

REPUBLIQUE DU CAMEROUN

Paix – Travail – Patrie

UNIVERSITE DE YAOUNDE I

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

UNITE DE RECHERCHE DE FORMATION
DOCTORALE EN CHIMIE ET
APPLICATIONS



REPUBLIC OF CAMEROON

Peace – Work – Fatherland

THE UNIVERSITY OF YAOUNDE I

POSTGRADUATE SCHOOL OF SCIENCE,
TECHNOLOGY AND GEOSCIENCES

DOCTORAL RESEARCH UNIT IN
CHEMISTRY AND APPLICATIONS

**LABORATOIRE DES SUBSTANCES NATURELLES ET DE SYNTHÈSE
ORGANIQUE APPLIQUÉE**
**LABORATORY OF NATURAL PRODUCTS AND APPLIED ORGANIC
SYNTHESIS**

**Diversité Métabolique et Potentiel Cytotoxique des
Feuilles de *Psychotria yaoundensis* (Rubiaceae)**

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

Par :

MFANGAM SOUMEYA ADAM

Matricule : 19J2600

Licenciée en chimie

Sous la supervision de :

Dr TSAMO TONTSA ARMELLE

Chargée de Cours



Année académique 2023-2024

DEDICACES

À mes Parents,

À mes Frères et Sœurs.

REMERCIEMENTS

La réalisation de ce travail, effectuée au sein du **Laboratoire des Substances Naturelles et de Synthèse Organique Appliquée** du Département de Chimie Organique de l'Université de Yaoundé I, n'aurait pas été possible sans les contributions diverses de nombreuses personnes. Je tiens à leur adresser ici l'expression de ma plus sincère gratitude.

Je pense tout particulièrement :

- **Au Professeur PEGNYEMB Emmanuel Dieudonné**, Recteur de l'université de Bertoua et Chef du Département de Chimie Organique, pour son dévouement et son travail acharné dans la gestion du département.

- **Au Professeur NKENGFAK Augustin Ephrem**, pour la dynamique équipe de recherche qu'il a constituée, au sein de laquelle j'ai eu l'honneur d'effectuer mes travaux de Master II. Je lui suis profondément reconnaissante pour ses multiples enseignements, ses conseils et ses encouragements dans cette quête perpétuelle du savoir scientifique. Votre rigueur et votre passion pour le travail bien fait font de vous une véritable source d'inspiration.

- **Au Professeur MKOUNGA Pierre**, pour m'avoir permis d'intégrer son équipe de recherche et pour avoir instauré un esprit de convivialité au sein du laboratoire. Merci pour les enseignements, les conseils et les échanges enrichissants qui ont consolidé mes connaissances en chimie organique.

- **Au Docteur TSAMO TONTSA Armelle**, Chargée de Cours, pour son encadrement, son dynamisme et son engagement à toujours donner le meilleur tant sur le plan professionnel que personnel. Merci pour les enseignements reçus tout au long de mon parcours scolaire, pour votre confiance et pour m'avoir initiée à la recherche scientifique. Votre sens de l'humanisme, votre optimisme et vos précieux contacts ont grandement contribué à la réalisation de ce travail. Vous demeurez pour moi un modèle à suivre.

- **Aux Professeurs MVOT AKAK Carine et OUAHOUE WACHE Blandine Marlyse**, pour leurs enseignements et leurs conseils tout au long de mon séjour au laboratoire.

- **Au Docteur FEUDJOU FOUATIO William**, Chargé de Recherche à l'IMPM, pour ses orientations méthodologiques précieuses dans la rédaction de ce mémoire.

- **Au Docteur NANGMO KEMDA Pamela**, Chargée de Recherche à l'IMPM, pour ses conseils avisés lors de mon initiation à la recherche.

- **Au Docteur MFIFEN MUNVERA Aristide**, pour son assistance dans la collecte du matériel végétal et ses précieux conseils au début de mes travaux au laboratoire.

- **Aux Docteurs SIELENOU Valérie, TSAFFACK Maurice, TSEMEGNE Joseph, NONO NONO Eric Carly et FOUOTSA Hugues, MBARGA Paul** pour leur soutien moral et leurs précieux conseils.

- **Au Docteur PAGNA MAWOUMA Julio Issah**, pour sa présence constante, son soutien moral et ses conseils qui ont grandement contribué à la finalisation de ce travail.

- **À tous les enseignants des Départements de Chimie Organique et Inorganique**, pour les connaissances qu'ils m'ont transmises durant ma formation en chimie.

Mes remerciements s'adressent également :

- **À mes aînés de laboratoire**, notamment, **Mme KAMTCHOUM Sandra, Mme DZEFFOUO KOUCHELLE Beauvarine, M. LITCHANG Martial Lamère, Mme LIBOMANE BILONGO Clarisse, Mme TOUKAM Christelle, et M. KOSMA BOUBAKRI Albert**, pour leur accueil chaleureux, leurs conseils avisés, leur esprit de convivialité et leur soutien tout au long de mon séjour au laboratoire.

- Plus particulièrement à **Mme LIBOMANE BILONGO Clarisse**, pour son accompagnement bienveillant lors de mes débuts.

Je remercie aussi :

- **M. DAKSANA MORCEAU Espoir**, pour son accompagnement dans le choix du laboratoire et ses conseils constants.

- **M. BILONG BI NGUI Didier Oscar**, du laboratoire voisin, pour ses orientations tout au long de mon parcours.

Enfin, je tiens à exprimer ma gratitude :

- **À mes camarades de laboratoire, MEKIAGE Archange Stevens, TCHOYI Marion Armel, NGONO EBODE Rolande Diane, DJOSSU KOUGANOU Didier Forest, KENFACK NGUEMO Leslie Carelle, SOKOUDJOU TANDEUH Elvine, JOUMESSI Glawdys Régine, ASSOUMOU Junior, NOBE Kévine Blondelle, MBOGBA Larissa Jacqueline, MOUBARAK Oumarou, et NZOGOUNG DOUMTSOP Varelle**, pour leur gentillesse, leur collaboration inestimable, et les bons moments partagés.

- **À mes promotionnaires**, pour les échanges constructifs et les encouragements tout au long de notre formation. Mes sincères remerciements vont à l'endroit du LECEPLAM.

- **À ma famille**, mes parents, mes frères et sœurs, pour leur soutien inconditionnel, leurs encouragements et leurs précieux conseils, qui ont été une source de motivation dans les moments difficiles.

À toutes ces personnes, je dis un grand merci. Votre aide, vos conseils et votre bienveillance ont rendu ce travail possible et enrichissant.

TABLE DES MATIERES

DEDICACES	I
REMERCIEMENTS.....	II
TABLE DES MATIERES	IV
LISTE DES FIGURES.....	VI
LISTE DES SHEMAS	VII
LISTE DES TABLEAUX	VIII
LISTES DES ABREVIATIONS ET SYMBOLES.....	IX
RESUME.....	XI
ABSTRACT	XII
INTRODUCTION GENERALE	1
CHAPITRE I : REVUE DE LA LITTÉRATURE.....	4
I.1. La famille des Rubiaceae	5
I.1.1. Généralités	5
I.1.2. Classification des Rubiaceae	5
I.1.3. Répartition géographique	6
I.1.4. Intérêt économique et utilisations traditionnelles	7
I-2. Le genre <i>Psychotria</i> et l'espèce <i>Psychotria yaoundensis</i>	8
I.2.1. Le genre <i>Psychotria</i>	8
I-2.2. L'espèce <i>Psychotria yaoundensis</i>	9
I-3. Travaux antérieurs sur le genre <i>Psychotria</i>	12
I-3.1. Travaux chimiques antérieurs sur le genre <i>Psychotria</i>	12
I-3.2. Travaux pharmacologiques antérieurs sur le genre <i>Psychotria</i>	23
CHAPITRE II: RESULTATS ET DISCUSSION.....	25

II.1. Extraction du matériel végétal et fractionnement de l'extrait brut.....	26
II.2. Evaluation de l'activité cytotoxique de l'extrait brut et des fractions des feuilles de <i>Psychotria yaoundensis</i>	28
II.3. Isolement et élucidation structurale des composés.....	29
II.3.1. Isolement des composés de la fraction non alcaloïdique.....	29
II.3.2. Isolement des composés la fraction alcaloïdique.....	30
II.3.3. Elucidation structurale des composés.....	31
II.3.3.1. Elucidation structurale du composé PYFD4.....;	31
II.3.3.2. Elucidation structurale du composé PYFA1.....	40
CONCLUSION ET PERSPECTIVES	47
CHAPITRE III : PARTIE EXPERIMENTALE	49
III.1. Appareillages et matériel végétal	50
III.1.1. Appareillages	50
III.1.2. Matériel végétal	51
III.2. Extraction de la poudre des feuilles de <i>Psychotria yaoundensis</i>	51
III.3. Fractionnement de l'extrait brut par traitement alcaloïdique	51
III.4. Isolement et purification des composés de la fraction non alcaloïdique	51
III.5. Isolement et purification des composés de la fraction alcaloïdique	54
III.6. Caractéristiques physico-chimiques des alcaloïdes isolés.....	56
III.7. Evaluation de l'activité cytotoxique des extraits et fractions	56
III.7.1. Culture des cellules.....	56
III.7.2. Principe du test MTT	57
III.7.3. Mode opératoire	57
REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES.....	58

LISTES DES FIGURES

Figure 1 : Répartition géographique des Rubiaceae dans le monde.....	7
Figure 2 : Répartition géographique des espèces du genre <i>Psychotria</i> dans le monde.....	9
Figure 3 : Tiges de <i>Psychotria yaoundensis</i> récoltées à Nkolbisson /Yaoundé.....	10
Figure 4 : Feuilles de <i>Psychotria yaoundensis</i> récoltées à Nkolbisson /Yaoundé	10
Figure 5 : Fleurs de <i>Psychotria yaoundensis</i>	11
Figure 6 : Fruits de <i>Psychotria yaoundensis</i> récoltées à Nkolbisson /Yaoundé	11
Figure 7 : Répartition géographique <i>Psychotria yaoundensis</i>	12
Figure 8 : Classification des alcaloïdes indolomonoterpéniques et quelques exemples	15
Figure 9 : Spectre de masse HR-ESI-TOF du composé PYFD4.....	31
Figure 10 : Spectre UV du composé PYFD4	31
Figure 11 : Spectre de RMN ¹³ C (DMSO- <i>d</i> 6, 100 MHz) du composé PYFD4	32
Figure 12 : Spectre HSQC du composé PYFD4	33
Figure 13 : Spectre de RMN ¹ H (DMSO- <i>d</i> 6, 400 MHz) du composé PYFD4	35
Figure 14 : Spectre COSY élargie de 7,2 à 8,7 ppm du composé PYFD4.....	35
Figure 15 : Spectre COSY élargie de 1 à 5,0 ppm du composé PYFD4.....	36
Figure 16 : Spectre HMBC du composé PYFD4	37
Figure 17 : Spectre de masse HR-ESI-TOF du composé PYFA1.....	40
Figure 18 : Spectre UV du composé PYFA1	40
Figure 19 : Spectre de RMN ¹³ C (DMSO- <i>d</i> 6, 100 MHz) du composé PYFA1	41
Figure 20 : Spectre HSQC élargi du composé PYFA1	42
Figure 21 : Spectre RMN ¹ H (DMSO- <i>d</i> 6, 400 MHz) du composé PYFA1	43
Figure 22 : Spectre COSY du composé PYFA1	43
Figure 23 : Spectre COSY élargi de 6,85 à 7,75 ppm du composé PYFA1.....	44
Figure 24 : Spectre HMBC du composé PYFA1	44

LISTES DES SCHEMAS

Schéma 1 : Biosynthèse des alcaloïdes indolomonoterpéniques.....	14
Schéma 2 : Protocole d'extraction et de fractionnement de l'extrait brut des feuilles de <i>Psychotria yaoundensis</i>	27
Schéma 3 : Protocole d'isolement des composés de la fraction non alcaloïdique des feuilles de <i>Psychotria Yaoundensis</i>	30
Schéma 4 : Protocole d'isolement des composés de la fraction alcaloïdique des feuilles de <i>Psychotria Yaoundensis</i>	30
Schéma 5 : Corrélations importantes observées sur les spectres COSY et HMBC du composé PYFD4.....	37
Schéma 6 : Corrélations observées sur les spectres COSY et HMBC du composé PYFA1...	45

LISTES DES TABLEAUX

Tableau 1 : Structure de quelques alcaloïdes indolomonoterpéniques isolés du genre <i>Psychotria</i>	17
Tableau 2 : Structure de quelques classes d'alcaloïdes distinctes isolés du genre <i>Psychotria</i>	19
Tableau 3 : Structures des autres types de composés isolés du genre <i>Psychotria</i>	21
Tableau 4 : Critères d'évaluation de l'activité cytotoxique	28
Tableau 5 : Résultats de l'évaluation de l'activité cytotoxique de l'extrait et des fractions sur les lignées cellulaires U87-MG, LN229 et U251-MG des cellules cancéreuses du glioblastome.	29
Tableau 6 : Données spectrales de RMN ^1H (DMSO- d_6 , 400 MHz) et RMN ^{13}C de PYFD4 et de la Serpentine (500 MHz, CD_3OD).....	39
Tableau 7 : Données spectrales de RMN ^1H (DMSO- d_6 , 400 MHz) et RMN ^{13}C de PYFA1 et de la N-méthyltryptamine (DMSO, 500 MHz)	46
Tableau 8 : Récapitulatif du fractionnement de la fraction non alcaloïdique PYFD.....	52
Tableau 9 : Récapitulatif du fractionnement de la fraction alcaloïdique PYFA.....	54

LISTES DES ABREVIATION ET SYMBOLES

δ	: Echelle de déplacement chimique en ppm
λ_{max}	: Longueur d'onde maximale
λ_{min}	: Longueur d'onde minimale
AcOEt	: Acétate d'éthyle
°C	: Degré celsius
^{13}C	: Carbone 13
CC	: Chromatographie sur Colonne
CCM	: Chromatographie sur Couche Mince
CDCl_3	: Chloroforme deutéré
CI_{50}	: Concentration inhibitrice moyenne (50 %)
COSY	: <i>Correlation Spectroscopy</i>
<i>d</i>	: Doublet
DCM	: Dichlorométhane
<i>dd</i>	: Doublet dedoublé
<i>ddd</i>	: Doublet de doublet dédoublé
<i>dddd</i>	: Doublet de doublet de doublet dédoublé
DMSO	: Diméthylsulfoxyde
ESI	: <i>ElectroSpray Ionization</i>
^1H	: Proton
HNC	: Herbar National du Cameroun
Hex	: Hexane
HMBC	: <i>Heteronuclear Multiple Bond Coherence</i>
HSQC	: <i>Heteronuclear Single Quantum Coherence</i>
HRESI-TOF	: <i>High Resolution ElectroSpray Ionization-Time Of Flight</i>
Hz	: Hertz
<i>J</i>	: Constante de couplage
<i>m</i>	: Multiplet
<i>m/z</i>	: Rapport masse/charge atomique
MeOH	: Méthanol
MHz	: Mégahertz

MIA	: <i>Monoterpene Indole Alkaloids</i>
MIC	: <i>Minimum Inhibitory Concentration</i>
MS	: <i>Mass Spectrometry</i>
MTT	: (3-[4,5-diméthylthiazol-2-yl]-2,5 diphenyl tetrazolium bromide)
pH	: Potentiel Hydrogène
ppm	: Partie par million
q	: Quatruplet
RMN	: Résonance Magnétique Nucléaire
RMN ¹³C	: Résonance Magnétique Nucléaire du carbone 13
RMN ¹H	: Résonance Magnétique Nucléaire du proton
s	: Singulet
sl	: Singulet large
t	: Triplet
UV	: Ultra-Violet

RESUME

Cette étude porte sur l'isolement, la purification, et la caractérisation des métabolites secondaires extraits des feuilles de *Psychotria yaoundensis*, plante endémique du Cameroun de la famille des Rubiaceae, ainsi que sur l'évaluation de leur potentiel cytotoxique. Le fractionnement de l'extrait brut par un traitement alcaloïdique a permis d'obtenir une fraction non alcaloïdique (12 g) et une fraction alcaloïdique (30 g).

L'activité cytotoxique de l'extrait brut et de ses fractions a été évaluée sur trois lignées cellulaires de glioblastome : les astrocytomes U251-MG, les cellules épithéliales U87-MG et LN229. Parmi ces échantillons, la fraction non alcaloïdique a montré une activité modérée sur les cellules épithéliales U87-MG.

Les deux fractions ont été soumises à une chromatographie sur colonne de gel de silice, conduisant à l'isolement de six composés, indexés PYFD1 à PYFD4 pour la fraction non alcaloïdique et PYFA1 à PYFA2 pour la fraction alcaloïdique. Parmi ces composés, deux ont été entièrement caractérisés : PYFA1, identifié comme la N-méthyltryptamine et PYFD4, identifié comme la serpentine, un alcaloïde indolomonoterpénique de type corynanthe.

L'élucidation structurale a été réalisée grâce à une analyse approfondie des données spectroscopiques, incluant la résonance magnétique nucléaire (RMN) à une dimension (^1H et ^{13}C) et à deux dimensions (COSY, HSQC, HMBC), complétée par la spectrométrie de masse faisant usage d'une méthode d'ionisation douce (ESI) et confirmée par des données de la littérature.

La serpentine, connue pour son rôle dans le traitement de l'hypertension artérielle, confère à cette étude une importance pharmacologique significative. Quant à la N-méthyltryptamine, son activité phytotoxique pourrait expliquer le caractère allélopathique de *Psychotria yaoundensis*. Ces résultats apportent de nouvelles perspectives sur l'intérêt phytochimique de cette espèce prometteuse.

Mots clés : Rubiaceae, *Psychotria yaoundensis*, Alcaloïdes, Serpentine, N-méthyltryptamine, Activité cytotoxique.

ABSTRACT

This study focused on the isolation, purification, and characterisation of secondary metabolites extracted from the leaves of *Psychotria yaoundensis*, an endemic plant of Cameroon belonging to the Rubiaceae family, and on evaluating their cytotoxic potential. Fractionation of the crude extract using an alkaloid treatment yielded a non-alkaloid fraction (12 g) and an alkaloid fraction (30 g).

The cytotoxic activity of the crude extract and its fractions was evaluated against three glioblastoma cells lines: U251-MG astrocytes, U87-MG epithelial cells, and LN229 cells. The non-alkaloid fraction exhibited moderate activity on U87-MG epithelial cells among these samples.

Both fractions were subjected to silica gel column chromatography, resulting in the isolation of six compounds, labelled as PYFD1 to PYFD4 from the non-alkaloid fraction and PYFA1 to PYFA2 from the alkaloid fraction. Among these, two compounds were fully characterised: PYFA1, identified as N-methyltryptamine and PYFD4, identified as serpentine, an indolomonoterpene alkaloid.

Structural elucidation was achieved through detailed analysis of spectroscopic data, including one-dimensional nuclear magnetic resonance (NMR) (^1H and ^{13}C) and two-dimensional NMR (COSY, HSQC, HMBC), complemented by mass spectrometry (ESI) and confirmed by data reported in the literature.

Serpentine, known for its role in the treatment of high blood pressure, gives this study significant pharmacological relevance. As for N-methyltryptamine, its phytotoxic activity may explain the allelopathic properties of *Psychotria yaoundensis*. These findings offer new insights into this promising species chemical and biological applications.

Key words: Rubiaceae, *Psychotria yaoundensis*, Alkaloids, Serpentine, N-méthyltryptamine, cytotoxic activity

INTRODUCTION GENERALE

À l'échelle mondiale, les mauvaises herbes et les espèces végétales envahissantes représentent aujourd'hui un défi majeur pour l'agriculture. Caractérisées par leur croissance rapide et leur capacité à résister à des conditions climatiques défavorables, elles entrent en compétition avec les cultures pour les ressources essentielles, entraînant ainsi une baisse significative des rendements agricoles (Suksungworn et al., 2016). Bien que diverses méthodes aient été développées pour limiter la prolifération des adventices, telles que les techniques mécaniques (désherbage manuel, sarclage ou labourage profond), biologiques (utilisation de microorganismes) et chimiques (utilisation d'herbicides synthétiques), l'utilisation des herbicides synthétiques demeure la solution privilégiée en raison de son efficacité immédiate. Cependant, le recours accru à ces herbicides n'est pas sans conséquences : il entraîne des pollutions environnementales, des impacts négatifs sur la biodiversité et des risques sanitaires notables pour les populations (Suksungworn et al., 2016).

Face à ces enjeux, une approche alternative et plus durable s'avère nécessaire pour mieux concilier les impératifs agricoles et la préservation de l'environnement. Parmi les pistes explorées, l'étude des plantes capables de prospérer dans des milieux hostiles présente un potentiel particulièrement prometteur. Ces espèces, soumises à des contraintes environnementales extrêmes, développent des mécanismes adaptatifs fascinants pour leur survie. L'une de ces stratégies consiste en la libération de substances allélochimiques qui inhibent la croissance des plantes concurrentes, créant ainsi des espaces exclusifs autour d'elles (Dommanget et al., 2019). Dans cette optique, l'exploration de la biodiversité des milieux hostiles en Afrique, et en particulier au Cameroun, est cruciale pour identifier des biomolécules d'intérêt, potentiellement utilisables comme herbicides naturels, plus respectueux de l'environnement et mieux adaptés aux conditions locales.

C'est dans ce contexte que plusieurs projets de recherche ont vu le jour au sein du laboratoire de Substances Naturelles et de Synthèse Organique Appliquée, parmi lesquels le projet d'étude qui nous occupe. L'objectif de ce projet est d'identifier les composés chimiques impliqués dans l'inhibition des plantes voisines et de mieux comprendre les mécanismes d'interaction entre les plantes et leur environnement, avec une vision de gestion durable des écosystèmes.

Certaines espèces du genre *Psychotria*, comme *Psychotria leiocarpa*, *Psychotria umbellata*, et *Psychotria brachyceras*, ont déjà été reconnues pour leur production de métabolites secondaires à potentiel phytotoxique, jouant ainsi un rôle allélochimiquement actif

(Corrêa et al., 2008; Esteves et al., 2023). Plus particulièrement, *Psychotria yaoundensis*, une espèce endémique qui pousse exclusivement sur des rochers, se distingue par l'absence de toute végétation concurrente autour d'elle. Cette singularité nous amène à nous interroger sur la nature des composés chimiques qui lui confèrent cet avantage écologique et lui permettent de dominer son environnement immédiat.

Dans le cadre de nos recherches de master 2, nous avons entrepris l'étude chimique et l'évaluation du potentiel cytotoxique des feuilles de *Psychotria yaoundensis*, une plante de la famille des Rubiaceae. L'objectif ultime de ce travail est d'explorer la diversité chimique de l'extrait des feuilles de cette plante et d'évaluer l'activité cytotoxique de cet extrait, des fractions ainsi que des composés purs isolés, en vue d'identifier les molécules à potentiel cytotoxique. Plus spécifiquement, il s'agit de procéder à l'extraction, de fractionner par traitement alcaloïdique, d'isoler, de purifier et d'évaluer l'activité cytotoxique des extraits, des fractions et des composés obtenus.

Ce mémoire s'articulera autour de trois grandes parties :

1. Une première partie consacrée à une revue de la littérature, présentant les avancées et les travaux précédents sur les espèces du genre *Psychotria*.
2. Une deuxième partie dédiée aux résultats et à la discussion de nos travaux personnels, suivie d'une conclusion générale et des perspectives pour les recherches futures.
3. Enfin, la troisième partie présentera le cadre expérimental avec les matériels et méthodes utilisés, suivie de la liste des références bibliographiques consultées pour la rédaction de ce travail.

CHAPITRE I : REVUE DE LA LITTÉRATURE

I.1 La famille des Rubiaceae

I.1.1. Généralités

Les Rubiaceae représentent l'une des plus grandes familles de plantes à fleurs comprenant environ 13000 espèces réparties en 630 genres (Karou et al., 2011). Communément appelée la famille du café, de la garance ou du gaillet, cette famille a été décrite pour la première fois en 1789 par le botaniste Antoine Laurent de Jussieu (Nek Adek et al., 2023).

Les Rubiaceae incluent les arbres, arbustes, herbes et lianes terrestres, reconnaissables par plusieurs caractéristiques distinctives :

Les feuilles : Elles sont simples, entières, généralement opposées ou parfois verticillées accompagnées de stipules interpétiolaires souvent fusionnées en un anneau (Xu & Chang, 2017).

Les fleurs : Elles sont tétramères ou pentamères, généralement hermaphrodites et actinomorphes, souvent regroupées en inflorescences terminales telles que des cymes. Le calice est souvent réduit ou absent tandis que la corolle est généralement gamopétale (Xu & Chang, 2017).

Les fruits : Ils sont diversifiés incluant des baies, des drupes et des capsules (Xu & Chang, 2017).

I.1.2. Classification des Rubiaceae

La famille des Rubiaceae est l'une des plus grandes familles de plantes à fleurs, appartient à l'ordre des Gentianales. Cette vaste famille est organisée en 03 sous-familles principales : Rubioideae, Cinchonoideae, Ixoroideae. Chacune de ces sous-familles est caractérisée par des traits morphologiques et phylogénétiques distincts, reflétant l'évolution diversifiée au sein des Rubiaceae (Martins & Nunez, 2015).

I.1.2.1. La sous-famille des Rubioideae

Cette sous-famille regroupe 27 tribus, comprenant de nombreux genres représentés par des herbes, des lianes et des arbustes souvent dotés de feuilles opposées et de stipules développées. Les Rubioideae sont bien connus pour inclure des plantes économiquement importantes comme celles utilisées dans la production de colorants naturels. La garance *Rubia tinctorum*, est une espèce naturellement présente dans la flore de Turquie et utilisé principalement depuis l'antiquité comme source de colorants rouges naturels (Ari &

Kahraman, 2020). *Rubia cordifolia*, une espèce indienne de la sous-famille des rubioideae est également connue comme étant une véritable source de colorants naturels (**Bhatt & Kushwah, 2013**).

I.1.2.2. La sous-famille des Cinchonoideae

Composée de 09 tribus, la sous-famille de Cinchonoideae comprend des arbres et des arbustes avec des genres très célèbres comme *Cinchona*, à partir duquel la quinine, un traitement antipaludique historique, est extraite. Les plantes de cette sous-famille sont souvent caractérisées par leurs feuilles simples et leurs inflorescences cymoïdes (**Manns & Bremer, 2010; Aslam et al., 2023**).

I.1.2.3. La sous-famille des Ixoroideae

Avec 26 tribus, cette sous-famille englobe des genres comme *Psychotria* et *Coffea*. Elle est caractérisée par une présentation du pollen secondaire, des stipules et étamines entières insérées au niveau de la gorge de la corolle(**Kainulainen et al., 2009**).

Elles sont particulièrement connues pour leur importance économique, notamment dans la production du café. De plus, les genres plus connus à valeur ornementale sont *Ixora* et *Gardenia* (**Mouly et al., 2014**).

Les Rubiaceae sont classées en environ 630 genres parmi lesquels figure le genre *Psychotria* qui est au cœur de notre étude, et repartie en 13000 espèces. Cette diversité en fait un groupe clé pour l'étude de la biodiversité végétale, avec des représentants variés présents dans presque tous les écosystèmes terrestres.

I.1.3. Répartition géographique

Les espèces végétales de la famille des Rubiaceae présentent une répartition géographique largement cosmopolite. Majoritairement retrouvées dans les régions tropicales et subtropicales, elles sont particulièrement diversifiées et abondantes dans ces zones, ou elles constituent souvent des éléments dominants des forêts humides (**Xu & Chang, 2017**). Les genres tels *Coffea* (café), *Psychotria* et *Tricalysia* sont emblématiques de ces habitats (**Plante botanique, consulté le 18/09/2024**).

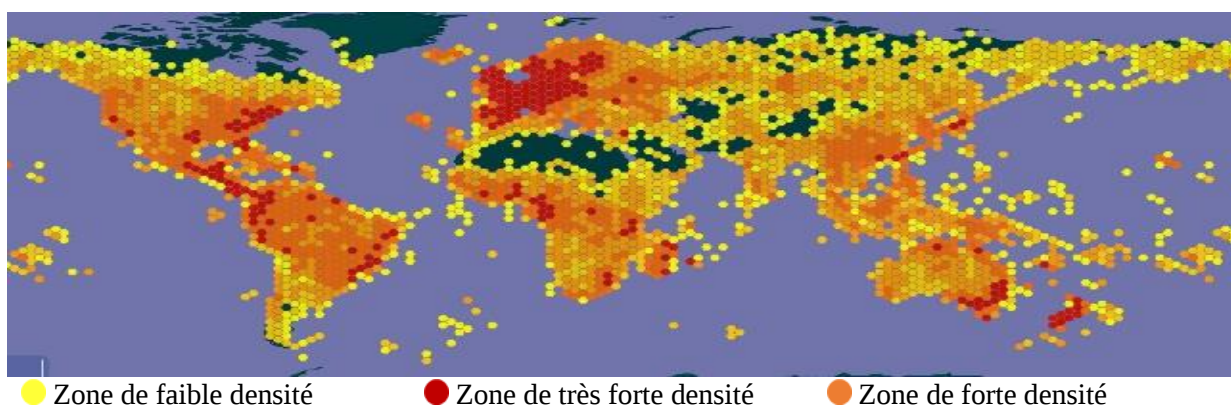


Figure 1 : Répartition géographique des Rubiaceae dans le monde (Arbonnier, 2000).

I.1.4. Intérêt économique et utilisations traditionnelles

Les plantes de la famille des Rubiaceae sont d'une grande importance économique. Grâce à leur large répartition, elles sont utilisées dans le monde entier comme plantes ornementales, alimentaires, et médicinales. Parmi les espèces les plus économiquement importantes, on trouve les arbustes *Coffea canephora* (ou *Coffea robusta*) et *Coffea arabica*, utilisées dans la production du café. Les fruits de *Morinda citrifolia* sont consommés frais ou transformés en jus. Tandis que les espèces du genre *Gardenia* et *Ixora*, elles sont prisées pour leurs qualités ornementales (Karou et al., 2011).

En médecine traditionnelle, les arbres du genre *Cinchona* revêtent une importance particulière en raison des métabolites secondaires qu'ils produisent, le plus célèbre étant la quinine, le premier agent efficace dans le traitement du paludisme. *Morinda citrifolia* est traditionnellement utilisée pour traiter les infections cutanées et les douleurs articulaires, tandis que l'espèce *Rubia tinctorium*, est largement employée pour ses propriétés diurétiques (Karou et al., 2011).

Les parties des plantes Rubiaceae les plus fréquemment utilisées en préparations médicales sont les feuilles suivies des écorces, des tiges et des racines. L'utilisation de la plante entière est également courante soit seule, soit en association avec d'autres plantes ou même avec des substances d'origine animale ou minérale. Ces préparations peuvent être administrées par voie interne notamment par absorption orale ou par voie externe sous forme de cataplasme (Karou et al., 2011).

Parmi les nombreux genres de la famille des Rubiaceae, le genre *Psychotria* se distingue non seulement par sa diversité mais aussi par son utilisation en médecine traditionnelle et son potentiel médicinal, justifiant ainsi une étude approfondie de ses espèces.

I-2. Le genre *Psychotria* et l'espèce *Psychotria yaoundensis*

I.2.1 Le genre *Psychotria*

Le genre *Psychotria* décrit pour la première fois par Lineaus en 1759 est l'un des plus grand genre de plantes à fleurs de la famille des Rubiaceae. Il appartient à la sous-famille des Rubioideae de la tribu Psychotrieae (Nepokroeff et al., 1999).

Avec plus de 1000 espèces, le genre *Psychotria* est répandu dans les régions tropicales du monde avec une remarquable diversité sur les trois continents (Afrique, Amérique, Asie), ainsi qu'à Madagascar et dans la plupart des archipels du pacifique (Fidji, Nouvelle Calédonie, Nouvelle Guinée). En revanche, l'Australie qui abrite seulement 12 espèces (*P. daphnoides*, *P. loniceroides*, *P. coelosperma*, *P. simmonsiana*, *P. nesophila*, *P. fitzalanii*, *P. polioestema*, *P. dallachiana*, *P. submontana*, *P. carronis*, *P. interstans* et *P. hebecarpa*) est pauvre en diversité pour ce genre (Lachenaud et al., 2013).

Les espèces du genre *Psychotria* comprennent principalement des arbustes, des herbes rampantes, des lianes et des arbres de taille petite à moyenne (Lachenaud, 2017). Les feuilles sont stipulées, opposées, entières et elliptiques légèrement obovées avec des limbes mesurant entre 10 et 20 cm de long. Les stipules sont interpétiolaires de forme triangulaire et un sommet aigu ou acuminé. Les inflorescences sont terminales disposées en glomérules ou en ombelles. Les fleurs possèdent un périanthe composé de deux verticilles et une corolle gamopétale ou actinomorphe. Les fruits sont des drupes globuleuses, ellipsoïdes ou ovoïdes de taille variant entre 3 et 20 mm et peuvent être de couleur bleus, blancs, noirs, rouges ou oranges à maturité. Ils comportent également deux noyaux mais peuvent parfois en avoir trois à quatre (Lachenaud et al., 2013).

Les plantes du genre *Psychotria* sont consommées en Afrique comme légumes de la manière similaire aux épinards et sont également employées en médecine traditionnelle, notamment pour cicatriser les plaies (Lachenaud, 2017). Par exemple le *matalafi*, un mélange homogénéisé des feuilles de *Psychotria insularum* est généralement utilisé en médecine traditionnelle samoane pour traiter les inflammations et a montré des effets comparables à ceux de l'ibuprofène utilisé en médecine moderne (Molimau-Samasoni et al., 2021). De plus, les

feuilles de *Psychotria viridis* sont un composant essentiel de la boisson hallucinogène « ayahuasca » utilisée lors des rites chamaniques au Brésil (Callaway & Grob, 1998).

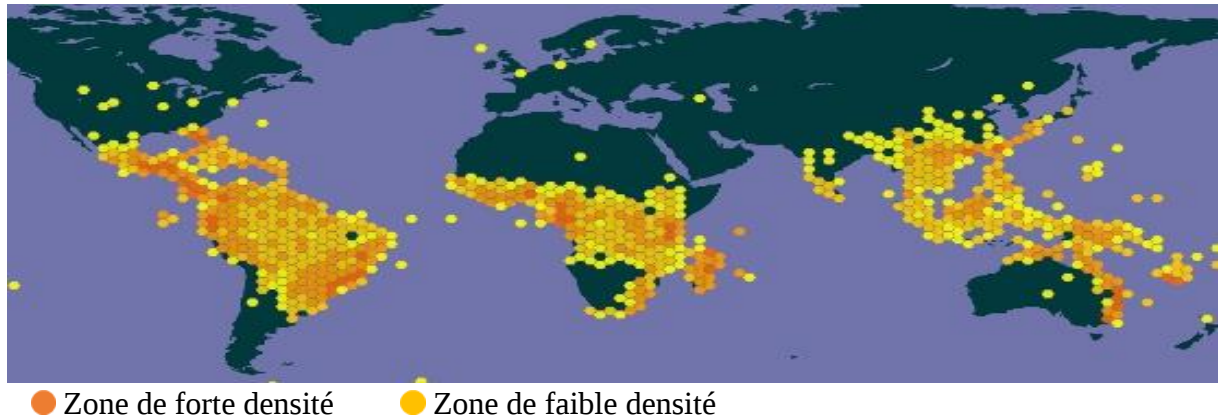


Figure 2 : Répartition géographique des espèces du genre *Psychotria* dans le monde (Arbonnier, 2000).

Le Cameroun représente l'un des pays Africains les plus riches en espèces de *Psychotria* avec une estimation d'environ 130 espèces recensées. Parmi celles-ci une trentaine sont endémiques au pays. Parmi les espèces endémiques, on y trouve *Psychotria yaoundensis* ainsi que d'autres espèces remarquables comme *Psychotria robusta*, *Psychotria sonkeana*, *Psychotria bimbiensis*, *Psychotria elephantina* et *Psychotria kupensis* (Lachenaud & Séné, 2010).

I-2.2. L'espèce *Psychotria yaoundensis*

I-2.2.1 Aperçu botanique

L'espèce *Psychotria yaoundensis* est un sous-arbuste rampant mesurant de 15 à 30 cm de hauteur. Elle se trouve dans les sous-bois des forêts tropicales semi-décidues souvent dans les zones dégradées sur des collines granitiques situées entre 750 et 900 m d'altitude avec de nombreux affleurements rocheux.

Les tiges de cette espèce sont minces (1-2 mm d'épaisseur) densément couvertes de poils et pubescentes. Les stipules sont de couleur vert pâle à vert brunâtre, étroitement elliptiques mesurant 4,5 à 10 × 1,5 à 5 mm. Elles sont libres profondément bifides à l'apex avec des lobes aigus et étroits légèrement carénés à la base et caduques (Lachenaud et al., 2013).



Figure 3 : Tiges de *Psychotria yaoundensis* récoltées à Nkolbisson /Yaoundé (Source : Photo Mfangam, 2023).

Les feuilles à pétioles de 0,3-1,7 cm de long, pubescentes, brièvement apprimées avec des limbes elliptiques à légèrement obovales de 7-11,5 × 2,6-6 cm, aiguës à la base, acuminées à l'apex, papyracées, pubérulentes sur les nerfs en dessous, vert foncé au-dessus et vert pâle dessous, une nervure médiane plate, les nervures latérales de 10 à 14 paires, faiblement impressionnées au-dessus, nettement arquées à 1-3 mm du bord et les nervures tertiaires densément réticulées mais faiblement contrastées en dessous (Lachenaud et al., 2013).



Figure 4 : Feuilles de *Psychotria yaoundensis* récoltées à Nkolbisson /Yaoundé (Source : Photo Mfangam, 2023).

Les inflorescences terminales avec un pédoncule extrêmement court (< 0,2 cm), constitués de 2-4 paires de bractées libres, entières, étroitement ovales à lancéolées, aiguës et plissées longitudinalement à l'apex, disposées en étoile.

Les fleurs sont subsessiles, constituées de 5 mères avec un calice très court irrégulièrement et finement denticulé de 0,5 mm de long, une corolle blanche des deux côtés, avec un tube étroit d'environ $6,5 \times 2$ mm et des lobes reflexes de 2,5-3 mm de long, glabres à l'extérieur et poilus à l'intérieur dans le tiers supérieur du tube juste en dessous de la gorge, pubescente à l'apex atteignant juste la gorge de la corolle (Lachenaud et al., 2013).

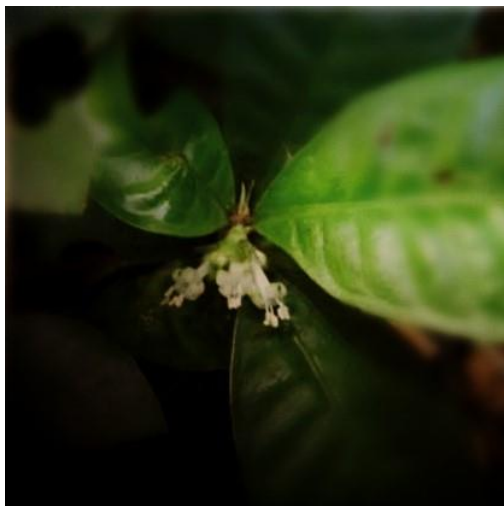


Figure 5 : Fleurs de *Psychotria yaoundensis* (Lachenaud et al., 2013).

Les fruits sont ellipsoïdes d'environ $5 \times 3,5$ mm, lisses, très peu pubescents, , surmontés d'un calice persistant. Vert pâle quand ils sont jeunes et de couleur orange à maturité (Lachenaud et al., 2013).



Figure 6 : Fruits de *Psychotria yaoundensis* récoltés à Nkolbisson /Yaoundé (Source : Photo Mfangam, 2023).

I-2.2.2 Répartition géographique

L'espèce *Psychotria yaoundensis* est une plante endémique du Cameroun, connue uniquement sur deux collines voisines à la périphérie de Yaoundé, dans la localité de Nkolbisson. Elle est classée comme étant en danger, en raison de son aire de répartition très limitée, de sa présence confinée en un seul site, du déclin continu de son étendu et de sa qualité. À ce jour, *Psychotria yaoundensis* n'a jamais été collectée ailleurs (Lachenaud et al., 2013).



Figure 7 : Répartition géographique *Psychotria yaoundensis* (Herbier national du Cameroun, 2023).

L'étude des aspects botaniques, de la diversité écologique et des multiples utilisations des *Psychotria* met en évidence l'importance d'examiner les travaux chimiques et pharmacologiques antérieures. Cette exploration est essentielle afin de dévoiler le profil chimique et la diversité des métabolites secondaires, de manière à comprendre les propriétés biologiques et pharmacologiques associées aux plantes du genre *Psychotria*.

I-3 Travaux antérieurs sur le genre *Psychotria*

I-3.1. Travaux chimiques antérieurs sur le genre *Psychotria*

L'intérêt croissant pour l'étude des plantes du genre *Psychotria* est dû à la richesse et à la diversité de leurs métabolites secondaires à potentiel pharmacologique. Parmi ces

métabolites, on y trouve des alcaloïdes, des coumarines, des flavonoïdes, des terpénoïdes, des tanins et des peptides cycliques (Calixto et al., 2016).

Les alcaloïdes, souvent présents dans trois familles de l'ordre gentianale (les Rubiaceae, les Apocynaceae, les Loganiaceae) revêtent une grande importance biologique. Les recherches ont permis l'isolement d'au moins 70 alcaloïdes indoliques du genre *Psychotria* (Carvalho et al., 2017).

I-3.1.1 Extraction des alcaloïdes du genre *Psychotria*

Le protocole d'extraction des alcaloïdes dans les plantes du genre *Psychotria* est similaire à celui utilisé pour d'autres plantes. L'extraction repose sur la solubilité différentielle des alcaloïdes qui peuvent exister sous forme basique ou sous forme de sel. Cette propriété permet leur séparation en fonction de leur solubilité dans l'eau ou dans les solvants organiques (Badiaga, 2011).

Les alcaloïdes sont des composés basiques, de faible masse moléculaire, sensibles à la chaleur et à la lumière. Ils sont généralement beaucoup plus solubles dans des solvants organiques tels que : l'alcool, l'éther, le benzène et le chloroforme que dans l'eau (Badiaga, 2011). Ils peuvent être précipités à l'aide de réactifs spécifiques tels que la solution neutre de mercure iodure de potassium (réactif de Mayer), la solution acide d'isobismuthite de potassium (réactif de Dragendorff) ou la solution d'iodure de potassium iodé (réactif de Bouchardat) (Badiaga, 2011).

Il existe trois principales méthodes d'extraction des alcaloïdes à partir de la matière végétale.

➤ Extraction par solvant organique apolaire en milieu alcalin : Cette méthode consiste à pulvériser le matériel végétal avec une solution de MeOH et à l'extraire avec une solution basique (NH₄OH ou NaOH), suivie d'une extraction avec un solvant organique apolaire (éther ou toluène). L'extrait obtenu est ensuite traité avec un acide dilué pour obtenir une phase aqueuse contenant les sels d'alcaloïdes totaux.

➤ Extraction par solvant organique polaire : Dans cette méthode, la drogue pulvérisée est macérée par un solvant organique polaire (éthanol, méthanol), puis filtrée et évaporée. L'extrait est traité avec une solution d'acide dilué, suivi d'une partition dans un solvant organique polaire. La phase aqueuse obtenue contient les sels d'alcaloïdes totaux qui peuvent être régénérés en traitant de la solution avec une base, suivie d'une extraction avec un solvant apolaire.

➤ Extraction par l'eau acide : Cette méthode implique la macération du matériel végétal pulvérisé dans une solution d'acide dilué, la phase aqueuse contenant les sels d'alcaloïdes totaux est ensuite alcalinisée et les alcaloïdes peuvent être extraits à l'aide de solvants organiques peu polaire (CHCl_3 , CH_2Cl_2 , AcOEt) (Bassène, 2012).

I-3.1.2 Biosynthèse des alcaloïdes indolomonoterpéniques

Les alcaloïdes indolomonoterpéniques connus à ce jour proviennent tous d'un précurseur commun : la strictosidine (1). Celle-ci résulte de la condensation entre une molécule de la tryptamine (2), obtenue par décarboxylation du tryptophane en présence de la tryptophane décarboxylase (TDC) et une unité monoterpénique issue des iridoïdes sécologanoside (3), suivant la réaction de Pictet-Spengler. Le schéma 1 ci-après illustre la biosynthèse des alcaloïdes indolomonoterpéniques ; où la secologanine est obtenue par oxydation, cyclisation réductrice et dérivatisation substantielle du geraniol. Une fois formée, elle subit une condensation et une cyclisation avec la tryptamine en présence de la strictosidine synthase (STR) (Bradley et al., 2023).

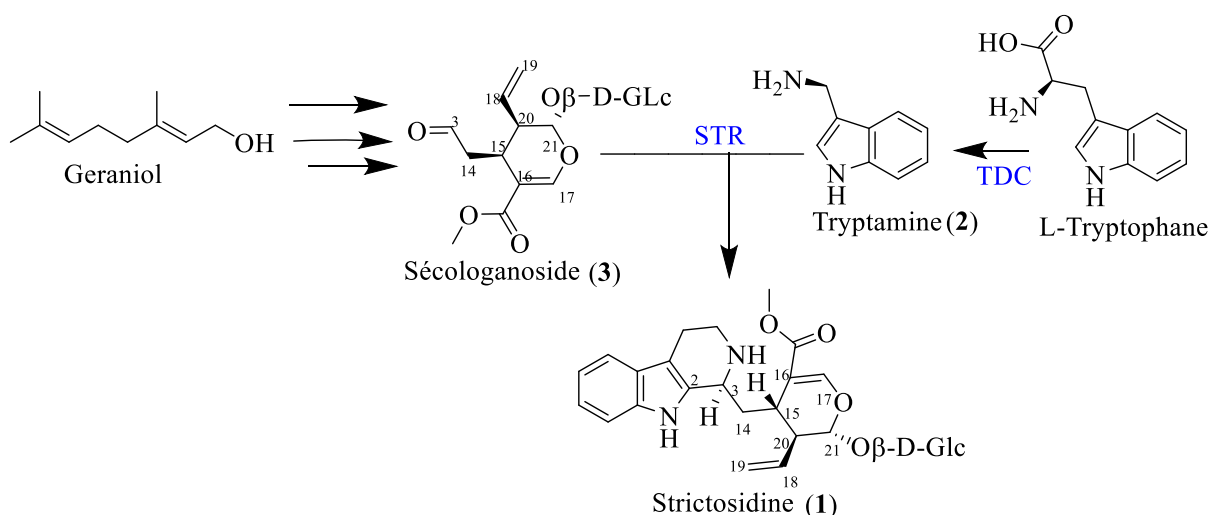


Schéma 1 : Biosynthèse des alcaloïdes indolomonoterpéniques

I-3.1.3 Classification des alcaloïdes indolomonoterpéniques

La diversité structurale des alcaloïdes indolomonoterpéniques découle principalement du réarrangement des atomes de l'unité monoterpénique. Ces réarrangements permettent de distinguer trois sous-classes principales d'alcaloïdes indolomonoterpéniques. Il est alors fréquent de différencier trois sous-classes d'alcaloïdes indolomonoterpéniques, en fonction des modifications apportées à la partie terpénique. La numérotation biogénétique varie également selon le type d'alcaloïdes indolomonoterpéniques (Le Men & Taylor, 1965).

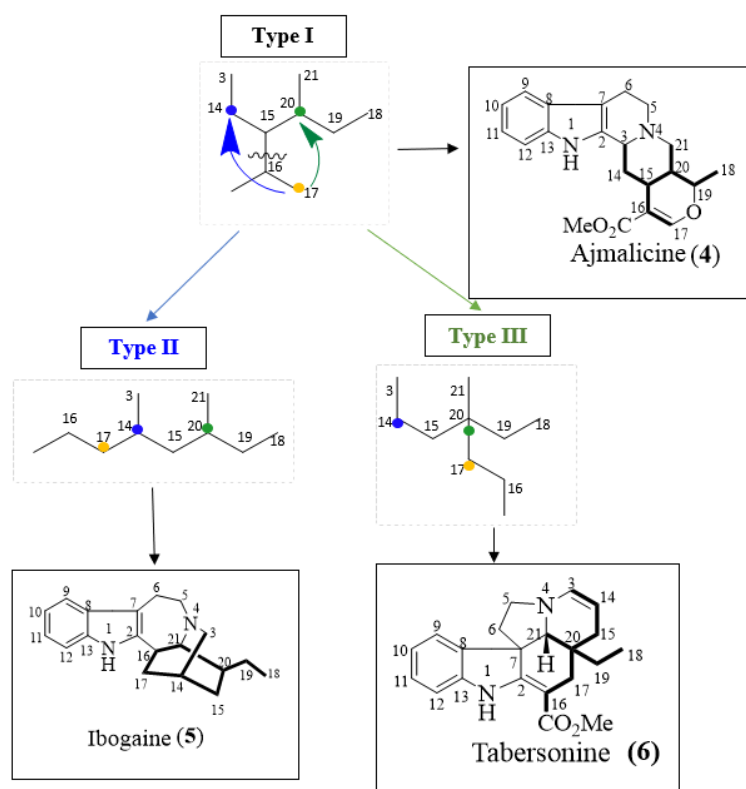


Figure 8 : Classification des alcaloïdes indolomonoterpéniques et quelques exemples (Turpin, 2021).

➤ **Le Type I ou corynanthe :** Cette sous-classe est caractérisée par l'absence du réarrangement du squelette terpénique, bien qu'une rupture de la liaison C2-C3 peut parfois se produire. La strictosamide (12) et l'acide strictosidinique (9) sont des exemples d'alcaloïdes indolomonoterpéniques de type I isolés des *Psychotria*.

➤ **Le type II ou iboga :** Ce type est défini par la rupture de la liaison C15-C16 et la création de la liaison entre les atomes C14 et C17.

➤ **Le type III ou aspidosperma :** Ici, la rupture de liaison C15-C16 est accompagnée de la formation de la liaison entre les atomes C17 et C20 (Turpin, 2021).

À notre connaissance, seuls les alcaloïdes de type I (corynanthe) sont isolés du genre *Psychotria* (Carvalho et al., 2017).

I-3.1.4 Méthodes de détermination structurale des alcaloïdes indolomonoterpéniques

Les techniques d'élucidation structurale sont essentielles pour identifier les alcaloïdes et composés biologiquement actifs de façon générale et permettant ainsi de mieux comprendre leurs mécanismes d'action potentiels et d'optimiser leur activité pharmacologique (Carvalho et al., 2017).

❖ Spectrométrie de masse

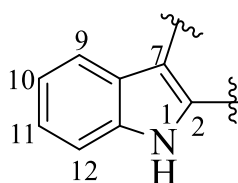
La spectrométrie de masse est l'une des méthodes les plus puissantes et populaires pour l'analyse qualitative et quantitative des dérivés indoliques. Elle fournit les informations précises sur la masse moléculaire et sur les éléments de structure de ces derniers. Pour les alcaloïdes indolomonoterpéniques, les spectres de masse à haute résolution avec impact électronique (HR-EIMS) et par ESI-Q-TOF-MS (ElectroSpray Ionization-Quadrupole Time of Flight-Mass Spectrometry) permettent d'identifier les ions moléculaires $[M]^+$ et pseudo-moléculaires $[M+H]^+$, indispensable à l'élucidation de leur structure (Gómez et al., 2019).

❖ Spectroscopie ultra violette

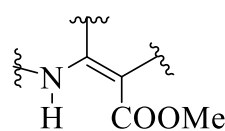
Le spectre UV des alcaloïdes indolomonoterpéniques révèle les bandes d'absorption maximale caractéristiques généralement comprises entre 210 et 290 nm indiquant la présence du chromophore indolique dans le composé étudié (Ding et al., 2018).

❖ Spectroscopie infra-rouge

La spectroscopie infra-rouge est cruciale pour l'identification des groupements fonctionnels présents dans le squelette de base des composés organiques. Les absorptions caractéristiques à 3375, 1660 et 1620 cm^{-1} signalent la présence d'un chromophore β -anilinoacrylate (Ding et al., 2018).



Indole (7)



Anilinoacrylate (8)

❖ Résonance magnétique nucléaire du proton (RMN ^1H) à une dimension

La résonance magnétique nucléaire du proton (^1H) est un outil précieux utilisé pour l'élucidation des structures moléculaires permettant d'identifier les différentes familles de protons présentes dans un composé. Le signal du proton indolique des alcaloïdes indolomonoterpéniques apparaît typiquement autour de 9 ppm. Les signaux des protons du système cyclique ortho-substitué comme dans la plupart des MIA varie de 6,33 à 7,61 ppm (P. Cao et al., 2012).

❖ Résonance magnétique nucléaire du carbone 13 (RMN ^{13}C) à une dimension

La RMN ^{13}C est également essentielle pour identifier les types de carbones dans une molécule. Le spectre RMN ^{13}C des alcaloïdes indolomonoterpéniques montre que les déplacements chimiques des carbones du noyau indolique varient de 105 à 146 ppm. Tandis que les valeurs des déplacements chimiques des carbones de la fraction terpénique varient de 21 à 90 ppm pour les carbones hybridés sp^3 et de 100 à 170 ppm pour les carbones hybridés sp^2 (Carvalho et al., 2017).

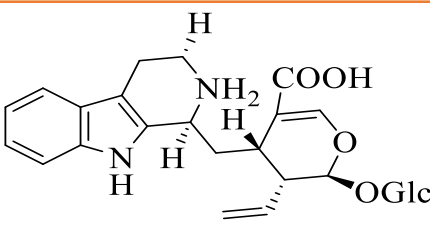
I-3.1.5 Structures de quelques alcaloïdes isolés du genre *Psychotria*

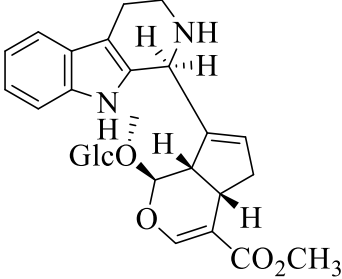
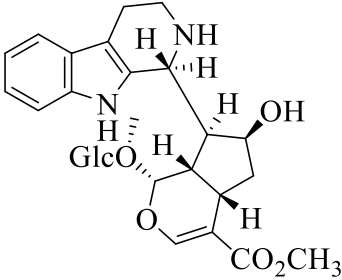
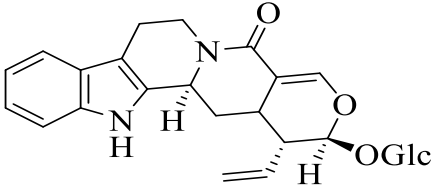
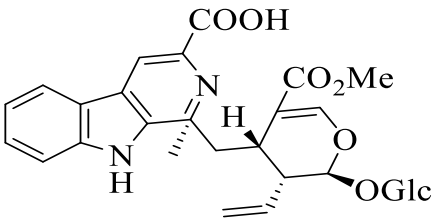
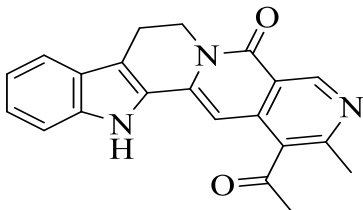
Le genre *Psychotria* (Rubiaceae) est riche en diverses classes d'alcaloïdes, notamment les alcaloïdes indolomonoterpéniques, pyrrolidinoindoliques, benzoquinolizidiniques, quinoléiques et indoles β carbolines. Parmi ceux-ci, les alcaloïdes indolomonoterpéniques constituent la classe la plus représentative et la plus étudiée (Yang et al., 2016).

- **Alcaloïdes indolomonoterpéniques isolés du genre *Psychotria***

Les alcaloïdes indolomonoterpéniques sont les métabolites secondaires prédominants dans les plantes du genre *Psychotria*. On compte environ 38 dont plusieurs sont répertoriés dans les études récentes (Carvalho et al., 2017).

Tableau 1 : Structure de quelques alcaloïdes indolomonoterpéniques isolés du genre *Psychotria*

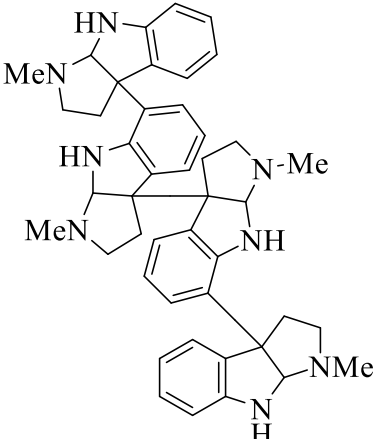
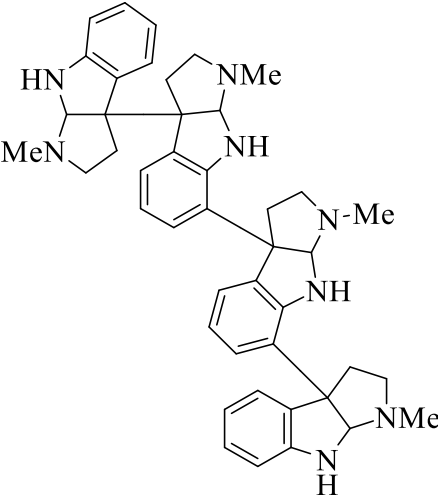
Alcaloïdes indolomonoterpéniques	Organes	Sources	Références
 Acide strictosidinique (9)	Feuilles	<i>Psychotria myriantha</i>	(Farias et al., 2012)

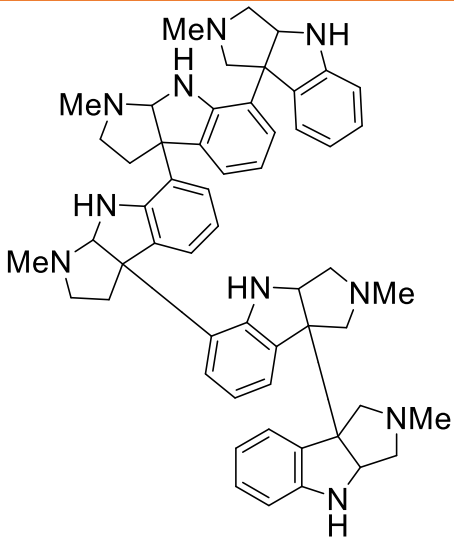
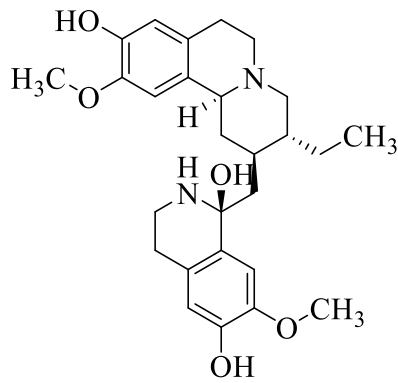
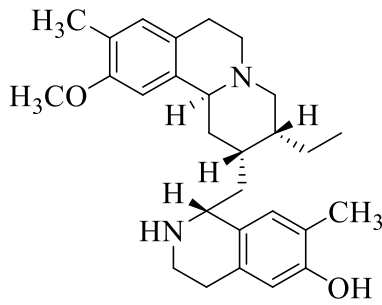
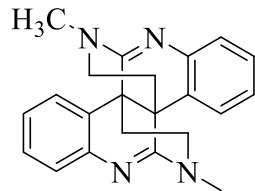
 Psychollatine (10)	Fleurs	<i>Psychotria umbellata</i>	(Kerber et al., 2014)
 Brachycerine (11)	Feuilles	<i>Psychotria. brachyceras</i>	(Kerber et al., 2001)
 Stritosamide (12)	Feuilles	<i>Psychotria nuda</i>	(Farias et al., 2008)
 Desoxycordifoline (13)	Feuilles	<i>Psychotria accuminata</i>	(Berger et al., 2012)
 Naucletine (14)	Feuilles	<i>Psychotria suterella</i>	(Van De Santos et al., 2001)

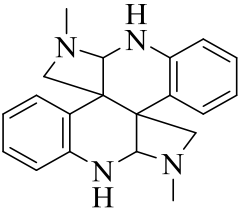
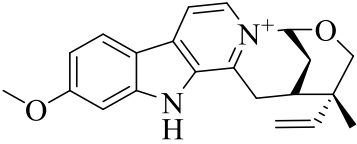
- **Autres sous classes d'alcaloïdes isolés du genre *Psychotria***

Outre les alcaloïdes indolomonoterpéniques plusieurs études ont au même titre montré que l'isolement des alcaloïdes pyrrolidinoindoliques, quinoléiques, benzoquinolizidiniques, et indoles β carbolines semblent être spécifiques au genre *Psychotria*. Ces derniers sont représentés dans le tableau suivant : (Yang et al., 2016).

Tableau 2: Structure de quelques classes d'alcaloïdes distinctes isolés du genre *Psychotria*

Alcaloïdes	Organes	Sources	Types	Références
 Quadrigemine A (15)	Feuilles	<i>Psychotria forsteriana</i>	Pyrrolidino-indolique	(Roth et al., 1986)
 Quadrigemine B (16)				

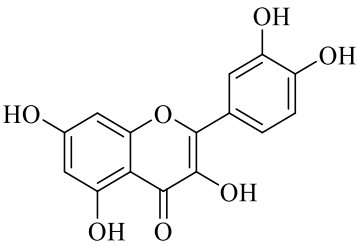
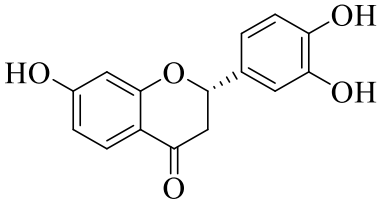
 Isopsychotridine (17)				
 Klugine (18)	Plante entière	<i>Psychotria klugii</i>	Benzoquinolizidiniques	(Muhammad et al., 2003)
 Cephaéline (19)				
 Glomerulatine A (20)	Parties aériennes	<i>Psychotria glomerulata</i>	Quinoléiques	(Solís et al., 1997)

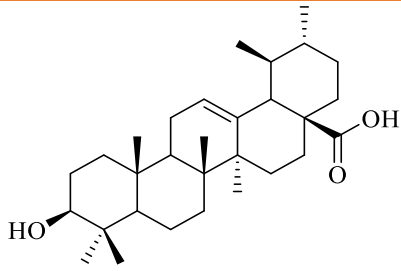
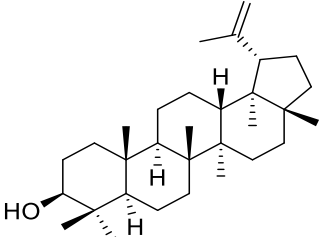
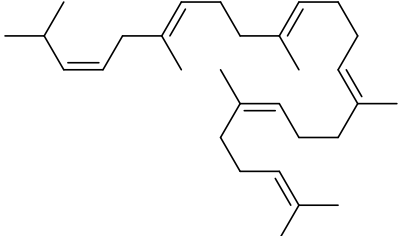
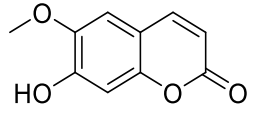
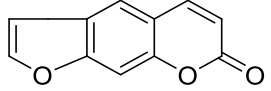
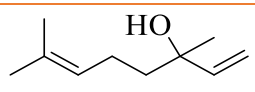
 Isocalycanthine (21)	Fleurs	<i>Psychotria colorota</i>	Quinoleiques	(Verotta et al., 1998)
 Prunifoline (22)	Feuilles	<i>Psychotria prunifolia</i>	Indoles β carbolines	(Faria et al., 2010)

I-3.1.6 Autres composés isolés du genre *Psychotria*

En plus des alcaloïdes précédemment mentionnés, des travaux chimiques antérieurs ont également conduit à l'isolement d'autres classes de métabolites secondaires, notamment les flavonoïdes, les terpénoïdes, les coumarines, les tannins, les peptides cycliques et les composés aliphatiques (Calixto et al., 2016).

Tableau 3: Structures des autres types de composés isolés du genre *Psychotria*

Composés	Organes	Sources	Classes	Références
 Quercetine (23)	Feuilles	<i>Psychotria spectabilis</i>		(Benevides et al., 2005)
 Butin (24)	Parties aériennes	<i>Psychotria yunnanensis</i>	Flavonoïdes	(Lu et al., 2014)

 Acide ursolique (25)	Herbe entière	<i>Psychotria serpens</i>	Terpénoides	(Lee et al., 1988)
 Lupéol (26)	Parties aériennes	<i>Psychotria vellosiana</i>		(Moreno et al., 2014)
 Squalène (27)	Parties aériennes	<i>Psychotria vellosiana</i>		(Moreno et al., 2014)
 Scopoletin (28)	Graines	<i>Psychotria succulenta</i>	Coumarines	(Ngnokam et al., 2022)
 Umbelliferone (29)	Feuilles	<i>Psychotria spectabilis</i>		(Benevides et al., 2005)
Me (CH₂)₁₄COOH Acide palmitique (30)	Ecorces de tige	<i>Psychotria hainanensis</i>	Composés aliphatiques	(Cao et al., 2020)
 Linalool (31)	Feuilles	<i>Psychotria asiatica</i>		(Tran et al., 2024)

I-3.2. Travaux pharmacologiques antérieurs sur le genre *Psychotria*

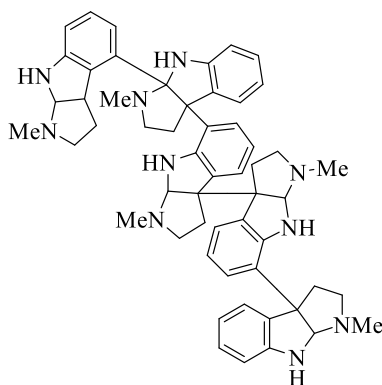
Les études pharmacologiques menées sur les espèces du genre *Psychotria* ont révélé des activités biologiques intéressantes des extraits, fractions et composés isolés, notamment des activités cytotoxiques, antimicrobiennes et autres.

I-3.2.1 Activité cytotoxique

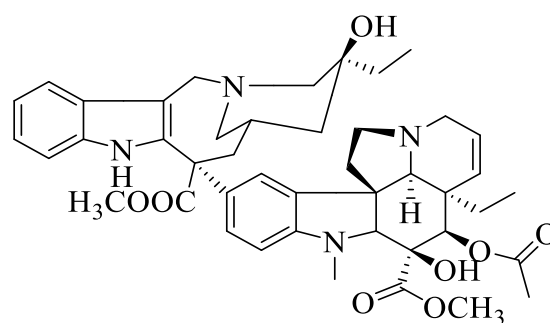
Les composés bioactifs issus des plantes du genre *Psychotria*, notamment les alcaloïdes polypyrrolidinoindoliques ont été décrits comme ayant des propriétés cytotoxiques significatives. Par exemple, la quadrigemine A (**15**), la quadrigemine B (**16**), l'isopsychotridine C (**17**) et le psychotridine (**32**) isolés des feuilles de *Psychotria forsteriana* ont montré une activité cytotoxique à l'égard de la lignée cellulaire hépatomique de rat HTC avec des concentrations inhibitrices de 10 μ M (Roth et al., 1986). Ces composés se sont révélés plus efficaces que la vincristine (**33**), composé connu pour son activité antitumorale. De plus, ils ont également inhibé l'agrégation des plaquettes humaines lavées induite par l'ADP, le collagène, la thrombine (Calixto et al., 2016).

Les fractions à l'acétate d'éthyle et au *n*-butanol de l'extrait méthanolique de *Psychotria serpens* ont également démontré une activité cytotoxique notable, avec une valeur de la CI_{50} de 45 μ M à l'égard des lignées cellulaires de cancer du poumon humain (H460), de carcinome hépatocellulaire (HepG2), de cancer du col de l'utérus (Hela) et de souches résistantes de cancer du poumon humain des souches induites par le Gefitinib (PC9/GR) (Chao-Zhan et al., 2015).

Par ailleurs, l'acide ursolique (**25**) isolé de *Psychotria serpens* a montré une cytotoxicité importante à l'égard des cellules leucémiques P-388, L-1210 et A-549 (carcinome du poumon humain). Il a également montré une cytotoxicité modérée à l'égard des cellules tumorales du colon humain (HCT-8) et les cellules du cancer du sein (MCF-7) (Lee et al., 1988).



Psychotridine (**32**)



Vincristine (**33**)

I.3.2.2 Autres activités pharmacologiques des extraits des plantes du genre *Psychotria*

❖ Activité antiplasmodiale

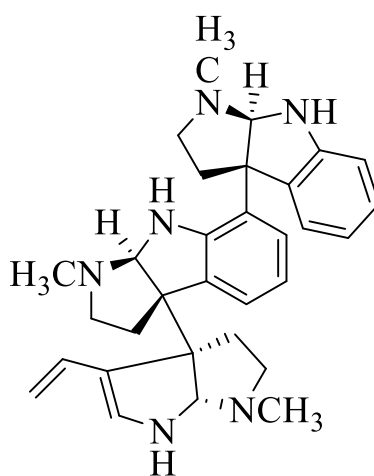
Les alcaloïdes klugine (**18**) et céphaéline (**19**) ont montré une activité antiplasmodiale avec des valeurs de CI_{50} respectives de 43,6 et 27,7 ng/mL contre le *Plasmodium falciparum* clone W2 et des CI_{50} de 37,7 et 72,7 ng/mL contre le clone D6 du *Plasmodium falciparum* (Muhammad et al., 2003).

❖ Activité antimicrobienne

La fraction à l'acétate d'éthyle des feuilles de *P. fractispula* a montré une activité antimicrobienne significative contre *Enterococcus faecalis* (MIC=62.5 µg/mL) et *Staphylococcus aureus* (MIC=31.25µg/mL) (Oliveira et al., 2022).

Activité analgésique

La hodkinsine (**34**), un alcaloïde pyrrolindinoindolique isolé de *Psychotria colorata* a montré une puissante activité analgésique dose-dépendante contre la douleur induite par la capsaïne (Amador et al., 2000).



Hodgkinsine (**34**)

CHAPITRE II : RESULTATS ET DISCUSSION

Dans le cadre de notre étude, le travail est structuré en trois grandes sections : d'abord, l'extraction suivie du fractionnement des extraits, permettant d'obtenir différentes fractions. Ensuite, l'évaluation de l'activité cytotoxique est réalisée sur ces fractions afin d'identifier celles présentant le plus grand potentiel cytotoxique. Enfin, l'isolement et la caractérisation des composés présents dans les fractions sélectionnées sont réalisés à l'aide de techniques chromatographiques et des méthodes d'analyse usuelles, afin d'identifier les molécules potentiellement responsables du caractère allélopathique de *Psychotria yaoundensis*.

II.1. Extraction du matériel végétal et fractionnement de l'extrait brut

Les feuilles de *Psychotria yaoundensis* ont été récoltées à Yaoundé aux environs de l'IRAD, dans le quartier Nkolbisson, Région du Centre, Cameroun. Elles ont été séchées puis broyées pour obtenir une poudre de 359 g. La poudre obtenue a été soumise à une extraction par macération à température ambiante dans un mélange de solvants constitué de dichlorométhane et de méthanol dans les proportions 1:1 pendant 72 heures. Le filtrat obtenu a été évaporé à l'aide d'un évaporateur rotatif à 60°C pour donner un extrait vert de masse 183 g sous forme de pâte. Cet extrait brut a été ensuite fractionné par un traitement alcaloïdique conduisant à une fraction non alcaloïdique de masse 14 g, une fraction alcaloïdique de masse 32 g et une fraction aqueuse de masse 15 g. Le schéma 3 ci-dessous illustre les différentes étapes d'extraction et de fractionnement de l'extrait brut.

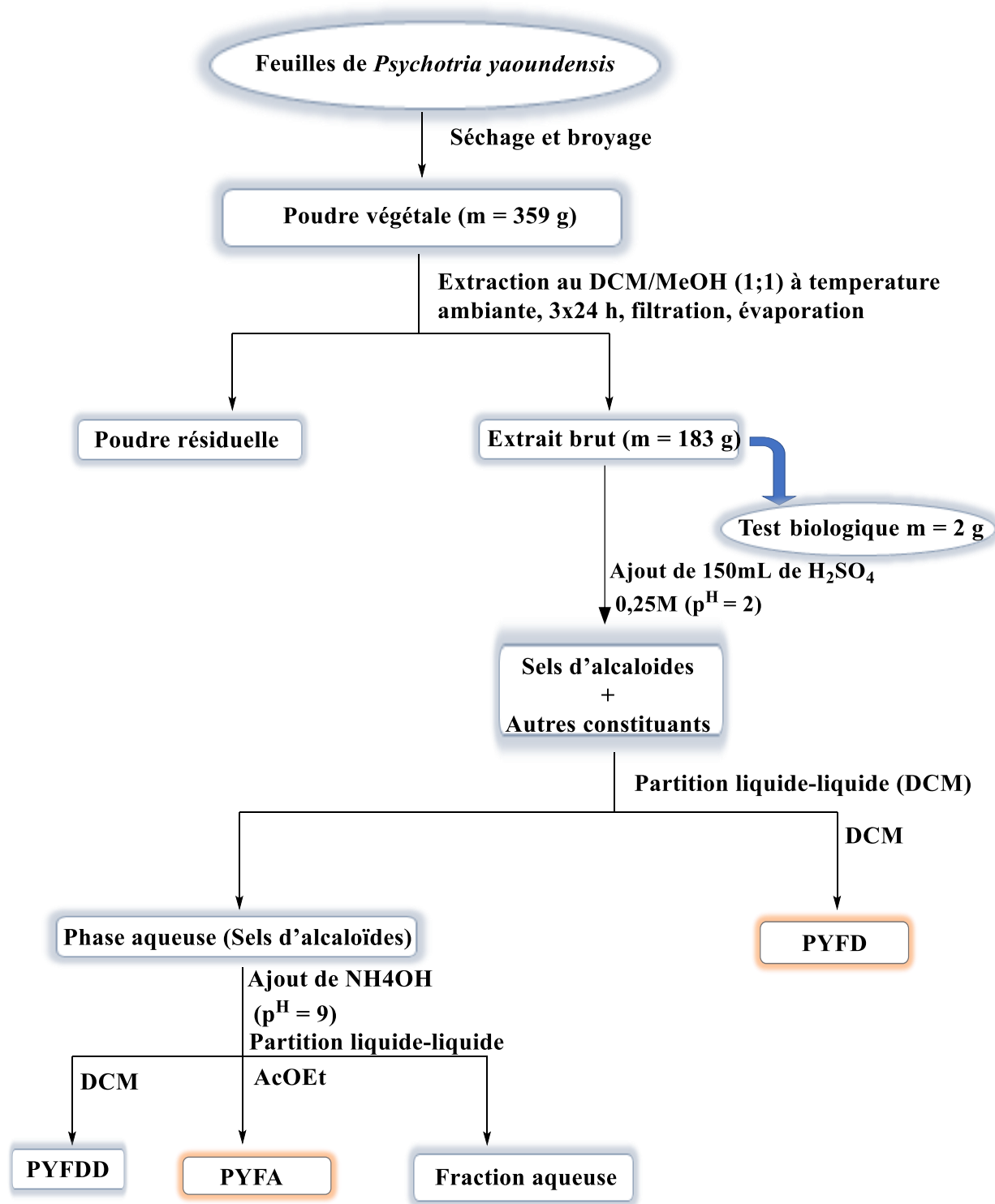


Schéma 2 : Protocole d'extraction et de fractionnement de l'extrait brut des feuilles de *Psychotria yaoundensis*

II.2. Evaluation de l'activité cytotoxique de l'extrait brut et des fractions des feuilles de *Psychotria yaoundensis*

Le test cytotoxique évalue le potentiel d'un matériau ou d'un médicament à inhiber la croissance cellulaire ou à induire la mort cellulaire. Dans le cadre de ce travail, le test utilisé est le test MTT (bromure de 3-[4,5-diméthylthiazol-2-yl]-2,5-diphényltétrazolium).

Les critères utilisés pour l'évaluation de l'activité cytotoxique, reposent sur les valeurs de concentration inhibitrice pour les cellules cancéreuses établies par l'Institut National du Cancer des États-Unis (U.S. *National Cancer Institute*) telles que résumées dans le tableau 4 suivant (Widiandani et al., 2023).

Tableau 4: Critères d'évaluation de l'activité cytotoxique

Valeur de CI_{50} ($\mu\text{g/mL}$)	Activité cytotoxique
$CI_{50} \leq 20$	Excellente
$21 < CI_{50} \leq 200$	Modérée
$201 < CI_{50} \leq 500$	Faible
$CI_{50} > 500$	Pas de cytotoxicité

L'extrait brut ainsi que les différentes fractions obtenues à partir des feuilles de *Psychotria yaoundensis* ont été évalués pour leur activité cytotoxique sur trois lignées de cellules de glioblastome : les cellules épithéliales U87-MG et LN229, ainsi que les astrocytes U251-MG. Les résultats obtenus sont présentés dans le tableau 5 suivant :

Tableau 5: Résultats de l'évaluation de l'activité cytotoxique de l'extrait et des fractions sur les lignées cellulaires U87-MG, LN229 et U251-MG des cellules cancéreuses du glioblastome.

Echantillons	Valeurs de CI_{50} en ($\mu\text{g/mL}$)		
	U87-MG	LN229	U251-MG
PYF	666,7 $\pm$ 52,54	292,8 $\pm$ 20,43	257,7 $\pm$ 17,76
PYFD	71,89 $\pm$ 5,65	276,9 $\pm$ 22,08	184,4 $\pm$ 12,98
PYFDD	491,6 $\pm$ 35,43	316,8 $\pm$ 21,12	903,1 $\pm$ 88,98
PYFA	426,7 $\pm$ 41,52	402,8 $\pm$ 23,76	> 1000
PYF aq	636,4 $\pm$ 6096	313,5 $\pm$ 28,32	936,7 $\pm$ 76,6

PYF : Extrait brut des feuilles de *Psychotria yaoundensis* ; **PYFD** : Fraction non alcaloïdique de l'extrait des feuilles de *Psychotria yaoundensis* ; **PYFDD** : Fraction au DCM de l'extrait alcaloïdique des feuilles de *Psychotria yaoundensis* ; **PYFA** : Fraction à l'acétate de l'extrait alcaloïdique des feuilles de *Psychotria yaoundensis* ;

PYFaq : Fraction aqueuse de l'extrait alcaloïdique des feuilles de *Psychotria yaoundensis*.

Les résultats obtenus indiquent que seule la fraction non alcaloïdique, désignée comme PYFD, a montré une activité modérée contre la lignée de cellules cancéreuses de glioblastome U87-MG, avec une CI_{50} de 71,89 $\pm$ 5,65 $\mu\text{g/mL}$. Cette activité modérée fait de la fraction PYFD un candidat prometteur pour des études plus approfondies. En conséquence, cette fraction a été sélectionnée pour des investigations complémentaires, visant à isoler et identifier les constituants bioactifs potentiels responsables de cette activité cytotoxique.

II.3. Isolement et élucidation structurale des composés

II.3.1. Isolement des composés de la fraction non alcaloïdique

La fraction non alcaloïdique ($m = 12 \text{ g}$) a été soumise à une chromatographie sur colonne de gel de silice, avec des éluions à partir d'un mélange de solvants constitué d'hexane/acétate, puis d'acétate/méthanol de polarité croissante. Ce processus de séparation chromatographique a permis d'isoler quatre composés purs, indexés de PYFD1 à PYFD4. Seul le composé PYFD4 a entièrement été analysé et caractérisé. Le schéma 3 suivant présente l'ensemble des étapes ayant conduit à l'isolement de ce composé. Dans la suite de ce travail, nous détaillerons l'élucidation structurale de PYFD4.

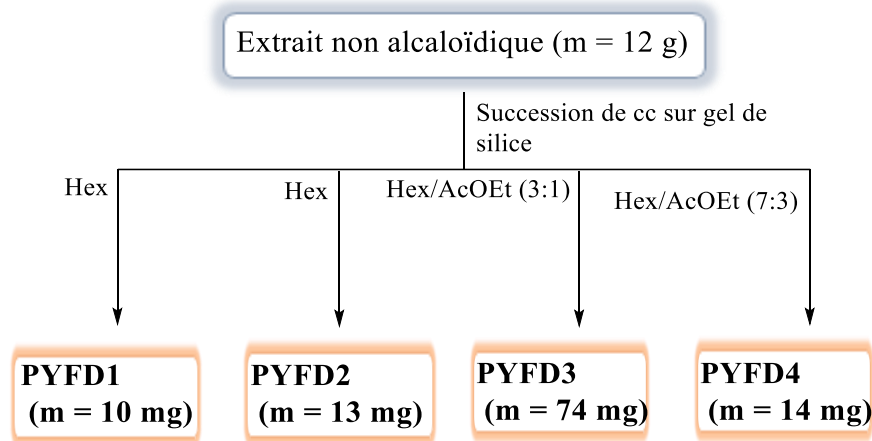


Schéma 3: Protocole d'isolement des composés de la fraction non alcaloïdique (PYFD) des feuilles de *Psychotria Yaoundensis*

II.3.2. Isolement des composés de la fraction alcaloïdique

Dans le but d'avoir plus d'informations sur la diversité métabolique de l'espèce *Psychotria yaoundensis*, la fraction alcaloïdique désigné PYFA a été également sélectionnée en vue d'isoler d'autres classes de métabolites secondaires.

Une chromatographie sur colonne de gel de silice a été effectuée sur la fraction alcaloïdique (m = 30 g). L'élution a été faite à partir d'un mélange de solvants constitué de dichlorométhane/méthanol de polarité croissante. À l'issue de ce processus de séparation chromatographique, deux composés purs ont été isolés, à savoir PYFA1 et PYFA2. Le composé PYFA1 a été complètement analysé et caractérisé. Le schéma 4 ci-dessous illustre toutes les étapes qui ont conduit à l'isolement de ces composés.

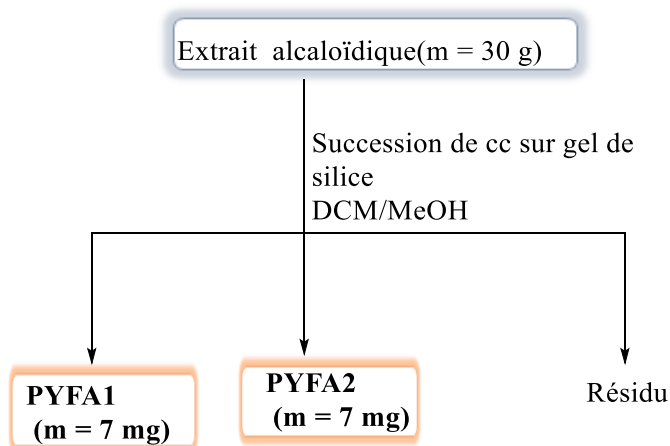


Schéma 4: Protocole d'isolement des composés de la fraction alcaloïdique (PYFA) des feuilles de *Psychotria Yaoundensis*

Dans la suite ce travail, l'élucidation structurale de deux composés PYFD4 et PYFA1 qui ont été analysés, seront présentés de façon détaillée.

II.3.3. Elucidation structurale des composés

II.3.3.1. Elucidation structurale du composé PYFD4

Le composé PYFD4 a été isolé sous forme de poudre jaune, au mélange *n*-Hex/AcOEt (7:3), de la fraction non alcaloïdique des feuilles de *Psychotria yaoundensis*. Soluble dans le DMSO, Il réagit positivement au test de Dragendorff en donnant une coloration rouge-orangée, suggérant sa nature alcaloïdique.

Son spectre de masse à haute résolution sous ionisation électro-spray en mode positif (SM-HR-ESI⁺) (**Figure 9**) montre le pic de l'ion pseudo moléculaire [M]⁺ à *m/z* 349,1540 correspondant à la formule brute C₂₁H₂₁O₃N₂⁺ [calculée pour 349,1547] et renfermant 13 degrés d'insaturations.

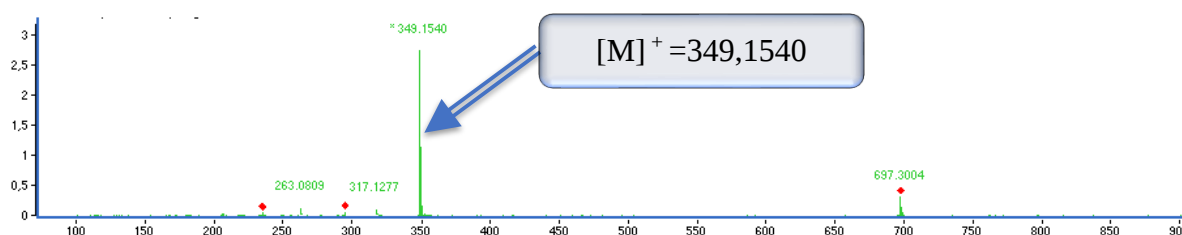


Figure 9: Spectre de masse HR-ESI-TOF du composé PYFD4

Son spectre UV (**Figure 10**) montre deux bandes d'absorption à λ_{max} de 245 nm et 305 nm, caractéristiques des chromophores indole et cétone α,β -insaturée, respectivement.

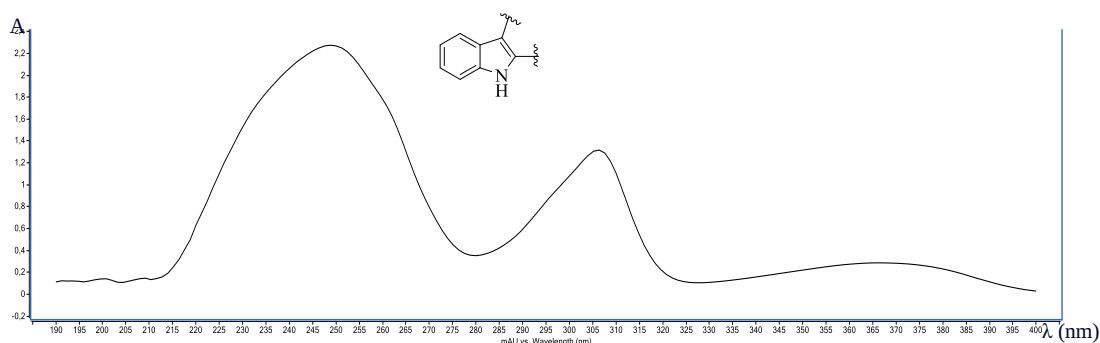


Figure 10: Spectre UV du composé PYFD4

Le spectre de RMN ¹³C (**Figure 11**) totalement découplé proton large bande laisse apparaître 21 signaux correspondant aux 21 atomes de carbone présents dans la molécule. L'analyse complète de ces signaux par la technique HSQC (**Figure 12**) a permis de distinguer les atomes de carbone hydrogénés et les atomes de carbone quaternaires. Elle révèle entre autre :

- ❖ Sept signaux de carbones quaternaires, tous hybridés sp^2 apparaissant à δ_C 105,8 ; 119,6 ; 130,1 ; 133,9 ; 140,3 ; 143,4 et 166,2 ppm.
- ❖ 10 signaux de méthines, dont trois hybridés sp^3 apparaissant à δ_C 23,9 ; 36,4 et 71,0 ppm et les sept autres hybridés sp^2 apparaissant à δ_C 112,9 ; 115,6 ; 121,6 ; 123,3 ; 131,4 ; 133,2 et 154,5 ppm.
- ❖ Deux signaux de méthylènes tous hybridés sp^3 apparaissant à δ_C 30,3 et 55,8 ppm, et
- ❖ Deux signaux de groupes méthyles apparaissant à 13,8 et 51,1 ppm.

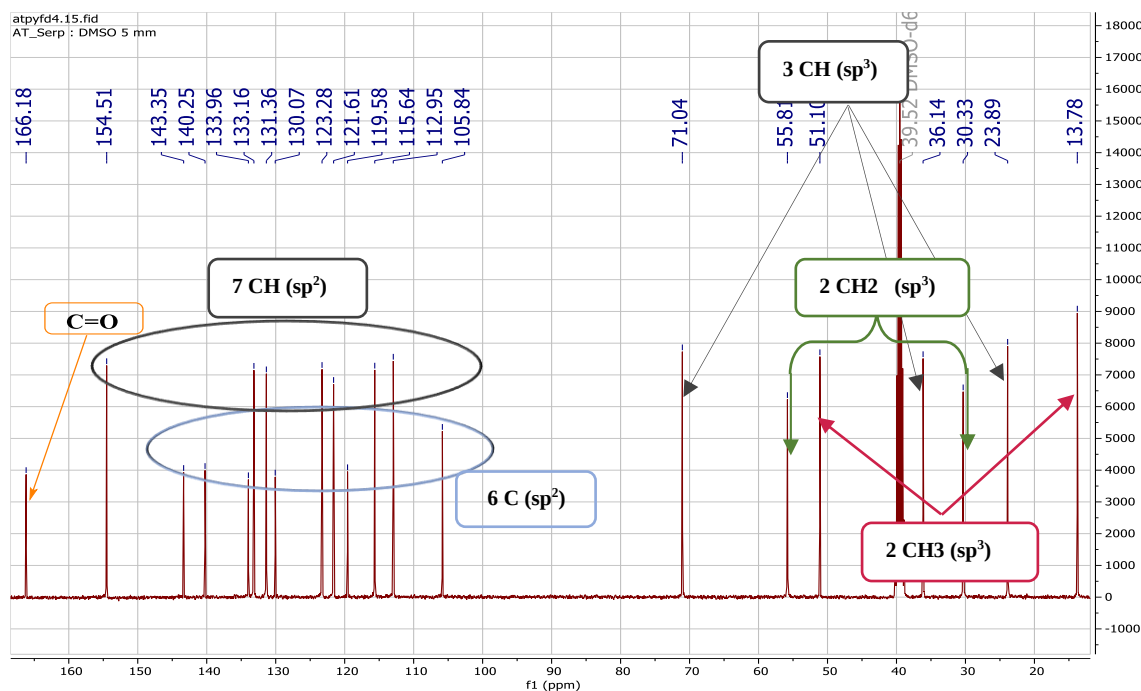


Figure 11: Spectre de RMN ^{13}C (DMSO- d_6 , 100 MHz) du composé PYFD4

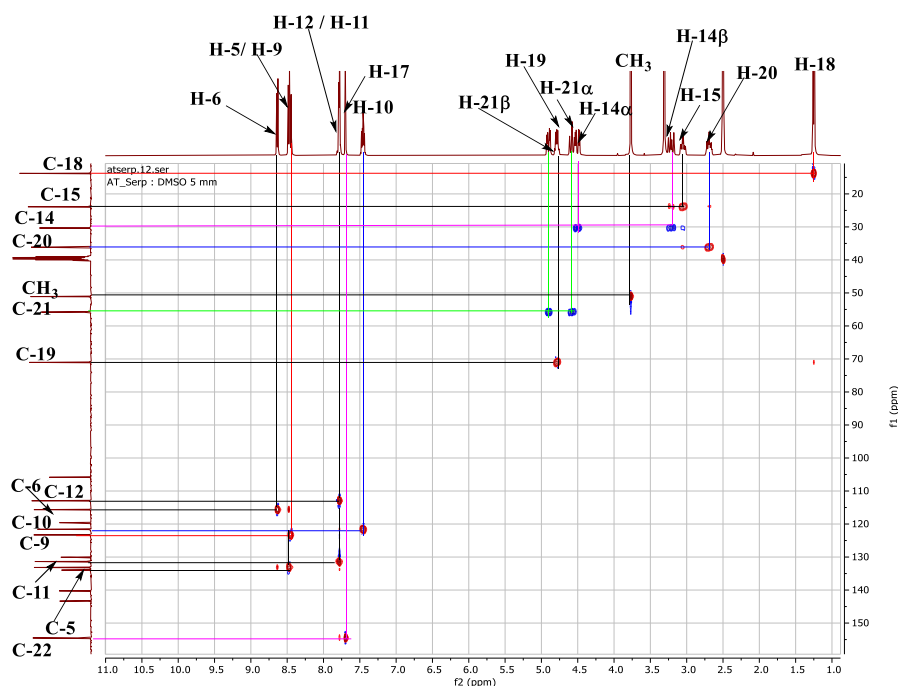
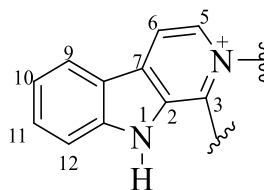


Figure 12: Spectre HSQC du composé PYFD4

L'analyse du spectre de RMN ^1H (Figure 13), complétée par celles des spectres ^1H - ^1H COSY (Figures 14 et 15), HSQC (Figure 12) et le spectre HMBC (Figure 16) a permis d'établir deux sous structures **a** et **b**.

La sous structure **a**, correspondant au 9H-pyrido [3,4] indole, a été établie par la présence entre autres

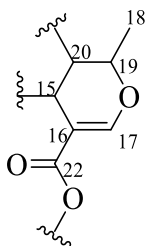
- d'un système de spins AA'BB' de quatre protons aromatiques dont deux apparaissent sous forme d'un doublet dédoublé à δ_{H} 7,46 (1H, ddd, $J = 8,3 ; 6,8$ et $1,2$ Hz) / δ_{C} 121,6 et δ_{H} 7,78 (1H, ddd, $J = 8,3 ; 6,8$ et $1,2$ Hz) / δ_{C} 131,4 ; et les deux autres résonnant sous forme de doublet dédoublé à δ_{H} 7,78 (1H, dd, $J = 8,3$ et $1,2$ Hz) / δ_{C} 112,9 et δ_{H} 8,46 (1H, dd, $J = 8,8$ et $1,2$ Hz) / δ_{C} 123,3, correspondant respectivement aux protons en positions H-10, H-11, H-12 et H-9 ;
- d'un proton singulet apparaissant à δ_{H} 12,96 (1H, s) attribuable au proton indolique en position H-1 ,
- et de deux autres signaux de protons apparaissant sous forme de doublet à δ_{H} 8,46 (1H, d, $J = 6,6$ Hz) / δ_{C} 133,2 et δ_{H} 8,64 (1H, d, $J = 6,6$ Hz) / δ_{C} 115,6 et attribuables respectivement aux protons H-5 et H-6, tous présentant des taches de corrélation sur les spectres COSY et HMBC.



sous structure **a**

La sous structure **b** correspondant à l'unité terpénique est caractérisée par la présence des systèmes de spins :

- d' un proton singulet large à δ_H 7,70 (1H, s) / δ_C 154,5 attribuable au proton H-17 appartenant au système α,β insaturé;
- de deux protons doublets dédoublé dédoublé dédoublé apparaissant à δ_H 2,70 (1H, dddd, $J=13,0; 11,4; 4,2$ et $4,0$ Hz) / δ_C 36,1; δ_H 3,06 (1H, dddd, $J=11,6; 11,4; 4,6$ et $1,7$ Hz) / δ_C 23,9 ; 4,79 (1H, qd, $J=6,7$ et $4,0$ Hz) / δ_C 71,0 attribuable aux protons H-20 et H-15;
- et de trois protons doublets apparaissant à δ_H 1,26 (3H, d, $J=6,7$ Hz)/ δ_C 13,78 attribuable au proton H-18.



sous-structure **b**

De plus, on observe sur ce même spectre de RMN 1H , des signaux n'appartenant à aucune des sous structures **a** et **b** présentés ci-dessus. Il s'agit entre autres :

- d'un signal de trois protons apparaissant sous forme singulet à δ_H 3,77(3H, s) / δ_C 51,8 attribuables aux protons du groupe methoxyle porté par le carbonyle;
- de quatre signaux de protons de méthylènes diastéréostopiques chacun dont deux apparaissent à δ_H 4,54 (1H, dd, $J=18,4$ et $4,8$ Hz) et δ_H 3,21 (1H, dd, $J=18,4$ et $4,8$ Hz) / δ_C 30,3 assignables aux protons en positions H-14 α et H-14 β , d'une part et les deux autres à δ_H 4,60 (1H, dd, $J=13,3$ et $4,5$ Hz) et 4,90 (1H, dd, $J=13,3$ et $4,5$ Hz) / δ_C 55,8 correspondant aux protons en positions H-21 α et H-21 β , d'autre part.

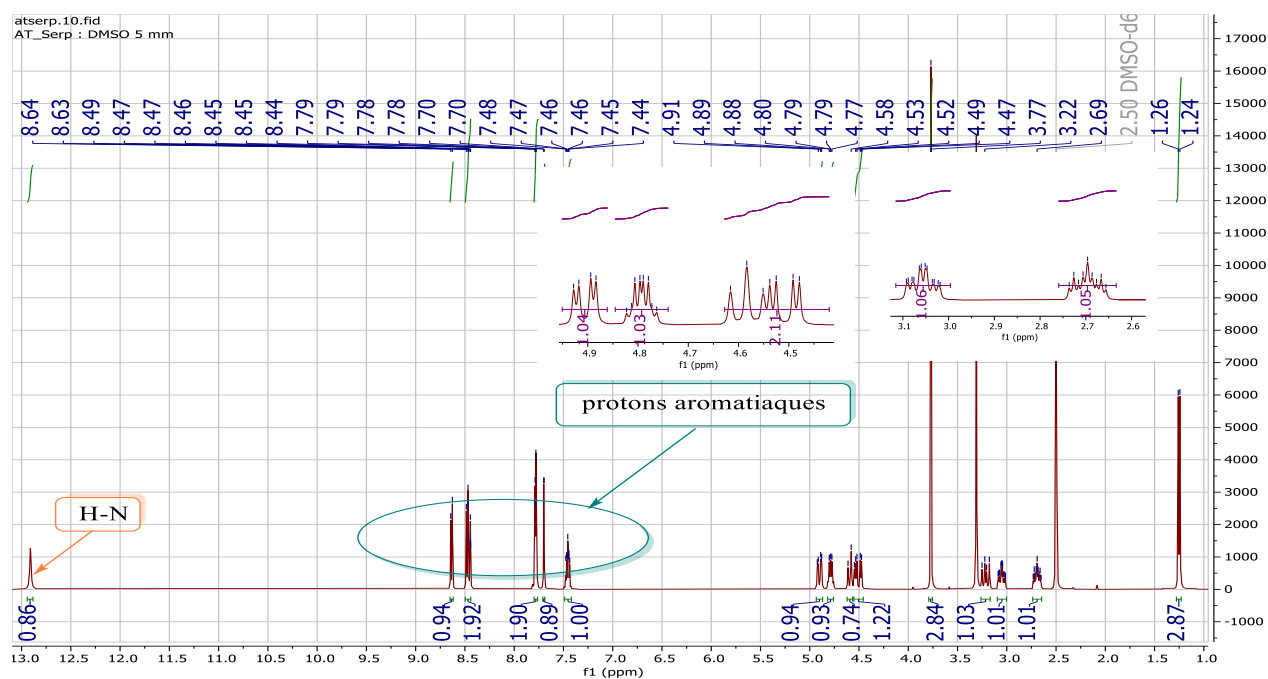


Figure 13: Spectre de RMN ^1H (DMSO- d_6 , 400 MHz) du composé PYFD4

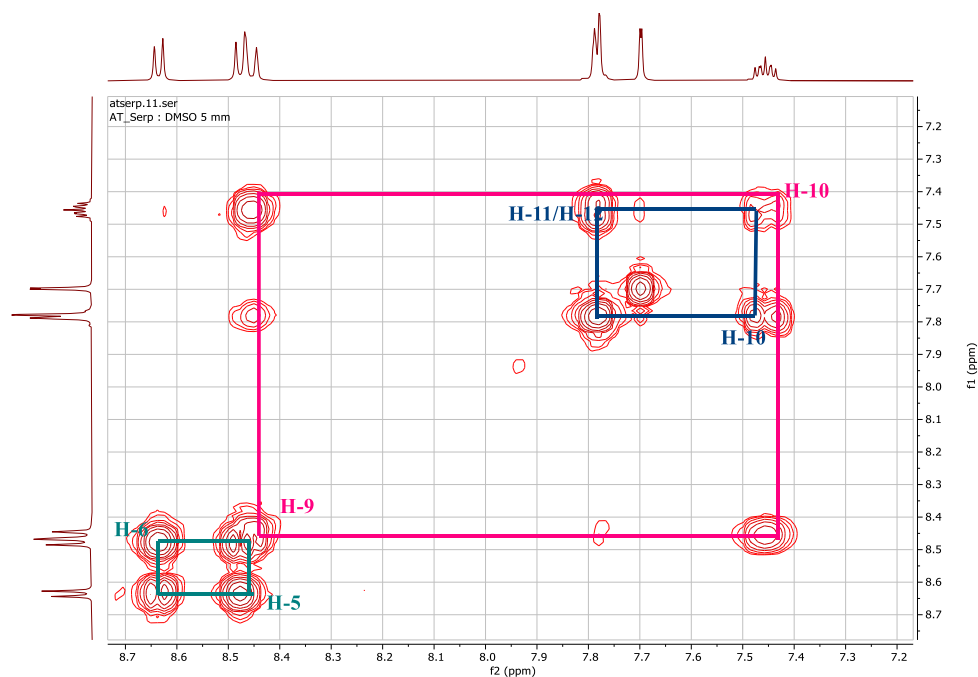


Figure 14: Spectre COSY élargie de 7,2 à 8,7 ppm du composé PYFD4

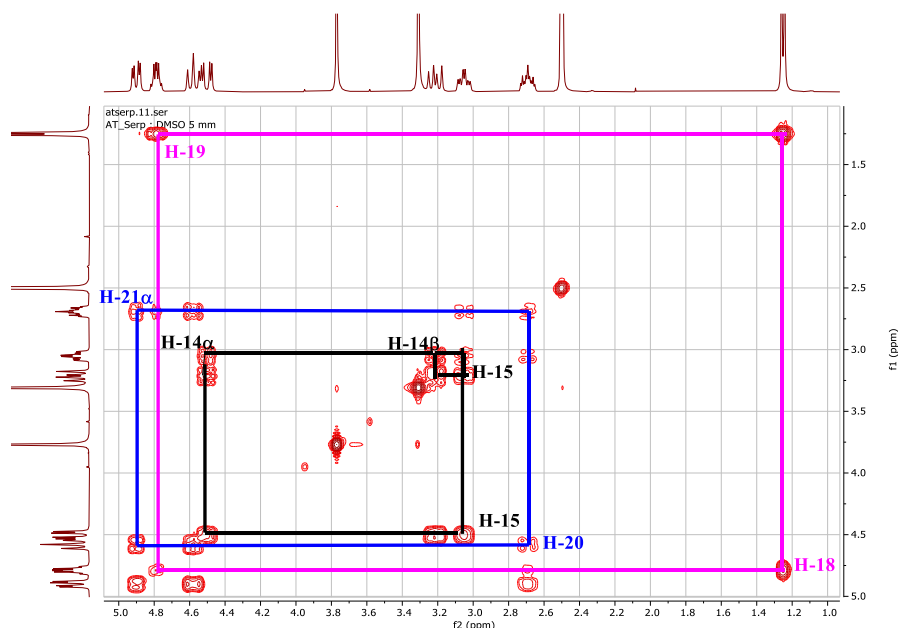


Figure 15: Spectre COSY élargie de 1 à 5,0 ppm du composé PYFD4

Les jonctions entre les sous-structures **a** et **b** ont été établies par les corrélations observées sur les spectres COSY et HMBC de ce composé. En effet, des taches de corrélations observées, d'une part sur le spectre COSY (**Figure 15**) entre les protons H-21 α et H-20, puis entre les protons H-14 β et H-15, et d'autre part sur le spectre HMBC (**Figure 16**) entre le proton H-5 et le carbone C-21, entre les protons H-14 α et H-21 α avec le carbone C-20, entre les protons

H-14 β et H-21 β avec le carbone C-15 ; et entre le proton H-14 α avec les carbones C-2 et C-3. ont permis de relier les deux sous structures **a** et **b** entre elles. De plus, la corrélation HMBC entre les protons H-23 et le carbone C-22. a permis de positionner le groupement méthoxyle en position 22.

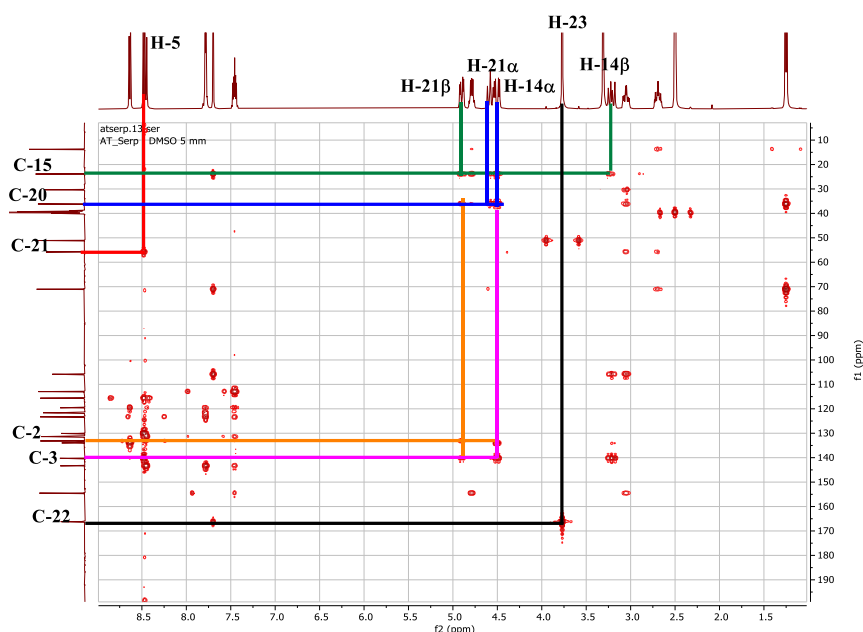


Figure 16: Spectre HMBC du composé PYFD4

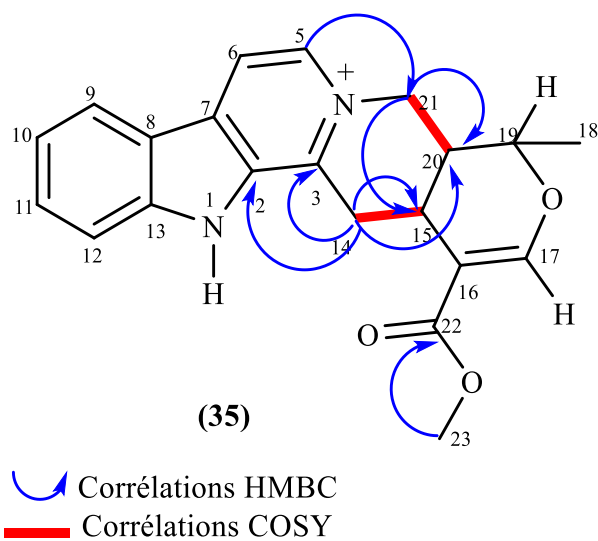


Schéma 5 : Corrélations importantes observées sur les spectres COSY et HMBC du composé PYFD4

L'ensemble de toutes ces données spectrales, comparées à celles décrites dans la littérature permet d'attribuer au composé PYFD4 la structure (36) qui correspond à celle de la serpentine. Il s'agit d'un sel d'alcaloïde indolomonoterpenique de type corynanthe, connu et isolé pour la première fois par Salimuzzaman et Hussain en 1931. La serpentine est notamment reconnue comme étant un constituant des racines de *Rowolfia serpentina* et joue un rôle

important dans le traitement de l'hypertension artérielle (Salimuzzaman et Hussain, 1932 ;Bunkar, 2017).

Le contre-ion de la serpentine a été déterminé comme étant l'ion chlorure. En effet, l'obtention d'un précipité blanc qui noircit à la lumière lorsqu'il est traité avec le nitrate d'argent constitue un argument solide en faveur de cette hypothèse.

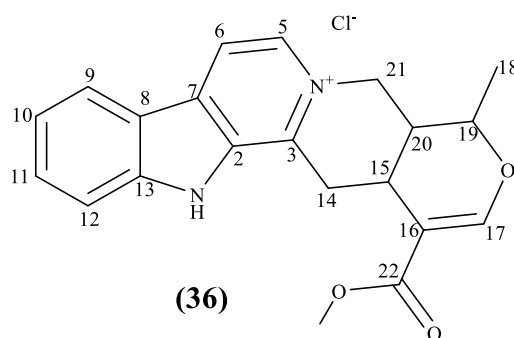


Tableau 6: Données spectrales de RMN ^1H (DMSO, 400 MHz) et RMN ^{13}C de PYFD4 et de la Serpentine (500 MHz, CD_3OD)

PYFD4			Serpentine (39) (Wachsmuth & Matusch, 2002)	
N°	δ_{H} (nH, m, J en Hz)	δ_{C}	δ_{H} (nH, m, J en Hz)	δ_{C}
1	12,91 (1H,s)	/	/	/
2	/	133,9 (C)	/	135,8 (C)
3	/	140,3 (C)	/	141,2 (C)
5	8,46 (1H, d, J=6,6 Hz)	133,2 (CH)	8,31 (1H, d, J=6,6 Hz)	134,2 (CH)
6	8,64 (1H, d, J=6,6 Hz)	115,6 (CH)	8,45 (1H, d, J=6,6 Hz)	116,8 (CH)
7	/	119,6 (C)	/	132,6 (C)
8	/	130,1 (C)	/	121,3 (C)
9	8,46 (1H, dd, 8,8 et 1,2 Hz)	123,3 (CH)	8,31 (1H, dd, 8,1 et 1,0 Hz)	124,0 (CH)
10	7,46 (1H, ddd, 8,3; 6,8 ;1,2Hz)	121,6 (CH)	7,43 (1H, ddd, 8,4; 6,6; 1 Hz)	123,2 (CH)
11	7,78(1H, ddd, 8,3; 6,8 ;1,2 Hz)	131,4 (CH)	7,76 (1H, ddd, 8,4; 6,6; 1 Hz)	132,9 (CH)
12	7,78 (1H, dd, 8,3 et 1,2 Hz)	112,9 (CH)	7,72 (1H, dd, 8,4 et 1,3 Hz)	113,9 (CH)
13	/	143,4 (C)	/	145,4 (C)
14 α	4,54 (1H, dd, 18,4 et 4,8 Hz)	30,3 (CH ₂)	4,64 (1H, dd, 18,1 et 4,7 Hz)	31,9 (CH ₂)
14 β	3,21 (1H, dd, 18,4 et 11,1 Hz)		3,13 (1H, dd, 18,1 et 11,8 Hz)	
15	3,06(1H, dddd, 11,6 ;11,4 ;4,6 et 1,7 Hz)	23,9 (CH)	3,04 (1H, dddd, 11,6; 11,5; 4,7 et 1,4 Hz)	26,0 (CH)
16	/	105,8 (C)	/	107,2 (C)
17	7,70 (1H, d, 1,6 Hz)	154,5 (CH)	7,71 (1H, d, 1,4 Hz)	156,3 (CH)
18	1,26 (3H, d, 6,7 Hz)	13,8 (CH ₃)	1,34 (1H, d, 6,8 Hz)	14,2 (CH ₃)
19	4,79 (1H, qd, 6,7 Hz et 4,0 Hz)	71,1 (CH)	4,75 (1H, qd, 6,8 et 4,2 Hz)	72,9 (CH)
20	2,70 (1H, dddd, 13,0 ;11,4 ;4,2 et 4,0Hz)	36,1 (CH)	2,67 (1H, dddd, 13,0; 11,5; 4,5 et 4,0 Hz)	38,5 (CH)
21 α	4,60 (1H, dd, 13,5 et 13,0 Hz)	55,8 (CH ₂)	4,59 (1H, dd, 13,3 et 13,0 Hz)	57,6 (CH ₂)
21 β	4,90 (1H, dd, 13,5 et 4,1 Hz)		4,88 (1H, dd, 13,3 et 4,1 Hz)	
22	/	166,2 (C)	/	168,4 (C)
23	3,77 (3H, s)	51,8 (CH ₃)	4,82 (3H, s)	51,8 (CH ₃)

II.3.3.2. Elucidation structurale du composé PYFA1

Le composé PYFA1 a été isolé de la fraction alcaloïdique des feuilles de *Psychotria yaoundensis* sous forme de cristaux blancs, au mélange DCM/MeOH (39 :1) ; Il est soluble dans le DMSO et répond positivement au test de Dragendorff en donnant une coloration rouge-orangé persistante caractéristiques des alcaloïdes.

Son spectre de masse haute à résolution et sous ionisation électro-spray en mode positif (**Figure 17**) présente le pic de l'ion moléculaire protonné $[M+H]^+$ à $m/z = 175,1232$ [calculée pour $175,1235 \text{ C}_{11}\text{H}_{15}\text{N}_2$] compatible avec la formule brute $\text{C}_{11}\text{H}_{14}\text{N}_2$ et renfermant six degrés d'insaturations.

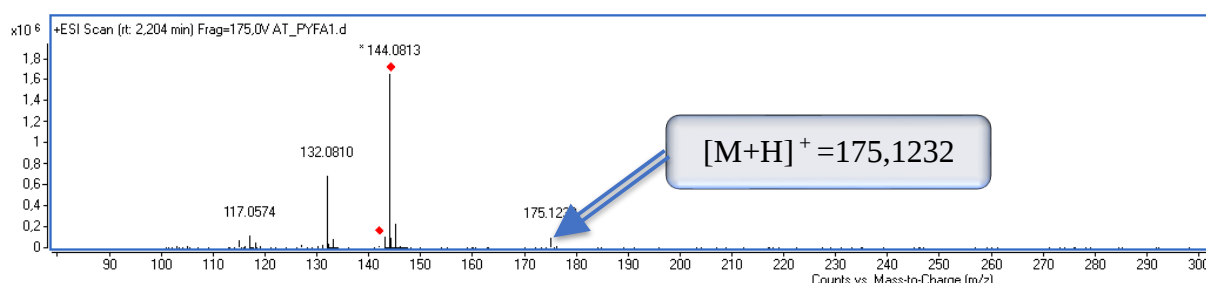


Figure 17: Spectre de masse HR-ESI-TOF du composé PYFA1

Son spectre UV (**Figure 18**) présente des bandes d'absorptions à λ_{max} 235 nm et 280 nm caractéristique du chromophore tétrahydroindolique.

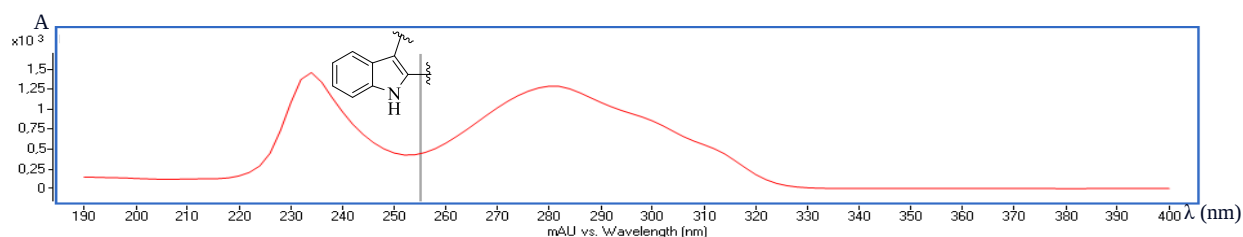


Figure 18: Spectre UV du composé PYFA1

Son spectre de RMN ^{13}C (DMSO- d_6 , 100 MHz, **Figure 19**) totalement découplé proton large bande laisse apparaître 11 signaux correspondant aux 11 atomes de carbone présents dans cette molécule.

L'analyse complète de ces 11 signaux au moyen de la technique HSQC (**Figure 20**) a permis de distinguer les signaux des atomes de carbone hydrogénés des signaux de ceux des carbones quaternaires. Cette analyse fait ressortir trois signaux de carbones quaternaires, tous

hybridés sp^2 , aux valeurs de δ_C 109,1 ; 126,6 et 136,1 ppm. Parmi les atomes de carbones hydrogénés on distingue les signaux de:

- ❖ Cinq méthines hybridés sp^2 à δ_C 111,2 ; 117,9 ; 118,2 ; 120,9 et 123,0 ppm.
- ❖ Deux méthylènes hybridés sp^3 à δ_C 21,35 et à 48,41 ppm.
- ❖ Un signal de méthyle à δ_C 32,01 ppm.

De ces 11 atomes de carbone présents dans la molécule, quatre sont liés à un hétéroatome. Les signaux de ces carbones apparaissent à δ_C 32,01 ; 48,41 ; 123,01 et 126,62 ppm.

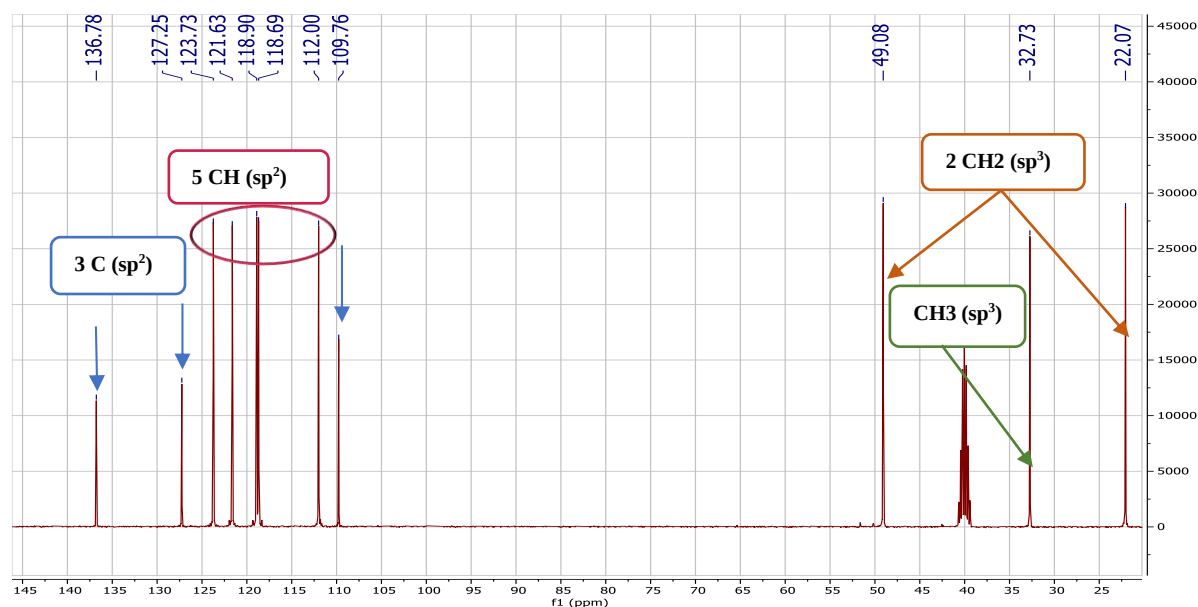


Figure 19 : Spectre de RMN ^{13}C (DMSO- d_6 , 100 MHz) du composé PYFA1

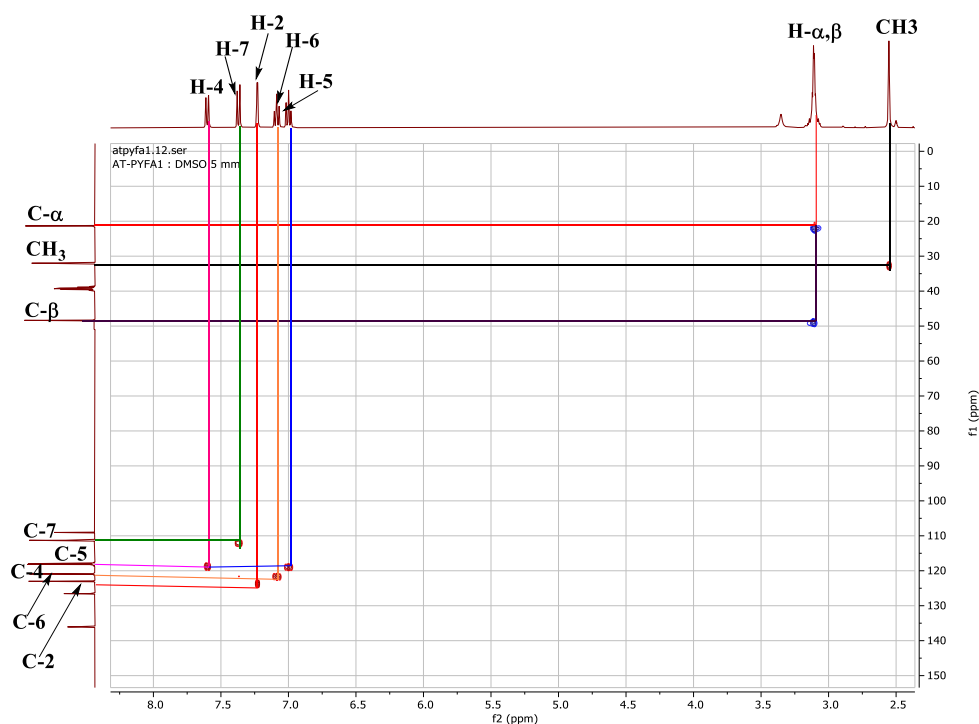
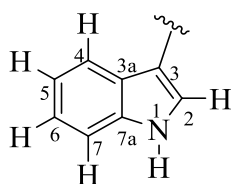
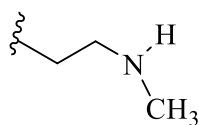


Figure 20: Spectre HSQC élargi du composé PYFA1

L'analyse du spectre RMN ^1H (**Figure 21**) complétée par celle des spectres HSQC (**Figure 20**) et COSY (**Figures 22 et 23**) a permis d'établir deux structures **a** et **b**. La sous structure **a**, correspondant au noyau indolique monosubstitué a été établie par la présence d'un système de spins ABCD de quatre protons aromatiques dont deux protons apparaissant chacun sous forme de triplets dédoublés à δ_{H} 7,00 (1H, td, $J = 8,1$ et $1,1$ Hz) / δ_{C} 117,9 et δ_{H} 7,09 (1H, td, $J = 8,1$ et $1,1$ Hz) / δ_{C} 120,9 et deux protons apparaissant chacun sous forme de doublets à δ_{H} 7,37 (1H, d, $J = 8,0$ Hz) / δ_{C} 111,9 et δ_{H} 7,60 (1H, d, $J = 1,1$ Hz) / δ_{C} 118,8 correspondant respectivement aux protons en positions H-5, H-6, H-4 et H-7 d'un noyau tétrahydroindolique. On note également la présence de deux autres signaux de protons aromatiques, l'un apparaissant sous forme de doublet d'un proton à δ_{H} 7,23 (1H, d, 2,4 Hz) / δ_{C} 123,0 et l'autre sous forme d'un singulet d'un proton à δ_{H} 11,02 (1H, s) caractéristique des protons en position H-2 et H-1 de l'indole (Buchanan et *al.*, 2007); ceux-ci présentant tous des taches de corrélation observables sur les spectres COSY et HMBC.

Sous structure **a**

La sous structure **b**, correspondant au groupe méthylaminoethyl, est caractérisée par la présence d'un système de spin A_2B_2 de quatre protons aliphatiques, dont deux multiplets de deux protons, H-3 α et H-3 β , chacun résonant à δ_{H} 3,10 (2H, m) / δ_{C} 48,4 et à δ_{H} 3,11 (2H, m) / δ_{C} 21,3 et d'un ensemble de signaux de trois protons apparaissant sous forme de singulet à δ_{H} 2,55 (3H, s), ainsi qu'un proton apparaissant sous forme de singulet à δ_{H} 9,17, tous liés à un atome d'azote. Ces signaux présentent tous des taches de corrélation sur les spectres COSY et HMBC.

Sous structure **b**

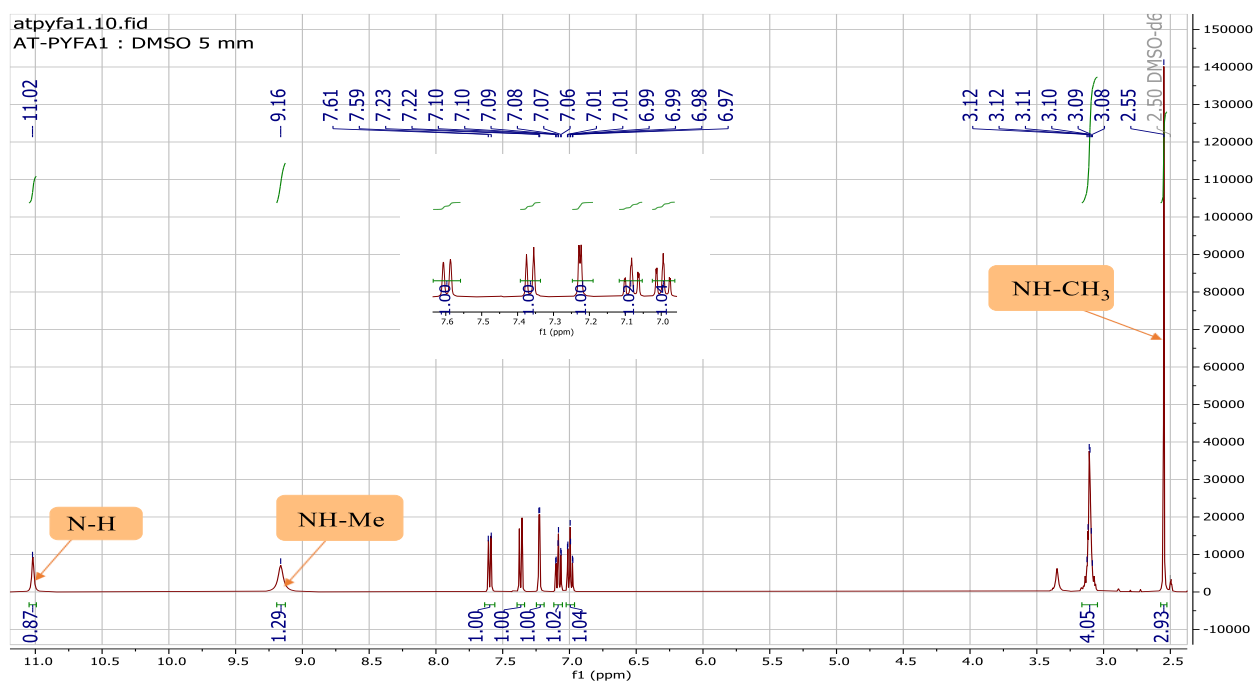


Figure 21: Spectre RMN ^1H (DMSO-d₆, 400 MHz) du composé PYFA1

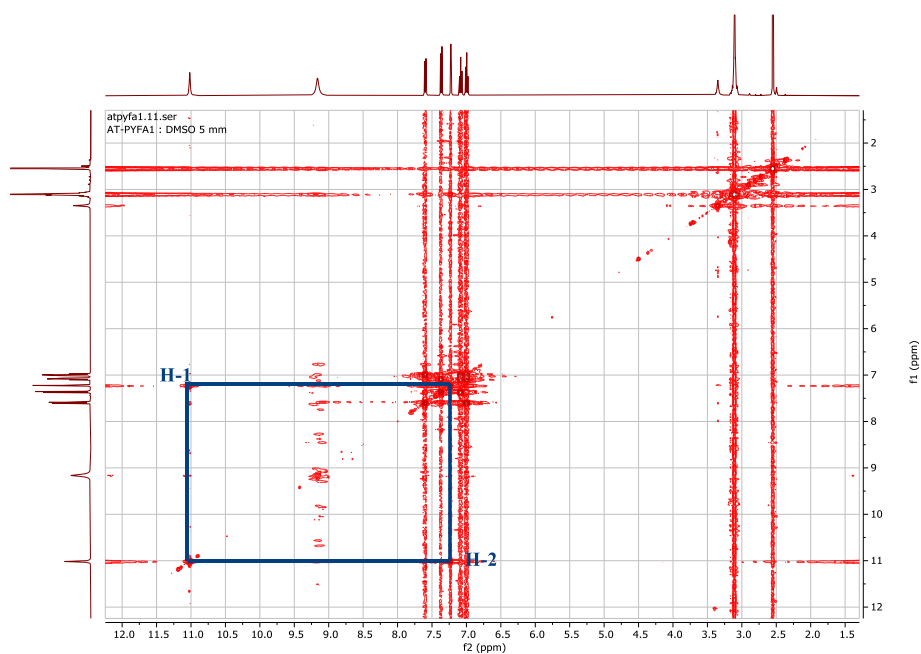


Figure 22: Spectre COSY du composé PYFA1

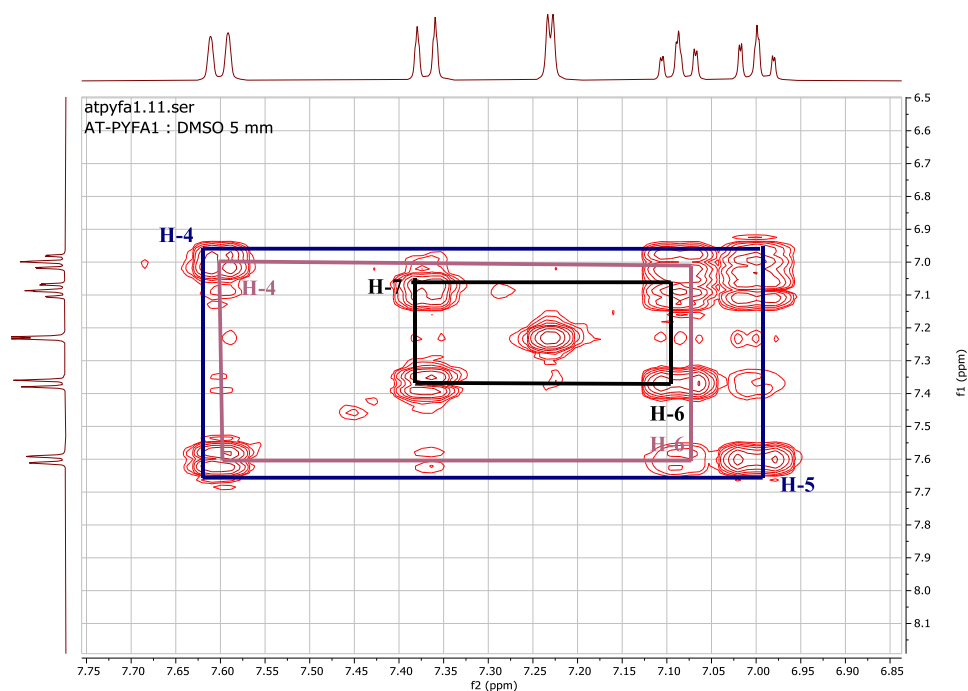


Figure 23 : Spectre COSY élargi de 6,85 à 7,75 ppm du composé PYFA1

La jonction entre les deux sous structures **a** et **b** a été établie grâce aux corrélations 2J et 3J observées sur le spectre HMBC (Figure 15) de ce composé.

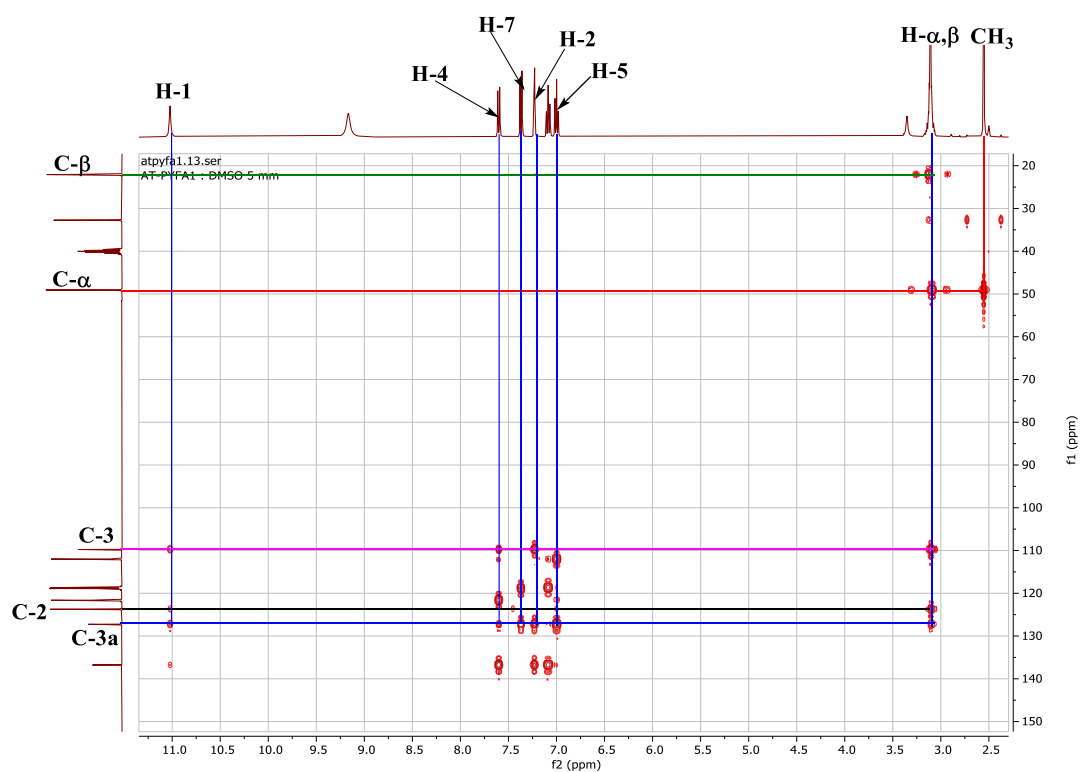


Figure 24: Spectre HMBC du composé PYFA1

En effet, les corrélations observées sur le spectre HMBC entre les protons H3- β et les carbones C-2, C-3 et C-3a ont permis de relier le noyau tetrahydroindolique au groupe methylaminoethyl formant ainsi un squelette de type tryptamine. D'autres corrélations majeures sont également observées, il s'agit notamment des corrélations entre le proton de l'indole H-1 et les carbones C-2, C-3, C-3a, et C-7a, d'une part et des corrélations entre les protons du N-méthyl et le carbone C-3 α , d'autre part.

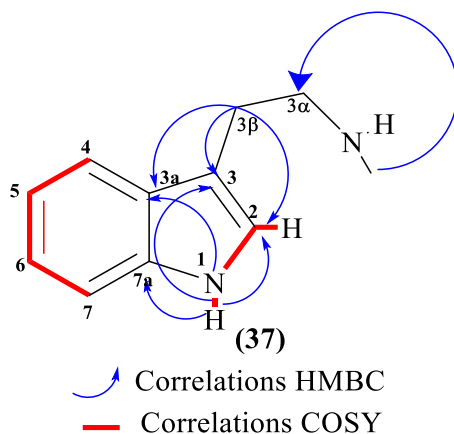


Schéma 6 : Corrélations observées sur les spectres COSY et HMBC du composé PYFA1

L'ensemble de ces données spectrales, comparées à celles décrites dans la littérature, permet d'attribuer au composé PYFA1 la structure (38) correspondant à la N-méthyltryptamine, un dérivé de la tryptamine, précédemment isolé de *Acasia confusa* (Buchanan et al., 2007). La N-méthyltryptamine est notamment reconnue pour ses propriétés phytotoxiques. (Lee & Chou, 2000).

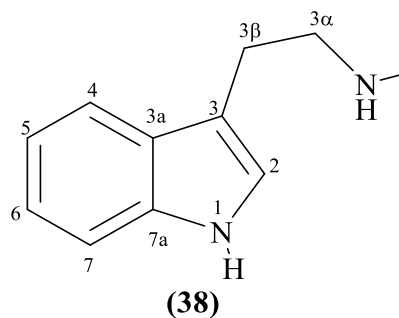


Tableau 7: Données spectrales de RMN ¹H (DMSO-d₆, 400 MHz) et RMN ¹³C de PYFA1 et de la N-méthyl tryptamine (DMSO, 500 MHz)

PYFA1			N-méthyltryptamine(37) (Buchanan et al., 2007)	
N°	δ _H (nH, m, J en Hz)	δ _C	δ _H (nH, m, J en Hz)	δ _C
1	11,02 (1H, s)	/	10,98 (1H, s)	/
2	7,23 (1H, d, 2,4 Hz)	123,0 (CH)	7,23 (1H, d, 2,4 Hz)	123,0 (CH)
3	/	109,1 (C)	/	109,4 (C)
3a	/	126,6 (C)	/	126,6 (C)
4	7,60 (1H, d, 8,1 Hz)	118,2 (CH)	7,57 (1H, d, 8,0 Hz)	118,1 (CH)
5	7,00 (1H, td, 8,1 Hz-1,1Hz)	117,9 (CH)	7,01 (1H, td, 8,0 ;1,0Hz)	118,4 (CH)
6	7,09 (1H, td, 8,1 Hz-1,1Hz)	120,9 (CH)	7,10 (1H, td, 8,0 Hz-1,0Hz)	121, 2 (CH)
7	7,37 (1H, d, 1,1 Hz)	111,9 (CH)	7,37 (1H, d, 1,0 Hz)	111,5 (CH)
7a	/	136,0 (C)	/	136,4 (C)
3α	3,11 (2H, m)	48,4 (CH ₂)	3,01 (2H, m)	48,6 (CH ₂)
3β	3,11 (2H, m)	21,4 (CH ₂)	3,18 (2H, m)	21,6 (CH ₂)
NH	9,17 (1H, s)	/	/	/
NMe	2,55 (3H, s)	32,0 (CH ₃)	2,61 (1H, d)	32,5 (CH ₃)

Ces composés ont été isolés afin d'identifier ceux susceptibles d'expliquer la nature allélochimique observée chez *Psychotria yaoundensis*. Cependant, nous n'avons pas pu évaluer l'activité cytotoxique des composés isolés en raison de contraintes de temps. Toutefois, la littérature indique que la N-méthyltryptamine, l'un des deux composés caractérisés, est un alcaloïde isolé de *Acacia confusa*, une plante ayant montré un potentiel allélochimique. Un bioessai chromatographique sur les graines de laitue a révélé une phytotoxicité importante à une concentration inférieure à 14 mM, ce qui pourrait expliquer le caractère allélochimique observé chez *Psychotria yaoundensis* (Lee & Chou, 2000).

CONCLUSION ET PERSPECTIVES

Le présent travail, portant sur la diversité métabolique et le potentiel cytotoxique des feuilles de *Psychotria yaoundensis*, visait à réaliser une étude chimique de l'extrait de ces feuilles et à évaluer l'activité cytotoxique des extraits, des fractions et des composés isolés. Au terme de nos investigations, les objectifs fixés ont été partiellement atteints. En effet, le procédé de traitement alcaloïdique suivi du fractionnement des extraits, tant non alcaloïdiques qu'alcaloïdiques, à l'aide des méthodes chromatographiques usuelles (CC et CCM), a permis l'isolement de six composés, dont deux ont été entièrement caractérisés. L'élucidation des structures de ces composés a été réalisée grâce à des méthodes spectrométriques et spectroscopiques, en conjonction avec les données de la littérature.

Par ailleurs, l'extrait brut ainsi que les fractions obtenues ont été testés sur trois lignées cellulaires de glioblastome. Les résultats de ces tests ont montré que seule la fraction non alcaloïdique présentait une activité cytotoxique notable.

Les deux composés isolés et caractérisés sont respectivement connus pour leurs propriétés antihypertensives et phytotoxiques. Ces résultats suggèrent que les extraits de *Psychotria yaoundensis* pourrait avoir un potentiel cytotoxique intéressant contre certaines lignées de cellules cancéreuses. Une étude plus approfondie des composés isolés pourrait permettre d'identifier des molécules avec des applications thérapeutiques potentielles.

En réponse à la question de recherche qui a été formulée, qui était de savoir si les composés de *Psychotria yaoundensis* possédaient des propriétés cytotoxiques et allélopathiques, nos résultats montrent qu'en effet, les extraits cette plante présente un potentiel cytotoxique, lié aux molécules phytotoxiques identifiées dans la fraction non alcaloïdique.

Dans la suite de ce travail, nous envisageons de poursuivre l'analyse et l'élucidation structurale des composés restants, de purifier les fractions restantes, et d'évaluer l'activité cytotoxique des composés isolés sur des cellules normales afin de mieux appréhender leur sélectivité vis-à-vis des cellules cancéreuses.

CHAPITRE III : PARTIE EXPERIMENTALE

III.1 Appareillages et matériel végétal

III.1.1 Appareillages

Les appareillages disponibles au sein du Laboratoire des Substances Naturelles et de Synthèse Organique Appliquée (**LANAPOS**) de la Faculté des Sciences de l'Université de Yaoundé I ont permis de mener à bien ce travail de recherche. Ceux-ci sont spécifiquement :

Deux balances l'une de marque COBOS modèle **D-600-SX** et l'autre de marque **SARTORIUS** de précision 1/1000 ont été utilisées pour réaliser les différentes pesées.

Une broyeuse **Restsch** de type SM 100 et caractéristiques 230V, 10A, 1.5 KW, 1390/min, et 50 Hz a réduit le matériel végétal en poudre.

Des erlenmeyers de contenance 5L et ampoule à décanter ont respectivement servi de récipients de macération et partitionnement.

Les différentes évaporations ont été effectuées à l'aide d'un évaporateur rotatif de type **Heidolph** connecté à un circulateur d'eau du fabricant **LAUDA** de type **WKL 230**.

Les chromatographies sur colonne ont été réalisées sur des colonnes en verres de 40 et 63,5 cm de hauteur et 4,5 et 7 cm de diamètre respectivement. La phase stationnaire était constituée de silice (SiO₂) de granulométrie 60-80 µm de type **MERCK**.

Les Chromatographie sur couche mince (CCM) ont été effectuées sur des plaques carrées préfabriquées en feuilles d'aluminium recouverte de gel de silice de type 60 F254, d'épaisseur 0,2 mm et de dimension 20 cm×20 cm. Ces plaques chromatographiques ont été développées dans les cuves chromatographiques de forme cylindrique et éluées avec les solvants ou mélange de solvants constitués d'hexane, d'acétate d'éthyle, dichlorométhane, et de méthanol.

Les différents révélateurs utilisés étaient : une lampe UV de type Herolab (UV-8S/L) produisant des longueurs d'ondes de 254 et 365 nm, des vapeurs d'iode et une solution diluée d'acide sulfurique (H₂SO₄, 20%).

Les analyses spectrales des composés isolés de *Psychotria yaoundensis* ont été faites avec le laboratoire de substances naturelles de la faculté de pharmacie de l'université de Paris-Saclay, France.

➤ Les spectres de masse haute résolution ESI-TOF (ElectroSpray Ionisation-Time of Flight) ont été réalisés sur un spectromètre à trappe d'ions thermoquest TLM LCQ en by pass,

➤ Les expériences de résonance magnétique nucléaire ont été réalisées sur un appareil Bruker Avance 400 MHz en utilisant le DMSO- d_6 comme solvant. Les déplacements chimiques exprimés en ppm et calibrés par rapport au solvant pris comme référence interne. Les valeurs de déplacements chimiques pour le DMSO sont δ_H : 2,50 ; δ_C : 39,5. Les constantes de couplage sont exprimées en Hertz (Hz). La multiplicité des signaux est désignée par les abréviations suivantes s (singulet), d (doublet), t (triplet), m (multiplet), q (quatuorplet), dd (doublet-dédoublet) et sl (singulet large). Le logiciel MesRenova a permis l'attribution des signaux des protons et carbones grâce aux expériences 1D (1H et ^{13}C) couplées aux expériences 2D (1H - 1H COSY, 1H - ^{13}C HSQC et 1H - ^{13}C HMBC).

III.1.2 Matériel végétal

Le matériel végétal constitué des feuilles de *Psychotria yaoundensis* a été récolté le 08 Mars 2023 au quartier Nkolbisson dans la ville de Yaoundé, région du Centre/Cameroun. L'identification du matériel végétal a été faite par le Dr Essono du département de Microbiologie de la Faculté des Sciences de l'Université de Yaoundé I et un spécimen a été déposé et comparé à un autre disponible sous le numéro 77126082-1, à l'herbier national du Cameroun.

III.2 Extraction de la poudre des feuilles de *Psychotria yaoundensis*

Les feuilles de *Psychotria yaoundensis* ont été séchées puis broyées. La poudre obtenue (719 g) a été extraite par macération à température ambiante (25-27°C) dans 5L d'un mélange de dichlorométhane /méthanol (1 :1) pendant 72h. Après filtration, la solution résultante a été concentrée sur un évaporateur rotatif à 60° permettant d'obtenir un extrait brut de 183 g.

III.3 Fractionnement de l'extrait brut par traitement alcaloïdique

Le traitement alcaloïdique de l'extrait brut (183 g) a conduit à une fraction alcaloïdique de 60 g et une fraction non alcaloïdique de 14 g, avec un rendement en alcaloïdes totaux de 33%.

III.4 Isolement et purification des composés de la fraction non alcaloïdique PYFD

La fraction non alcaloïdique de masse 12 g a été fixée sur la silice de granulométrie 63-200 μm dans les proportions (1 :1) puis chromatographiée sur une colonne de gel de silice de 4,5 cm de diamètre et 40 cm de hauteur.

Les solvants ou mélange de solvants utilisés au cours de l'élution étaient constitués d'hexane, d'acétate d'éthyle et de méthanol de polarité croissante. 346 fractions ont été recueillies

de cette colonne et elles sont rassemblées sur la base de leur profil chromatographique sur couche mince. Le tableau 8 ci- dessous récapitule l'ensemble de ces données :

Tableau 8: Récapitulatif du fractionnement de la fraction non alcaloïdique (PYFD)

Systèmes d'élution	Fractions	Séries	Système d'élution des plaques	Observations
<i>n</i> -Hexane	1-5	S0	<i>n</i> -Hexane	Solution incolore présentant une tache UV (+), I ₂ (+), H ₂ SO ₄ (+).
	6-8		<i>n</i> -Hex/AcOEt (19 :1)	Solution incolore présentant une tache qui absorbe à l'UV et deux taches I ₂ (+), H ₂ SO ₄ (+).
<i>n</i> -Hex/AcOEt (19 :1)	9-16	S1	<i>n</i> -Hex/AcOEt (19 :1)	Solution incolore présentant deux taches visibles à l'iode et à l'acide mais qui n'absorbent pas l'UV.
	16-28			Solution incolore présentant une tache visible à l'iode et à l'acide et deux taches qui absorbent à l'UV.
	29-32	S2	<i>n</i> -Hex/ AcOEt (19 :1)	Solution incolore présentant quatre taches dont une seule absorbe l'UV et les autres (+) l'iode et (+) à l'acide.
	33-39			Solution incolore présentant quatre taches dont une seule absorbe l'UV et les autres (+) l'iode et (+) à l'acide.
	40-49	S3	<i>n</i> -Hex/ AcOEt (9 :1)	Solution incolore présentant quatre taches (+) l'iode et (+) à l'acide dont une seule qui absorbe à l'UV.
	50-52	S4	<i>n</i> -Hex/ AcOEt (9 :1)	Solution incolore présentant deux taches et une trainée UV (+), I ₂ (+), H ₂ SO ₄ (+).
	53-65	S5	<i>n</i> -Hex/ AcOEt (9 :1)	Solution incolore présentant trois taches UV (+), I ₂ (+), H ₂ SO ₄ (+).la sous fraction 56 est intéressante.

<i>n</i> -Hex/AcOEt (9 :1)	66-70	S6	<i>n</i> -Hex/ AcOEt (9 :1)	Solution incolore présentant également trois taches visibles à tous les révélateurs
	71-91	S7	<i>n</i> -Hex/ AcOEt (9 :1)	Solution de coloration verte présentant plusieurs taches dont une est éloignée. UV (+), I ₂ (+), H ₂ SO ₄ (+).
	92-115			Solution de coloration verte présentant plusieurs taches UV (+), I ₂ (+), H ₂ SO ₄ (+).
<i>n</i> -Hex/AcOEt (17 :3)	116-132	S8	<i>n</i> -Hex/ AcOEt (4 :1)	Solution de coloration légèrement verdâtre présentant plusieurs taches ayant faiblement migrer à cette polarité.
	151-163			
<i>n</i> -Hex/AcOEt (4 :1)	164-178	S9	<i>n</i> -Hex/ AcOEt (7 :3)	Solution de coloration légèrement verdâtre présentant plusieurs taches UV (+), I ₂ (+), H ₂ SO ₄ (+).
	179-188			
<i>n</i> -Hex/AcOEt (4 :1)	189-205	S10	<i>n</i> -Hex/ AcOEt (7 :3)	Solution incolore présentant plusieurs taches (dont une absorbe à l'UV λ_{min}) visibles à l'iode et à l'acide.
<i>n</i> -Hex/AcOEt (3 :1)	206-243			Solution de coloration marron présentant deux taches dont une seule absorbe à l'UV (+), I ₂ (+), H ₂ SO ₄ (+).
<i>n</i> -Hex/AcOEt (7 :3)	244-254			Solution de coloration marron présentant plusieurs taches dont une absorbe à l'UV, I ₂ (+), H ₂ SO ₄ (+).
<i>n</i> -Hex/AcOEt (13 :7)	255-274			Solution de coloration marron présentant plusieurs taches dont une absorbe à l'UV, I ₂ (+), H ₂ SO ₄ (+).

<i>n</i> -Hex/AcOEt (3 :2)	275-346	S11	<i>n</i> -Hex/ AcOEt (2 :3)	Solution de coloration marron présentant des trainées et quelques taches visibles aux différents révélateurs
MeOH	-	S12		Lavage

III.5 Isolement et purification des composés de la fraction alcaloïdique PYFA

La fraction alcaloïdique de masse 30 g a été fixée sur la silice de granulométrie 63-200 μm dans les proportions (1 :1) puis chromatographiée sur une colonne de gel de silice de 7 cm de diamètre et 63,5 cm de hauteur.

Les solvants ou mélanges de solvants utilisés au cours de l'élution étaient constitués de dichlorométhane et de méthanol de polarité croissante. 357 fractions ont été recueillies de cette colonne et elles sont rassemblées sur la base de leur profil chromatographique sur couche mince. Le tableau 9 ci- dessous récapitule l'ensemble de ces données :

Tableau 9: Récapitulatif du fractionnement de la fraction alcaloïdique (PYFA)

Systèmes d'élution	Fraction s	Séries	Système d'élution des plaques	Observations
DCM	1-44	S1	DCM/MeOH (39 :1)	Solution trouble présentant quatre taches qui absorbent à λ_{max} et λ_{min} , ,trois taches I_2 (+), H_2SO_4 (+).
DCM/MeOH (49 :1)	45-79			Solution trouble présentant une tache qui absorbe à l'UV λ_{max} et deux taches pour λ_{min} . I_2 (+), H_2SO_4 (+).
DCM/MeOH (49 :1)	80-90	S2	DCM/MeOH (39 :1)	Solution incolore présentant trois taches UV dont une seule visible au I_2 et deux visible au H_2SO_4 .
DCM/MeOH (24 :1)	91-105			
DCM/MeOH (24 :1)	103-123	S3	DCM/MeOH (39 :1)	Solution incolore présentant trois taches UV (+), I_2 (+), H_2SO_4 (+).
DCM/MeOH (19 :1)	124-187	S4	DCM/MeOH	

DCM/MeOH (37 :3)	188-201		(47 :3)	Solution de coloration marron présentant quatre taches UV (+), I ₂ (+), H ₂ SO ₄ (+).
DCM/MeOH (37 :3)	202-243	S5	DCM/MeOH (47 :3)	Solution de coloration marron présentant une tache et des trainées UV (+), I ₂ (+), H ₂ SO ₄ (+).
DCM/MeOH (9 :1)	244-302	S6	DCM/MeOH (17 :3)	Solution de coloration marron présentant trois taches UV (+), I ₂ (+), H ₂ SO ₄ (+).
DCM/MeOH (17 :3)	303-347	S7	DCM/MeOH (3 :1)	Solution de coloration marron présentant des trainées UV (+), I ₂ (+), H ₂ SO ₄ (+).
MeOH	-	S8		Lavage

➤ **Traitement de la série 4 : Obtention du composé PYFA1**

Les sous fractions de 166 à 195, après évaporation partielle du solvant ont été regroupées sur la base de la CCM et placées à température ambiante. Cette série a précipité sous forme de cristaux blancs qui, après lavage au méthanol a conduit à l'obtention du composé PYFA1 soluble dans le DMSO.

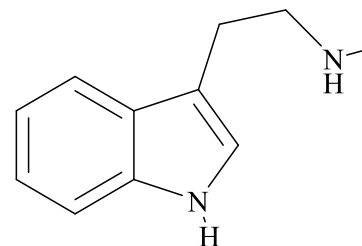
➤ **Traitement de la série 11 : Obtention du composé PYFD4**

Les sous fractions de 274 à 346, après évaporation partielle du solvant ont été regroupées sur la base de la CCM et placées à température ambiante. Cette série a précipité pour donner, après lavage au méthanol le composé PYFA1 sous forme de poudre jaune soluble dans le DMSO.

III.6 Caractéristiques physico-chimiques des alcaloïdes isolés

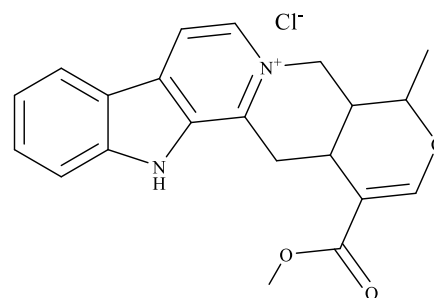
❖ Composé PYFA1

- **Aspect physique** : cristal blanc
- **Solvant de solubilité** : DMSO
- **Test de Dragendorff** : positif
- **Formule brute** : $C_{11}H_{14}N_2$
- **Masse moléculaire** : 174,2 g/mol
- **Spectre de masse** : Figure 9
- **Spectre RMN 1D** : Figures 10 et 12
- **Spectre RMN 2D** : Figures 11, 13, 14 et 15



❖ Composé PYFD4

- **Aspect physique** : Poudre jaune
- **Solvant de solubilité** : DMSO
- **Test de Dragendorff** : Positif
- **Test au nitrate d'argent** : Positif
- **Formule brute** : $C_{21}H_{21}N_2O_3^+$
- **Spectre de masse** : Figure 16
- **Spectre RMN 1D** : Figures 17 et 19
- **Spectre RMN 2D** : Figures 18, 20, 21 et 22



III.7 : Evaluation de l'activité cytotoxique des extraits et fractions

La cytotoxicité a été testée sur trois lignées cellulaires cancéreuses entre autres les cellules du glioblastome de type épithéliale U87-MG, les cellules du glioblastome de type épithéliale LN229 et les astrocytomes U251-MG mettant en exergue le test colorimétrique MTT basé sur la conversion d'un sel de tétrazolium MTT (substrat jaune pâle) en formazan (colorant violet). Cette couleur est caractéristique de la quantité de cellules viables dans une culture donnée.

III.7.1 Culture des cellules

Ces cellules ont été cultivées à 37°C dans un environnement humidifié contenant 5% de CO₂ et dans un milieu DMEM (*Dulbecco's Modified Eagle Medium*) riche en glucose et en sodium, auquel on a ajouté 10% de sérum de bovin fœtal (FBS) et 1% de pénicilline/streptomycine/Fungizone (PSF).

III.7.2 Principe du test MTT

Le test colorimétrique indique l'aptitude qu'a les cellules viables à convertir le sel de tetrazolium (MTT) soluble de coloration jaune pâle en formazan : précipité sous forme de cristaux de coloration bleu-violacé, ayant une faible solubilité aqueuse. C'est une réaction de réduction catalysée par le succinate déshydrogénase mitochondriale des cellules vivantes actives. La dissolution du formazan résultant avec un tampon de solubilisation (DMSO) permet une quantification appropriée de celui-ci. L'intensité de la coloration du produit est proportionnelle au nombre de cellules vivantes dans la culture.

III.7.3 Mode opératoire

Les cellules ont été récoltées en phase logarithmique en utilisant la trypsine (0,05% de trypsine, 0,02% d'EDTA dans du PBS) ; les suspensions cellulaires obtenues ont été diluées dans le diméthylsulfoxyde (DMSO) pour obtenir une densité cellulaire de 10^4 cellules/ puits. Des aliquotes de 100 μ L ont étéensemencées dans les plaques de culture cellulaire à 96 puits. Ils ont ensuite été incubés à 37°C pendant 24h dans une atmosphère à 5% de CO₂ et à 95% humidifié. Des matériaux d'essai (100 μ L/puits) à différentes concentrations ont été ajoutés dans les puits contenant les lignées cellulaires, les plaques ainsi obtenues sont incubées pendant 48h puis le milieu de chaque puit est aspiré et la solution de MTT (2mg/mL dans le PBS) diluée à 1 :10 a été ajoutée à chaque puit. Les plaques sont de nouveau incubées pendant 4h, il se forme un produit (cristaux de formazan) qui est aspiré et dissout à l'aide du DMSO. L'absorbance est mesurée à l'aide d'une biotek à 570 nm. Les différentes concentrations provoquant une inhibition de 50% de la croissance cellulaire (CI₅₀) ont été calculées par analyse des courbes de régression de concentration-réponse.

REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

Amador, T. A., Verotta, L., Nunes, D. S., & Elisabetsky, E. (2000). Antinociceptive Profile of Hodgkinsine. *Planta Medica*, 66(8), 770-772. <https://doi.org/10.1055/s-2000-9604>.

Arbonnier, M. (2000). Arbres, arbustes et lianes des zones sèches d'Afrique de l'Ouest. CIRAD, Centre de coopération internationale en recherche agronomique pour le développement MNHN, Muséum national d'histoire naturelle UICN, Union mondiale pour la nature.

Ari, N., & Kahraman, A. (2020). Anatomical and Palynological Investigations on *Rubia tinctorum* L. (Rubiaceae, Rubiaceae) from the Aegean Region of Turkey. *Commagene Journal of Biology*, 4(1), 1-4. <https://doi.org/10.31594/commagene.671327>.

Aslam, S., Jabeen, T., Ahmad, M., & AL-Huqail, A. A. (2023). Cinchona. In M. Zia-Ul-Haq, A. Abdulkreem AL-Huqail, M. Riaz, & U. Farooq Gohar (Éds.), *Essentials of Medicinal and Aromatic Crops*. Springer International Publishing, 221-248. https://doi.org/10.1007/978-3-031-35403-8_10.

Badiaga, M. (2011). Etude ethnobotanique, phytochimique et activités biologiques de *Nauclea latifolia* Smith, une plante médicinale africaine récoltée au Mali. Thèse de doctorat Université Blaise Pascal - Clermont Ferrand II . <https://theses.hal.science/tel-00719564v1>

Benevides, P. J. C., Young, M. C. M., & Bolzani, V. D. S. (2005). Biological Activities of Constituents from *Psychotria spectabilis*. *Pharmaceutical Biology*, 42(8), 565-569. <https://doi.org/10.1080/13880200490901780>.

Berger, A., Fasshuber, H., Schinnerl, J., Brecker, L., & Greger, H. (2012). Various types of tryptamine-iridoid alkaloids from *Palicourea acuminata* (= *Psychotria acuminata*, Rubiaceae). *Phytochemistry Letters*, 5(3), 558-562. <https://doi.org/10.1016/j.phytol.2012.05.013>.

Bradley, S. A., Lehka, B. J., Hansson, F. G., Adhikari, K. B., Rago, D., Rubaszka, P., Haidar, A. K., Chen, L., Hansen, L. G., Gudich, O., Giannakou, K., Lengger, B., Gill, R. T., Nakamura, Y., De Bernonville, T. D., Koudounas, K., Romero-Suarez, D., Ding, L., Qiao, Y., Jensen, M. K. (2023). Biosynthesis of natural and halogenated plant monoterpene indole alkaloids in yeast. *Nature Chemical Biology*, 19(12), 1551-1560. <https://doi.org/10.1038/s41589-023-01430-2>.

Buchanan, M. S., Carroll, A. R., Pass, D., & Quinn, R. J. (2007). NMR spectral assignments of a new chlorotryptamine alkaloid and its analogues from *Acacia confusa*. *Magnetic Resonance in Chemistry*, 45(4), 359-361. <https://doi.org/10.1002/mrc.1959>.

Bunkar, A. R. (2017). Therapeutic uses of *Rauwolfia serpentina*. *International Journal of Advanced Science and Research*, 2 (2), 23-26. ISSN: 2455-4227.

Calixto, N. O., Pinto, M. E. F., Ramalho, S. D., Burger, M. C. M., Bobey, A. F., Young, M. C. M., Bolzani, V. S., & Pinto, A. C. (2016). The Genus *Psychotria* : Phytochemistry, Chemotaxonomy, Ethnopharmacology and Biological Properties. *Journal of the Brazilian, Chemical Society*, 27(8), *Chemical Society*. <https://doi.org/10.5935/0103-5053.20160149>.

Callaway, J. C., & Grob, C. S. (1998). Ayahuasca Preparations and Serotonin Reuptake Inhibitors : A Potential Combination for Severe Adverse Interactions. *Journal of Psychoactive Drugs*, 30(4), 367-369. <https://doi.org/10.1080/02791072.1998.10399712>.

Cao, J., Yang, J.-N., Zhou, X.-Q., Zhang, Y.-Y., Zhu, X.-Y., Yue, R.-M., Hui, Y., & Chen, W.-H. (2020). Chemical Constituents of *Psychotria hainanensis*. *Chemistry of Natural Compounds*, 56(3), 533-534. <https://doi.org/10.1007/s10600-020-03081-4>.

Cao, P., Liang, Y., Gao, X., Li, X.-M., Song, Z.-Q., & Liang, G. (2012). Monoterpenoid Indole Alkaloids from *Alstonia yunnanensis* and Their Cytotoxic and Anti-inflammatory Activities. *Molecules*, 17(11), 13631-13641. <https://doi.org/10.3390/molecules171113631>

Carvalho Junior, A., Vieira, I., Carvalho, M., Braz-Filho, R., S. Lima, M., Ferreira, R., José Maria, E., & Oliveira, D. (2017). ¹³C-NMR Spectral Data of Alkaloids Isolated from *Psychotria* Species (Rubiaceae). *Molecules*, 22(1), 103. <https://doi.org/10.3390/molecules22010103>.

Chao-Zhan Lin, Ai-Zhi Wu, Ying Zhong, Yu-Mei Wang, Guang-Tian Peng, Xian-Jun Su, Bing-Xin Liu, Yun Deng, Chen-Chen Zhu, & Cui-Xian Zhang. (2015). Flavonoids from *Psychotria serpens* L., a Herbal Medicine with Anti-Cancer Activity. *Journal of Cancer Research Updates*, 4(2). <https://doi.org/10.6000/1929-2279.2015.04.02.3>.

Corrêa, L. R., Soares, G. L. G., & Fett-Neto, A. G. (2008). Allelopathic potential of *Psychotria leiocarpa*, a dominant understorey species of subtropical forests. *South African Journal of Botany*, 74(4), 583-590. <https://doi.org/10.1016/j.sajb.2008.02.006>.

Ding, C.-F., Ma, H.-X., Yang, J., Qin, X.-J., Njateng, G. S. S., Yu, H.-F., Wei, X., Liu, Y.-P., Huang, W.-Y., Yang, Z.-F., Wang, X.-H., & Luo, X.-D. (2018). Antibacterial Indole Alkaloids with Complex Heterocycles from *Voacanga africana*. *Organic Letters*, 20(9), 2702-2706. <https://doi.org/10.1021/acs.orglett.8b00913>.

Dommanget, F., Rouifed, S., & Piola, F. (2019). Écologie chimique : Quelles applications pour la gestion des renouées ? *Sciences Eaux & Territoires*, Numéro 27(1), 98. <https://doi.org/10.3917/set.027.0098>.

Esteves, A. T., Junior, P. C. D. O., Marangoni, J. A., Mariano Dos Santos, S., Maurino Dos Santos, J., Silva, R. M. M. F., Pereira, Z. V., & Formagio, A. S. N. (2023). Constituent content and allelopathic potential of eighteen extracts for the control of *Urochloa decumbens* under laboratory conditions. *South African Journal of Botany*, 158, 197-202. <https://doi.org/10.1016/j.sajb.2023.04.013>.

Faria, E. O., Kato, L., De Oliveira, C. M. A., Carvalho, B. G., Silva, C. C., Sales, L. S., Schuquel, I. T. A., Silveira-Lacerda, E. P., & Delprete, P. G. (2010). Quaternary β -carboline alkaloids from *Psychotria prunifolia* (Kunth) Steyerf. *Phytochemistry Letters*, 3(3), 113-116. <https://doi.org/10.1016/j.phytol.2010.02.008>.

Farias, F. M., Konrath, E. L., Zuanazzi, J. A. S., & Henriques, A. T. (2008). Strictosamide from *Psychotria nuda* (Cham. Et Schltdl) Wawra (Rubiaceae). *Biochemical Systematics and Ecology*, 36(12), 919-920. <https://doi.org/10.1016/j.bse.2008.10.002>.

Farias, F. M., Passos, C. S., Arbo, M. D., Barros, D. M., Gottfried, C., Steffen, V. M., & Henriques, A. T. (2012). Strictosidinic acid, isolated from *Psychotria myriantha* Mull. Arg. (Rubiaceae), decreases serotonin levels in rat hippocampus. *Fitoterapia*, 83(6), 1138-1143. <https://doi.org/10.1016/j.fitote.2012.04.013>.

Gómez Ramos, M. J., Lozano, A., & Fernández-Alba, A. R. (2019). High-resolution mass spectrometry with data independent acquisition for the comprehensive non-targeted analysis of migrating chemicals coming from multilayer plastic packaging materials used for fruit purée and juice. *Talanta*, 191, 180-192. <https://doi.org/10.1016/j.talanta.2018.08.023>.

Kainulainen, K., Mouly, A., Khodabandeh, A., & Bremer, B. (2009). Molecular phylogenetic analysis of the tribe Albeiteae (Rubiaceae), with description of a new genus, *Razafimandimbisonia*. *Taxon*, 58(3), 757-768. <https://doi.org/10.1002/tax.583006>.

Karou, S. D., Tchacondo, T., Ilboudo, D. P., & Simpore, J. (2011). Sub-Saharan Rubiaceae : A Review of Their Traditional Uses, Phytochemistry and Biological Activities. *Pakistan Journal of Biological Sciences*, 14(3), 149-169. <https://doi.org/10.3923/pjbs.2011.149.169>.

Kerber, V. A., Gregianini, T. S., Paranhos, J. T., Schwambach, J., Farias, F., Fett, J. P., Fett-Neto, A. G., Zuanazzi, J. Â. S., Quirion, J.-C., Elizabetsky, E., & Henriques, A. T. (2001). Brachycerine, a Novel Monoterpene Indole Alkaloid from *Psychotria brachyceras*. *Journal of Natural Products*, 64(5), 677-679. <https://doi.org/10.1021/np000590e>.

Kerber, V. A., Passos, C. S., Klein-Júnior, L. C., Quirion, J.-C., Pannecoucke, X., Salliot-Maire, I., & Henriques, A. T. (2014). Three new monoterpene indole alkaloids from *Psychotria umbellata* Thonn. *Tetrahedron Letters*, 55(34), 4798-4800. <https://doi.org/10.1016/j.tetlet.2014.06.090>.

Lachenaud, O. (2017). Le genre *Psychotria* (Rubiaceae), archives des sciences.

Lachenaud, O., Droissart, V., Dessen, S., Stévant, T., Simo, M., Lemaire, B., Taedoumg, H., & Sonké, B. (2013). New records for the flora of Cameroon, including a new species of *Psychotria* (Rubiaceae) and range extensions for some rare species. *Plant Ecology and Evolution*, 146(1), 121-133. <https://doi.org/10.5091/plecevo.2013.632>.

Lachenaud, O., & Séné, O. (2010). Un nouveau *Psychotria* (Rubiaceae) du sud Cameroun. *Plant Ecology and Evolution*, 143(1), 105-108. <https://doi.org/10.5091/plecevo.2010.371>.

Le Men, J., & Taylor, W. I. (1965). A uniform numbering system for indole alkaloids. *Experientia*, 21(9), 508-510. <https://doi.org/10.1007/BF02138961>.

Lee, K.-H., Lin, Y.-M., Wu, T.-S., Zhang, D.-C., Yamagishi, T., Hayashi, T., Hall, I., Chang, J.-J., Wu, R.-Y., & Yang, T.-H. (1988). The Cytotoxic Principles of *Prunella vulgaris*, *Psychotria serpens*, and *Hyptis capitata*: Ursolic Acid and Related Derivatives¹. *Planta Medica*, 54(04), 308-311. <https://doi.org/10.1055/s-2006-962441>.

Lee, T., & Chou, C. (2000). Flavonoid Aglycones and Indole Alkaloids from the Roots of *Acacia Confusa*. *Journal of the Chinese Chemical Society*, 47(6), 1287-1290. <https://doi.org/10.1002/jccs.200000178>.

Lu, Q., Wang, J., & Kong, L. (2014). Chemical constituents from *Psychotria yunnanensis* and its chemotaxonomic study. *Biochemical Systematics and Ecology*, 52, 20-22. <https://doi.org/10.1016/j.bse.2013.11.002>.

Manns, U., & Bremer, B. (2010). Towards a better understanding of intertribal relationships and stable tribal delimitations within Cinchonoideae s.s. (Rubiaceae). *Molecular Phylogenetics and Evolution*, 56(1), 21-39. <https://doi.org/10.1016/j.ympev.2010.04.002>.

Martins, D., & Nunez, C. V. (2015). Secondary Metabolites from Rubiaceae Species. *Molecules*, 20, 13422-13495, <https://doi.org/10.3390/molecules200713422>.

Molimau-Samasoni, S., Woolner, V. H., Foliga, S. T., Robichon, K., Patel, V., Andreassend, S. K., Sheridan, J. P., Te Kawa, T., Gresham, D., Miller, D., Sinclair, D. J., La Flamme, A. C., Melnik, A. V., Aron, A., Dorrestein, P. C., Atkinson, P. H., Keyzers, R. A., & Munkacsi, A. B. (2021). Functional genomics and metabolomics advance the ethnobotany of the Samoan traditional medicine “matalafi”. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 118(45), e2100880118. <https://doi.org/10.1073/pnas.2100880118>.

Moreno, B. P., Ricardo Fiorucci, L. L., Do Carmo, M. R. B., Sarragiotto, M. H., & Baldoqui, D. C. (2014). Terpenoids and a coumarin from aerial parts of *Psychotria vellosiana* Benth. (Rubiaceae). *Biochemical Systematics and Ecology*, 56, 80-82. <https://doi.org/10.1016/j.bse.2014.04.013>.

Mouly, A., Kainulainen, K., Persson, C., Davis, A. P., Wong, K. M., Razafimandimbison, S. G., & Bremer, B. (2014). Phylogenetic structure and clade circumscriptions in the Gardenieae complex (Rubiaceae). *TAXON*, 63(4), 801-818. <https://doi.org/10.12705/634.4>.

Muhammad, I., Dunbar, D. C., Khan, S. I., Tekwani, B. L., Bedir, E., Takamatsu, S., Ferreira, D., & Walker, L. A. (2003). Antiparasitic Alkaloids from *Psychotria klugii*. *Journal of Natural Products*, 66(7), 962-967. <https://doi.org/10.1021/np030086k>.

Nek Adek, N. B., Awang, A., Zulkeflee, N. H., Ismail, N. A., Hamzah, Z., Eh Rak, A., Abdul Karim, M. F., & Amaludin, N. A. (2023). Distribution and Diversity of Family Rubiaceae in Pulau Banding, Gerik, Perak. *BIO Web of Conferences*, 73, 01014. <https://doi.org/10.1051/bioconf/20237301014>.

Nepokroeff, M., Bremer, B., & Sytsma, K. J. (1999). Reorganization of the Genus *Psychotria* and Tribe Psychotrieae (Rubiaceae) Inferred from ITS and rbcL Sequence Data. *Systematic Botany*, 24(1), 5. <https://doi.org/10.2307/2419383>.

Ngnokam Jouogo, D. C., Tamokou, J.-D.-D., Teponno, R. B., Matsuet-Takongmo, G., Voutquenne-Nazabadioko, L., Tapondjou, L. A., & Ngnokam, D. (2022). Chemotaxonomy and Antibacterial Activity of the Extracts and Chemical Constituents of *Psychotria succulenta* Hiern. (Rubiaceae). *BioMed Research International*, 2022, 1-10. <https://doi.org/10.1155/2022/7856305>.

Oliveira, C. F. D., Betim, F. C. M., Oliveira, V. B. D., Souza, A. M. D., Bobek, V. B., Silva, C. B. D., Zanin, S. M. W., Dias, J. D. F. G., Miguel, O. G., & Miguel, M. D. (2022). Avaliação da atividade antioxidante, antimicrobiana, toxicológica e larvicida de *Psychotria fractistipula* L.B. Sm., Klein e Delprete. *Ciência e Natura*, 43, e54. <https://doi.org/10.5902/2179460X39729>.

Roth, A., Kuballa, B., Bounthanh, C., Cabalion, P., Sévenet, T., Beck, J., & Anton, R. (1986). Cytotoxic Activity of Polyindoline Alkaloids of *Psychotria forsteriana* (Rubiaceae) (1). *Planta Medica*, 52(06), 450-453. <https://doi.org/10.1055/s-2007-969251>.

Solís, P. N., Ravelo, A. G., Antonio Palenzuela, J., Gupta, M. P., González, A., & David Phillipson, J. (1997). Quinoline alkaloids from *Psychotria glomerulata*. *Phytochemistry*, 44(5), 963-969. [https://doi.org/10.1016/S0031-9422\(96\)00583-3](https://doi.org/10.1016/S0031-9422(96)00583-3).

Suksungworn, R., Sanevas, N., Wongkantrakorn, N., Fangern, N., Vajrodaya, S., & Duangrisai, S. (2016). Phytotoxic effect of *Haldina cordifolia* on germination, seedling growth and root cell viability of weeds and crop plants. *NJAS: Wageningen Journal of Life Sciences*, 78(1), 175-181. <https://doi.org/10.1016/j.njas.2016.05.008>.

Tran, T. D., Le, A. T., Van Tran, D., Le, T. Q., & Pham, T. V. (2024). Essential oil of the leaves of *psychotria asiatica* L. : Chemical composition, antioxidant, anti-inflammatory, and cytotoxic properties. *Natural Product Research*, 1-6. <https://doi.org/10.1080/14786419.2024.2341286>.

Turpin, V. (2021). Hypothèses de biosynthèse des alcaloïdes indolomonoterpéniques : Résolution de mécanismes fondamentaux par la synthèse et par la modélisation, thèse de doctorat de l'université de Paris Saclay.

Van De Santos, L., Fett-Neto, A. G., Kerber, V. A., Elisabetsky, E., Quirion, J.-C., & Henriques, A. T. (2001). Indole monoterpene alkaloids from leaves of *Psychotria suterella* Müll. Arg. (Rubiaceae). *Biochemical Systematics and Ecology*, 29(11), 1185-1187. [https://doi.org/10.1016/S0305-1978\(01\)00059-X](https://doi.org/10.1016/S0305-1978(01)00059-X).

Verotta, L., Pilati, T., Tatò, M., Elisabetsky, E., Amador, T. A., & Nunes, D. S. (1998). Pyrrolidinoindoline Alkaloids from *Psychotria colorata*. *Journal of Natural Products*, 61(3), 392-396. <https://doi.org/10.1021/np9701642>.

Wachsmuth, O., & Matusch, R. (2002). Anhydronium bases from *Rauvolfia serpentina*. *Phytochemistry*, 61(6), 705-709. [https://doi.org/10.1016/S0031-9422\(02\)00372-2](https://doi.org/10.1016/S0031-9422(02)00372-2).

Widiandani, T., Tandian, T., Zufar, B. D., Suryadi, A., Purwanto, B. T., Hardjono, S., & Siswandono, S. (2023). In vitro study of pinostrobin propionate and pinostrobin butyrate : Cytotoxic activity against breast cancer cell T47D and its selectivity index. *Journal of Public Health in Africa*, 14(1), 6. <https://doi.org/10.4081/jphia.2023.2516>.

Xu, Z., & Chang, L. (2017). Identification and Control of Common Weeds : *Volume 3*. Springer Singapore. <https://doi.org/10.1007/978-981-10-5403-7>.

Yang, H., Zhang, H., Yang, C., & Chen, Y. (2016). Chemical Constituents of Plants from the Genus *Psychotria*. *Chemistry & Biodiversity*, 13(7), 807-820. <https://doi.org/10.1002/cbdv.201500259>.