

REPUBLIQUE DU CAMEROUN

Paix - Travail - Patrie

UNIVERSITE DE YAOUNDE I

ECOLE NORMALE SUPERIEURE

DEPARTEMENT DE CHIMIE



REPUBLIC OF CAMEROON

Peace - Work - Fatherland

UNIVERSITY OF YAOUNDE I

HIGHER TEACHER TRAINING COLLEGE

DEPARTMENT OF CHEMISTRY

**ISOLEMENT ET CARACTERISATION DES
METABOLITES SECONDAIRES DE
L'EXTRAIT METHANOLIQUE DES FEUILLES
DE *SANCHEZIA NOBILIS* (ACANTHACEAE)**

*Mémoire présenté et soutenu publiquement en exigence des conditions requises pour
l'obtention du Diplôme de Professeur de l'Enseignement Secondaire Deuxième Grade
(DI.P.E.S. II) en Chimie*

Par

MADOPSI ASSATSE SIDOINE HABIB

10T0811

Licencié ès Sciences

Sous la direction de

WAFO Pascal

Maître de Conférences

(ENS-Yaoundé I)

Année académique 2015-2016

DEDICACES

Je dédie ce mémoire

A

Mon père ASSATSE Pascal ;

Ma mère MAGUEGUIM justine ;

Mes frères et sœurs

TABLE DES MATIERES

DEDICACES	i
SOMMAIRE	ii
REMERCIEMENTS	iv
RESUME	v
ABSTRACT	vi
ABREVIATIONS ET SYMBOLES	vii
LISTE DES FIGURES	ix
LISTE DES SCHEMAS	x
LISTE DES TABLEAUX	xi
INTRODUCTION GENERALE.....	1
CHAPITRE I : REVUE DE LA LITTERATURE	2
I.1 Aperçu botanique	4
I.1.1 Famille des Acanthaceae	4
I.1.2 Genre <i>Sanchezia</i>	4
I.1.3 L'espèce <i>Sanchezia nobilis</i>	5
I.2 Quelques usages de l'espèce <i>Sanchezia nobilis</i>	6
I.3 Travaux chimiques antérieurs sur les espèces de la famille des Acanthaceae	6
I.3.1 Les flavonoïdes	6
I.3.1.1 Définition et activités biologiques	6
I.3.1.2 Quelques flavonoïdes isolés des espèces de la famille des Acanthaceae	7
I.3.2 Les stéroïdes.....	8
I.3.2.1 Définition et activités biologiques	8
I.3.2.2 Quelques stéroïdes isolés des espèces de la famille des Acanthaceae	9
I.3.3 Les alcaloïdes	10
I.3.3.1 Définitions et activités biologiques	10
I.3.3.2 Quelques alcaloïdes isolés des espèces de la famille des Acanthaceae	10
I.3.4 Les triterpènes.....	11
I.3.4.1 Définition et activités biologiques	11
I.3.4.2 Quelques triterpènes isolés des espèces de la famille des Acanthaceae	12
I.3.5 Les lignanes et néolignanes	13
I.3.5.1 Définition et activités biologiques	13
I.3.5.2 Quelques lignanes isolés des espèces de la famille des Acanthaceae.....	14
I.3.6 Quelques glycosides d'alcool cinnamyl isolés de <i>Sanchezia nobilis</i>	15
I.3.7 Quelques glycosides d'alcool benzylique isolés de <i>Sanchezia nobilis</i>	16
I.3.8 Alcool Matsutake de <i>Sanchezia nobilis</i>	17

I.3.8.1 Quelques glycosides d'alcool Matsutake isolés de <i>Sanchezia nobilis</i>	17
I.4 Travaux pharmacologiques antérieurs sur l'espèce <i>Sanchezia nobilis</i>	18
CHAPITRE II : RESULTATS ET DISCUSSION	19
II.1 Introduction	20
II.2 Résultats du screening chimique	22
II.3 Identification des composés isolés	23
II.3.1 Identification de SNF ₄	23
II.3.2 Identification de SNF ₂	28
INTERETS PEDAGOGIQUES	31
CONCLUSION ET PERSPECTIVES	32
CHAPITRE III : PARTIE EXPERIMENTALE	33
III.1 Appareillage et matériel végétal	34
III.1.1 Appareillage	34
III.1.2 Matériel végétal.....	34
III.2 Extraction et isolement des produits	34
III.3 Extraction	34
III.4 Isolement et purification des produits de la fraction à l'hexane.....	36
III.5 Isolement et purification des produits de la fraction à l'acétate d'éthyle.....	36
III.6 Caractéristiques physico-chimique des composés isolés	37
III.6.1 Caractéristique de SNF ₁	37
III.6.2 Caractéristique de SNF ₂	37
III.6.3 Caractéristique de SNF ₃	38
III.6.4 Caractéristique de SNF ₄	38
III.6.5 Caractéristique de SNF ₅	38
III.7 Screening chimique	38
III.7.1 Test de Liebermann Buchard pour l'identification des triterpènes et stérols.....	39
III.7.2 Test de Valser-Mayer pour l'identification des alcaloïdes	39
III.7.3 Test de Shinoda pour l'identification des flavonoïdes	39
III.7.4 Test de Molish pour l'identification des sucres	39
III.7.5 Test des composés phénoliques.	39
REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES	40

REMERCIEMENTS

Ce mémoire a été rédigé avec le soutien de certaines personnes dont je tiens à remercier vivement.

Mes remerciements vont :

- AU **Pr. Pascal WAFO** qui n'a cessé de me faire partager sa grande expérience, sa compréhension et sa grande disponibilité à guider mes premiers pas dans la recherche ;
- AU **Pr. Deccaux KAPCHE W. F. G.**, au **Pr. Bruno LENTA NDJAKOU** et au **Pr. Siméon KOUAM FOGUE** pour m'avoir permis de travailler dans leurs laboratoires ;

A tous les Enseignants du Département de Chimie, de Physique et des Sciences de l'Education de l'ENS pour les connaissances et conseils qu'ils m'ont apportés tout au long de mon cursus académique.

A mes aînés de laboratoire **MAFFO Timoleon**, **MELONG Radius**, **ATEBA Joel**, **NGATCHOU Jules** pour leur disponibilité et leurs conseils ;

A tous mes amis et camarades de promotion en particulier **NJOMO Daris Maxime**, **TCHINDA WAMBA Olivier**, **NKOULOU OYONO Pascal**, pour leur franche collaboration et leur esprit d'équipe.

Aux familles **MIAFO TEIKEU ET SOPTATIPONG** pour mon éducation ;

A tous ceux qui, de près ou de loin ont contribué à la réalisation de ce travail.

RESUME

Le présent travail porte sur l'isolement, la purification et la caractérisation des constituants chimiques de l'extrait au méthanol des feuilles de *Sanchezia nobilis*, une plante ornementale de la famille des Acanthaceae.

Au cours de ce travail, nous avons isolé à l'aide des méthodes chromatographiques usuelles (CC et CCM) cinq composés indexés de SNF₁ à SNF₅. Grâce aux méthodes spectroscopiques usuelles (RMN 1D, 2D, ¹H et ¹³C) et par comparaison aux données de la littérature, les structures des composés SNF₄ et SNF₂ ont été identifiées comme étant respectivement l'eutigoside et l'acide paracoumarique.

Mots clés : Acanthaceae, *Sanchezia nobilis*, chromatographie sur colonne, Eutigoside, Acide paracoumarique.

ABSTRACT

This work addresses the issue of isolation, purification and characterization of chemical components from an extract of leaves of *Sanchezia nobilis*, belonging to the Acanthaceae family.

From méthanol extract, we isolated thanks to the common chromatographic methods namely column chromatography and thin layer chromatography, five components labeled as SNF and runs from 1 to 5. From the analysis using common spectroscopic methods (RMN 1D, 2D, ^1H , ^{13}C) and when comparing the literature review data, the structures of SNF₄ and SNF₂ components were identified as Eutigoside and paracoumarique Acid respectively.

Key Words: Acanthaceae, *Sanchezia nobilis*, column chromatography, Eutigoside, paracoumarique Acid.

ABREVIATION ET SYMBOLES

AE :	Acétate d'éthyle
CC :	Chromatographie sur Colonne
CCM :	Chromatographie sur Couche Mince.
CD₃OD :	Acétone Deutééré.
CDCl₃ :	Chloroforme Deutééré.
Cm :	Centimètre
COSY :	<i>Correlation Spectroscopy.</i>
¹³C :	Carbone 13
<i>d</i> :	Doublet.
<i>dd</i> :	Doublet Dédoublé.
DEPT :	<i>Distortionless Enhancement by polarization transfer</i>
ESI :	Ionisation par électrospray (electrospray ionization).
Fig :	Figure
Glc :	Glucopyranose
Hex :	Hexane.
HMBC :	<i>Heteronuclear Multiple Bond Correlation.</i>
HSQC :	<i>Heteronuclear Single Quantum Coherence.</i>
Hz :	Hertz.
¹H :	Proton
<i>J</i> :	Constante de couplage.
<i>m</i> :	multiplet.
<i>m/z</i> :	rapport masse/charge atomique.
MeOD :	Méthanol Deutééré.
Mhz :	Mégahertz

mL :	Millilitre
mm :	Millimètre
nm :	Nanomètre
pg :	picrogramme
ppm :	partie par million
RMN :	résonance Magnétique nucléaire
<i>t</i> :	triplet
Tab :	Tableau
TMS :	TrétraMéthylSilane
UV :	ultraviolet
xyl :	Xylopyranose
δ_C :	déplacement chimique du carbone.
δ_H :	déplacement chimique du proton.

LISTE DES FIGURES

Figure 1 : <i>Sanchezia nobilis</i> (MADOPSI Sidoine © 2015)	5
Figure 2 : Squelette flavonoïdique (C ₆ -C ₃ -C ₆)	7
Figure 3 : Noyau de base des stérols	9
Figure 4 : Les deux noyaux de base des triterpènes pentacycliques	12
Figure 5 : Structure et numérotation du carbone de (21) phenylpropane et (22) lignane (β-β' liée).....	14
Figure 6 : Squelette de base des alcools Matsutake	17
Figure 7 : Spectre de masse ESI-TOF+ de SNF ₄	23
Figure 8 : Spectre RMN ¹³ C (125 MHz, CD ₃ OD) de SNF ₄	24
Figure 9 : Spectre DEPT 135 (125 MHz, CD ₃ OD) de SNF ₄	25
Figure 10 : Spectre de RMN ¹ H (500 MHz, CD ₃ OD) de SNF ₄	26
Figure 11 : Spectre HMBC (CD ₃ OD) de SNF ₄	27
Figure 12 : Spectre de masse en impact électronique (CDCl ₃) de SNF ₂	29
Figure 13 : Spectre de RMN du ¹ H (500 MHz, CDCl ₃) de SNF ₂	30

LISTE DES SCHEMAS

Schéma 1 : Protocole d'extraction et de purification des composés22 et 35

LISTE DES TABLEAUX

Tableau 1 : Quelques flavonoïdes isolés des espèces de la famille des Acanthaceae	7
Tableau 2 : Quelques stéroïdes isolés des espèces de la famille des Acanthaceae	10
Tableau 3 : Quelques alcaloïdes isolés des espèces de la famille des Acanthaceae	11
Tableau 4 : Quelques triterpènes isolés des espèces de la famille des Acanthaceae	12
Tableau 5 : Quelques lignanes isolés des espèces de la famille des Acanthaceae	14
Tableau 6 : Quelques glycosides d'alcool cinnamyl isolés de <i>Sanchezia nobilis</i>	16
Tableau 7 : Quelques glycosides d'alcool benzylique isolés de <i>Sanchezia nobilis</i>	17
Tableau 8 : Quelques glycosides d'alcool Matsutake isolés de <i>Sanchezia nobilis</i>	18
Tableau 9 : Résultats du screening Chimique	22
Tableau 10 : Données de RMN du ^1H (500 MHz, CD_3OD) et du ^{13}C (125 MHz, CD_3OD) du composé SNF_4 comparés à celle de la littérature.....	29
Tableau 11 : Chromatogramme de l'élution sur colonne de la fraction à l'hexane	36
Tableau 12 : Chromatogramme de l'élution sur colonne de la fraction à l'acétate d'éthyle ..	37

INTRODUCTION GENERALE

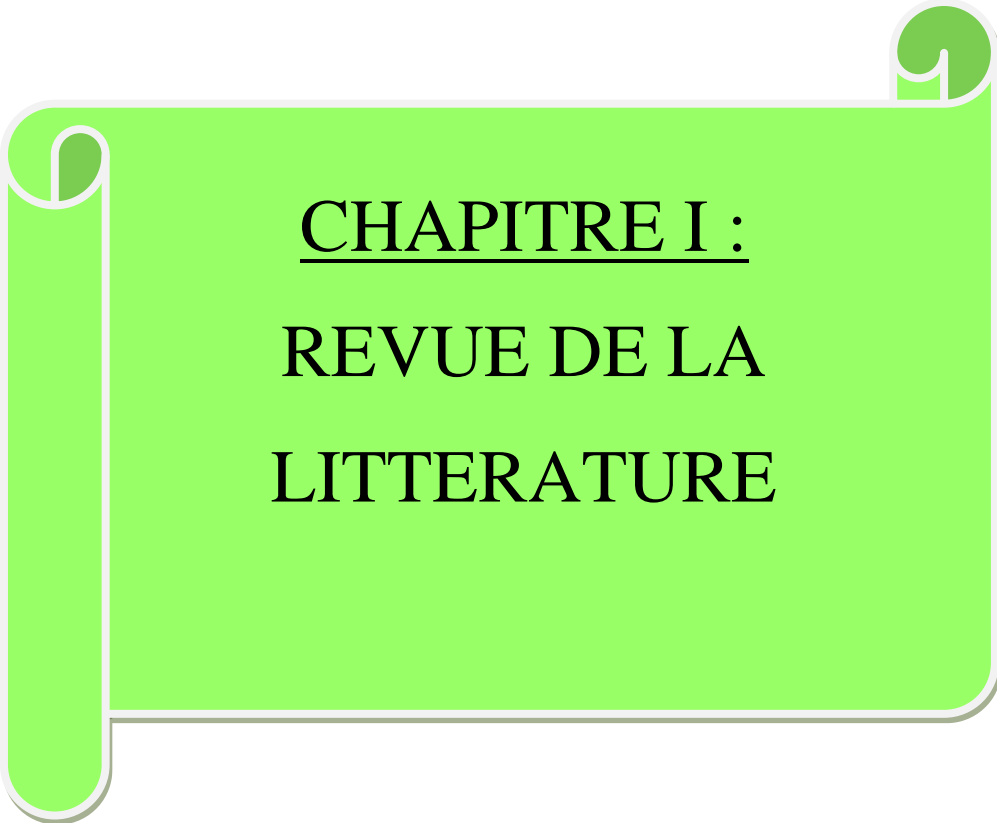
L'utilisation des plantes médicinales dans le traitement des pathologies remonte à plusieurs millénaires. La pharmacopée naturelle a toujours été pour les populations humaines l'une des voies de recours pour le traitement de nombreuses maladies telles que le paludisme, la fièvre typhoïde, le cancer, etc. Dans certains pays africains, plus de 80% de la population se procure des soins de la médecine naturelle (OMS, 2002). Mais cette utilisation par les populations des pays concernés se fait sur la seule base de leurs tradition ancestrales, sans qu'aucune étude préalable n'ait été faite sur la composition chimique et le degré de toxicité des plantes; ce qui pose un réel problème pour leur santé.

De nos jours malgré l'avancée spectaculaire de la recherche de nouvelles molécules bioactives il se pose toujours l'épineux problème de résistance des pathologies face aux médicaments déjà existant, ce qui galvanise d'avantage les chercheurs à la quête de nouvelle espèce végétales susceptible de produire des substances naturelles d'intérêt pharmaceutique et d'étudier les capacités bioactives des molécules capable de provoquer ces pathogènes. En effet, l'espèce *S. nobilis* bien qu'étant peu exploré sur le plan pharmacologique et chimique, est utilisé traditionnellement pour le traitement des plaies et les faiblesses sexuelles (Kamonnate et al., 2012). De plus, Les divers tests biologiques effectuées sur *Sanchezia nobilis* ont révélé que l'extrait méthanolique possède une activité antioxydante et anticancerigène (Paydar et al., 2013). Au vue de ces travaux antérieurs clairement élucidés, *S.nobilis* posséderait t-elle des composés aux propriétés biologiques mentionnés ci –dessus ?

Ainsi dans le but de valoriser les plantes médicinales et de rechercher les nouveaux composés, le laboratoire de substances naturelles et de synthèse organique de l'école normale supérieure de Yaounde I s'est proposé de faire une étude Chimique de l'extrait au méthanol des feuilles de *Sanchezia nobilis*, une plante médicinale de la famille des Acanthaceae. Plus précisément nous avons entrepris de recolter, isoler, purifier, caractériser les constituants Chimiques des feuilles de cette plante.

Ce mémoire s'articulera autour de quatre parties :

- Une revue de littérature portant sur l'espèce *Sanchezia nobilis* ainsi que sur le genre et la famille auxquels elle appartient;
- La présentation et discussion des résultats;
- La présentation du matériel et des méthodes expérimentales;
- une bibliographie.



CHAPITRE I :
REVUE DE LA
LITTERATURE

I.1 Aperçu botanique

I.1.1 Famille des Acanthaceae

La famille des Acanthaceae est une famille de plantes dicotylédones appartenant à la classe des Astéridées placée dans l'ordre des Lamiales (**classification phylogéniques**, 2003). Elle comprend environ 2600 espèces réparties en 250 genres (**Melchior**, 1964). Les plantes de cette famille sont généralement des herbes, des lianes, des arbustes ou rarement des arbres (**Trease et Evans**, 1983). Les tiges et les rameaux sont noueux, articulés et parfois couverts d'un duvet de poils simples et rarement capités ou étoilés (**Heine**, 1966).

Les feuilles sont généralement simples, opposées-decussées, entières ou plus ou moins découpées en spinescentes. Les parties vertes et surtout les dessous des limbes sont couverts de cystolithes bien visible (**Heine**, 1966). Les fleurs bisexuées sont souvent de grandes tailles, à couleurs vives ; elles sont généralement solitaires à l'aiselle d'une feuille ou d'une bractée et le plus souvent accompagnées de deux bractéoles latérales. Le calice possède 4 ou 5 lobes tandis que la corolle tubuleuse et vivement colorée est composée de pétales soudées. (**Heine**, 1966). Le fruit a une capsule loculicide à déhiscence élastique avec un très gros embryon dans la graine et pas d'albumen (**Heine**, 1966). L'inflorescence est spéciforme, racémeuse, ou ombelle verticillée et enrichie par des bractées bien développées et colorées. (**Heine**, 1966).

Les plantes de cette famille sont répandues dans les zones tropicales qui s'étendent un peu dans les zones tempérées. On les rencontre principalement en Inde, Malaisie, Afrique, Brésil et en Amérique centrale (**Heine**, 1966). Le nombre d'espèces et de genres constituant les Acanthaceae font d'eux une famille hétérogène. Comme genre on peut citer : *Acanthus*, *Asystasia*, *Ruellia*, *Justicia* et *Sanchezia*.

I.1.2 Genre *Sanchezia*

Les plantes du genre *sanchezia* sont essentiellement des arbustes, des herbes ou rarement de petits arbres. Ce genre a été nommé pour José Sanchez, professeur de botanique du dix-neuvième siècle au collège royal de Cadix en Espagne (**Clay et al.**, 1987). Ces plantes sont retrouvées dans les zones de basse terre tropicales et regroupent environ une vingtaine

d'espèces de plantes à fleurs (**Leonard et Smith**, 1964) parmi lesquelles on peut citer *Sanchezia lampra*, *Sanchezia oblonga*, *Sanchezia ovata* et *Sanchezia nobilis*.

I.1.3 L'espèce *Sanchezia nobilis*



Figure 1 : *Sanchezia nobilis* (MADOPSI Sidoine © 2015)

C'est une grande herbacée ligneuse dressée de 2 à 3 mètres de hauteur et reconnaissable à ses tiges quadrangulaire et glabre (**Meyer**, 2008).

Ces grandes feuilles vertes oblongues à nervures jaunâtre portées par un gros pétiole souvent rougeâtre, sont simples, opposées en forme de lance, décurrentes sur le pétiole peuvent atteindre 40 cm de longueur. (**Whistler**, 2000).

Les inflorescences terminales en épis naissent à l'aisselle des feuilles, les fleurs sont composées de bractées de couleur rouge à orange, verdâtre à la base, de forme ovale et mesurant 2,5 à 5,5 cm de long. La corolle est tubulaire, jaune vif à orange et mesure entre 4,5 à 5,5 cm de long avec cinq court lobes arrondis, 2 étamines fertiles émergentes et deux étamines stériles qui sont placées à l'intérieur. Ces fruits rares en cultures sont des capsules cylindriques. (**Whistler**, 2000).

Cette plante est cultivée dans les régions tropicales de l'Amérique centrale et de l'Amérique du sud (**Trease et Evans**, 1983). Au Cameroun, les espèces du genre *Sanchezia* sont présentes dans les jardins botaniques et les jardins privés, mais pas à l'état naturel dans les forêts.

I.2 Quelques usages de l'espèce *Sanchezia nobilis*

L'espèce *Sanchezia nobilis* est un arbuste décoratif par excellence utilisé pour apporter une touche d'exotisme à l'intérieur des maisons. En effet elle séduit particulièrement par ses magnifiques feuilles et fleurs. En dehors de son caractère décoratif, elle est également utilisée en pharmacopée naturelle.

En Thaïlande, Les racines de *Sanchezia nobilis* sont utilisées pour soigner les plaies et également les faiblesses sexuelles (**Kamonnate et al.**, 2012). Au regard de l'utilisation de l'espèce *Sanchezia nobilis* en médecine naturelle certains chercheurs ont entrepris des travaux chimiques et pharmacologiques sur cette espèce.

I.3 Travaux chimiques antérieurs sur les espèces de la famille des Acanthaceae

Outre les travaux chimiques d'Ahmed sur l'espèce *Sanchezia nobilis*, les plantes du genre *Sanchezia* n'ont pas fait l'objet de beaucoup d'étude chimique. Nous avons donc étendu la littérature aux autres genres de la famille des Acanthaceae ; ainsi l'étude de ces genres a conduit à l'isolement et la caractérisation des métabolites secondaires appartenant à la classe des flavonoïdes, des alcaloïdes, des stéroïdes, des triterpènes, des glycosides d'alcool cinnamyl, des benzyl alcool glycosides, des lignanes et neolignane glycosides, des glycosides d'alcool Matsutake. (**Ahmed et al.**, 2014)

I.3.1 Les flavonoïdes

I.3.1.1 Définition et activités biologiques

Les flavonoïdes sont des molécules polyphénoliques dont le squelette de base en C₁₅ est caractérisé par un enchainement C₆-C₃-C₆ du type diphenylpropane (Figure 2)

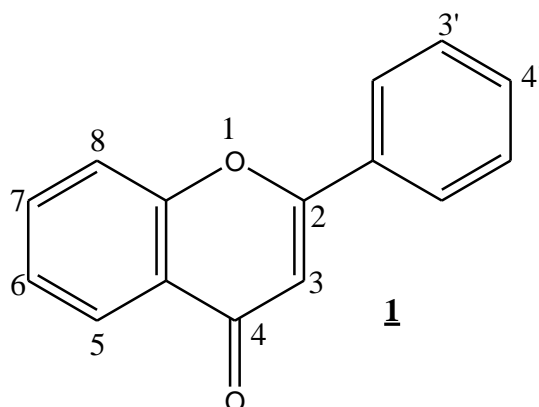


Figure 2 : Squelette flavonoïdique (C₆-C₃-C₆)

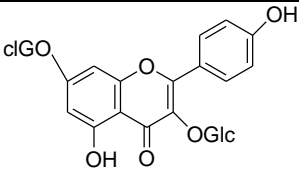
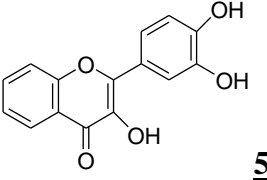
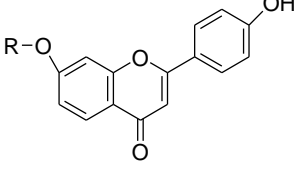
Ce sont des pigments des végétaux responsables de la coloration des fleurs, des fruits, et parfois des feuilles (**Bruneton**,1999). Plusieurs études ont souligné que les flavonoïdes de différentes sources botaniques présentes plusieurs activités biologiques : nous pouvons citer les activités antioxydantes, antimicrobiennes et cytotoxiques (**Akroum**, 2011), les propriétés anti-carcinogène, anti-mutagènes (**Ferguson**, 2001).

I.3.1.2 Quelques flavonoïdes isolés des espèces de la famille des Acanthaceae

Le tableau suivant présente quelques flavonoïdes issus de quelques espèces de la famille des Acanthaceae (Tableau 1).

Tableau 1 : Quelques flavonoïdes isolés des espèces de la famille des Acanthaceae

Espèces	Flavonoïdes isolés		Localisation	références
	Structures	Nom		
<i>Justicia gendarussa</i>	<p style="text-align: center;"><u>2</u></p>	Apigenine	Parties aériennes	Cai et al. , 2011
<i>Justicia gendarussa</i>	<p style="text-align: center;"><u>3</u></p>	Vitexin	Parties aériennes	Gorzalczany et al. , 2011

<i>Justicia spicigera</i>	 <p style="text-align: center;">4</p>	Kaempferitrin	Parties aériennes	Cazarolli et al. , 2006
<i>Justicia cataractae</i>	 <p style="text-align: center;">5</p>	3',4'-Dihydroxyflavonol	Parties aériennes	Woodman et al. , 2005
<i>Sanchezia nobilis</i>	 <p style="text-align: center;">6</p>	R = glucopyranoside Apigenin-7-O-β-glucopyranoside	Parties aériennes	Ahmed et al. , 2014
		R = gentiobioside Apigenin-7-O-β-gentiobioside		
		R = glucuronopyranoside Apigenin-7-O-β-glucuronopyranoside		

I.3.2 Les stéroïdes

I.3.2.1 Définition et activités biologiques

Les stéroïdes sont des produits naturels tétracycliques qui sont dotés d'une puissante activité physiologique. Les stérols sont considérés comme une sous-classe des stéroïdes dont le noyau de base de type stérane porte un groupe hydroxyle sur le carbone 3.

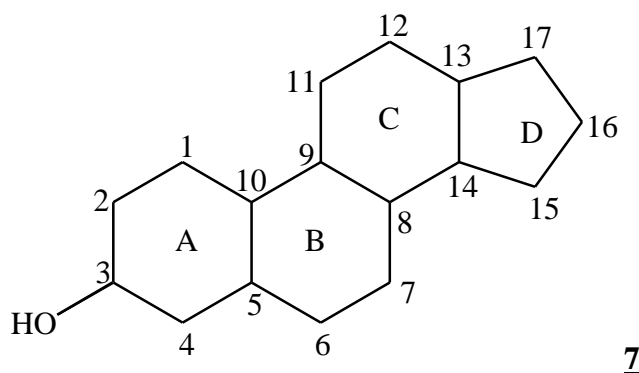


Figure 3 : Noyau de base des stérols

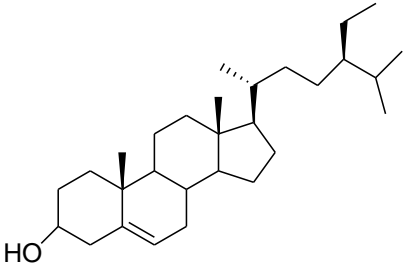
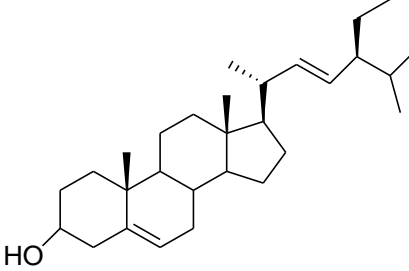
Les stérols jouent des rôles très importants dans notre organisme à savoir :

- Dans les voies digestives, les phytostérols inhibent l'absorption du cholestérol en se fixant sur ces transporteurs intestinaux (Vergès, 2009), ce qui permet de réduire son absorption de l'ordre de 10 à 15% (Law, 2000; Katan et al., 2003) conduisant à une diminution du risque de maladies cardiovasculaires d'environ 25% (Law, 2000) ;
- Certains dérivés mono ou dihydroxylés du cholestérol ont présenté des activités anti-tumorales sélectives à des concentrations micromolaires sur des cellules cultivées *in vitro* (Beek et Crastes, 1988)

I.3.2.2 Quelques stéroïdes isolés des espèces de la famille des Acanthaceae

Les stéroïdes isolés des espèces de la famille des Acanthaceae (Tableau 2).

Tableau 2 : Quelques stéroïdes isolés des espèces de la famille des Acanthaceae

Espèces	Stéroïdes isolés		Localisation	références
	Structures	Nom		
<i>Odontenema strictum</i>	 <p style="text-align: center;">8</p>	β -sitostérol	Feuilles	Luhata et Munkombwe, 2015
	 <p style="text-align: center;">9</p>	Stigmastérol		

I.3.3 Les alcaloïdes

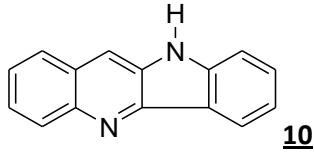
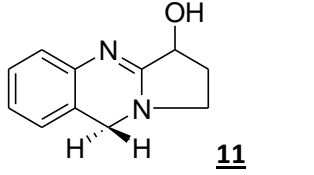
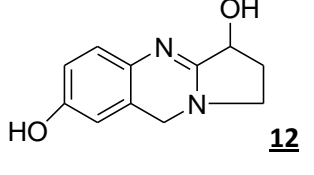
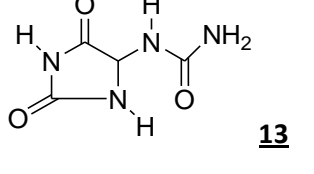
I.3.3.1 Définitions et activités biologiques

Les alcaloïdes sont des produits azotés basiques d'origine végétale dont l'atome d'azote est inclus dans un système hétérocyclique. Ils sont généralement rencontrés dans les graines, les feuilles, les racines et les écorces des plantes. Ce sont des composés habituellement incolores, cristallins, solides non volatiles, insolubles dans l'eau mais solubles dans l'éthanol, le chloroforme et l'éther. Les alcaloïdes ont la plupart un goût amer et présentent des activités pharmacologiques significative. Leurs propriétés pharmacologiques concernent divers domaines comme : le système nerveux, la cancérologie, la parasitologie, etc. C'est ainsi que certains alcaloïdes comme la théophylline est indiqué dans le traitement des crises asthmatiques; la quinine est utilisé contre le paludisme; etc. (**Hartmann, 1991**).

I.3.3.2 Quelques alcaloïdes isolés des espèces de la famille des Acanthaceae

Le tableau suivant présente quelques alcaloïdes issus de quelques espèces de la famille des Acanthaceae (Tableau 3).

Tableau 3 : Quelques alcaloïdes isolés des espèces de la famille des Acanthaceae

Espèces	Alcaloïdes isolés		Localisation	références
	Structures	Nom		
<i>Justicia betonica</i>	 10	10H- Quinidoline	Parties aériennes	Caprio et al., 2000
<i>Justicia adhatoda</i>	 11	Vasicine	Parties aériennes	Rachana et al., 2011
	 12	Vasicinol	Parties aériennes	
<i>Justicia spicigera</i>	 13	allantoin	Parties aériennes	Niu et al., 2010

I.3.4 Les triterpènes

I.3.4.1 Définition et activités biologiques

Les triterpènes forment un groupe de substances naturelles contenant dans leurs squelettes une trentaine d'atome de carbone, et dérivant du squalène par une série de cyclisation et d'autres modifications. Lorsque ces modifications sont incomplètes, elles donnent lieu aux triterpènes monocyclique, bicyclique, tricyclique ou tétracyclique tandis que lorsqu'elles sont complètes, on obtient des triterpènes pentacycliques. Les triterpènes pentacycliques peuvent avoir deux structures de bases différentes : l'une a cinq cycles de 6 atomes et l'autre a quatre cycles de 6 atomes plus un cycle de 5 atomes comme le présente la figure suivante.

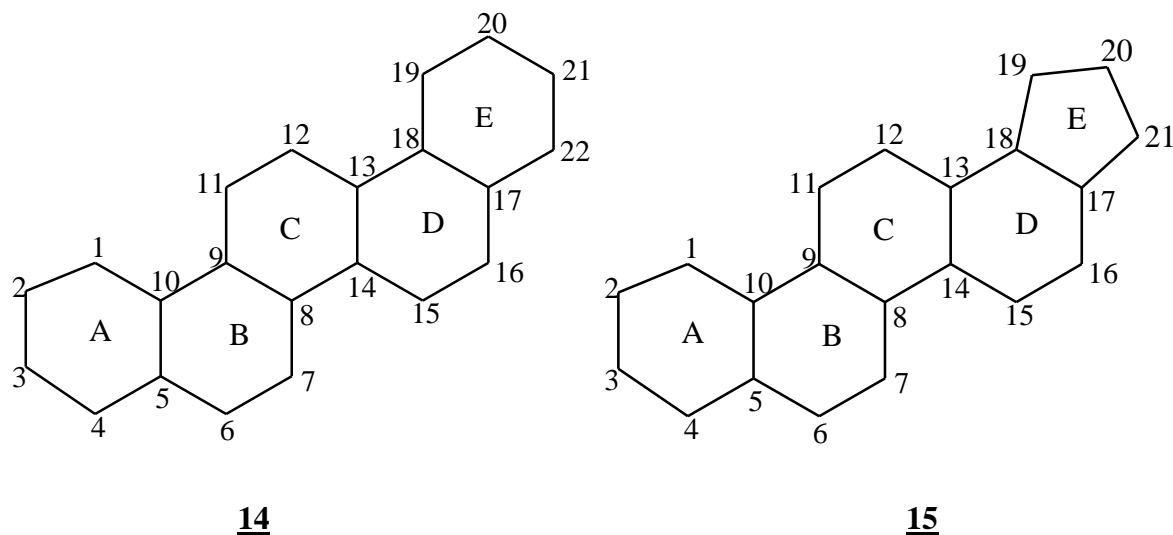


Figure 4 : Les deux noyaux de base des triterpènes pentacycliques

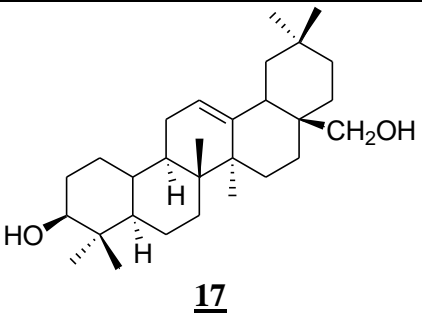
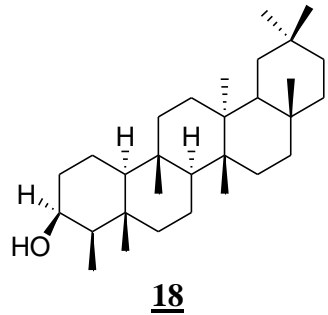
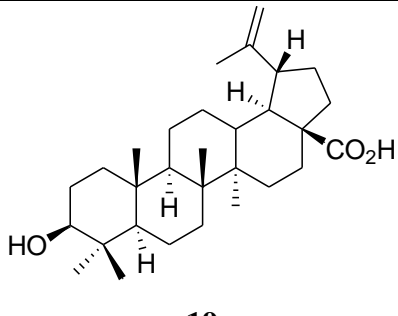
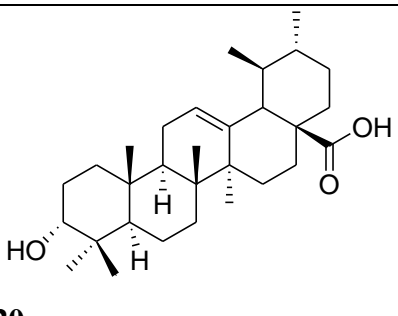
Les triterpènes présentent plusieurs activités biologiques parmi lesquelles on peut citer, des potentialités hormonales et immunomodulantes (**Rios**, 2010); Des propriétés anticancéreuses (**Laszczyk**, 2009); Des activités anti-inflammatoires, des propriétés antibactériennes et antivirales, des propriétés hépato-protectrices et des propriétés anti-tumorales (**Bok et al.**,1999).

I.3.4.2 Quelques triterpènes isolés des espèces de la famille des Acanthaceae

Les exemples de triterpènes isolés de quelques espèces de la famille des Acanthaceae sont donnés dans le Tableau 4 :

Tableau 4 : Quelques triterpènes isolés des espèces de la famille des Acanthaceae

Espèces	Triterpènes isolés		Localisation	références
	Structures	Nom		
<i>Justicia Betonica</i>	<p style="text-align: center;"><u>16</u></p>	Justicioside A	Parties aériennes	Kanchanopoon et al. , 2004

<i>Justicia Acuminatissima</i>	 <p style="text-align: center;"><u>17</u></p>	Erythrodiol	Parties aériennes	Geone et al., 2014
	 <p style="text-align: center;"><u>18</u></p>	β -friedelinol	Parties aériennes	
	 <p style="text-align: center;"><u>19</u></p>	Acide betulinique	Parties aériennes	
<i>Brillantaisia palisatii</i>	 <p style="text-align: center;"><u>20</u></p>	Acide 3-epi-ursolique	Parties aériennes	Luciane et al., 2003

I.3.5 Les lignanes et néolignanes

I.3.5.1 Définition et activités biologiques

Les lignanes sont des composés dont le squelette résulte de l'établissement d'une liaison entre les carbones β de la chaîne latérale de deux dérivés du 1-phenylpropane (C_6-C_3)

(21) qui sont liés par leur carbones 8 (β - β') (22) représenté par la figure 5. (Harworth, 1936). Quant-aux néolignanes, ce sont des produits de condensation d'unité phenylpropanique dont la liaison variable n'implique au maximum qu'un seul carbone β .

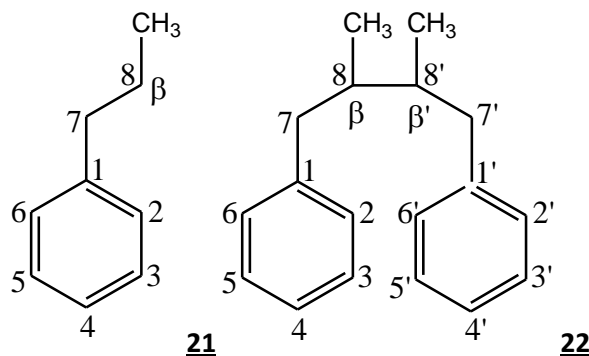


Figure 5 : Structure et numérotation des carbones de (21) phenylpropane et (22) lignane (β - β' liée)

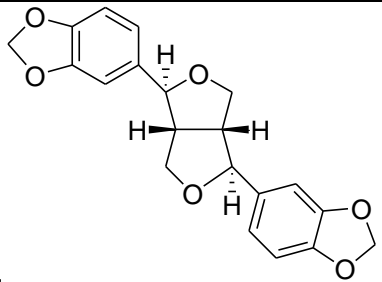
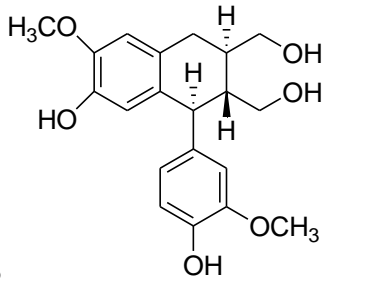
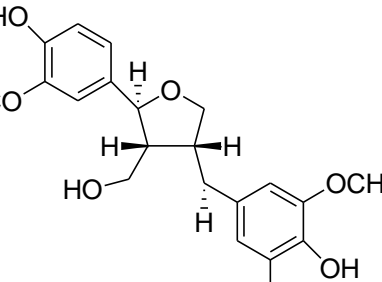
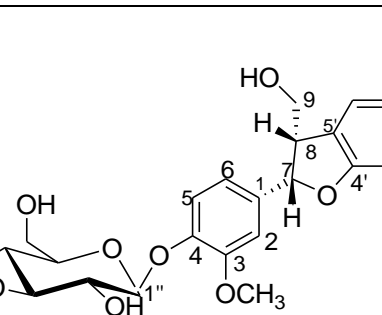
Les composés de cette classe présentent plusieurs activités biologiques : nous pouvons citer les activités antioxydantes, anticancéreuse (Hu et al., 2007), les propriétés antidiabétique et contre les maladies cardio-vasculaire (Duncan et al., 2003)

I.3.5.2 Quelques lignanes isolés des espèces de la famille des Acanthaceae

Les exemples de triterpènes isolés de quelques espèces de la famille des Acanthaceae sont donnés dans le Tableau 5 :

Tableau 5 : Quelques lignanes isolés des espèces de la famille des Acanthaceae

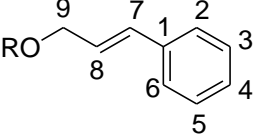
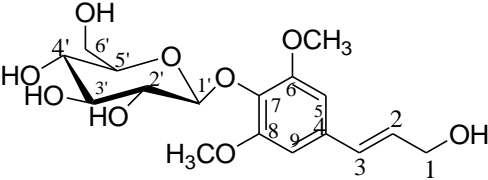
Espèces	Lignanes isolés		Localisation	références
	Structures	Nom		
<i>Justicia neesii</i>	<p>23</p>	Jusmicranthin	Parties aériennes	Rajasekhar et Subbajuru, 2000

<i>Justicia purpurea</i>	 <p>24</p>	Sesamin	Parties aériennes	Chung et al., 2010
<i>Justicia flava</i>	 <p>25</p>	(+)- Isolariciresinol	Parties aériennes	Kiipeli et al., 2003
<i>Justicia glauca</i>	 <p>26</p>	Justiciresinol	Parties aériennes	Subbajuru et al., 1991
<i>Sanchezia nobilis</i>	 <p>27</p>	4- <i>O</i> - β - glucopyranosyl dehydroconiferyl alcool	Parties aériennes	Ahmed et al., 2014

I.3.6 Quelques glycosides d'alcool cinnamyl isolés de *Sanchezia nobilis*

Le tableau suivant présente quelques glycosides d'alcool cinnamyl isolés de l'espèce *Sanchezia nobilis* (Tableau 6).

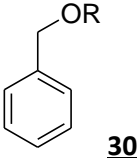
Tableau 6 : Quelques glycosides d'alcool cinnamyl isolés de *Sanchezia nobilis*

Espèces	Structures	Noms	Localisation	références
<i>Sanchezia nobilis</i>	 <p>28</p>	<p>1: R = Glc 9-<i>O</i>-β-glucopyranosyltrans-cinnamyl alcool</p>	Parties aériennes	Ahmed et al., 2014
		<p>2: R = Glc-(6→1)-Glc-(6→1)-Xyl 9-<i>O</i>-β-xylopyranosyl-(1→6)-<i>O</i>-β-glucopyranosyl-(1→6)-<i>O</i>-β-glucopyranosyltrans-cinnamyl alcool</p>		
	 <p>29</p>	Syringin		

I.3.7 Quelques glycosides d'alcool benzylique isolés de *Sanchezia nobilis*

Le tableau suivant présente quelques glycosides d'alcool benzylique isolés de l'espèce *Sanchezia nobilis* (Tableau 7).

Tableau 7: Quelques glycosides d'alcool benzylique isolés de *Sanchezia nobilis*

Espèces	Structures	Noms	Localisation	références
<i>Sanchezia nobilis</i>		R = glucopyranoside 7- <i>O</i> - β - glucopyranosyl benzyl alcool	Parties aériennes	Ahmed et al., 2014
		R = Apio-(1\rightarrow6)-Glc 7- <i>O</i> - β -apiofuranosyl- (1 \rightarrow 6)- <i>O</i> - β - glucopyranosylbenzyl alcool		

I.3.8 Alcool Matsutake de *Sanchezia nobilis*

L'alcool matsutake qui porte le nom de son identificateur représente une famille de composé organique décrite par la structure ci-dessous.

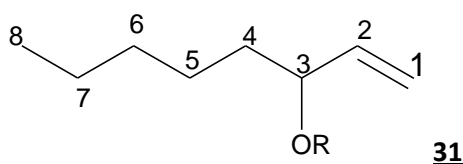


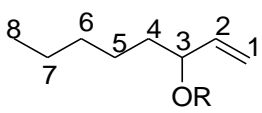
Figure 6 : Squelette de base des alcools Matsutake

Par remplacement du radical R par H (R=H), on obtient un composé connu sur le nom d'alcool Matsutake généralement appelé (1-octen-3-ol).

I.3.8.1 Quelques glycosides d'alcool Matsutake isolés de *Sanchezia nobilis*

Le tableau suivant présente quelques glycosides d'alcool Matsutake isolés de l'espèce *Sanchezia nobilis* (Tableau 8).

Tableau 8 : Quelques glycosides d'alcool Matsutake isolés de *Sanchezia nobilis*

Espèces	Structures	Noms	Localisation	références
<i>Sanchezia nobilis</i>	 <p>32</p>	R = H (1-octen-3-ol)	Parties aériennes	Ahmed et al., 2014
		R = Glc 3-O-β-glucopyranosyl-1-octen-3-ol		
		R = Glc-(6→1)-Glc 3-O-β-glucopyranosyl-(1→6)-β-glucopyranosyl-1-octen-3-ol		
		R = Glc-(6→1)-Ara 3-O-α-arabinopyranosyl-(1→6)-β-glucopyranosyl-1-octen-3-ol		
		R = Glc-(6→1)-Glc-(6→1)-Ara 3-O-α-arabinopyranosyl-(1→6)-β-glucopyranosyl-(1→6)-β-glucopyranosyl-1-octen-3-ol		

I.4 Travaux pharmacologiques antérieurs sur l'espèce *Sanchezia nobilis*

Les divers tests biologiques effectués sur *Sanchezia nobilis* ont révélé que l'extrait méthanolique possède une activité antioxydante et anticancerigène (Paydar et al., 2013). Cependant d'autres études portant sur l'activité biologique *in vitro* de l'extrait éthanolique de *Sanchezia nobilis* suivie du fractionnement liquide-liquide par différents solvants à l'instar de l'éther de pétrole, le chloroforme et l'acétate d'éthyle ont signalé quelques activités mentionnées ci-dessous :

La fraction chloroformique avait une activité antibactérienne intéressante contre *Escherichia coli*, *salmonella parathyphi*, *Bacillus megaterium*, *shigella flexneri*, *pseudomonas aeruginosa*. Tandis que dans la fraction à l'acétate d'éthyle la zone modérée de l'inhibition a été notée contre *shigella sonnei* et *shigella dysenteriae*. Et en fin la fraction à l'éther de pétrole a eu un effet moins. Les valeurs de la concentration minimale inhibitrice (CMI) de la fraction au chloroforme contre les Bacteries ont varié de 16 à 64 pg/ml. Tandis que celle de la fraction à l'acétate d'éthyle était de 32 à 128 pg/ml et celle de la fraction à l'éther de pétrole était de 64 à 128 pg/ml.

Quant-à l'activité antifongique l'inhibition maximale a été obtenu dans la fraction chloroformique contre *candida albicans*, suivie par *Rizopusoryzae*, *aspergillus Niger* et *Rubrumtrycophyton*. L'inhibition modérée a été obtenu dans la fraction à l'acétate d'éthyle contre *Rizopus oryzae* et *trycophyton rubrum*. Alors que la fraction à l'ether de pétrole avait une activité insignifiante. (**Rafshanjani et al.**, 2014).

En ce qui concerne l'activité insecticide, la fraction au chloroforme a montré un taux de 60% de mortalité contre *tribolium castaneum* (Herbst) à dose de 50 pg/ml pendant 48H. Tandis que la fraction à l'acétate d'éthyle a montré un taux de mortalité de 40% et la fraction à l'ether de pétrole a montré un taux de mortalité de 20%. (**Rafshanjani et al.**, 2014).

Dans le but d'apporter notre contribution à l'étude de *Sanchezia nobilis*, cette plante aux multiples vertus thérapeutiques, nous nous sommes attelés à faire une investigation des métabolites secondaires de ses feuilles.



CHAPITRE II :
RESULTATS ET
DISCUSSION

II.1 Introduction

Les feuilles de *Sanchezia nobilis* ont été récoltées en avril 2015 à Manjo dans le Département du Mounjo, région du littoral-Cameroun. Après séchage et broyage, on a obtenu 1100 g de poudre qui a subi une extraction par macération à froid dans le méthanol pendant 72 heures.

Le filtrat obtenu a subi une évaporation sous pression réduite et a donné 295,8 g d'extrait brut dont 100,8 g ont été dissout dans l'eau et extrait successivement à l'hexane et à l'acétate d'éthyle et 3 g pour les tests d'activités et le screening chimique. A l'issue de l'extraction des différentes phases organiques, nous avons obtenu 03 fractions respectivement à l'hexane (Hex), à l'acétate d'éthyle (AE) et à l'eau.

Les fractions à l'hexane et à l'acétate d'éthyle ont subi successivement une chromatographie sur colonne avec pour éluant les mélanges Hex- AE et CH₂Cl₂-MeOH de gradient de polarité croissant. A l'issue de ces chromatographies, 05 composés indexés de SNF₁ à SNF₅ ont été isolés. Le schéma 1 résume le protocole d'extraction et de purification.

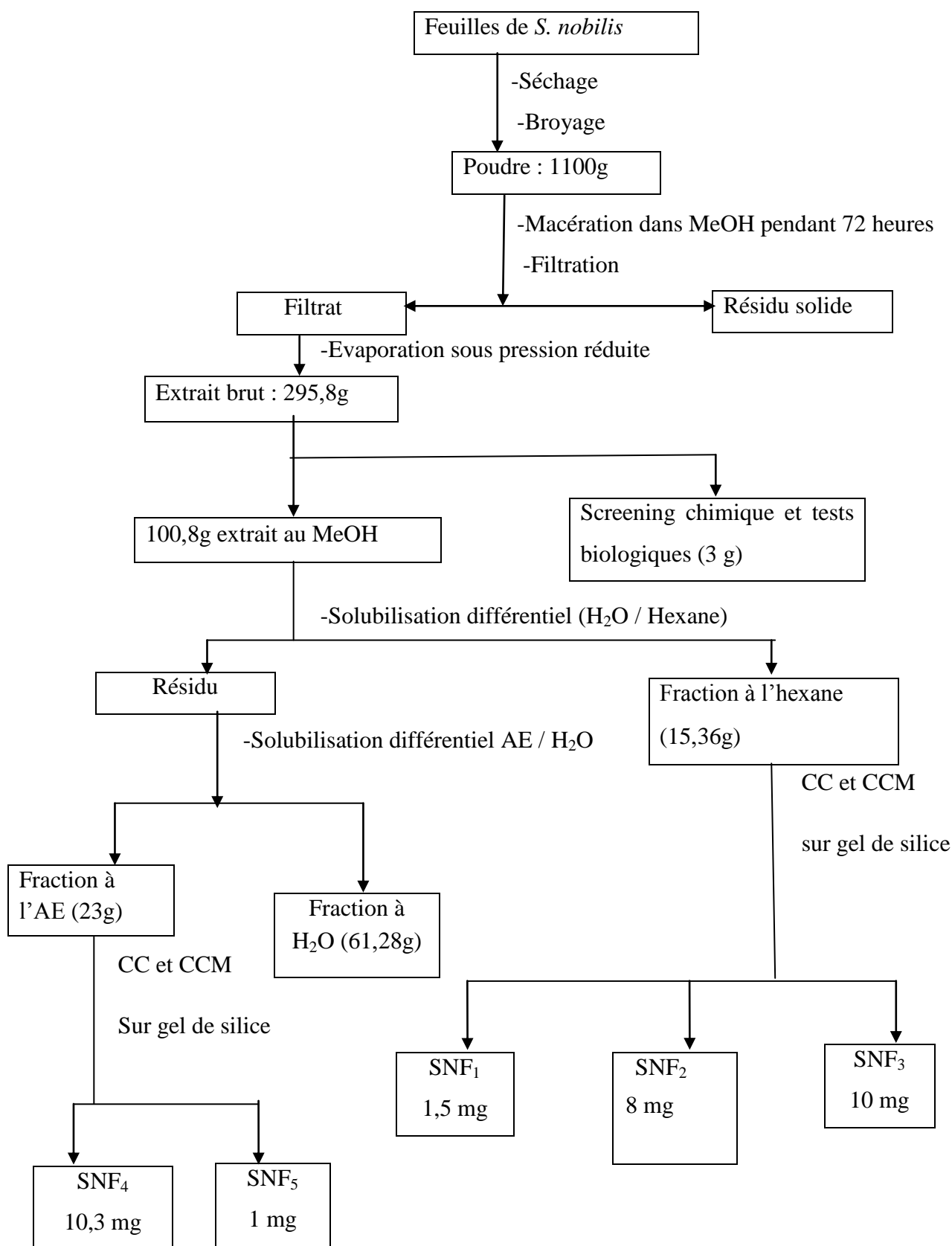


Schéma 1 : Protocole d'extraction et de purification des composés

II.2 Résultats du screening chimique.

Les résultats des différents tests Chimiques effectués sur notre extrait ont été consignés dans le tableau 9 suivant :

Tableau 9 : Résultats du screening Chimique

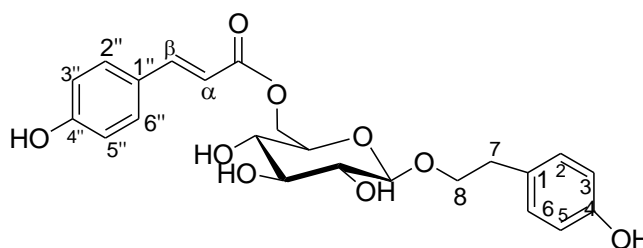
Tests	Réactifs	Résultats
Phénolique	FeCl ₃	+
Liebermann-Buchard	AC ₂ O, CHCl ₃ , H ₂ SO ₄ concentré	+
Mayer	Réactif de Mayer, NH ₂ SO ₃	+
Shinoda	HCl concentré, copeau de magnésium	-
Molish	H ₂ SO ₄ concentré, α-naphtol	+

II.3 Identification des composés isolés

Les structures des composés purs isolés ont été établies par analyse de leurs données spectrales, et par comparaison des données spectroscopiques et physiques avec celles décrites dans la littérature.

II.3.1 Identification de SNF₄

Le composé SNF₄ précipite sous forme de poudre blanche dans le méthanol et est soluble dans l'acétone. Il répond positivement au test de molish, ce qui suggère qu'il possède au moins une molécule de sucre. Son spectre de masse en impact électronique montre le pic de l'ion moléculaire à $m/z = 446,1694$; donc l'analyse à haute résolution (ESI-TOF+ (Fig. 7) $[M+H]^+ = 447,1694$) nous permet de lui attribuer la formule $C_{23}H_{26}O_9$ à 11 insaturations et la structure 33 lui a été attribuée par analyse de ses différents spectres.



33

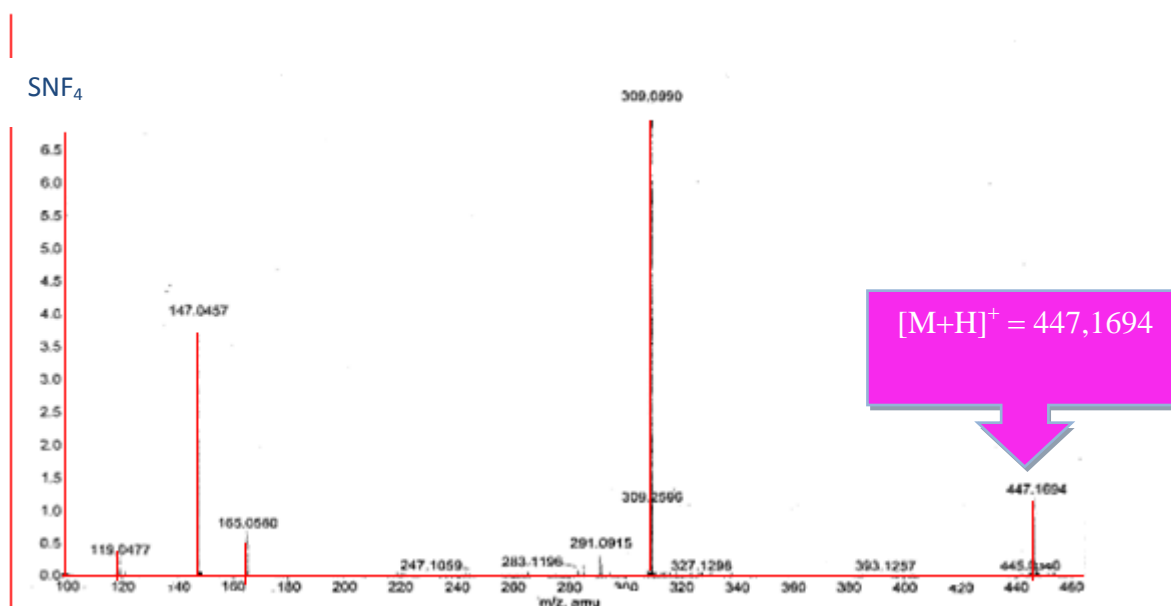


Figure 7 : Spectre de masse ESI-TOF+ de SNF₄

En effet, L'analyse de son spectre RMN ^{13}C (125 MHz, CD_3OD) (Fig. 8) entièrement découplé et DEPT (Fig. 9) font ressortir 19 signaux correspondants à au moins 19 carbones parmi lesquels 15 carbones sp^2 et 8 carbone sp^3 ceci nous permet de comprendre qu'il ya dans le composé quatre carbones équivalents deux à deux.

Deux groupes de carbones aromatique à δ_c ($2 \times 131,0$: C-2'', C-6'' ; $2 \times 116,9$: C-3'', C-5'') et δ_c ($2 \times 130,7$: C-2, C-6 ; $2 \times 116,7$: C-3, C-5) correspondant aux carbones de deux cycles aromatiques *para*-disubstitués.

- Deux carbones éthyléniques à δ_c (115,4 ; 145,6 : C- α et C- β).
- Deux carbones sp^3 à δ_c (36,19 ; 71,7 : C-7 et C-8).
- Six carbones appartenant au sucre à δ_c (104,3 : C-1' ; 74,9 : C-2' ; 77,9 : C-3' ; 75,0 : C-4' ; 71,4 : C-5' ; 64,5 : C-6').
- Un carboxyle d'ester à δ_c 167,5 : O-C=O
- Quatre carbones quaternaires à δ_c (130,33 : C-1 ; 156,7 : C-4 ; 126,9 : C-1'' ; 160,7 : C-4'')

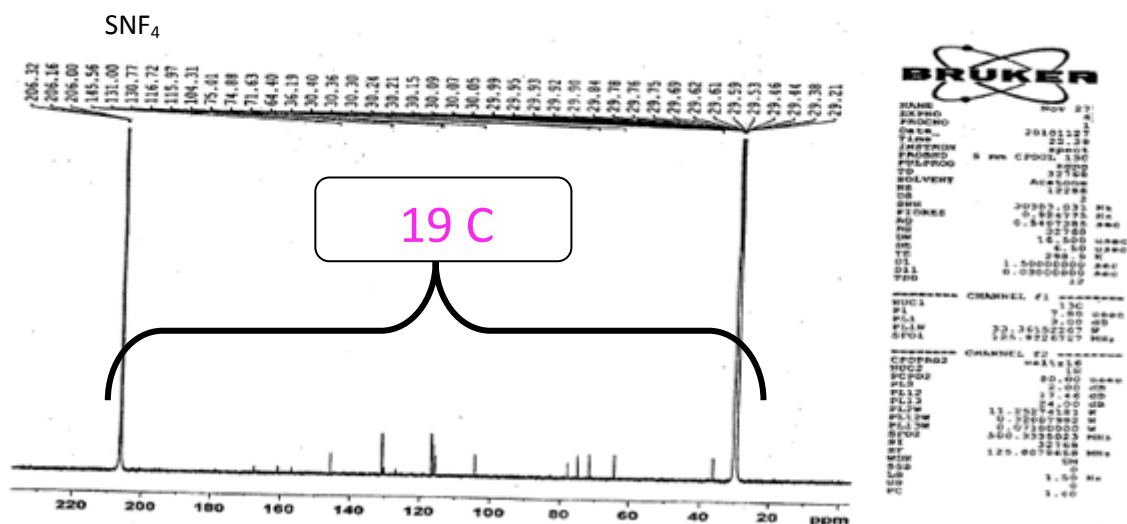


Figure 8: Spectre RMN ^{13}C (125 MHz, CD_3OD) de SNF_4

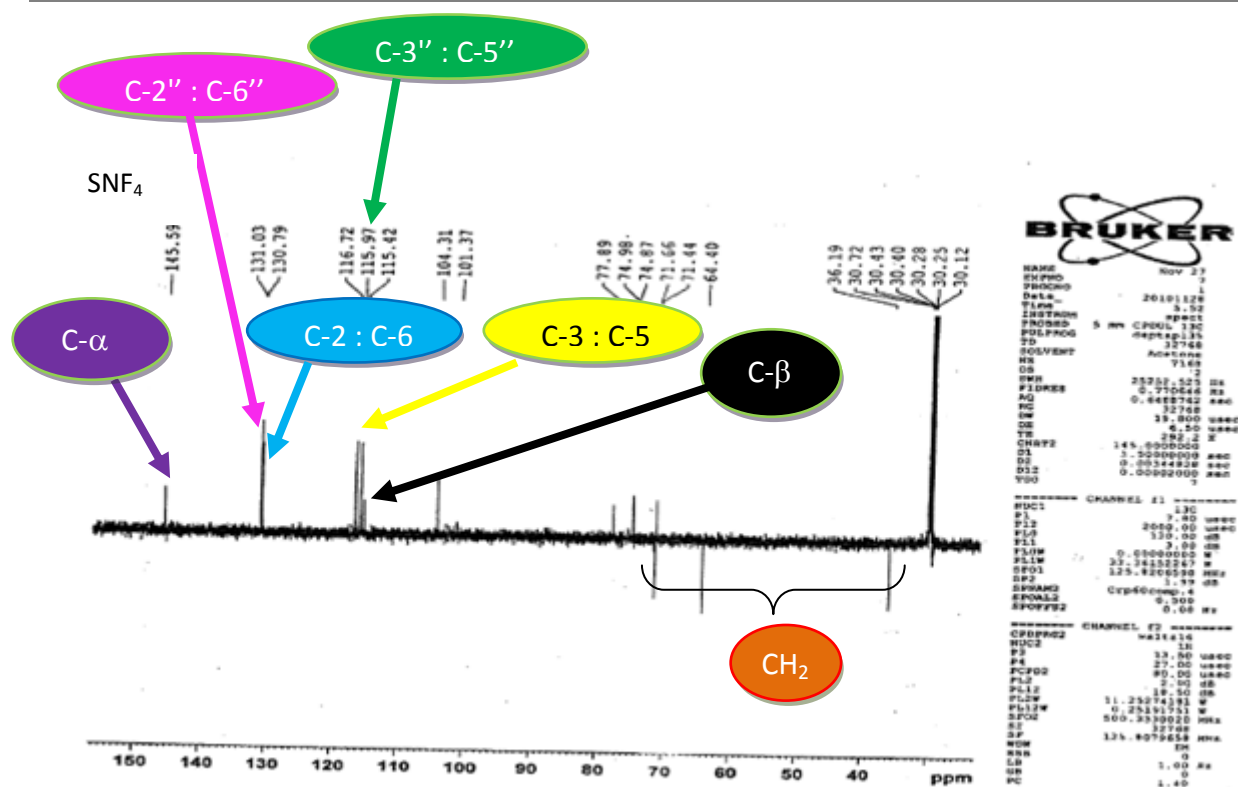


Figure 9: Spectre DEPT 135 (125 MHz, CD₃OD) de SNF₄

Sur son spectre de RMN proton (Fig. 10), on observe :

- La présence d'une double liaison de configuration *trans* à δ_H 6,35 (1H, *d*, $J = 16$ Hz, H- α) et 7,60 (1H, *d*, $J = 16$ Hz, H- β).
- Deux systèmes de protons aromatiques AA'BB' à δ_H 7,06 (2H, *d*, $J = 8,5$ Hz, H-2 et H-3) ; 6,88 (2H, *d*, $J = 8,5$ Hz, H-3 et H-5) ; 7,50 (2H, *d*, $J = 8,5$ Hz, H-2'' et H-6'') ; 6,71 (2H, *dd*, $J = 8,5$ Hz, 2Hz, H-3'' et H-5'') correspondant à deux cycles aromatiques *para*-disubstitués.
- Deux méthylènes à δ_H 2,79 (2H, *t*, H-7) et δ_H 3,65 (1H, *m*, H-8a) ; 3,92 (1H, *m*, H-8b).
- Un proton anomérique à δ_H 4,43 (1H, *d*, $J = 4$ Hz, H-1').
- Un ensemble de proton apparaissant à δ_H 3,21 ; 3,39 ; 3,54 ; 3,38 ; 4,29 ; 4,49 traduisant la présence d'un sucre dans SNF₄

SNF₄

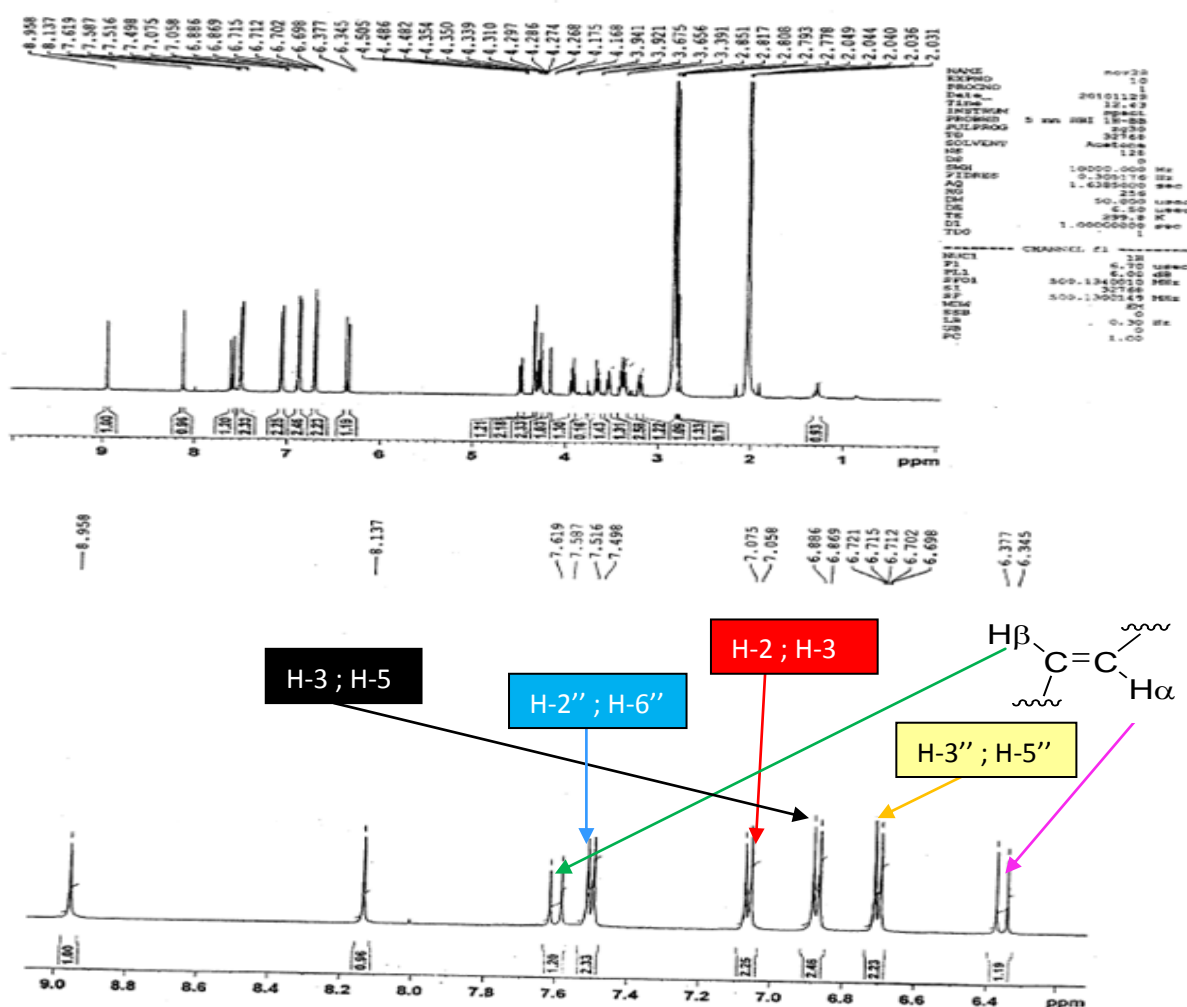


Figure 10 : Spectre de RMN ¹H (500 MHz, CD₃OD) de SNF₄

Le spectre HMBC (Fig.11) montre :

- Une corrélation entre le proton Ha-6' et le carbonyle, ceci se justifie par un déblindage de 2,5 ppm du signal correspondant. Ce qui nous permet de fixer le groupement cinnamoyle sur le carbone C-6'.
- Une corrélation entre le proton H-1' et C-8 ce qui nous permet de mettre le groupement phénylthyle en C-1' du sucre.

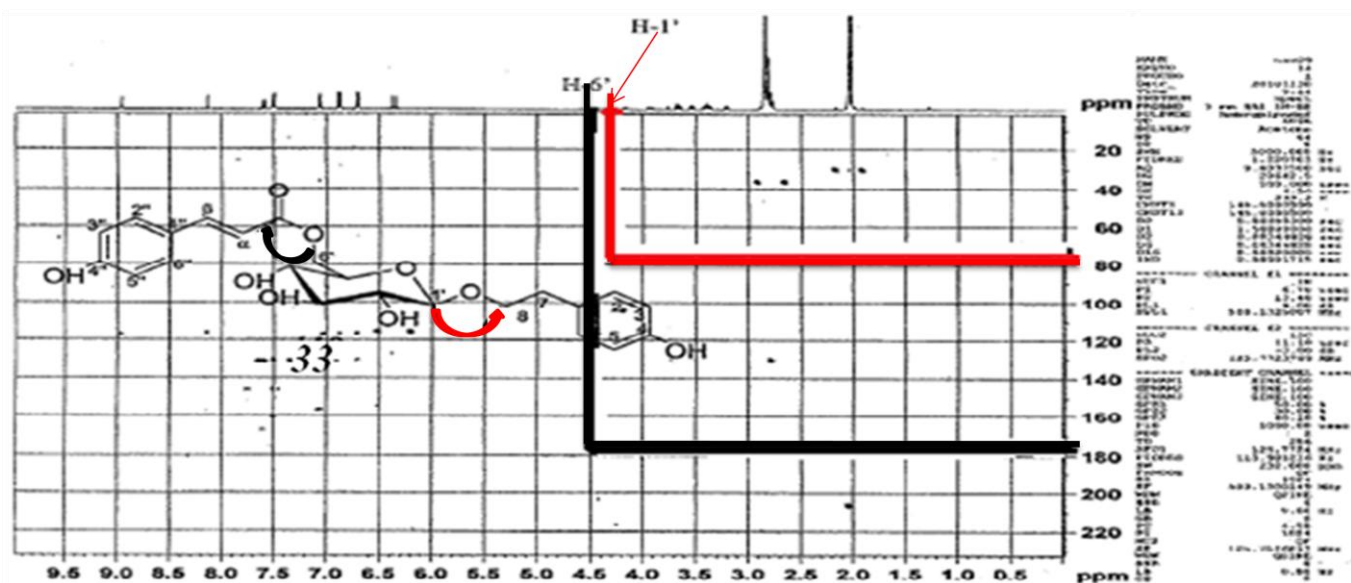
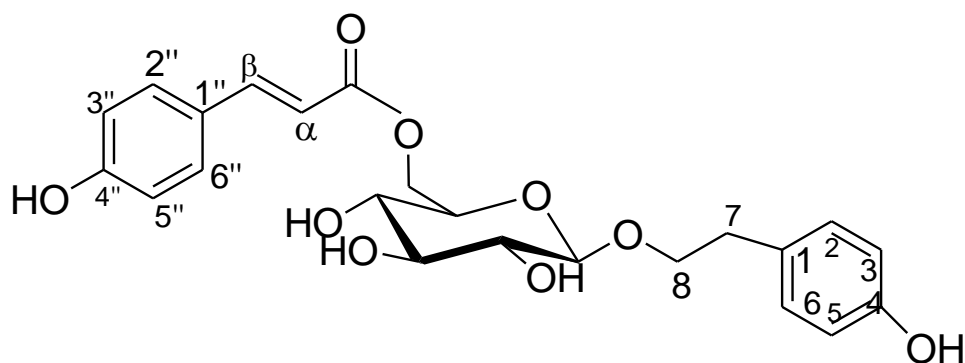


Figure 11 : Spectre HMBC (CD₃OD) de SNF₄

L'analyse de toutes ces données spectrales (Tab. 10) comparées à celles décrites dans la littérature nous a permis d'identifier SNF₄ à l'eutigoside **33** isolé précédemment de *Euratzgang* (Li et al., 1997; Erazo et al., 2002; Zhou et al., 2006).



33

Tableau 10 : Données de RMN du ^1H (500 MHz, CD_3OD) et du ^{13}C (125 MHz, CD_3OD) du composé SNF_4 comparés à celle de la littérature

Carbone No	δ	Mult.	δ_{H} (m, J en Hz)	δ	Mult.	δ_{H} (m, J en Hz)
			SNF_4			
			Aglycone			
1	130,3	C	-	130,4	C	-
2	130,7	CH	7,06 (d, 8,5)	130,9	CH	7,03 (d, 8,4)
3	116,7	CH	6,80 (d, 8,5)	116,2	CH	6,80 (d, 8,4)
4	156,7	C	-	156,8	C	-
5	116,7	CH	6,80 (d, 8,5)	116,9	CH	6,80 (d, 8,4)
6	130,7	CH	7,06 (d, 8,5)	130,6	CH	7,03 (d, 8,4)
7	-	CH_2	2,79 (t)	36,5	CH	2,83 (t)
8	71,7	CH_2	3,65 (1H, m, H-8a); 3,92 (1H, m, H-8b).	72,4	CH_2	3,95 (1H, m, H-8a); 3,66 (1H, m, H-8b)
Sucre						
1'	104,2	CH	4,43 (1H, d, 7,6)	104,9	CH	4,32 (1H, d, 7,8)
2'	74,9	CH	3,21 (1H, d, 7,6)	75,4	CH	3,35 (1H, d, 7,8)
3'	77,9	CH	3,49 (1H, d, 7,6)	78,0	CH	3,39 (1H, d, 7,8)
4'	71,4	CH	3,54 (1H, d, 7,6)	71,9	CH	3,22 (1H, d, 7,8)
5'	75,0	CH	3,38 (1H, d, 7,6)	75,1	CH	3,53 (1H, d, 7,8)
6'	64,4	CH_2	4,29 ; 4,49	64,7	CH_2	4,50 ; 4,34
Cinnamoyle						
1''	126,9	-	-	127,1	-	-
2''	115,9	CH	7,50 (1H, d, 8,4)	116,2	CH	7,39 (1H, d, 8,4)
3''	131,0	CH	6,61	130,9	CH	6,78 (1H, d, 8,4)
4''	160,7	-	-	161,3	-	-
5''	131,0	CH	6,61	130,6	CH	6,78 (1H, d, 8,4)
6''	115,9	CH	7,50	116,9	CH	7,39 (1H, d, 8,4)
α	115,3	CH	6,35 (1H, d, 16,0 H- α)	115,0	CH	6,35 (1H, d, 15,7 H- α)
β	146,5	CH	7,60 (1H, d, 16,0 H- β).	146,8	CH	7,60 (1H, d, 15,7 H- β).
C=O	167,5	C		169,1	C	-

II.3.2 Identification de SNF_2

Le composé SNF_2 précipite sous forme de poudre blanche dans le méthanol et est soluble dans le chloroforme. Il donne un test positif au chlorure ferrique, ce qui suggère qu'il est un composé possédant au moins un hydroxyle phénolique. Son spectre de masse en impact

electronique(Fig.12) montre le pic de l'ion moléculaire à $m/z = 164$ dont l'analyse couplé aux spectre RMN nous a permis de lui attribuer la formule $C_9H_8O_3$ possédant six insaturations.

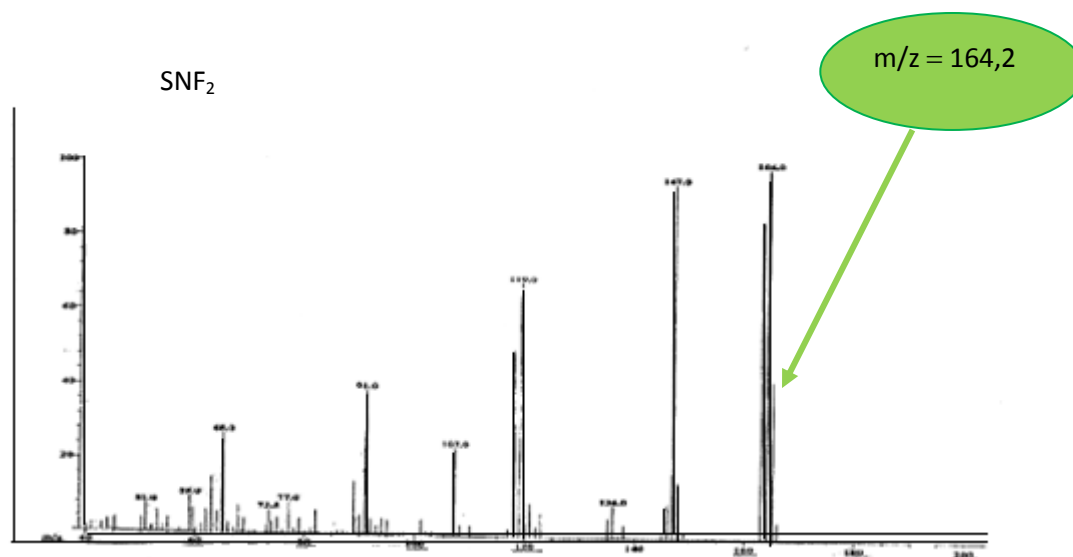


Figure 12 : Spectre de masse en impact électronique ($CDCl_3$) de SNF_2

Sur spectre de RMN proton (Fig.13), on observe :

- Deux doublets à δ_H 7,59 (1H, *d*, $J = 16,0$ Hz) et δ_H 6,27 (1H, *d*, $J = 16,0$ Hz) correspondant au système AB de protons ethyleniques (C- α et C- β)
- Un système de protons à δ_H 7,42 (2H, *d*, $J = 8,8$ Hz) et δ_H 6,80 (2H, *d*, $J = 8,8$ Hz)

Correspondant à un système $AA'BB'$ d'un système aromatique disubstitué.

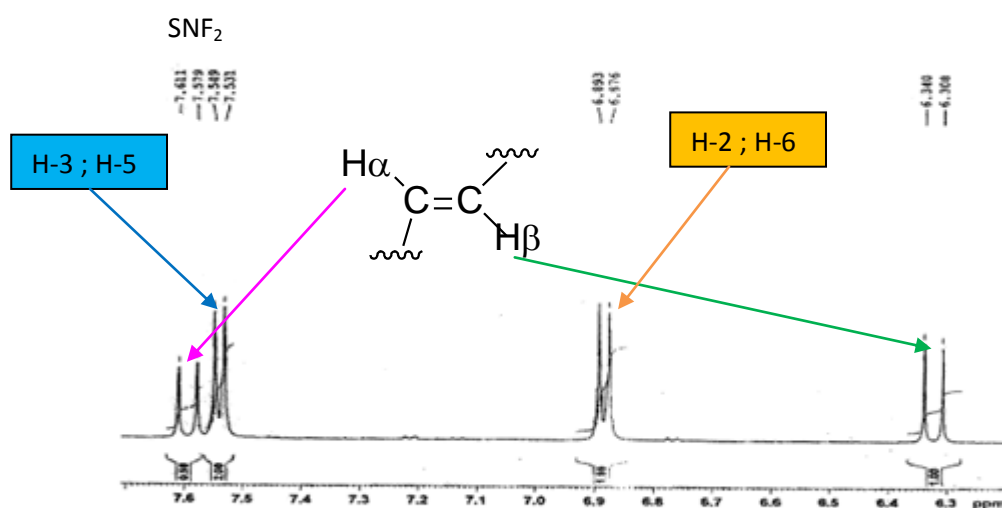
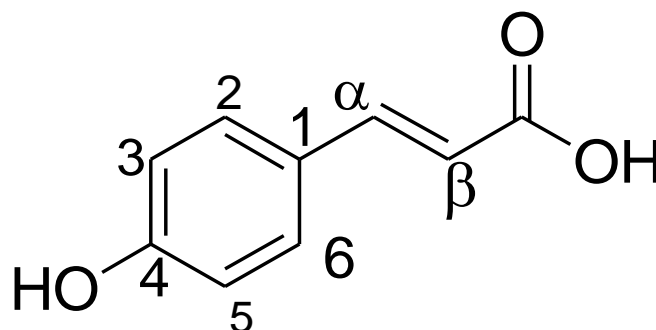


Figure 13 : Spectre de RMN du ^1H (500 MHz, CDCl_3) de SNF_2

De ce qui précède et en accord avec les données de la littérature (**Creighton et al.**, 1941), nous attribuons à SNF_2 la structure 34 qui est celle de l'acide paracoumarique isolé précédemment de *S. zenkeri* (**Lenta et al.**, 2007)



34

INTERETS PEDAGOGIQUES

Les travaux de recherche et de rédaction de ce mémoire a été pour nous d'un grand apport pédagogique à trois niveau :

❖ **Au niveau personnel :**

Ce travail m'a permis de me familiariser avec le matériel et les différentes techniques de laboratoire ; A l'heure ou la politique gouvernementale est entièrement tournée vers la professionnalisation des enseignants, la maîtrise des techniques de laboratoires est primordiale dans l'acquisition des connaissances pratiques par les apprenants. C'est ainsi que nous avons appris diverses techniques de laboratoire telles que : la filtration, la recristallisation, la distillation, la chromatographie et bien d'autres. D'autres part nous avons effectué un screening chimique ce qui nous a permis d'identifier les différents composés; ainsi nous avons mieux appréhendé les notions théoriques longtemp accumulées.

❖ **Au niveau de la préparation des cours :**

La redaction du mémoire nous a habitué à la recherche bibliographie et la synthèse documentaire, ainsi qu'à une bonne maîtrise de l'outil informatique et de certains logiciels (ChemDraw, MS Word, et Paint), éléments indispensables à une bonne préparation des cours ;

❖ **Au niveau de la didactique :**

La maîtrise des deux premiers points m'a permis, dans le cadre de l'administration des cours proprement dit, l'utilisation des outils adéquats et des méthodes appropriées de transmission des savoirs, afin de rendre les cours attrayants, efficaces et efficaces.

CONCLUSION ET PERSPECTIVES

Le travail que nous avons effectué sur l'extrait méthanolique des feuilles de *Sanchezia nobilis* a conduit à l'isolement et à la purification de cinq composés indexés SNF₁, SNF₂, SNF₃, SNF₄ et SNF₅ à l'aide des méthodes chromatographiques (CC et CCM), deux de ces composés ont été caractérisés et identifiés respectivement à l'Eutigoside (SNF₄) et à l'acide paracoumarique (SNF₂). La structure de ces composés a été élucidée sur la base des méthodes spectroscopiques (RMN ¹H, ¹³C et RMN 2D) et confirmée par comparaison de ces données avec celles décrites dans la littérature.

L'étude structurale supplémentaire des autres composés étant en cours, nous envisageons dans un futur proche :

- D'achever la purification des fractions restantes ;
- De réaliser des tests biologiques sur l'extrait brut et les autres composés isolés de *Sanchezia nobilis*;
- Etudier le profil toxicologique des extraits bruts et des composés isolés;
- De soumettre ces composés à des réactions chimiques;
- Tester les activités des nouveaux composés que nous obtiendrons des réactions.



CHAPITRE III:
PARTIE
EXPERIMENTALE

III.1 Appareillage et matériel végétal

III.1.1 Appareillage

Les masses des composés ont été mesurées à l'aide d'une balance électronique (COBOS-D-6000-SX) de précision 1/10.

Les chromatographies sur colonne ont été pratiquées sur gels de silice de fabrication MERCK F₂₅₄ de type 60 de granulométrie 0.063-0.200 nm.

Les fractions ont été concentrées sur un évaporateur rotatif de type HEIDOLPH VV2000.

Les CCM ont été réalisées sur les feuilles d'aluminium recouvertes de gel de silice 60 (plaques préfabriquées de type MERCK, de dimensions 20×20 cm et d'épaisseur 0,2 mm).

Les spots en CCM ont été tout d'abord révélés à l'UV sur l'appareil BENDA Ultravioletstrahler D-69168 Wiesloch opérant aux longueurs d'ondes 254 et 366 nm, puis par pulvérisation à la vapeur d'iode ou de l'acide sulfurique concentré suivi d'une calcination effectuée dans l'un des dessiccateurs de marque MEMMERT ou ADVANTAGE –LAB S/N : 09-04542.

Les spectres RMN ¹H et ¹³C ont été enregistrées sur un appareil de type BRUKER AVANCE opérant aux fréquences 500 MHz et 125 MHz, et les échantillons solubilisés CDCL₃. Les déplacements chimiques sont exprimés en ppm par rapport au TMS comme référence interne, et les constantes de couplages sont exprimées en Hz.

III.1.2 Matériel végétal

Les feuilles de *S. nobilis* ont été récoltées en avril 2015 à Manjo dans le Département du moungo, Région du Littoral-Cameroun.

III.2 Extraction et isolement des produits

III.3 Extraction

Les feuilles de *S. nobilis* récoltées, séchées puis broyées ont donné 1100 g de poudre, et l'extraction a été effectuée par macération dans du méthanol pendant 72 heures. Après filtration et évaporation du solvant sous pression réduite, nous avons obtenu 295,8 g d'extrait brut (schéma 1).

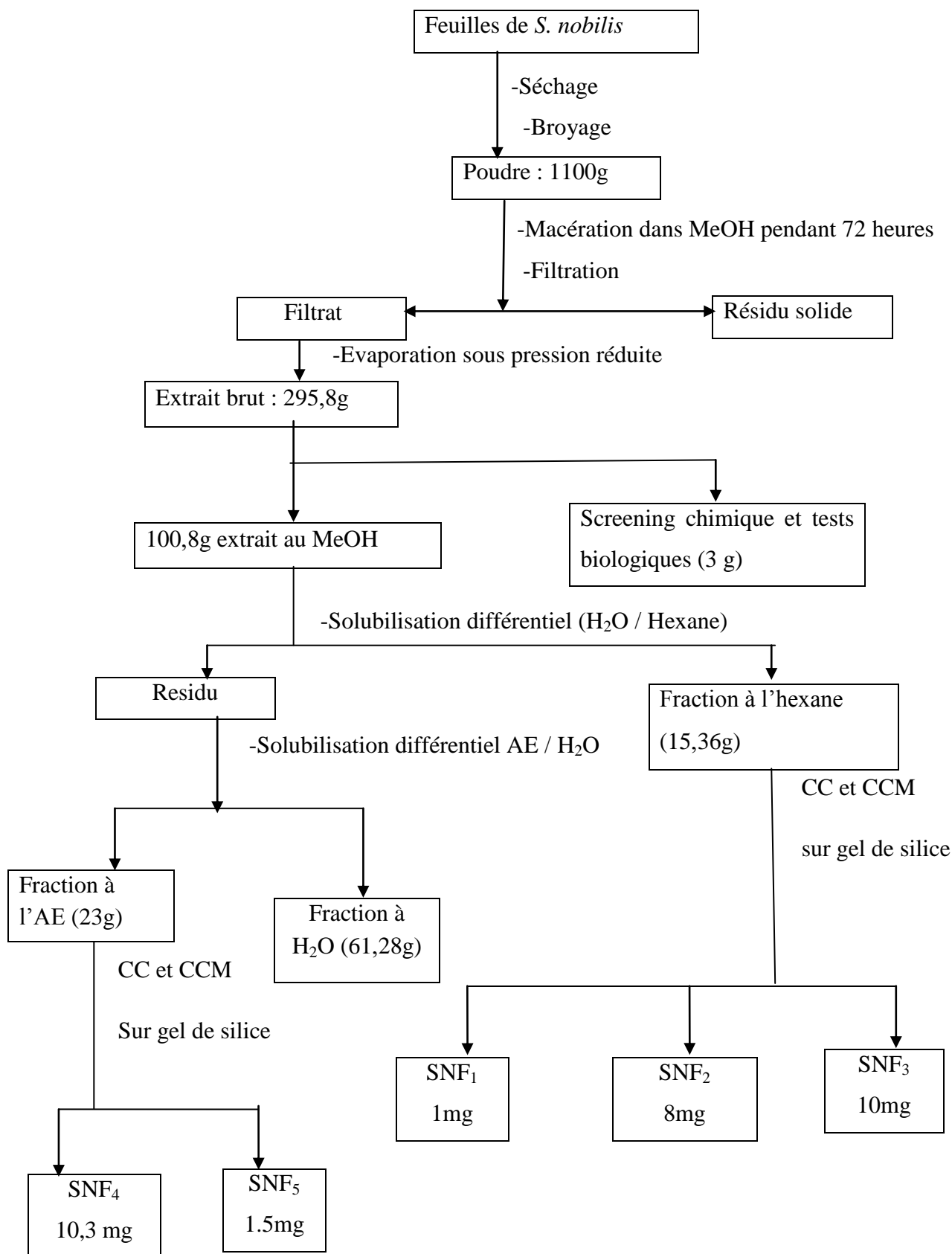


Schéma 1 : Protocole d'extraction et de purification des composés

III.4 Isolement et Purification des produits de la fraction à l'hexane

15,36 g d'extrait à l'hexane a été chromatographié sur colonne de gel de silice. L'élution a été faite au mélange Hex-AE de polarité croissante et 120 flacons de 30 ml ont été recueillis, concentrés et regroupés sur la base de la CCM analytique. Les résultats sont représentés dans le tableau suivant.:

Tableau 11 : Chromatogramme de l'élution sur colonne de la fraction à l'hexane

Eluant	Fractions	Observation
Hex 100%	1-5	Mélange d'au moins 2 taches dont une fluorescente (bleu)
Hex / AE 5%	6-22	Mélange d'au moins 7 taches dont une fluorescente (verte)
Hex / AE 10%	23-48	Mélange d'au moins 3 taches
Hex / AE 15%	49-52	Mélange d'au moins 3 taches dont un précipité SNF ₁
Hex / AE 20%	53-66	Mélange d'au moins 2 taches dont un précipité SNF ₂
Hex / AE 30%	67-78	Mélange d'au moins 2 taches
Hex / AE 55%	79-91	Mélange d'au moins 2 taches
Hex / AE 90%	92-109	Mélange d'au moins 2 taches + une trainée
AE 100%	110-120	Mélange d'au moins 2 taches dont un précipité SNF ₃

SNF₁, SNF₂ et SNF₃ précipitent sous forme de poudre blanche respectivement dans les flacons (49-52), (53-66) et (110-120). Après filtration et lavage dans un solvant approprié, on a obtenu trois composés qu'on a indexés respectivement SNF₁, SNF₂, SNF₃.

III.5 Isolement et purification des produits de la fraction à l'acétate d'éthyle

23 g d'extrait à l'acétate d'éthyle a été chromatographié sur colonne de gel de silice. L'élution a été faite au mélange CH₂Cl₂- MeOH de polarité croissante et 62 portions de 50 ml ont été recueillies, concentrées et regroupées sur la base de la CCM analytique. Les résultats sont représentés dans le tableau suivant :

Tableau 12 : Chromatogramme de l'élution sur colonne de la fraction à l'acétate d'éthyle

Solvants	Fractions	Remarques
CH ₂ Cl ₂ pur	1-15	Mélange d'au moins 5 produits
CH ₂ Cl ₂ (90 :10)	16-29	Mélange d'au moins 4 produits
CH ₂ Cl ₂ -MeOH (85 :15)	30-39	Mélange d'au moins 3 produits dont un précipite SNF ₄
CH ₂ Cl ₂ -MeOH (80 :20)	40-46	Mélange d'au moins 3 produits dont un précipite SNF ₅
CH ₂ Cl ₂ -MeOH (75 :25)	47-53	Mélange d'au moins 2 produits
CH ₂ Cl ₂ -MeOH (65 :35)	54-58	Mélange d'au moins 2 produits
CH ₂ Cl ₂ -MeOH (50 :50)	59-62	Mélange d'au moins 2 produits

SNF₄ et SNF₅ précipitent sous forme de poudre blanche dans les flacons (30-39) et (40-46). Après filtration et lavage, on obtient 8 mg de produit SNF₄ et 10 mg de produit SNF₅.

III.6 Caractéristiques physico-chimique des composés isolés

III.6.1 Caractéristique de SNF₁

→ **Classe** : Non encore identifiée

→ **Aspect physique** : poudre beige

III.6.2 Caractéristique de SNF₂

→ **Nom** : Acide paracoumarique (34)

→ **Aspect physique** : poudre blanche

→ **Formule brute** : C₉H₈O₃

→ **Test caractéristique** : test au chlorure ferrique (positif)

→ **Spectre RMN ¹H** (500 MHz, CDCl₃) : δ_H 7,59 (1H, *d*, *J* = 16,0Hz) ; 6,27 (1H, *d*, *J* = 16,0Hz) 7,42 (2H, *m*, *J* = 8,8 Hz) ; 6,80 (2H, *m*, *J* = 8,8 Hz).

III.6.3 Caractéristique de SNF₃

→ **Classe** : Stéroïde

→ **Aspect physique** : aiguilles blanchâtres

→ **Test caractéristique** : Liebermann Buchard (positif)

III.6.4 Caractéristique de SNF₄

→ **Nom** : Eutigoside (33)

→ **Aspect physique** : poudre blanche

→ **Formule brute** : C₂₃H₂₆O₉

→ **Test caractéristique** : test de molish (coloration rouge- violacée)

→ **Spectre RMN ¹H** (500 MHz, CD₃OD) :

δ_H 7,06 (*d*, 8,5); 6,80 (*d*, 8,5); 7,06 (*d*, 8,5); 2,79 (*t*); 3,65 (1H, *m*, H-8a); 3,92 (1H, *m*, H-8b); 4,43 (1H, *d*, 7,6); 3,21; 3,49; 3,54; 3,38; 4,29; 4,49; 7,50 (1H, *d*, 8,4); 6,61; 7,50 ; 6,35 (1H, *d*, 16,0 Hz, H-β).

→ **Spectre RMN ¹³C** (125 MHz, CD₃OD) :

δ_C 130,3 ; 130,7 ; 116,7 ; 156,7 ; 71,7 ; 104,2 ; 74,9 ; 77,9
71,4 ; 75,0 ; 64,4 ; 126,9 ; 115,9 ; 131,0 160,7 ; 115,3 ; 146,5 ; 167,5.

III.6.5 Caractéristique de SNF₅

→ **Classe** : alcaloïde

→ **Aspect physique** : poudre blanche

→ **Test caractéristique** : Valser-Mayer (positif)

III.7 Screening chimique

III.7.1 Test de Liebermann Buchard pour l'identification des triterpènes et stérols

Dans un tube à essai, on dissout une petite quantité de l'extrait dans le chloroforme, puis on ajoute respectivement quelques gouttes d'anhydride acétique et d'acide sulfurique concentré. La présence des triterpènes se manifeste par l'apparition de la coloration rouge violacée et celle des stérols par une coloration bleue verdâtre.

III.7.2 Test de Valsler-Mayer pour l'identification des alcaloïdes

Dans un tube à essai, on dissout une petite quantité de l'extrait à l'éthanol. A la solution obtenue, on ajoute quelques gouttes de réactif de Mayer (tétraiodomercurate de potassium) et quelques gouttes d'acide sulfurique concentré, la présence des alcaloïdes se manifeste par la formation immédiate d'un précipité blanc jaunâtre que nous avons observé.

III.7.3 Test de Shinoda pour l'identification des flavonoïdes

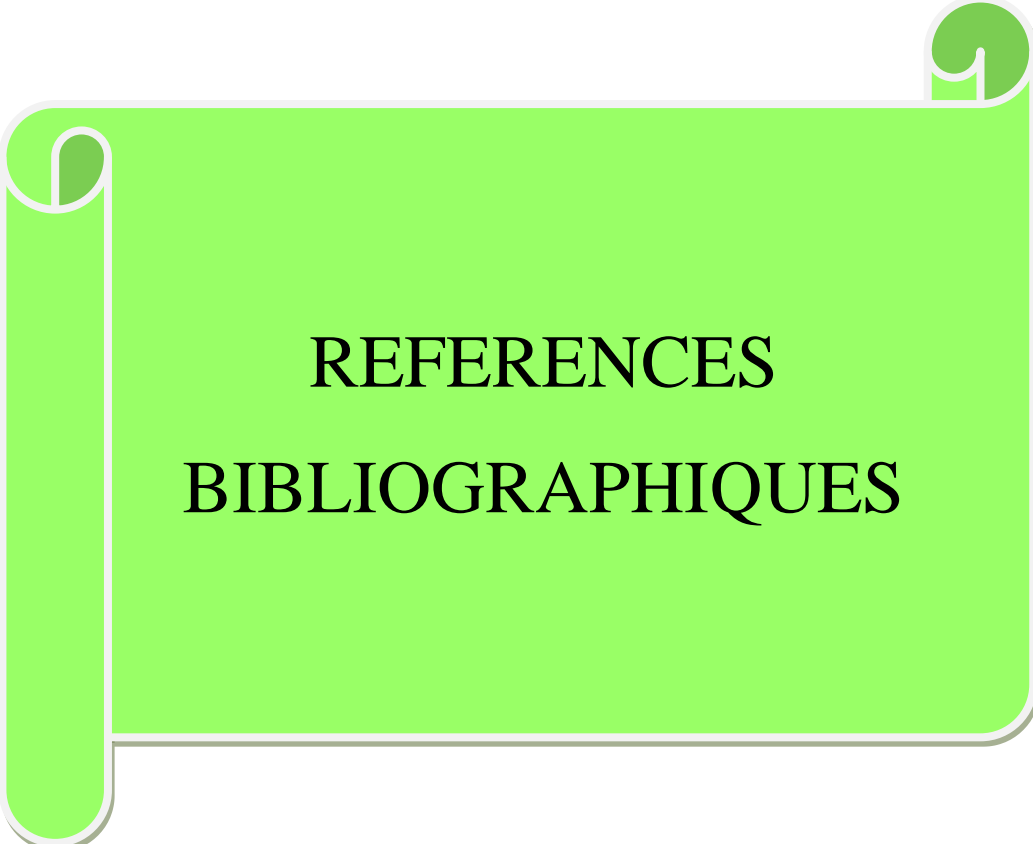
Dans une solution alcoolique contenant l'extrait, on ajoute quelques gouttes d'acide chlorhydrique concentré et quelques copeaux de magnésium. La présence des flavonoïdes se manifeste par une effervescence suivie de l'apparition d'une couleur rouge brique.

III.7.4 Test de Molish pour l'identification des sucres

Dans un tube à hémolyse, dissoudre une petite quantité d'extrait à l'éthanol, puis ajouter le α -naphtol 1% (1 g de α -naphtol dans 99 g d'éthanol). Ensuite, laisser couler sur la paroi quelques gouttes de H_2SO_4 concentré. La présence du sucre se manifeste par l'apparition d'un anneau rouge- violacé à l'interface.

III.7.5 Test des composés phénoliques.

Dans un tube à hémolyse, dissoudre une petite quantité d'extrait dans le méthanol. A la solution obtenu, on ajoute quelques gouttes de $FeCl_3$. La présence des phénols se manifeste par l'apparition d'une couleur violette.



REFERENCES
BIBLIOGRAPHIQUES

1. **Ahmed, E. A., Khaled, M. M., Enaam, Y. B., Mahmoud, H. M.** (2013). Matsutake alcohol glycosides from *Sanchezia nobilis*. *Chemistry of Natural compounds*, **48**. 930-931.
2. **Ahmed, E. A., Khaled, M. M., Enaam, Y. B., Mahmoud, H. M.** (2014). Cinnamyl alcohol, benzyl alcohol, and flavonoid glycosides from *sanchezia nobilis*. *Chemistry of natural compounds*, **50**. 823-824
3. **Akroum, S.** (2011). « Etude Analytique et biologique des Flavonoïdes Naturels ». Thèse de doctorat; Université de Mentouri de Constantine, Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie.
4. **Beek, J. P., Craste, d. P. A.** (1988). « Activités biologiques des oxystérols ». Paris : Éditions INSERM. Pp 23-40.
5. **Bok, J. W., Lermer, L., Chilton, J., Klingeman, H., Towers, G. N.** (1999). Antitumour sterols from the mycelia of *cordiceps sinensis*. *Phytochemistry*, **51**. 891-898
6. **Bruneton, J.** (1993). Pharmacognosy, phytochemistry & Medicinal Plants. *Technique et Documents Lavoisier*, Paris, **3**. 663-669
7. **Bruneton, J.** (1999). « Pharmacognosie, phytochimie et plantes médicinales ». 3^e . Edition. Rue Lavoisier, France : Technique et Documentation. Pp 279-283.
10. **Bruneton, J.** (2009). « Pharmacognosie, phytochimie et plantes médicinales. 2^{ème} Edition, Technique Documentation Lavoisier ». 816-822
11. **Cai, J., Zhao, X. L., Liu, A. W., Nian, H., Zhang, S. H.** (2011). Apigenin inhibits hepatoma cell growth through alteration of gene expression patterns. *Phytomedicine*, **18**. 366-373.
12. **Caprio, V., Guyen, B., Opoku-Boahen, Y., Mann, J., Gowan, A M., Kelland, L M., Readd, M A., Neidled, S.,** (2000). A novel inhibitor of human telomerase derived from 10Hindolo [3,2-b] quinoline. *Bio. org Med .Chem. Lett.*, **10**. 2063-2066.
13. **Cazarolli, L. H., Zanatta, L., Jorge, A. P., De Sousa, E., Horst, H., Woehl, V. M., Pizzolatti, M. G., Szpoganicz, B., Silva, F. R.** (2006). Follow-up studies on glycosylated flavonoids and their complexes with vanadium: their anti hyperglycemic potential role in diabetes. *Chem-BiolInteract*, **163**. 177-191.

14. **Chung, B.H., Lee, J.J., Kim, J.D., Jeoung, D., Lee, H., Choe, J., HaKS, Kwon, Y.G., Kim, Y.M.** (2010). Angiogenic activity of sesamin through the activation of multiple signal pathways. *Biochem Bioph Res Co*, **391**. 254-260.
15. **CLAY, HORACE, F., HUBBARD, JAMES, C., GOLT, RICK.** (1987). les arbustes tropicaux *University of Hawaii Press*. [ISBN 0-8248-1128-3](#)
16. **Duncan, A.M., Phipps, W.R., Kurzer, M.S.** (2003). Phyto-oestrogens. *Best Pract. Res. Clin. Endocrinol.Metab*, **17**. 253-271
18. **Geone, M. C., Viviane, G. d. C. A., Débora, A. d. A. M., Jacqueline, A. T., Humberto, d. S. F., Denise, C. C., Dorila, P. V., Antônio, F. d. C. A.** (2014). Anti-inflammatory and antimicrobial activities of steroids and triterpenes isolated from aerial parts of *justicia acuminatisima* (Acanthaceae). *International journal of pharmacy and pharmaceutical Sciences*, **6**. 75-81
19. **Gorzalczany, S., Marrassini, C., Miño, J., Acevedo, C., Ferraro, G.** (2011). Antinociceptive activity of ethanolic extract and isolated compounds of *Urtica circular is*. *J Ethnopharmacol*, **134**. 733-738.
20. **Hartmann, T.** (1991). Alkaloids. In Rosenthal, G.A. and Berenbaum, M.R. (Eds), *Herbivores: their interactions with secondary plant metabolites*, 2E, **1**. *the chemical participants*, New York Academic Press.
21. **Heine, H.** (1966). « Flore du Gabon: 13, Acanthaceae ». Muséum National d'Histoire Naturelle, Paris. Pp 3-6
22. **Hu, C., Yuan, Y.V., Kitts, D.D.** (2007). Antioxidant activities of the flaxseed lignan secoisolariciresinol diglucoside, its aglycone secoisolariciresinol and the mammalian lignans enterodiol and enterolactone *in vitro*. *Food Chem. Toxicol*, **45**. 2219-2227.
23. **Laszyk, M.** (2009). Pentacyclic triterpenes of the lupane, oleanane and ursane group as tools in cancer therapy. *Planta Med*, **75**. 1549-60. [PMID 19742422](#), Récupérée de « [http:// www.wikiphyto.org/w/index.php?title=Triterpènes&oldid=15442](http://www.wikiphyto.org/w/index.php?title=Triterpènes&oldid=15442) » le 18 Mai 2015
24. **Law, M.** (2000). Plant sterol and stanol margarines and health. *BM.J*, **320**.861-864

25. **Luhata, L. P. et Munkombwe, N. M.** (2015). Isolation and caractérisation of Stigmasterol and β -Sitosterol from *Odontenema Strictum* (Acanthaceae). *Quim.Nova*, **26**. 922-923
26. **Leonard, C. E., Smith, L. B.** (1964). *Sanchezia* et Acanthaceae connexes américain. *Rhodora*, **66**. 313-343
27. **Kamonnate, S., Chusie, T., Prasit, W. P., Henrik, B.** (2012). Medicinal plants used in Hmong wovnen's heath care in Northern Thailand. *Journal of ethnopharmacology*, **139**.119 - 135
28. **Kanchanapoom, T., Noiarsa, P., Ruchirawat, S., Kasai, R., Otsuka, H.** (2004). Triterpenoidal glycosides from *Justicia betonica*. *Phytochemistry*, **65**. 2613-2618
29. **Küpel, E., Erdemoglu, N., Yesilada, E., Sener, B.** (2003). Anti inflammatory and anti nociceptive activity of taxoids and lignans from the heart wood of *Taxus baccata* L.J *Ethnopharmacol*, **89**. 265-270.
30. **Melchior** (1964). « Syllabus », édition 12. P 456
31. **Meyer Jean-Yves** (2008). Rapport de mission d'expertise a Rapa Nui du 02 au 11 Juin 2008: Plan d'action strategique pour lutter contre les plantes introduites envahissantes sur Rapa Nui (Île de pâques) [Strategic action plan to control invasive alien plants on Rapa Nui (Easter Island) [unpublished report]. Délégation à la Recherche, Ministère de l'Education, l'Enseignement supérieur et la Recherche, B.P. 20981 Papeete, Tahiti, Polynésie française, **62**.
32. **Niu, C S., Chen, W., Wu, H T., Cheng, K C., Wen, Y J., Lin, K C., Cheng, J T.** (2010). Decrease of plasma glucose by allantoin, an active principle of yam (*Dioscorea* spp.), in streptozotocin-Induced Diabetic Rats. *J Agr Food Chem*, **58**. 12031-12035.
33. **OMS**, (2002). Strategie de l'OMS pour la Médecine traditionnelle pour 2002- 2005. Genève, p 78.
34. **Paydar, M. J., Wong, Y. L., Moharam, B. A., Wong, W. F., Looi, C. Y.** (2013). In vitro anti- oxydant et anti-cancer activité de l'extrait méthanolique de *Sanchezia speciosa* laisse. *Pak. J. Bio. Sci.*, **16 (20)**. 1212-1215.
<http://dx.doi.org/10.3923/pjbs.2013.1212.1215>

35. **Rachana, Sujata, B., Mamta, P., Manoj, K P., Sonam, S.** (2011). Review and future perspectives of using vasicine, and related compounds. *I.G.J.P.S*, **1**. 85-98.
36. **Rafshanjani, M. A. S., Parvin, S., Kader, M. A., Saha, M. R., Akhtar, M. A.** (2014). In vitro antibactérien, antifongique et activités insecticides d'extrait éthanolique et ses fractions de *Sanchezia speciosa* Hook.f. *Int. Res. J. Pharm.*, **5 (9)**. 717-720.
<http://dx.doi.org/10.7897/2230-8407.0509146>
37. **Rajasekhar, D., Subbaraju, G.V.** (2000). Jusmicranthin, a new aryl naphthalide lignan from *Justicia neesii*. *Fitoterapia*, **71**. 598-599
38. **Rios, J. L.** (2010). Effects of triterpenes on the immune system. *J Ethnopharmacol*, **128**. 1-14. [PMID 20079412](https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/20079412/) [texte intégral](#); Récupérée de « [http:// www.wikiphyto.org/w/index.php?title=Triterpènes&oldid=15442](http://www.wikiphyto.org/w/index.php?title=Triterpènes&oldid=15442) »
39. **Subbaraju, G.V., Kumar, K.K., Raju, B.L., Pillai, K.R., Reddy, M.C.** (1991). Justiciresinol, a new furanoid lignan from *Justicia glauca*. *J.Nat .Prod.*, **6**. 1639-1641.
40. **Trease, G. E. et Evans, W. C.** (1983). « Orders and families of plants, in pharmacognosy », 12th ed., Oxford, Great Britain. Pp 219-223
41. **Trease, G. E. et Evans, W. C.** (1983). « Pharmacognosy », 12th ed., Baillere and Tindall Press, London. P 35
42. **Vergès, B.** (2009). Les phytosterols : quels bénéfiques ? Quels risques ? *Médecine des Maladies Métaboliques*, **3**. 589-593
43. **Whistler, W. A.** (2000). Tropical ornamentals: a guide. Timber Press, Portland, Oregon. **542** pp
44. **Woodman, O. L., Meeker, W. F., Boujaoude, M.** (2005). Vasorelaxant and antioxidant activity of flavonols and flavones : structure - activity relationships. *J. Cardiovasc. Pharmacol.*, **46**. 302-309