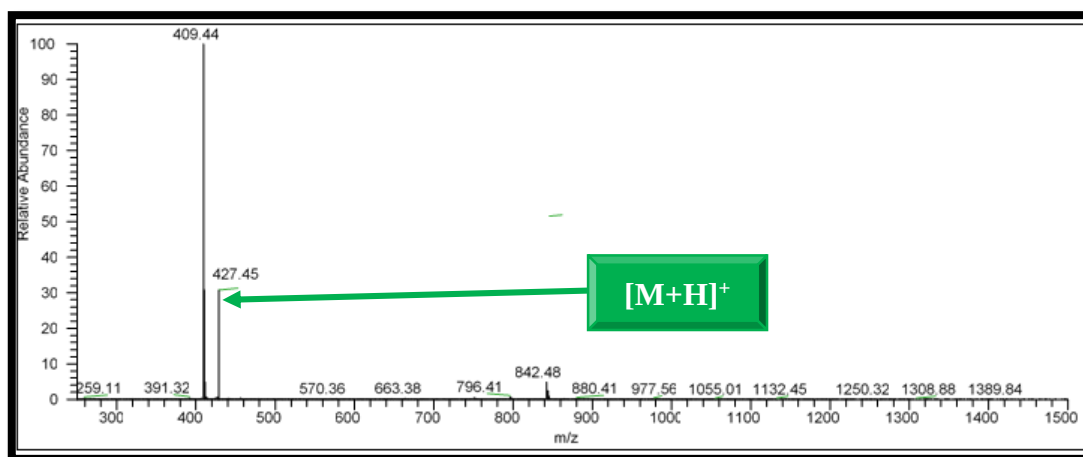


Figure 6: Spectre de masse du composé PC1

L'élucidation complète de PC1 s'est faite au moyen des spectres RMN 1H , RMN ^{13}C , DEPT 135, APT, HSQC et HMBC.

L'analyse du spectre de RMN 1H (**Fig. 7**) a permis de mettre en évidence:

- ✦ Deux signaux de protons qui résonnent à δ_H 4,55 (s; $J = 2,4$ Hz) et 4,66 (s; $J = 2,4$ Hz) correspondant aux protons oléfiniques en C-20 et C-29.
- ✦ Un signal de proton résonnant sous forme de doublet dédoublé à δ_H 3,16 (dd; $J = 11,5; 4,8$ Hz) caractéristique du proton H-3 situé au pied d'un hydroxyle d'un squelette de type triterpénique (Mahato et Kundu, 1994).
- ✦ Les signaux des protons des six méthyles angulaires apparaissant à δ_H : 0,94; 0,73; 0,81; 1,01; 0,92 et 0,77 dont la présence suggère l'existence au sein du composé PC1 d'un squelette de base de type lupane.
- ✦ Un signal de proton résonnant sous forme de singulet à δ_H 1,66 caractéristique du proton H-30 vinylique d'un squelette triterpénique de type lupane (Mahato et Kundu, 1994).

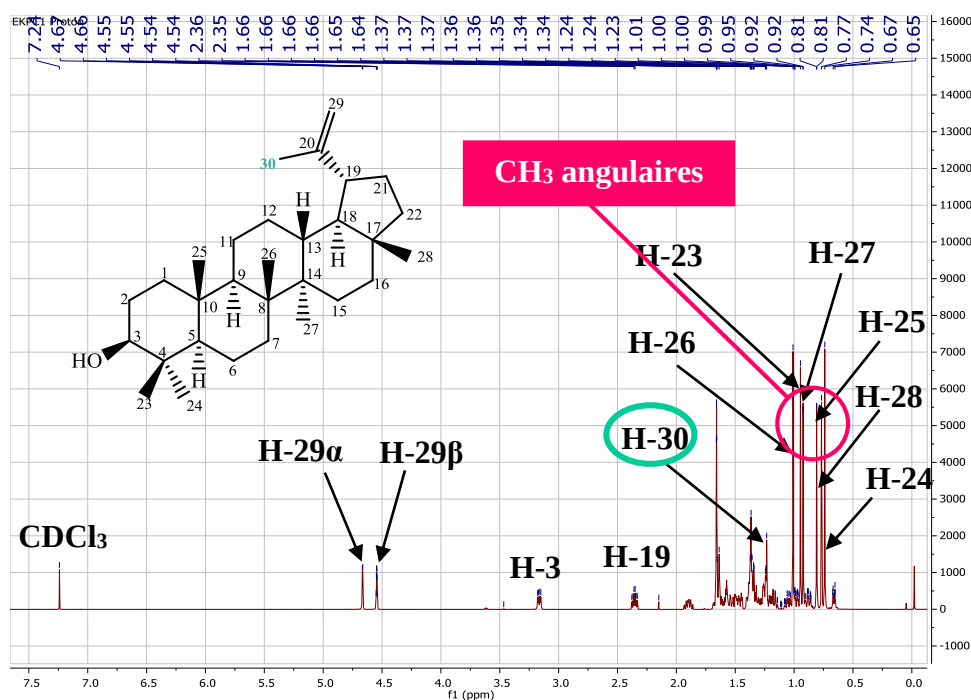


Figure 7: Spectre RMN ^1H (CDCl_3 , 600 MHz) du composé PC1

Son spectre de RMN ^{13}C (**Fig. 8**) présente 30 signaux correspondant à 30 atomes de carbone comme dans la formule brute moléculaire. L'analyse de ces signaux au moyen des techniques DEPT et APT (**Fig. 9** et **10**) révèle la présence de:

- ✦ Sept méthyles résonnant à δ_{C} 14,8; 15,6; 16,2; 16,4; 18,2; 19,5 et 28,2 correspondant respectivement aux carbones C-27; C-24; C-26; C-25; C-28; C-30 et C-23.
- ✦ Dix méthylènes dont neuf hybridés sp^3 à δ_{C} 18,5 (C-6); 21,1 (C-11); 25,3 (C-12); 27,6 (C-15); 27,6 (C-2); 30,0 (C-21); 35,8 (C-16); 38,9 (C-1); 40,2 (C-22) et un hybridé sp^2 à δ_{C} 109,5 (C-29) correspondant certainement au méthylène d'une double liaison alcène.
- ✦ Six méthines tous hybridés sp^3 à δ_{C} 38,2 (C-13); 48,2 (C-19); 48,5 (C-18); 50,6 (C-9); 55,5 (C-5) et 79,2 (C-3 qui est un oxyméthine).
- ✦ Les signaux restants sont ceux de six carbones quaternaires dont un carbone hybridé sp^2 à δ_{C} 151,2 (C-20) et cinq carbones hybridés sp^3 à δ_{C} 37,3 (C-10); 39,0 (C-4); 41,0 (C-8); 43,0 (C-14) et 43,2 (C-17).
- ✦ Les spectres DEPT 135 et APT ont permis ainsi de dénombrer 7 CH_3 , 11 CH_2 , 6 CH et 6 C quaternaires.

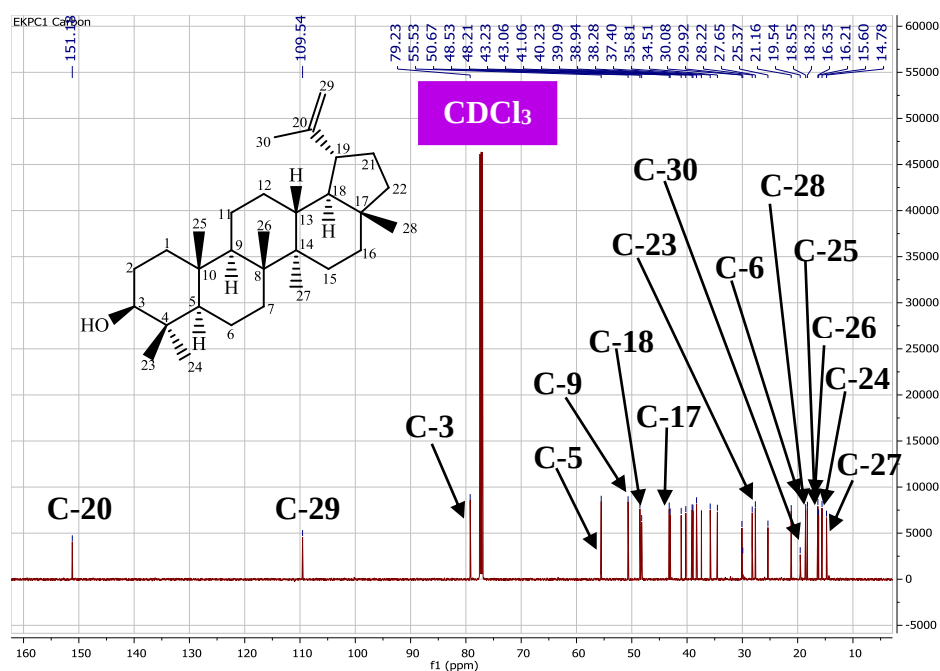


Figure 8: Spectre RMN ^{13}C (CDCl_3 , 150 MHz) du composé PC1

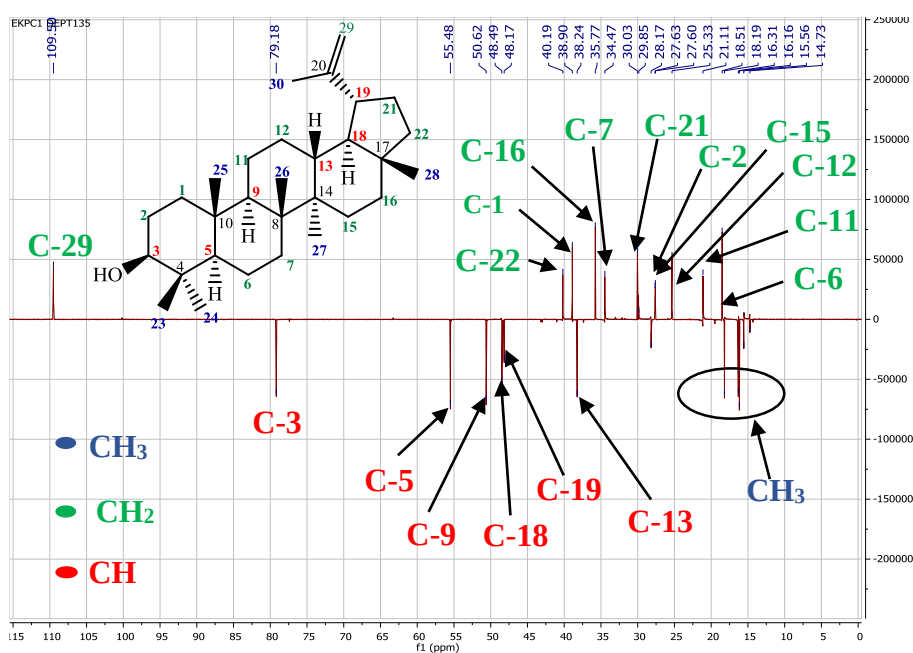


Figure 9: Spectre DEPT 135 (CDCl_3 , 150 MHz) du composé PC1

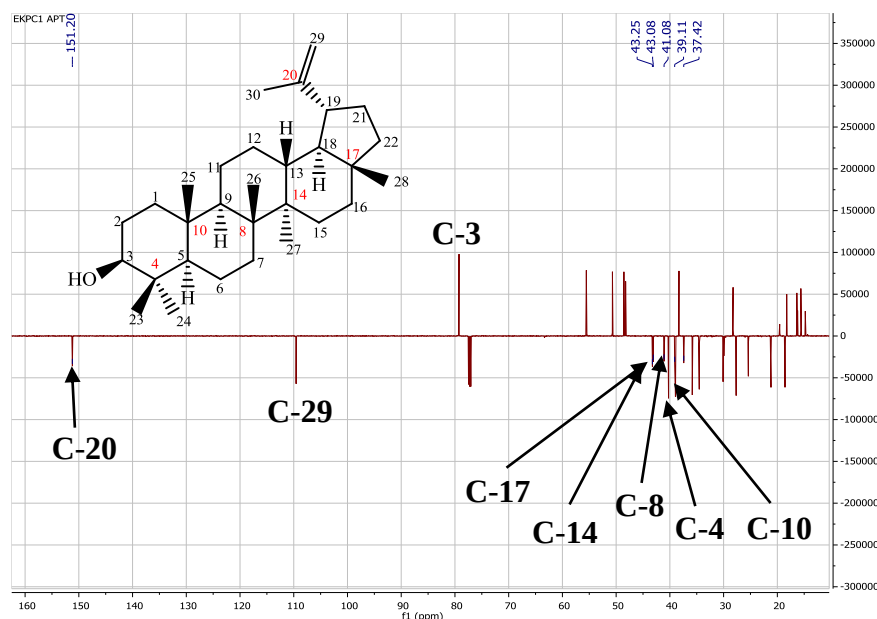


Figure 10: Spectre APT (CDCl₃, 150 MHz) du composé PC1

L'analyse du spectre HSQC du composé PC1 (**Fig. 11**) nous a permis d'attribuer aux protons ci-dessous leurs carbones correspondants.

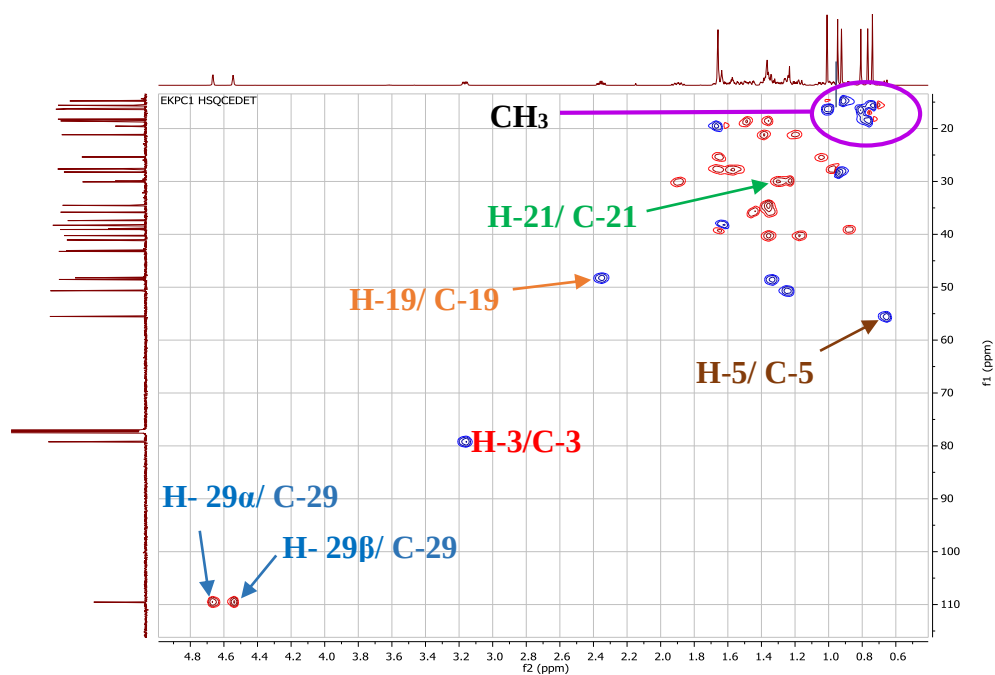
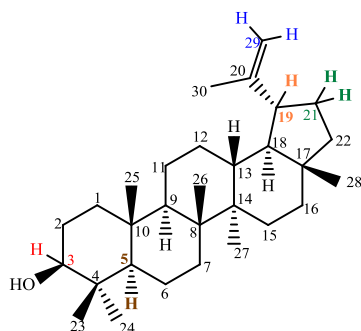


Figure 11: Spectre HSQC (CDCl₃) du composé PC1



L'analyse du spectre HMBC (**Fig. 12**) qui montre les corrélations protons et carbones en 2J et 3J nous permet de fixer les différents substituants sur le squelette lupane. Ci-dessous sont énoncées quelques corrélations entre les signaux des protons et des carbones:

❖ Corrélations sur le cycles A

- ✦ Le proton H-1 α à δ_H 0,94 corrèle avec les carbones à δ_C 50,6 (C-9); 37,3 (C-10) et 55,5 (C-5).
- ✦ Le proton H-1 β à δ_H 1,68 corrèle avec les carbones à δ_C 55,5 (C-5) et 37,3 (C-10);
- ✦ Le proton H-3 à δ_H 3,16 corrèle avec les carbones à δ_C 38,9 (C-1); 27,6 (C-2); 39,0 (C-4) et 28,2 (C-23);
- ✦ Le proton H-5 à δ_H 0,64 corrèle avec les carbones à δ_C 38,9 (C-1); 79,2 (C-3); 18,5 (C-6); 34,5 (C-7); 50,6 (C-9) et 15,5 (C-24);
- ✦ Le proton H-23 à δ_H 0,94 corrèle avec les carbones à δ_C 79,2 (C-3); 55,5 (C-5); 39,0 (C-4) et 15,5 (C-24);
- ✦ Le proton H-24 à δ_H 0,73 corrèle avec les carbones à δ_C 79,2 (C-3) et 39,0 (C-4).

❖ Corrélations sur le cycle B

- ✦ Le proton H-7 à δ_H 1,38 corrèle avec les carbones à δ_C 34,5 (C-7) et 18,5 (C-6);
- ✦ Le proton H-9 à δ_H 1,23 corrèle avec les carbones à δ_C 38,9 (C-1); 34,5 (C-7); 37,3 (C-10) et 21,1 (C-11);
- ✦ Le proton H-25 à δ_H 0,81 corrèle avec les carbones à δ_C 55,5 (C-5); 50,6 (C-9) et 39,0 (C-4).

❖ Corrélations sur le cycle C

- ✦ Le proton H-9 à δ_H 1,23 corrèle avec les carbones à δ_C 38,9 (C-1); 34,5 (C-7); 37,3 (C-10) et 21,1 (C-11);
- ✦ Le proton H-26 à δ_H 1,01 corrèle avec les carbones à δ_C 50,6 (C-9); 41,0 (C-8) et 34,5 (C-7).

❖ Corrélations sur le cycle D, E et la chaîne aliphatique

- ✦ Le proton H-18 à δ_H 1,39 corrèle avec les carbones à δ_C 18,2 (C-28); 38,2 (C-13); 43,0 (C-14); 48,2 (C-19) et 151,1 (C-20);

- ✦ Le proton H-19 à δ_H 2,35 corrèle avec les carbones à δ_C 151,1 (C-20); 109,5 (C-29); 48,5 (C-18) et 19,5 (C-6);
- ✦ Le proton H-28 à δ_H 0,77 corrèle avec les carbones à δ_C 35,8 (C-16); 43,2 (C-17) et 40,2 (C-22);
- ✦ Les protons H-29 α et H-29 β respectivement à δ_H 4,55 et 4,66 corrélient avec les carbones à δ_C 19,5 (C-30) et 48,2 (C-10);
- ✦ Le proton H-30 à δ_H 1,66 corrèle avec les carbones à δ_C 151,1 (C-20); 109,5 (C-29); 48,2 (C-19) et 48,5(C-18).

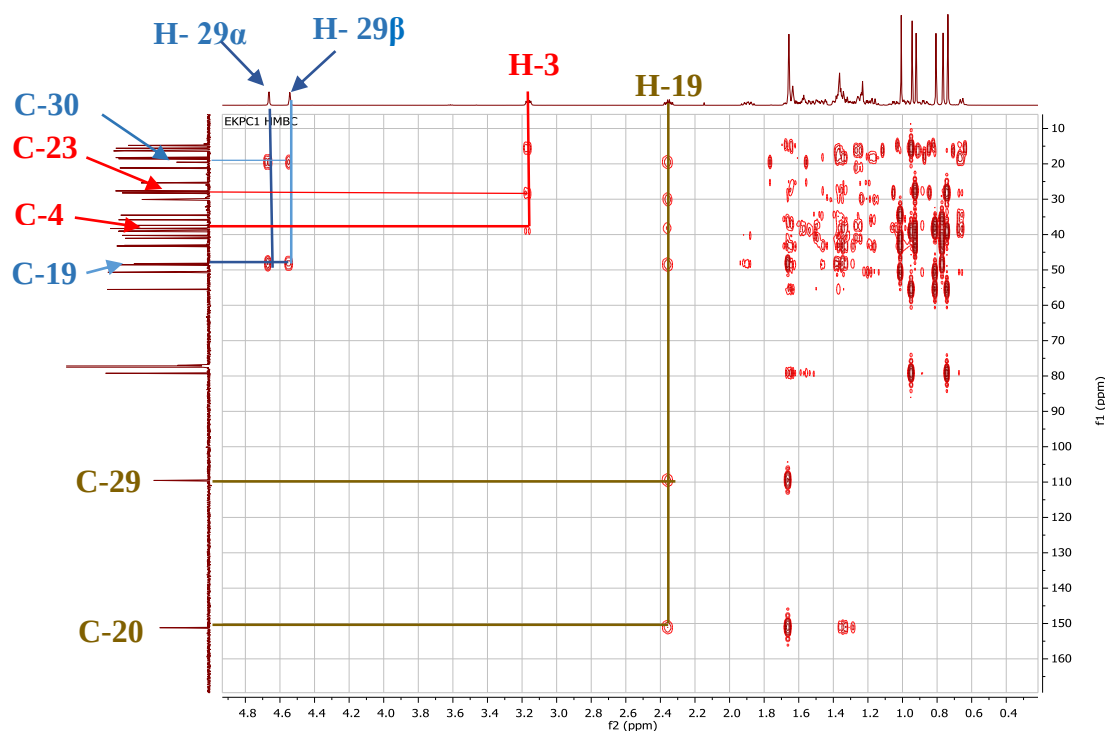


Figure 12: Spectre HMBC (CDCl₃, 600 MHz) du composé PC1

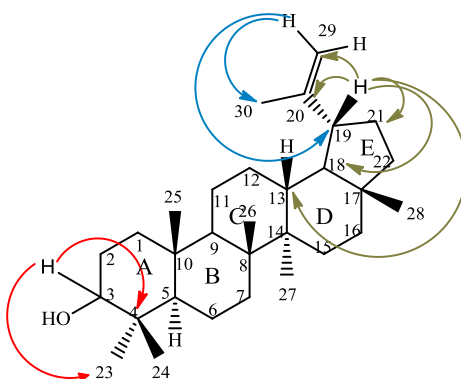
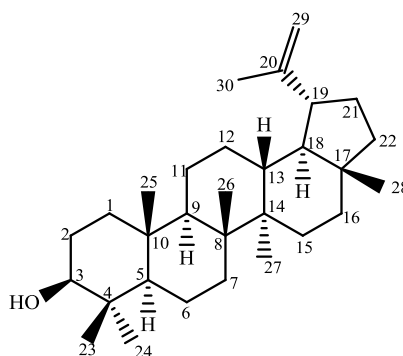


Tableau XXVI: Valeurs des déplacements chimiques RMN ^1H (CDCl_3 , 600 MHz), RMN ^{13}C (CDCl_3 , 150 MHz) de PC1

Position	PC1			Lupéol (Shwe et <i>al.</i> , 2019)	
	δ_{C}	DEPT	δ_{H} (m; J Hz)	δ_{C}	δ_{H} (m; J Hz)
1	38,9	CH ₂	0,94; 1,68	38,8	0,90; 1,65
2	27,63	CH ₂	1,50; 1,65	27,4	1,52; 1,67
3	79,2	CH	3,16 (dd, 11,5 et 4.8Hz)	78,9	3,2 (dd)
4	39,0	C		38,7	
5	55,5	CH	0,64	55,2	0,67
6	18,5	CH ₂	1,35; 1,50	18,3	1,37; 1,52
7	34,5	CH	1,38	34,2	1,39
8	41,0	C		40,8	
9	50,6	CH	1,23	50,4	1,25
10	37,3	C		37,1	
11	21,1	CH ₂	1,19; 1,40	20,9	1,20; 1,40
12	25,3	CH ₂	1,06; 1,61	25,1	1,06; 1,62
13	38,2	CH	1,67	38,0	1,66
14	43,0	C		42,8	
15	27,6	CH ₂	1,02; 1,58	27,4	1,05; 1,60
16	35,8	CH ₂	1,38; 1,47	35,5	1,35; 1,45
17	43,2	C		42,9	
18	48,5	CH	1,39	48,2	1,36
19	48,2	CH	2.35 (td; 11,1 et 5.8)	47,9	2,40
20	151,1	C		150,9	
21	30,0	CH ₂	1,29; 1,89	29,8	1,30; 1,91
22	40,2	CH ₂	1,21; 1,40	39,9	1,18; 1,37
23	28,2	CH ₃	0,92 (s)	27,9	0,90 (s)
24	15,6	CH ₃	0,77 (s)	15,3	0,76 (s)
25	16,4	CH ₃	0,81 (s)	16,1	0,83 (s)
26	16,2	CH ₃	1,01 (s)	15,9	1,03 (s)
27	14,8	CH ₃	0,92 (s)	14,6	0,94 (s)
28	18,2	CH ₃	0,77 (s)	17,9	0,79 (s)
29	109,5	CH ₂	4,55; 4,66 (d; 2,4)	109,3	4,57; 4,69 (d; 1,9)
30	19,5	CH ₃	1,66 (s)	19,2	1,67 (s)

L'ensemble de toutes ses données spectrales comparées à celles de la littérature nous a permis d'identifier PC1 au lupéol (**75**) précédemment isolé de *Piper capense* (Mahato et *al.*, 1994) et plus récemment des écorces de tige de *Diospyros ehretioides* par Shwe et *al.* (2019).



75

II .2.2 Détermination structurale de PC2

Le composé PC2 se présente sous forme de poudre amorphe de couleur jaune pâle soluble dans le MeOH. Il réagit positivement au test au chlorure ferrique indiquant ainsi sa nature phénolique. L'analyse du spectre de masse ESI-MS montre le pic de l'ion moléculaire protonné à $[M+H]^+$ à m/z 369,10 (**Fig. 13**) en accord avec la formule brute $C_{17}H_{20}O_9$ renfermant 8 degrés d'insaturation.

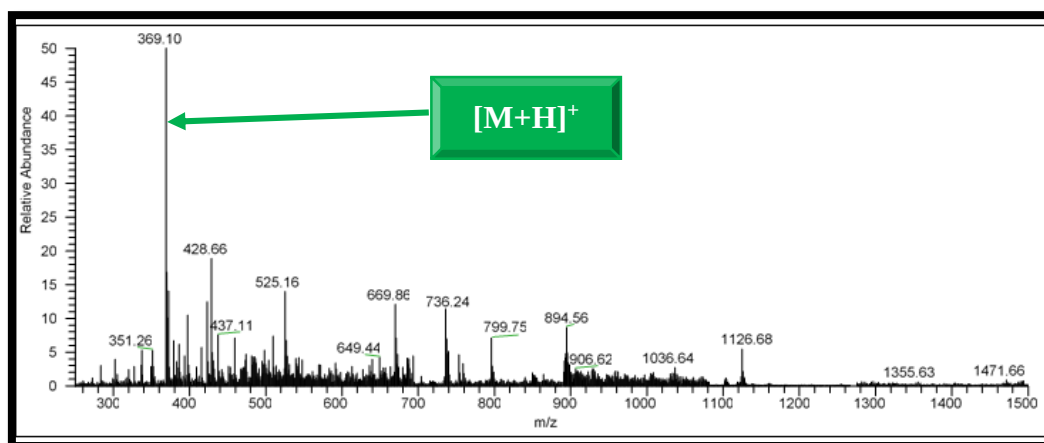


Figure 13: Spectre de masse du composé PC2

L'élucidation complète de PC2 s'est faite au moyen des spectres RMN 1H , RMN ^{13}C , DEPT 135, HSQC et HMBC, COSY.

L'analyse du spectre RMN 1H de PC2 (**Fig. 14**) montre le signal de:

- ✦ Un signal de proton doublet dédoublé à δ_C 7,11 (1H; dd; $J = 8,3; 2,1$ Hz) ainsi que, deux doublets d'un proton chacun à δ_C 6,94 (1H; d; $J = 8,2$ Hz) et 7,17 (1H; d; $J = 2,1$ Hz) correspondant à un système ABX d'un cycle benzénique (**Fragment II**).
- ✦ Deux signaux respectivement à δ_C 6,37 (1H; d; $J = 15,9$ Hz) et 7,63 (1H; d; $J = 15,9$ Hz) correspondants aux protons d'une double liaison de configuration E (**Fragment I**).
- ✦ Un signal à δ_H 3,38 (3H; s) correspondant aux protons du groupement CH_3O- (méthoxy)

- Sept signaux à δ_H 2,23 (m); 2,17(m); 3,89 (dd, $J = 9.8, 3.3$ Hz); 4,23 (d, $J = 3.3$ Hz); 2,05 (m); 2,07(m); 5,34 (td, $J = 10.4, 4.4$ Hz); nous permettant de suggérer la présence d'un cyclohexane ramifié justifié par les constantes de couplage (**Fragment III**). .

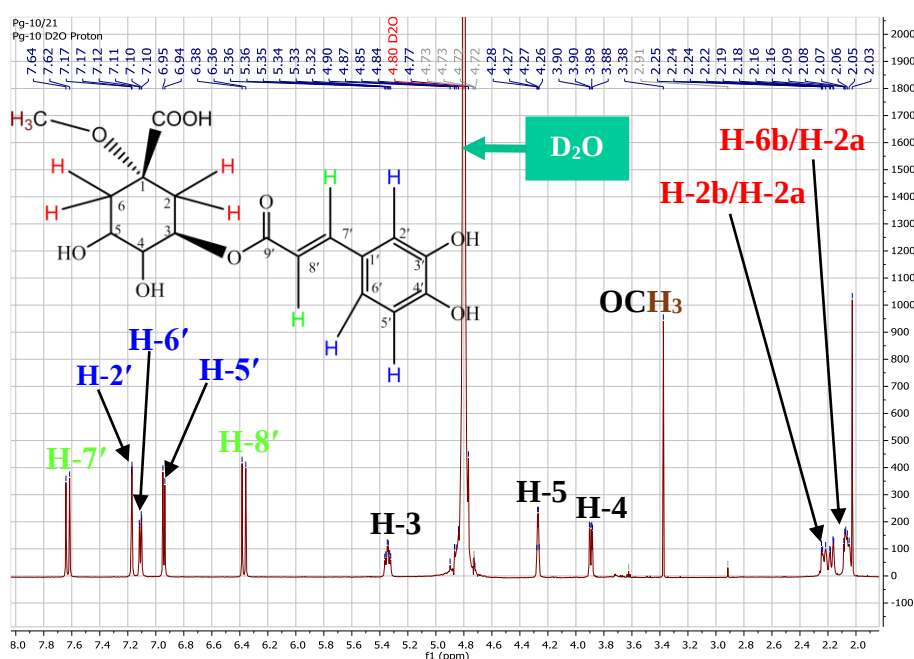
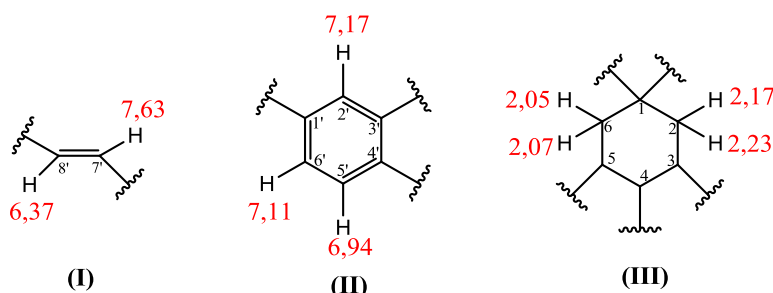


Figure 14: Spectre RMN 1H (D_2O) du composé PC2

L'analyse combinée des spectres RMN ^{13}C et DEPT de PC2 (**Fig. 15 et 16**) montre 17 signaux correspondant à 17 atomes de carbone parmi lesquels:

- Un signal à δ_C 180,0 correspondant à un carbonyle d'acide carboxylique.
- Un signal à δ_C 169,0 révélant la présence d'un carbonyle d'ester.
- Six signaux allant de δ_C 114,6 à 146,9 attribuables au cycle aromatique
- Deux signaux à δ_C 144,1 et 126,1 correspondant au carbone de la double liaison
- Six signaux respectivement à δ_C 37,2; 38,2; 70,6; 71,0; 72,7 et 76,7 attribuables à une chaîne aliphatique.
- Le spectre DEPT 135 révèle la présence de 8 CH, 1 CH_3 , 2 CH_2 .

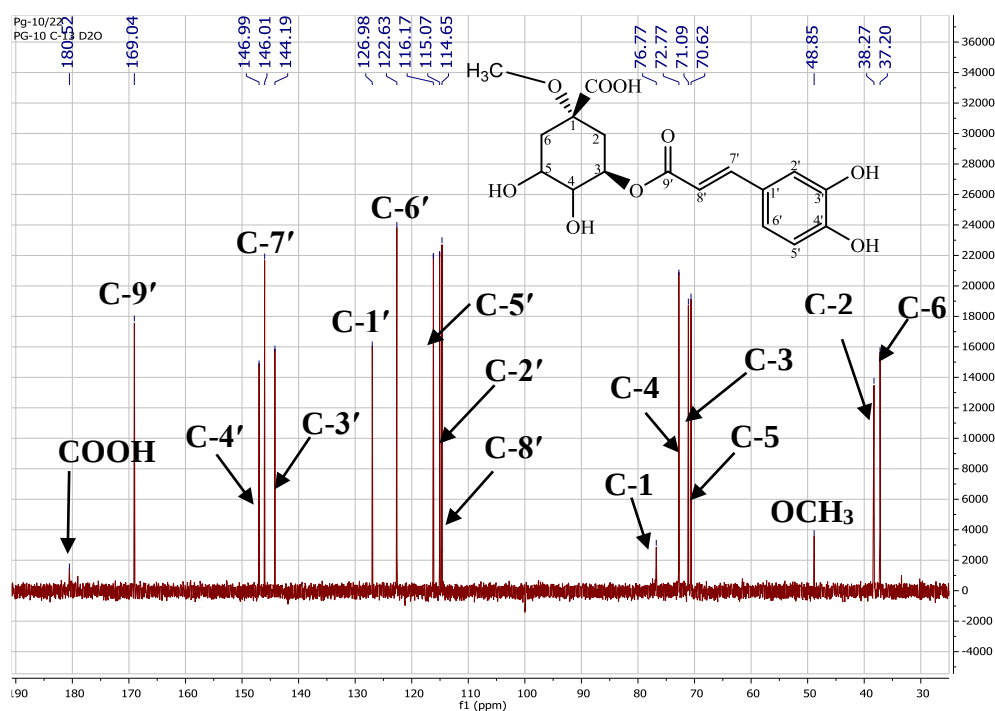


Figure 15: Spectre RMN ^{13}C (D_2O , 150 MHz) du composé PC2

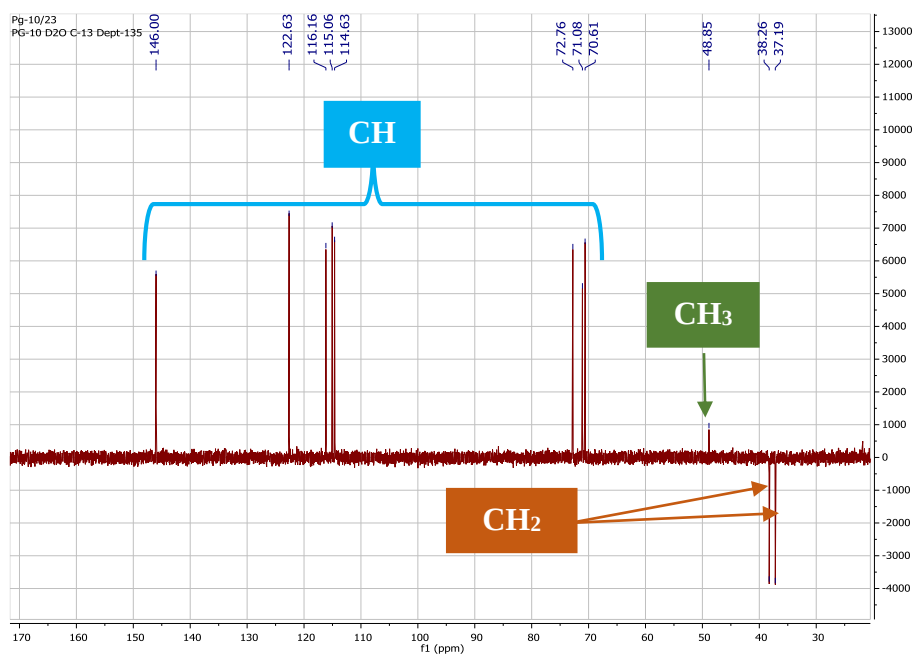


Figure 16: Spectre DEPT 135 (D_2O , 150 MHz) du composé PC2

L'analyse du spectre HSQC (**Fig. 17**) nous permet d'attribuer les protons à leurs carbones correspondants.

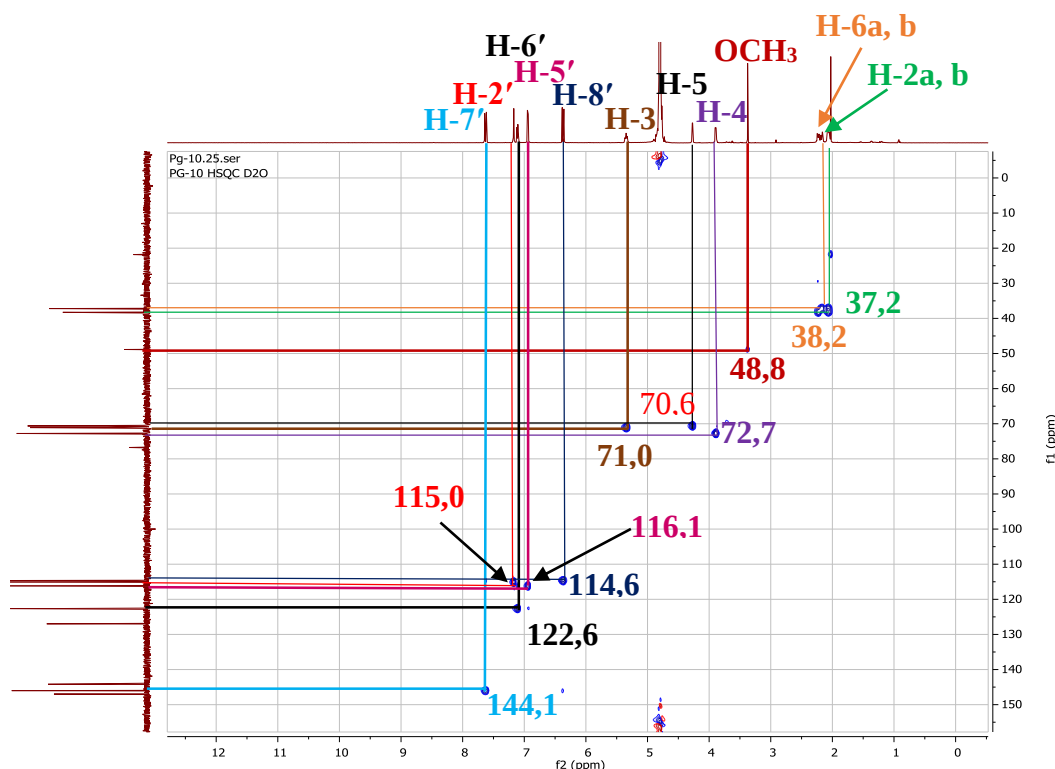


Figure 17: Spectre HSQC (D₂O, 600 MHz) du composé PC2

L'analyse du spectre HMBC (**Fig. 18**) qui montre les corrélations protons et carbones en 2J et 3J nous permet de fixer les différents substituants. On observe:

- ✦ Les corrélations entre le signal du proton H-6a et ceux des carbones δ_C 180,0 (COOH); 70,6 (C-5) et 76,7 (C-1).
- ✦ Les corrélations entre le proton H-4 et les carbones δ_C 70,6 (C-5) et 71,0 (C-3).
- ✦ les corrélations entre le proton H-5 et les carbones δ_C 72,7 (C-4) et 76,7 (C-1).
- ✦ les corrélations entre le proton H-3 et les carbones δ_C 72,7 (C-4) et 169,0 (C-9') justifiant sa jonction avec le groupement ester.

Les informations énumérées dans les quatre points précédents, combinées aux constantes de couplages représentées dans le tableau XXVIII notamment H-2a [2,23 (m)]; H-2b [2,17(m)]; H-3 [5,34 (td, $J = 10.4, 4.4$ Hz)]; H-4 [3,89 (dd, $J = 9.8, 3.3$ Hz)]; H-5 [4,23 (d, $J = 3.3$ Hz)]; H-6a [2,05 (m)]; H-6b [2,07(m)] permettent de justifier la présence du cyclohexane.

- ✦ Les corrélations entre le proton H-5' les carbones δ_C 126,9 (C-1') et 146,0 (C-3').
- ✦ les corrélations entre le proton H-6' et les carbones δ_C 115,0 (C-2') et 146,9 (C-4').

- ✦ les corrélations entre le proton H-2' et les carbones δ_C 122,9 (C-5) et 146,9 (C-5) ce qui confirme la présence du système ABX benzénique au sein de la structure.
- ✦ les corrélations entre le signal du proton H-8' et ceux des carbones δ_C 126,9 (C-1') et 169,0 (C-9') justifiant ainsi la jonction entre les carbones (C-1') et (C-7').
- ✦ les corrélations entre le proton H-7' et ceux des carbones δ_C 115,0 (C-2'); 122,6 (C-6'); 126,9 (C-1') et 169,0 (C-9') confirmant également la jonction entre les carbones (C-1') et (C-7').

Les positions des groupements méthoxy et carboxylique ont été déterminées par le HMBC. Le signal des protons du méthoxy à δ_C 3,38 présente un pic de corrélation avec le carbone de l'acide de l'acide carboxylique (δ_C 180,0) et un pic de corrélation avec le carbone (δ_C 76,7) confirmant sa jonction en position 1 du cyclohexane.

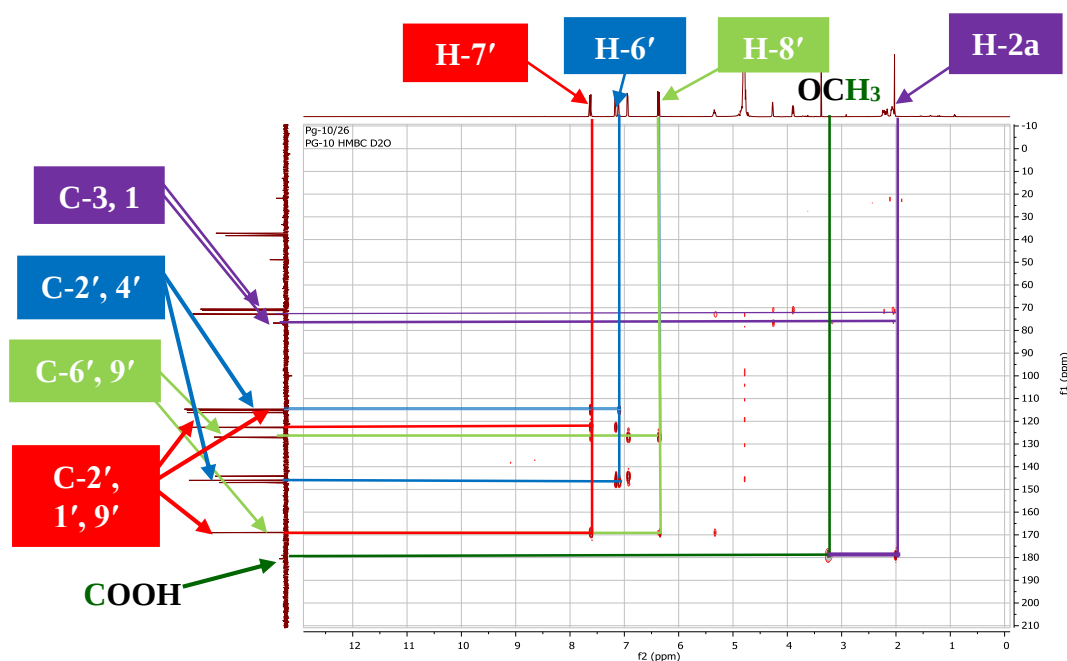
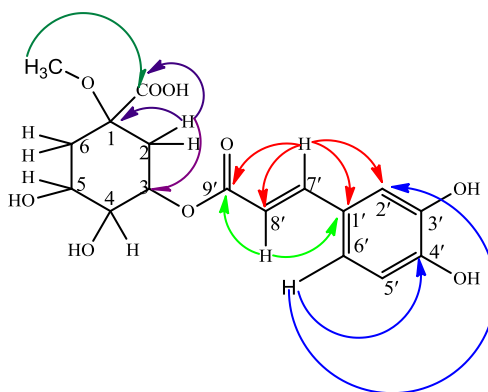


Figure 18: Spectre HMBC (D₂O, 600 MHz) du composé PC2



Son spectre COSY (**Fig. 19**) qui montre les corrélations entre les protons adjacents nous a permis de confirmer notre structure. C'est ainsi que l'on observe les corrélations entre les signaux:

- ☆ Des protons à δ_H 7,63 et 6,37 attribuables à la liaison oléfinique en H-7' et H-8';
- ☆ Des protons à δ_H 3,89 et 5,34 respectivement H-4 et H-3 du cyclohexane;
- ☆ Des protons à δ_H 2,07 et 5,34 respectivement H-2b et H-3 du cyclohexane.

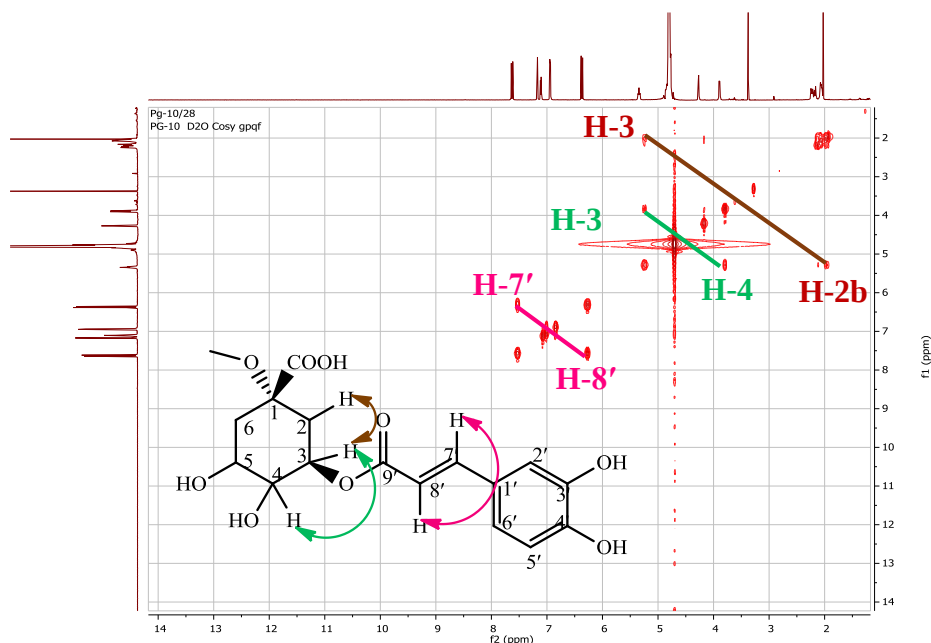
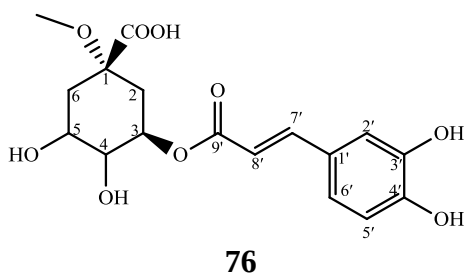


Figure 19: Spectre COSY (D₂O, 600 MHz) du composé PC2

Tableau XXVII: Valeurs de déplacements chimiques RMN ^1H (D_2O , 600 MHz), RMN ^{13}C (D_2O , 150 MHz) de PC2

Position	PC2			(Kamto et <i>al.</i> , 2014)	
	δ_{C}	DEPT	δ_{H} m; J Hz	δ_{C}	δ_{H} m; J Hz
1	76,7	C	-	76,8	-
2a	37,2	CH_2	2,23(m)	37,2	2,23(m)
2b	37,2	CH_2	2,17(m)	37,2	2,16 (m)
3	71,0	CH	5,34 (td, $J = 10.4, 4.4$ Hz)	71,1	5,24 (m)
4	72,7	CH	3,89 (dd, $J = 9.8, 3.3$ Hz)	72,8	3,9 (dd, $J = 10,7; 3,1$ Hz)
5	70,6	CH	4,23 (d, $J = 3.3$ Hz)	70,6	4,28 (m)
6a	38,2	CH_2	2,05 (m)	38,3	2,06 (m)
6b	38,2	CH_2	2,07(m)	38,3	2,08(m)
1'	127,0	C	-	126,9	
2'	115,0	CH	7,17(d, $J = 2,1$ Hz)	115,1	7,18(d, $J = 1,6$ Hz)
3'	144,1	C	-	146,0	
4'	149,9	C	-	147,0	
5'	116,1	CH	6,94(d, $J = 8.2$ Hz)	116,2	6,94(d, $J = 8.2$ Hz)
6'	122,6	CH	7,11(dd, $J = 8.3, 2.1$ Hz)	122,6	7,12(dd, $J = 8.3, 1,6$ Hz)
7'	146,0	CH	7,63(d, $J = 15.9$ Hz)	144,2	7,63(d, $J = 16.0$ Hz)
8'	114,6	CH	6,37(d, $J = 15.9$ Hz)	114,6	6,38(d, $J = 15.9$ Hz)
9'	169,0	C	-	169,0	
COOH	180,5	C	-	180,0	
-OCH ₃	48,8	CH_3	3,38 (s, 1H)	48,9	3,38 (s, 1H)

L'ensemble de toutes ses données spectrales comparées à celles de la littérature nous a permis d'attribuer à PC2 la structure (76) qui est celle de l'acide 3-O-caffeoyl-1-méthylquinique précédemment isolé des écorces des tiges de *Piper guineense* (Kamto et *al.*, 2014).



CONCLUSION ET PERSPECTIVES

En définitive, notre étude s'est concentrée sur l'investigation chimique de la fraction à l'acétate d'éthyle des feuilles de *Piper capense*. Grâce à des techniques chromatographiques conventionnelles, nous avons réussi à isoler trois composés désignés par PC1, PC2 et PC3. Les composés PC1 et PC2 ont été identifiés respectivement au lupéol, un triterpène de type lupane et à l'acide 3-O-caffeoyl-1-méthylquinique un dérivé d'acide cinnamique. L'élucidation structurale de ces composés a été rendue possible grâce à une analyse approfondie de leurs données spectroscopiques. En particulier, la RMN monodimensionnelle et bidimensionnelle ainsi que la spectrométrie de masse, ont été des outils indispensables pour déterminer leurs structures et la comparer à celles décrite dans la littérature scientifique.

La littérature scientifique portant sur le genre *Piper* met en évidence les propriétés biologiques intéressantes de nombreux composés isolés de ce genre, notamment des propriétés antioxydant, anticancéreuses et antifongiques. Compte tenu de ces résultats prometteurs, nos recherches futures viseront à terminer la caractérisation du composé PC3 poursuivre l'étude chimiques des fractions restantes et d'autres parties de l'espèce *Piper capense* et enfin, évaluer les activités biologiques des composés isolés. Ces travaux pourraient ainsi ouvrir de nouvelles perspectives pour le développement de nouvelles molécules à visée thérapeutique.

CHAPITRE III: MATÉRIEL ET MÉTHODES

III.1 Appareillage et matériel végétal

III.1.1 Appareillage et techniques chromatographiques

Les échantillons (matière végétale, l'extract brut et les fractions) ont été pesés avec précision à l'aide d'une balance électronique HEIDOLPH MR 3001 K.

Plusieurs dispositifs ont été mis en œuvre pour mener à bien les techniques pour les techniques employées:

- ✦ Les chromatographies sur couche mince (CCM) ont été réalisées avec des plaques de silice sur aluminium préfabriquées de type MERCK. Ces plaques, de dimension 20 x 20 cm et d'une épaisseur de 0,2 mm, étaient recouvertes de gel de silice. Le développement des chromatogrammes s'est effectué dans les cuves chromatographiques CAMAG.
- ✦ La partition a été réalisée par la technique d'extraction liquide-liquide à l'aide d'une ampoule à décanter.
- ✦ La chromatographie sur colonne (CC) a été réalisée dans une colonne ouverte en verre utilisant comme phase stationnaire de la silice MERCK, ayant une granulométrie de 0,063 à 0,200 mm et une porosité de 230-400 mesh ASTM.
- ✦ La révélation des taches sur le chromatogramme a été effectuée de deux manières:
 - Par visualisation sur une lampe UV (254 et 365 nm) de marque FISHER BIOBLOCK SCIENTIFIC,
 - Par révélation chimique: les plaques ont été pulvérisées avec une solution d'acide sulfurique dilué à 10 % puis chauffées.
- ✦ L'évaporation des solvants a été réalisée à l'aide d'un évaporateur rotatif HEIDOLPH, communément appelé rota-vapeur.



Figure 20: Évaporateur rotatif de marque HEIDOLPH (Kengni, 2024)

- ✦ Les filtrations ont été effectuées avec des papiers filtres de type Whatmann.
- ✦ Les spectres de résonance magnétique nucléaire (RMN 1D et 2D) ont été acquis sur des spectromètres fonctionnant à 600 MHz pour le proton (^1H) et à 150 MHz pour le carbone (^{13}C), en utilisant le CDCl_3 pour le composé PC1 et D_2O pour le composé PC2 comme solvants.
- ✦ Les spectres de masse ont été enregistrés sur un appareil SHIMADZU LC-MS-2020 (Liquid Chromatography Mass Spectrometry) en utilisant ESI comme mode d'ionisation.

III.1.2 Matériel végétal

Les feuilles de *Piper capense* ont été récoltées le 29 Novembre 2023 à Bangangté à l'Ouest Cameroun. Un échantillon de référence a été identifié et enregistré au N° (6018/SFR/Cm), par Mr. NANA botaniste à l'Herbier National du Cameroun (Yaoundé).

III.2 Extraction, isolement et caractérisation des composés isolés

III.2.1 Préparation de l'extrait brut

Les feuilles de *Piper capense* ont été découpées, séchées et ensuite réduites en poudre, aboutissant à une masse de 600 g. Une partie de cette poudre 400 g a été soumise à une extraction par macération dans un mélange de $\text{MeOH-H}_2\text{O}$ (8:2), puis filtrée. Le filtrat obtenu a été concentré à l'aide d'un évaporateur rotatif, ce qui a permis d'obtenir un extrait brut d'une masse de 81,61 g.



Figure 21: Etapes d'extraction de la poudre de *P. capense* (Kengni, 2024)

III.2.2 Techniques d'isolement et de purification

III.2.2.1 Partition et fractionnement

50 g de l'extrait brut ont été dissous dans 150 mL d'eau distillée, puis partitionnés à l'hexane, à l'acétate d'éthyle et au n-butanol saturé d'eau. Cela a permis d'obtenir une fraction à l'hexane de 7 g, une fraction à l'acétate d'éthyle de 8,13 g, une fraction butanolique de 12,17 g et une fraction aqueuse de 19,5 g. Cette procédure a été répétée sept fois pour chaque solvant.

7 g de la fraction à l'acétate d'éthyle ont été soumis à une VLC sur gel de silice, utilisant un système de solvant DCM-MeOH-H₂O avec le gradient de (95:5:0; 95:5:0,5; 92:8:0,5; 89:11:0,5; 84:16:0,5; 82:18:0,5). Cela a généré les sous-fractions A (1,00 g), B (900 mg), C (587 mg), D (856,12 mg), E (1,05 g) et F (1,4 g).

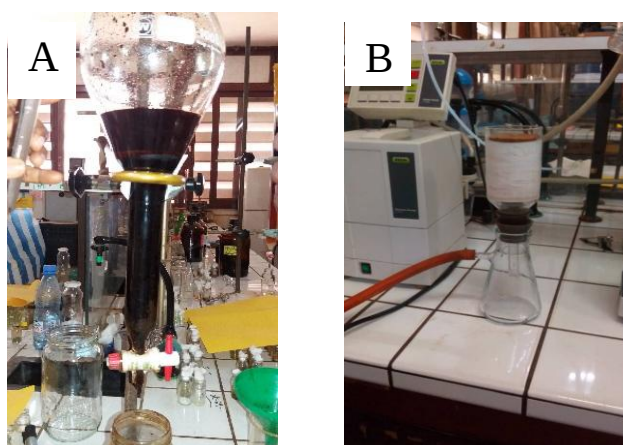


Figure 22: Partition à l'acétate d'éthyle (A) et VLC de fractionnement (B) (Kengni, 2024)

III.2.2.2 Purification de la sous fraction B

La sous-fraction B (900 mg) a été purifiée par chromatographie sur colonne de gel de silice (63-200 μm) en utilisant un système de solvant $\text{CH}_2\text{Cl}_2\text{-MeOH-H}_2\text{O}$ (70:30:5), avec une collecte de 3 mL par tube. À l'issue de cette procédure, un composé pur a été isolé et désigné comme PC1 (14 mg). La pureté de celui-ci a été vérifiée par chromatographie sur couche mince (CCM), sa structure a été élucidée à l'aide de méthodes spectrales et en comparant nos données disponibles à celles décrites dans la littérature.

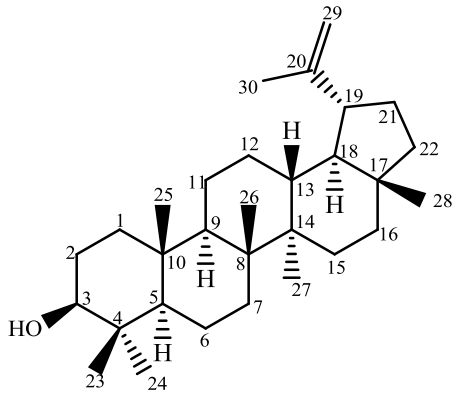
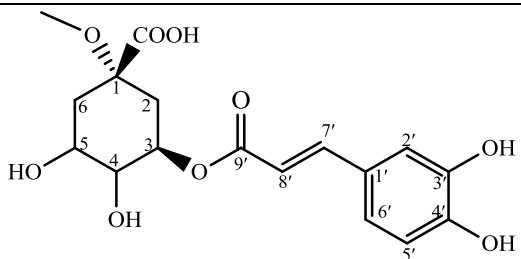


Figure 23: CC de purification sur gel de silice

III.2.2.3 Purification de la sous fraction D

La sous-fraction D (856,12 mg) a été soumise par chromatographie sur colonne de gel de silice (63-200 μm) en utilisant un système de solvant $\text{AcOEt-MeOH-H}_2\text{O}$ (85:10:5), avec une collecte de 3 mL par tube en raison de 300 tubes. Faisant suite, la sous-fraction D₃ (90 mg) constitué d'un mélange de deux composés majeurs a été purifiée via une CC Sephadex LH-20 avec pour éluant le MeOH pour donner PC2 (12 mg) et PC3 (8 mg). Les puretés de ceux-ci ont été vérifiées par chromatographie sur couche mince (CCM). PC2 a été élucidé à l'aide de méthodes spectroscopiques, spectrométriques et par comparaison de ses données avec celles décrites dans la littérature.

III.3 Propriétés physico-chimiques et spectroscopiques des composés isolés

Composé isolé	Caractéristique
	Nom: Lupéol Aspect physique: Poudre blanche ESI-MS: $[M+H]^+ = 427,45$ Formule brute: $C_{30}H_{50}O$ NI = 6 RMN ^{13}C et RMN 1H (Tableau XXVII)
	Nom: Acide 3-O-caffeoyl-1-méthylquinique Aspect physique: Poudre amorphe jaune pâle ESI-MS: $[M+H]^+ = 369,10$ Formule brute: $C_{17}H_{20}O_9$ NI = 8 RMN ^{13}C et RMN 1H (Tableau XXVIII)

III.4. Tests caractéristiques

III.4.1. Test des phénols

À 5 mL d'extrait méthanolique ont été ajoutés 3 gouttes d'une solution de chlorure ferrique fraîchement préparée. La formation d'un précipité violet a marqué la présence des phénols (Harbone, 1993).

III.4.2. Test de Libermann buchard (test des stéroïdes et triterpènes)

On agite le mélange obtenu par macération de 5 g de plante dans 20 ml de chloroforme pendant quelques minutes, on ajoute 1 mL d'acide sulfurique et 2 à 3 gouttes d'anhydride acétique. L'apparition d'une couleur verte confirme la présence des stéroïdes et qui se transforme au fur et à mesure au rouge sur les points de contact de l'acide sulfurique avec la solution; ce qui prouve la présence des triterpènes.

REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

- Agardh C.A. (2002). Famille des Piperaceae: taxonomie et description. *Plantes botaniques* 1-6.
- Akinloye O.A., Alagbe O.A., Ugbaja R.N., Omotainse S.O. (2020). Evaluation of the modulatory effects of *Piper guineense* leaves and seeds on egg albumin-induced inflammation in experimental rat models. *Journal of Ethnopharmacology* 255, 112.
- Albuquerque B.R., Heleno S.A., Oliveira M.B.P.P., Barros L., Ferreira I.C.F.R. (2021). Composés phénoliques: applications industrielles actuelles, limites et défis futurs. *Food Function* 12, 14-29.
- Antolovich M., Prenzler P.D., Patsalides E., McDonald S., Robards K. (2002). Methods for testing antioxidant activity. *Analyst journal* 127, 183-198.
- Ayissi E.N., Tchuenguem F.T., Ngan A.L. (2016). Ethnobotanical survey of medicinal plants used in the treatment of diarrhea in the Central Region of Cameroon. *Journal of Ethnobiology and Ethnomedicine* 12, 1-11.
- Balasundram, N., Sundram, K., Samman, S., (2006). Composés phénoliques dans les plantes et les sous-produits agro-industriels : activité antioxydante, présence et utilisations potentielles. *Food Chemistry* 99, 191-203.
- Bernard Verdcourt. (1996). Flora of Tropical East Africa. *Piperaceae*.S, 26-30.
- Boiteau P., Ratsimamanga A.R. (1958). Effects of asiaticoside on germination and growth of plants, *Royal Society Biology* 152, 1106-1107.
- Bruneton J. (1993). Pharmacognosie, phytochimie et plantes médicinales, 2 ème édition technique et documentation, Lavoisier 792, 266-285.
- Bruneton J. (1999). Pharmacognosie, phytochimie, plantes médicinales, (3e éd.). Médicales internationales Editions Technique & Documentation, Cachan 647-673.
- Bruneton J. (2009). Pharmacognosie, Phytochimie, Plantes médicinales (4e éd.). Paris, France: Lavoisier.
- Buchanan B., Gruissem W., Jones R. (2000). Biochemistry and molecular biology of plants (1e éd.). Maryland, USA, American society of plant physiologists.
- Chang M.N., Han G.Q., Arison B.H., Springer J.P., Hwang S.B., Shen T.Y. (1985). Neolignans from *Piper futokadsura*. *Phytochemistry* 24, 2079-2082.

- Cheung H.T., Williamson D.G., N.M.R. (1969). Signals of methyl groups of triterpenes with oxygen fonctions at position 2, 3, and 23. *Tetrahedron* **25**, 119-128.
- Chouna H.S.D., Bankeu J.J.K., Fongang Y.S.F., Dize D., Ponou B.K., Bitchagno G.T.M., Awantu A.F., Lenta B.N., Fekam F.B., Ngouela S.A., Opatz T., Sewald N. (2021). Constituents of *Peperomia vulcanica* Baker & C. H. Wright (Piperaceae) with antiparasitic activity. *Phytochemistry Letters* **41**, 14-20.
- Cowan M.M. (1999). Plant products as antimicrobial agents. *Clinical Microbiology Reviews* **12**, 564-582.
- Cronquist A. (1988). The evolution and classification of flowering plants. 2nd Ed. *The New York Botanical Garden. Bronx New.York* 555.
- D'Alessandro L.G. (2013). Eco-procédés pour la récupération sélective d'antioxydants à partir d'*Aronia melanocarpa* et ses co-produits (Thèse de doctorat). Université de Lille 1, 140-200.
- D'Archivio M., Filesi C.D., Benedetto R., Gargiulo R., Giovannini C., Masella R. (2007). Polyphénols, sources alimentaires et biodisponibilité. *Annali dell'Istituto Superiore di Sanità* **43**, 348-361.
- Dai J., Mumper R.J. (2010). Composés phénoliques végétaux : extraction, analyse et leurs propriétés antioxydantes et anticancéreuses. *Molecules* **15**, 7313-7352.
- Debebe E., Dessalegn T., Melaku Y. (2018). Chemical constituents and antioxidant activities of the fruits extracts of *Piper capense*. *Bulletin of the Chemical Society Ethiopia* **32**, 167-174.
- Dhar K.L., Raina M.L. (1973). Further chemical studies of *Piper peepuloides*. *Planta medica* **23**, 295-297.
- Dhar K.L., Shah S., Prabhakar A., Sharma R.L. (1995). New pyrrolidinamide dimers from *Piper peepuloides*. *Fitoterapia* **66**, 390-392.
- Ding D.D., Wang Y.H., Chen Y.H., Mei R.Q., Yang J., Luo J.F., Kong Y. (2016). Amides and nealignans from the aerial parts of *Piper bonii*. *Phytochemistry* **129**, 36-44.
- Doddred D.M., Khong P.W., Lewis K.G. (1974). The structure dependence of ¹³C chemical shifts in olean-12-enes and urs-12-enes as an aid to structural assignment. *Tetrahedron Letters* **27**, 2381-2384.

- Dominguez X.A., Alcorn J.B. (1985). Screening of medicinal plants used by Huastec Mayans of north eastern Mexico. *Journal of Ethnopharmacology* **13**, 139-156.
- Dorman H.J.D., Deans S.G. (1985). Antimicrobial agents from plants: Antibacterial activity of plant volatile oils. *Journal of Applied Microbiology* **88**, 308-16
- Duh C.Y., Pezzuto J.M., Kingorn A.D., Lung S.L., Farnsworth N.R. (1987). Plant anticancer agents XLIV, Cytotoxic constituents from *Stizophyllum niparium*. *Journal of Natural Products* **50**, 63-74.
- Durant-Archibold A.A., Santana A.I., Gupta M.P. (2018). Ethnomedical uses and pharmacological activities of most prevalent species of genus *Piper* in Panama. *Journal of Ethnopharmacology* **217**, 63-82.
- Edward S., Tadesse M., Demissew S., Hedberg I. (2000). « Flora of Ethiopia & Eritrea, Volume 2, part 1, Magnoliace to flacourtiace ». Addis Ababa, Ethiopia-Uppsala, Sweden. National Herbarium (Ethiopia), p 59-64.
- Eisa M., Almagboul A., Omer M., and Elegami A. (2000). Antibacterial activity of *Dichrostachys cinerea*. *Fitoterapia* **71**, 324-327.
- Eyob D.A., Dessalegn T., Melaku Y. (2018). Chemical constituents and antioxidant activities of the fruits extracts of *Piper capense*. *Bulletin of the Chemical Society Ethiopia* **32**, 167–174.
- Felipe F.C.B., Sousa-Filho J.T., Souza L.E.O., Silveira J.A., Uchoa D.E.A., Silveira E.R., Pessoa O.D.L., Viana G.S.B. (2007). Piplartine, an amide alkaloid from *Piper tuberculatum*, presents anxiolytic and antidepressant effects in mice. *Phytomedicine* **14**, 605-612.
- Frodin. (2004). History and concepts of big plant genera. *Taxon* **53**, 753-776.
- Ghedina K. (2005). Les flavonoids, structures, propriétés biologiques, rôles prophylactiques et emplois en thérapeutique. *Phytothérapie* **4**, 162-169.
- Ghosh R., Katon D., Nath P., Deb P. (2014). An Overview of Various *Piper* Species for their Biological Activities. *International Journal of Production Research* **67**, 73.
- Gonzalez-coloma A., Lopez-Balboa C., Santana O., Reina M., Fraga B. M. (2010). Triterpene-based plant defenses. *Phytochemistry Reviews* **10**, 245-260.
- Green T.P., Galinis D.L., Wiemer, D. F. (1991). Four neolignan ketones from *Piper capense*. *Phytochemistry* **30**, 3759-3762.

- Gunther H. (1994). La spectroscopie de RMN : Principes de base, concepts et applications de la spectroscopie de résonance magnétique nucléaire du proton et du carbone 13 en chimie, Ed. Masson, Paris, 10-18.
- Harbone J. B. (1993). The Flavonoids: Advances in Research since 1986. London, UK: Chapman & Hall.
- Heller W., Forkmann G. (1988). Biosynthesis In The Flavonoids (ed. J. B. Harborne). Chapman and Hall, London 399 - 425.
- https://fr.freepik.com/photos-premium/piper-capense-poivre-long-africain-poivre-long-ethiopien-timiz-dans-jardin_42345681.htm.
- <https://www.kew.org/science/who-we-are-and-what-we-do/strategic-outputs-2020/plants-of-the-world-online> World Flora Online Data. (2021). *The Trustees of the Royal Botanic Gardens*.
- Jaramillo M.A., Manos P.S. (1988). Phylogeny and patterns of floral diversity in the genus *Piper* (Piperaceae). *American Journal of Botany* **88**, 706-716.
- Juliani R.H., Koroch A.R., Giordano L., Amakuse L., Koffa S. (2013). *Piper guineense* (Piperaceae) chemistry, traditional uses and functional properties of West African black pepper. Vol II. Discoveries and challenges in chemistry, Health and Nutrition. *ACS Symposium series*, **27**, 3-48.
- Jurd L. (1968). The chemistry of Flavonoids compounds. *Geissman (edition), pergamon press, London* 108-154.
- Kamsu G.T., Ndebia E.J. (2024). A Comprehensive Review of the Ethnobotanical Uses, Pharmacological, and Toxicological Profiles of *Piper capense* L.f. (Piperaceae). *Drugs Drug Candidates* **3**, 598-614.
- Kamto E.L.D., Ngono D.S.B., Mbing J.N., Atchadé A.T., Pegnyemb D.E., Westhuizen J.H.v.d. (2014). An aromatic amide C-glycoside and a cyclitol derivate from stem bark of *Piper guineense* Schum. and Thonn (Piperaceae). *Phytochemistry letters* **10**, lxxvi-lxxxii.
- Kamto E.L.D., Noté O.P., Kinyok M.J., Wilhelm A., Mbing J.N., Antheaume C., Atchadé A.T., Pegnyemb D.E., Ndinteh D.T., Haddad M., Susan L., Bonnet. (2021). Glycosides of polygalacic acid from the stem barks of *Piper guineense* Schum and Thonn. *Carbohydrate Research* **507**, 108374.

- Kaou A.M., Mahiou-Leddet V., Canlet C., Debrauwer L., Hutter S., Azas N., Ollivier E. (2010). New amide alkaloid from the aerial part of *Piper capense* L.f. (Piperaceae). *Fitoterapia* **81**, 632-635.
- Kaou A.M., Mahiou-Leddet V., Hutter S. (2008). Antimalarial activity of crude extracts from nine African medicinal plants. *Journal of Ethnopharmacology* **116**, 74-83.
- Kasali F.M., Irengé C.A., Hamuli P.M., Mulashe P.B., Katabana D.M., Mokoso J.D.D.M., Mpiana P.T., Ntokamunda K. (2021). Survey on Treatment of Hypertension by Traditional Healers in Bukavu City, Democratic Republic of Congo. *Journal of Ethnopharmacological* 6684855.
- Khan A., Rahman M., Islam M.S. (2008). Neuropharmacological effects of *Peperomia pellucida*. *Journal of Pharmaceutical Sciences* **16**, 1.
- Khanbabae K., Ree T.R. (2001). Tannins: Classification and Definition. *Journal of Royal Society of Chemistry* **18**, 641-649.
- Kloos H., McIlough F. S. (1982) Plant molluscicides. *Planta Medica*, **46**, 195-209.
- Koch A., Tamez P., Pezzuto J., Soejarto D. (2005). Evaluation of plants used for antimalarial treatment by the Maasai of Kenya. *Journal of Ethnopharmacology* **101**, 95-99.
- Kochhar S.L. (1998) « Economic botany in the tropics » *second edition*. Department of Botany, Sri Guru Tegh Bahadur Khalsa College, University of Delhi, 604.
- Kpoviesi S., Bero J., Agbani P., Gbaguidi F., Kpadonou-Kpoviessi B., Sinsin B., Accrombessi G., Frédérick M., Moudachirou M., Quetin-Leclercq J. (2014). Chemical composition, cytotoxicity and in vitro antitrypanosomal and antiplasmodial activity of the essential oils of four *Cymbopogon* species from Benin. *Journal of Ethnopharmacology* **151**, 652-9.
- Leitao M.M., Radai J.A.S., Ferrari I.C., Negrao, F.J., Silva-Filho S.E., Oliveira R.J., Kassuya C.A.L. (2020). Effects of an ethanolic extract and fractions from *Piper glabratum* (Piperaceae) leaves on pain and inflammation. *Regulatory Toxicology and Pharmacology* **117**, 104762.
- Li J., Wan H., Zhang H., Tian M. (2011). Current applications of molecular imaging and luminescence-based techniques in traditional Chinese medicine. *Journal of Ethnopharmacology* **137**, 16-2.
- Li Y.Z., Zhang J.L., Liu, M.D. (2018). Chemical Constituents of *Peperomia cavaleriei*. *Chemistry of Natural Compounds* **54**, 175.

- Lin L.Z., Harnly J., Zhang R.W., Fan X.E., Chen H.J. (2012). Quantitation of the hydroxycinnamic acid derivatives and the glycosides of flavonols and flavones by uv absorbance after identification by lc-ms. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* **60**, 544-553.
- Lin M.H., Chang F.R., Hua M.Y., Wu Y.C., Liu S.T. (2011). Inhibitory effects of 1,2,3,4,6-penta-O-galloyl- β -D-glucopyranose on biofilm formation by *Staphylococcus aureus*. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy* **55**, 1021-7.
- Liu J., Bi Y., Luo R., Wu X. (2011). Simultaneous UFLC-ESI-MS/MS determination of piperine and piperlonguminine in rat plasma after oral administration of alkaloids from *Piper longum* L. Application to pharmacokinetic studies in rats. *Journal of Chromatography B* **879**, 2885-2890.
- López-Hortas L., Pérez-Larrán P., González-Muñoz M.J., Falqué E., Domínguez H. (2018). Recent developments on the extraction and application of ursolic acid. *A review Food Research International* **103**, 130-149.
- Mahato S.B., Kundu P.A. (1994). ^{13}C NMR spectra of pentacyclitriterpenoids compilation and some patient features. *Phytochemistry* **37**, 1517-1575.
- Marchiosi R., Dos Santos W. D., Constantin R. P., De Lima R. B., Soares A. R., Finger-Teixeira A., Abrahao J. (2020). Biosynthesis and metabolic actions of simple phenolics in plants. *Phytochemistry reviews* **19**, 865-906.
- Markham K. (1982). Techniques of flavonoids identification. *Academic press*, London-New-York, 36-88.
- Mbaveng A.T., Kuete V., Efferth T. (2017). Potential of Central, Eastern and Western Africa medicinal plants for cancer therapy: spotlight on resistant cells and molecular targets. *Frontiers in Pharmacology* **8**, 343.
- Mbaveng A.T., Wamba B.E.N., Bitchagno G.T.M., Tankeo S.B., Çelik İ., Atontsa B.C.K., Kuete V., Efferth T. (2021). Bioactivity of fractions and constituents of *Piper capense* fruits towards a broad panel of cancer cells. *Journal of Ethnopharmacology* **271**, 113884.
- Mohammed Z. (2006). Etude de pouvoir anti-microbien et antioxydant des huiles essentielles et flavonoïdes de quelques plantes de la région de Tlemcen. (Thèse de doctorat). Université Abou Bekr Belkaid Tlemcen, p 91.

- Mothana R., Alsaid M., Khaled J.M., Alharbi N.S., Alatar A., Raish M., Alatar A., Raish A., Al-Yahya M., Rafatullah S., Parvez M.K., Ahamad S.R. (2016). Assessment of antinociceptive, antipyretic and antimicrobial activity of *Piper cubeba* L. Essential oil in animal models. *Pakistan Journal of Pharmaceutical Science* **29**,671.
- Mpondo M.E., Yinyang J., Dibong S.D. (2015). Valorisation des plantes médicinales à coumarines des marchés de Douala Est (Cameroun). *Journal of Applied Biosciences* **85**, 7804-7823
- Nabi S.A., Kasetti R.B., Sirasanagandla S., Tilak T.K., KumarM.V.J., Rao C.A. (2013). Antidiabetic and antihyperlipidemic activity of *Piper longum* root aqueous extract in STZ induced diabetic rats, *BMC Complementary and Alternative Medicine* **13**, 37.
- Naumann H.D., Tedeschi L.O., Zeller W.E., Huntley N.F., (2017). Le rôle des tanins condensés dans la production animale des ruminants : avancées, limites et orientations futures. *Révérend Bras. Zootèque* **46**, 929949
- Navickiene H.M., Alecio A.C., KatoM.J., Bolzan V.D., Young M.C., Cavaleiro A.J., Furlan M. (2000). Antifungal amides from *Piper hispidum* and *Piper tuberculatum*. *Phytochemistry* **55**, 621-626.
- Ndze A., Dimo T. (2014). Ethnobotanical survey of medicinal plants used for fever treatment in the Menoua Division, Cameroon. *Journal of Medicinal Plants Research* **8**, 977-986.
- Nwachukwu C.U., Ume N.C., Obasi M.N., Nzewuihe G.U., Onyirioha C. (2010). The qualitative uses of some medicinal plants in Ikeduru LGA of Imo state, Nigeria. *New York Science Journal* **3**,129-134.
- Oussaid S., Chibane M., Madani K., Amrouche T., Achat S., Dahmoune F., Houali K., Rendueles M., Diaz M. (2017). Optimization of extraction of phénolic compounds from *Scirpus holoschoenus* using a simplex centroid design for antioxydant and antibacterial applications. *LWT Food Science and Technology*, **86**, 635-642.
- Pauli A. (2002). Antimicrobial Properties of Catechol Derivatives; 3rd World Congress on Allelopathy, Tsukuba, Japan, 26-30.
- Paulino N., Teixeira C., Martins R., Scremin A., Dirsch V.M., Vollmar A.M., Abreu S.R.L., Decastro S.L., Marcucci M.C. (2006). Evaluation of the analgesic and antiinflammatory effects of a Brazilian green propolis. *Planta Medica* **72**, 899-606.

- Pedersen M.E., Metzler B., Stafford G.I., Staden J.V., Jäger A.K., Rasmussen H.B. (2009). Amides from *Piper capense* with CNS Activity – A Preliminary SAR Analysis. *Molecules* **14**, 3833-3843.
- Poumale H.M.P. (2007). Secondary metabolites from bacteria and two plants: *Thécacoris batesii* (Euphorbiaceae) and *Fagaratess mannii* (Rutaceae). Some Biological tests and chemical transformation of some isolated compounds. Doctorat/ PhD en chimie organique, Université de Yaoundé, Cameroun, 9-39.
- Posso O.R., Díaz P.P., de Díaz A.M. (1994). Estudio químico de *piper steerni*. *Revista Colombiana de Química* **23**, 53-61.
- Puhl M.C., Cortez D.A., Ueda-Nakamura T., Nakamura C.V., Filho B.P. (2011). Antimicrobial activity of *Piper gaudichaudianum* Kuntze and its synergism with different antibiotics. *Molecules* **16**, 9925-38.
- Rajudin E., Ahmad F., Sirat H.M., Arbain D., Aboul-Enein H.Y. (2010). Chemical constituents from tiger's betel, *Piper porphyrophyllum* N.E.Br. (Piperaceae). *Natural Products Research* **24**, 387-390.
- Regasini L.O., Cotinguiba V., Morandim A.A., Kato M.J., Scorzoni L., Mendes-Giannini M.J.S., Bolzani V.S., Furlan M. (2009). Antimicrobial activity of *Piper arboreum* and *Piper tuberculatum* (Piperaceae) against opportunistic yeasts. *Africa Journal of Biotechnology* **8**, 2866-70.
- Rukachaisirikul T., Prabpai S., Champung P., Suksamram A. (2002). Chabamide, a novel piperine dimer from stems of *Piper chaba*. *Planta Medica* **68**, 853-855.
- Saeed S.A., Farnaz S., Simjee R.U., Malik A. (1993). Triterpenes and β -Sistosterol from *Piper betle* : isolation, antiplatelet, and anti-inflammatory effects. *Biochemistry society Transactions* **21**, 462.
- Salaheen S., Peng M., Joo J., Teramoto H., Biswas D. (2017). Eradication and sensitization of methicillin resistant *Staphylococcus aureus* to methicillin with bioactive extracts of berry pomace. *Frontiers in Microbiology* **8**, 253.
- Samain M.S., Vrijdaghs A., Hesse M., Goetghebeur P., Rodríguez F. J., Stoll A., Wanke S. (2010). *Verhuellia* is a segregate lineage in Piperaceae: more evidence from flower, fruit and pollen morphology, anatomy and development. *Annals of botany* **105**, 677-688.

- Samie A., Tambani T., Harshfield E., Green E., Ramalivhana J.N., Bessong P.O. (2010). Antifungal activities of selected Venda against *Candida albicans*, *Candida krusei*, *Cryptococcus neoformans* isolated from South African AIDS patients. *African Journal of Biotechnology* **9**, 2965-2976.
- Sashidar N.S. (2002). Studies on bioactive natural compounds for their antimicrobial and antioxydant properties Ph. D thesis, submitted to Osmania University, Hyderabad Indian.
- Scalbert A. (1991). Antimicrobial properties of tannins. *Phytochemistry* **30**, 3875-83.
- Scalbert A., Morand C., Manach C., Remesy C. (2002). Absorption and metabolism of polyphénols in gut and impact on health. *Biomedical pharmacotherapy* **56**, 276-282.
- Schmelzer G., Gurib-Fakim A., Arroo R., Bosch C.H., Ruijter A., Simmonds M.S.J., Lemmens R.H.M.J., Oyen L. P. A. (2008). Plant resources of tropical Africa. *Medicinal plants* **11**, 790.
- Scott I.M., Gagnon N., Lesage L., Bradbury R., Sanchez Vindas P., Poveda L., Arnason J.T., Phylogene B.J.R. (2004). Efficacy of *Piper* (Piperaceae) extracts for control of common home and garden insect pests. *Journal of Economic Entomology* **97**, 1390-1403.
- Shah S.R., Ukaegbu C.I., Hamid H.A., Alara O.R. (2018). Évaluation des activités antioxydantes et antibactériennes des tiges de *Flammulina velutipes* et *Hypsizygus tessellatus* (var. blanche et brune) extraites avec différents solvants. *Journal of Food Measurement and Characterization* **12**, 1-15.
- Shwe H.H., Win K.K., Moe T.T., Myint A.A., Win T. (2019). Isolation and Structural Characterization of Lupeol from the Stem Bark of *Diospyros ehretioides* Wall. *International European Extended Enablement Science Engineering and Management* **7**, 2320-9151
- Singh R., Singh N., Saini B.S., Singh H. (2008). In vitro anti-oxidant activity of pet ether extract of black *Piper*. *Indian Journal of Pharmacology* **40**, 147-151.
- Singh S.A., Christendat D. (2007). The DHQ-dehydroshikimate-SDH-shikimate-NADP(H) complex: insights into metabolite transfer in the shikimate pathway. *Crystal Growth and Design Journal* **7**, 2153-2160.
- Spigno G., De Faveri, D.M. (2007). Antioxidants from grape stalks and marc: Influence of extraction procedure on yield, purity and antioxidant power of the extracts. *Journal of Food Engineering* **78**, 793-801.

- Steenkamp V., Fernandes A.C., Van Rensburg C.E.J. (2007). Screening of Venda medicinal plants for antifungal activity against *Candida albicans*. *South African Journal of Botany* **73**, 256 -258.
- Stevens P.F. (2008). Angiosperm Phylogeny Website version 9. <http://www.mobot.org/MOBOT/research/apweb/>
- Sunila E.S., Kuttan G. (2004). Immunomodulatory and antitumor activity of *Piper longum* Linn. And piperine. *Journal of Ethnopharmacology* **90**, 339-346.
- Tabopda T.K., Ngoupayo J., Liu J., Mitaine-Offer A.C., Tanoli S.A., Khan S.N., Ali M.S., Ngadjui B.T., Tsamo E., Lacaille-Dubois M.A., Luu B. (2008). Bioactive aristolactams from *Piper umbellatum*. *Phytochemistry* **69**, 1726-1731.
- Taponjou L.A. (1996). Etude phytochimique de deux plantes médicinales du Camreoun : *Myrianthus liberecus* et *Cecropia peltada* (Cecropiaceae) et synthèse de quelques dérivés triterpéniques, Thèse de Doctorat de 3ème cycle en Chimie Organique, Université de Yaoundé 1, 25-26.
- Tatsuya S., Seiji Y. (2018). Mode of action of piperovatine, an insecticidal piperamide isolated from *Piper piscatorium* (Piperaceae), against voltage-gated sodium channels. *Neurotoxicology* **4**, 665-855.
- Tchoumboungang F., Jazet P., Sameza M., Fombotioh N., Wouatsa N., Amvam P., Menut C. (2009). Comparative essential oils composition and insecticidal effect of different tissues of *Piper capense* L., *Piper guineense* Schum et Thonn., *Piper nigrum* L. and *Piper umbellatum* L. grown in Cameroun. *African Journal of Biotechnology* **8**, 424-431.
- Terhune S.J., Hogg J.W., Lawrence B.M. (1974) Bicyclosquiphellandrene and 1-epibicyclosquiphellandrene: Two new dienes based on the cadalene skeleton. *Phytochemistry*, **13**, 1183-1185.
- Terreaux C., Gupta M.P., Hostettamann K. (1998). Antifungal benzoic acid derivatives from *Piper dilatatum*. *Phytochemistry* **49**, 461-464.
- Valadares A.C.F., Alves C.C.F., Alves J.M., De Deus I.P.B., Oliveira-Filho J.G., Santos T.C.L. (2018) Essential oils from *Piper aduncum* inflorescences and leaves: chemical composition and antifungal activity against *Sclerotinia sclerotiorum*. *Anais da Academia Brasileira de Ciências* **90**, 2691-9.

- Vanegas H., Barbaro N.M., Fields H.L. (1984). Midbrain stimulation inhibits tail-flick only at currents sufficient to excite rostral medullary neurons. *Brain Research* **321**, 127-133.
- Wang Q.W., Yu D.H., Lin M.G., Zhao M., Zhu W.J., Yang G.H. (2012). Antiangiogenic polyketides from *Peperomia dindygulensis* Miq. *Molecules* **17**, 4474-4483.
- Wang S., De Souza C., Wang L., Zhou H. (2021). Biochemistry. *Biochemical Systematics and Ecology* **96**, 104258.
- Yin Y., Huang X., Wang J., Dai J., Liang H., Dai Y. (2009). Studies on the chemical constituents of the stems of *Piper betle*. *Journal of Chinese Medicinal Materials* **32**, 887.
- Zhi Xiang N., Than M.J.Y., Yong P. H., (2020). *Peperomia pellucida* (L.) Kunth herbal tea: Effect of fermentation and drying methods on the consumer acceptance, antioxidant and anti-inflammatory activities. *Food chemistry* **344**, 128738.