

REPUBLIQUE DU CAMEROUN

*Paix – Travail – Patrie*

\*\*\*\*\*

UNIVERSITE DE YAOUNDE I

FACULTÉ DES SCIENCES

DEPARTEMENT DE CHIMIE

ORGANIQUE

\*\*\*\*\*

CENTRE DE RECHERCHE ET DE

FORMATION DOCTORALE EN

SCIENCES, TECHNOLOGIES ET

GÉOSCIENCES



REPUBLIC OF CAMEROUN

*Peace – Work – Fatherland*

\*\*\*\*\*

UNIVERSITY OF YAOUNDE I

FACULTY OF SCIENCE

DEPARTMENT OF ORGANIC

CHEMISTRY

\*\*\*\*\*

POSTGRADUATE SCHOOL OF

SCIENCE, TECHNOLOGY AND

GEOSCIENCE

**Constituants chimiques et activités antiparasitaires  
de *Beilschmiedia louisii* Robyns & R. Wilczek,  
*Beilschmiedia obscura* Engl. et *Persea americana* Mill  
(Lauraceae). Structures, synthèse de quelques  
dérivés de l'acide beilschmiedique E.**

THÈSE

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

Par : **WALEGUELE Christine Claire**  
Master en Chimie Organique

Sous la direction de  
**LENTA NDJAKOU Bruno**  
Professeur  
**TSAMO Etienne Voltaire**  
Professeur Emérite

Année Académique : 2020



# LISTE PROTOCOLAIRE DES ENSEIGNANTS DE LA FACULTE DES SCIENCES

Année académique : 2019-2020

(Par Département et par grade)

Date d'actualisation : 12 juin 2020

## Administration

**Doyen** : TCHOUANKEU Jean Claude, *Maitre de Conférences*

**Vice-Doyen / DPSAA** : ATCHADE Alex de Théodore, *Maitre de Conférences*

**Vice-Doyen / DSSE** : AJEAGAH Gideon AGHAINDUM, *Professeur*

**Vice-Doyen / DRC** : ABOSSOLO Monique, *Maitre de Conférences*

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

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

1- DÉPARTEMENT DE BIOCHIMIE (BC) (38)			
N°	Noms et Prénoms	Grade	Observations
1	BIGOGA DIAGA Jude	Professeur	En poste
2	FEKAM BOYOM Fabrice	Professeur	En poste
3	FOKOU Elie	Professeur	En poste
4	KANSCI Germain	Professeur	En poste
5	MBACHAM FON Wilfried	Professeur	En poste
6	MOUNDIPA FEWOU Paul	Professeur	<i>Chef de Département</i>
7	NINTCHOM PENLAP V. épouse BENG	Professeur	En poste
8	OBEN Julius ENYONG	Professeur	En poste
9	ACHU Merci BIH	Maître de Conférences	En poste
10	ATOGHO Barbara Mma	Maître de Conférences	En poste
11	AZANTSA KINGUE GABIN BORIS	Maître de Conférences	En poste
12	BELINGA née NDOYE FOE M. C.F.	Maître de Conférences	<i>Chef DAF / FS</i>
13	BOUDJEKO Thaddée	Maître de Conférences	En poste
14	DJUIDJE NGOUNOUE Marcelline	Maître de Conférences	En poste
15	EFFA NNOMO Pierre	Maître de Conférences	En poste
16	NANA Louise épouse WAKAM	Maître de Conférences	En poste
17	NGONDI Judith Laure	Maître de Conférences	En poste
18	NGUEFACK Julienne	Maître de Conférences	En poste
19	NJAYOU Frédéric Nico	Maître de Conférences	En poste
20	MOFOR née TEUGWA Clotilde	Maître de Conférences	<i>Inspecteur de Service MINESUP</i>
21	TCHANA KOUATCHOUA Angèle	Maître de Conférences	En poste
22	AKINDEH MBUH NJI	Chargé de Cours	En poste
23	BEBOY EDZENGUELE Sara Nathalie	Chargée de Cours	En poste
24	DAKOLE DABOY Charles	Chargé de Cours	En poste
25	DJUWKWO NKONGA Ruth Viviane	Chargée de Cours	En poste
26	DONGMO LEKAGNE Joseph Blaise	Chargé de Cours	En poste
27	EWANE Cécile Anne	Chargée de Cours	En poste
28	FONKOUA Martin	Chargé de Cours	En poste
29	BEBEE Fadimatou	Chargée de Cours	En poste
30	KOTUE KAPTUE Charles	Chargé de Cours	En poste

31	LUNGA Paul KEILAH	Chargé de Cours	En poste
32	MANANGA Marlyse Joséphine	Chargée de Cours	En poste
33	MBONG ANGIE M. Mary Anne	Chargée de Cours	En poste
34	PECHANGOU NSANGOU Sylvain	Chargé de Cours	En poste
35	Palmer MASUMBE NETONGO	Chargé de Cours	En poste
36	MBOUCHE FANMOE M. Joëlle	Assistante	En poste
37	OWONA AYISSI Vincent Brice	Assistant	En poste
38	WILFRIED ANGIE Abia	Assistante	En poste

<b>2- DÉPARTEMENT DE BIOLOGIE ET PHYSIOLOGIE ANIMALES (BPA) (48)</b>			
1	AJEAGAH Gideon AGHAINDUM	Professeur	<i>VICE-DOYEN / DSSE</i>
2	BILONG BILONG Charles-Félix	Professeur	<i>Chef de Département</i>
3	DIMO Théophile	Professeur	En Poste
4	DJIETO LORDON Champlain	Professeur	En Poste
5	ESSOMBA née NTSAMA MBALA	Professeur	<i>Vice-Doyen/FMSB/UIYI</i>
6	FOMENA Abraham	Professeur	En Poste
7	KAMTCHOUING Pierre	Professeur	En poste
8	NJAMEN Dieudonné	Professeur	En poste
9	NJIOKOU Flobert	Professeur	En Poste
10	NOLA Moïse	Professeur	En poste
11	TAN Paul VERNYUY	Professeur	En poste
12	TCHUEM TCHUENTE Louis Albert	Professeur	<i>Inspecteur de service Coord.Progr. /MINSANTÉ</i>
13	ZEBAZE TOGOUET Serge Hubert	Professeur	<i>En poste</i>
14	BILANDA Danielle Claude	Maître de Conférences	En poste
15	DJIOGUE Séfirin	Maître de Conférences	En poste
16	DZEUFUET DJOMENI Paul Désiré	Maître de Conférences	En poste
17	JATSA BOUKENG Hermine épouse MEGAPTCHE	Maître de Conférences	En Poste
18	KEKEUNOU Sévilor	Maître de Conférences	En poste
19	MEGNEKOU Rosette	Maître de Conférences	En poste
20	MONY Ruth épouse NTONE	Maître de Conférences	En Poste
21	NGUEGUIM TSOFAK Florence	Maître de Conférences	En poste
22	TOMBI Jeannette	Maître de Conférences	En poste
23	ALENE Désirée Chantal	Chargée de Cours	En poste
26	ATSAMO Albert Donatien	Chargé de Cours	En poste
27	BELLET EDIMO Oscar Roger	Chargé de Cours	En poste
28	DONFACK Mireille	Chargée de Cours	En poste
29	ETEME ENAMA Serge	Chargé de Cours	En poste
30	GOUNOUE KAMKUMO Raceline	Chargée de Cours	En poste
31	KANDEDA KAVAYE Antoine	Chargé de Cours	En poste
32	LEKEUFACK FOLEFACK Guy B.	Chargé de Cours	En poste
33	MAHOB Raymond Joseph	Chargé de Cours	En poste
34	MBENOUN MASSE Paul Serge	Chargé de Cours	En poste
35	MOUNGANG Luciane Marlyse	Chargée de Cours	En poste
36	MVEYO NDANKEU Yves Patrick	Chargé de Cours	En poste
37	NGOULATEU KENFACK Omer Bébé	Chargé de Cours	En poste
38	NGUEMBOK	Chargé de Cours	En poste
39	NJUA Clarisse Yafi	Chargée de Cours	<i>Chef Div. UBA</i>
40	NOAH EWOTI Olive Vivien	Chargée de Cours	En poste
41	TADU Zephyrin	Chargé de Cours	En poste

42	TAMSA ARFAO Antoine	Chargé de Cours	En poste
43	YEDE	Chargé de Cours	En poste
44	BASSOCK BAYIHA Etienne Didier	Assistant	En poste
45	ESSAMA MBIDA Désirée Sandrine	Assistante	En poste
46	KOGA MANG DOBARA	Assistant	En poste
47	LEME BANOCK Lucie	Assistante	En poste
48	YOUNOUSSA LAME	Assistant	En poste

<b>3- DÉPARTEMENT DE BIOLOGIE ET PHYSIOLOGIE VÉGÉTALES (BPV) (33)</b>			
1	AMBANG Zachée	Professeur	<i>Chef Division/UYII</i>
2	BELL Joseph Martin	Professeur	En poste
3	DJOCGOUE Pierre François	Professeur	En poste
4	MOSSEBO Dominique Claude	Professeur	En poste
5	YOUMBI Emmanuel	Professeur	<i>Chef de Département</i>
6	ZAPFACK Louis	Professeur	En poste
7	ANGONI Hyacinthe	Maître de Conférences	En poste
8	BIYE Elvire Hortense	Maître de Conférences	En poste
9	KENGNE NOUMSI Ives Magloire	Maître de Conférences	En poste
10	MALA Armand William	Maître de Conférences	En poste
11	MBARGA BINDZI Marie Alain	Maître de Conférences	CT/ MINESUP
12	MBOLO Marie	Maître de Conférences	En poste
13	NDONGO BEKOLO	Maître de Conférences	<i>CE / MINRESI</i>
14	NGODO MELINGUI Jean Baptiste	Maître de Conférences	En poste
15	NGONKEU MAGAPTCHE Eddy L.	Maître de Conférences	En poste
16	TSOATA Esaïe	Maître de Conférences	En poste
17	TONFACK Libert Brice	Maître de Conférences	En poste
18	DJEUANI Astride Carole	Chargé de Cours	En poste
19	GOMANDJE Christelle	Chargée de Cours	En poste
20	MAFFO MAFFO Nicole Liliane	Chargé de Cours	En poste
21	MAHBOU SOMO TOUKAM. Gabriel	Chargé de Cours	En poste
22	NGALLE Hermine BILLE	Chargée de Cours	En poste
23	NGOUO Lucas Vincent	Chargé de Cours	En poste
24	NNANGA MEBENGA Ruth Laure	Chargé de Cours	En poste
25	NOUKEU KOUAKAM Armelle	Chargé de Cours	En poste
26	ONANA JEAN MICHEL	Chargé de Cours	En poste
27	GODSWILL N. NTSEFONG	Assistant	En poste
28	KABELONG B. Louis-Paul-Roger	Assistant	En poste
29	KONO Léon Dieudonné	Assistant	En poste
30	LIBALAH Moses BAKONCK	Assistant	En poste
31	LIKENG-LI-NGUE Benoit C	Assistant	En poste
32	TAEDOUNG Evariste Hermann	Assistant	En poste
33	TEMEGNE NONO Carine	Assistant	En poste

<b>4- DÉPARTEMENT DE CHIMIE INORGANIQUE (CI) (34)</b>			
1	AGWARA ONDOH Moïse	Professeur	<i>Chef de Département</i>
2	ELIMBI Antoine	Professeur	En poste
3	Florence UFI CHINJE épse MELO	Professeur	<i>Recteur Univ.Ngaoundere</i>
4	GHOGOMU Paul MINGO	Professeur	<i>Ministre Chargé de Miss.PR</i>
5	NANSEU Njiki Charles Péguy	Professeur	En poste
6	NDIFON Peter TEKE	Professeur	<i>CT MINRESI</i>
7	NGOMO Horace MANGA	Professeur	<i>Vice Chancellor/UB</i>

8	NDIKONTAR Maurice KOR	Professeur	<i>Vice-Doyen/ Bamenda</i>	<i>Univ.</i>
9	NENWA Justin	Professeur	En poste	
10	NGAMENI Emmanuel	Professeur	<i>Doyen FS/UDs</i>	
11	BABALE née DJAM DOUDOU	Maître de Conférences	<i>Chargée Mission P.R.</i>	
12	DJOUFAC WOUMFO Emmanuel	Maître de Conférences	En poste	
13	EMADACK Alphonse	Maître de Conférences	En poste	
14	KAMGANG YOUBI Georges	Maître de Conférences	En poste	
15	KEMMEGNE MBOUGUEM Jean C.	Maître de Conférences	En poste	
16	KONG SAKEO	Maître de Conférences	En poste	
17	NDI NSAMI Julius	Maître de Conférences	En poste	
18	NJIOMOU C. épouse DJANGANG	Maître de Conférences	En poste	
19	NJOYA Dayirou	Maître de Conférences	En poste	
20	ACAYANKA Elie	Chargé de Cours	En poste	
21	BELIBI BELIBI Placide Désiré	Chargé de Cours	<i>CS/ ENS Bertoua</i>	
22	CHEUMANI YONA Arnaud M.	Chargé de Cours	En poste	
23	KENNE DEDZO GUSTAVE	Chargé de Cours	En poste	
24	KOUOTOU Daouda	Chargé de Cours	En poste	
25	MAKON Thomas Beauregard	Chargé de Cours	En poste	
26	MBEY Jean Aime	Chargé de Cours	En poste	
27	NCHIMI NONO KATIA	Chargé de Cours	En poste	
28	NEBA née NDOIRI Bridget NDOYE	Chargée de Cours	<i>CT/ MINFEM</i>	
29	NYAMEN Linda Dyorisse	Chargée de Cours	En poste	
30	PABOUDAM GBAMBIE A.	Chargée de Cours	En poste	
31	TCHAKOUTE KOUAMO Hervé	Chargé de Cours	En poste	
32	NJANKWA NJABONG N. Eric	Assistant	En poste	
33	PATOUOSSA ISSOFA	Assistant	En poste	
34	SIEWE Jean Mermoz	Assistant	En Poste	

<b>5- DÉPARTEMENT DE CHIMIE ORGANIQUE (CO) (35)</b>				
1	DONGO Etienne	Professeur	<i>Vice-Doyen/DSSE/Fac. SED</i>	
2	GHOUMU TIH Robert Ralph	Professeur	<i>Dir. IBAF/UDA</i>	
3	NGOUELA Silvère Augustin	Professeur	<i>Chef de Dpt UDs</i>	
4	NKENGFAK Augustin Ephrem	Professeur	<i>Chef de Département</i>	
5	NYASSE Barthélemy	Professeur	En poste	
6	PEGNYEMB Dieudonné Emmanuel	Professeur	<i>Directeur/ MINESUP</i>	
7	WANDJI Jean	Professeur	En poste	
8	Alex de Théodore ATCHADE	Maître de Conférences	<i>Vice-Doyen / DPSAA</i>	
9	EYONG Kenneth OBEN	Maître de Conférences	En poste	
10	FOLEFOC Gabriel NGOSONG	Maître de Conférences	En poste	
11	FOTSO WABO Ghislain	Maître de Conférences	En poste	
12	KEUMEDJIO Félix	Maître de Conférences	En poste	
13	KEUMOGNE Marguerite	Maître de Conférences	En poste	
14	KOUAM Jacques	Maître de Conférences	En poste	
15	MBAZOA née DJAMA Céline	Maître de Conférences	En poste	
16	MKOUNGA Pierre	Maître de Conférences	En poste	
17	NOTE LOUGBOT Olivier Placide	Maître de Conférences	<i>Chef Service/MINESUP</i>	
18	NGO MBING Joséphine	Maître de Conférences	<i>Sous/Direct. MINRESI</i>	
19	NGONO BIKOBO Dominique Serge	Maître de Conférences	<i>Chargé d'Études Ass. n°3/MINESUP</i>	
20	NOUNGOUE TCHAMO Diderot	Maître de Conférences	En poste	
21	TABOPDA KUATE Turibio	Maître de Conférences	En poste	

22	TCHOUANKEU Jean-Claude	Maître de Conférences	<i>Doyen/FS/UYY</i>
23	TIH née NGO BILONG E. Anastasie	Maître de Conférences	En poste
24	YANKEP Emmanuel	Maître de Conférences	En poste
25	AMBASSA Pantaléon	Chargé de Cours	En poste
26	KAMTO Eutrophe Le Doux	Chargé de Cours	En poste
27	MVOT AKAK Carine	Chargé de Cours	En poste
28	NGNINTEDO Dominique	Chargé de Cours	En poste
29	NGOMO Orléans	Chargée de Cours	En poste
30	OUAHOUC WACHE Blandine M.	Chargée de Cours	En poste
31	SIELINOUC TEDJON Valérie	Chargé de Cours	En poste
32	TAGATSING FOTSING Maurice	Chargé de Cours	En poste
33	ZONDENDEGOUMBA Ernestine	Chargée de Cours	En poste
34	MESSI Angélique Nicolas	Assistant	En poste
35	TSEMEUGNE Joseph	Assistant	En poste

#### 6- DÉPARTEMENT D'INFORMATIQUE (IN) (27)

1	ATSA ETOUNDI Roger	Professeur	<i>Chef Div. MINESUP</i>
2	FOUDA NDJODO Marcel Laurent	Professeur	<i>Chef Dpt ENS/Chef IGA. MINESUP</i>
3	NDOUNAM René	Maître de Conférences	En poste
4	AMINOUC Halidou	Chargé de Cours	<i>Chef de Département</i>
5	DJAM Xaviera YOUH-KIMBI	Chargé de Cours	En Poste
6	EBELE Serge Alain	Chargé de Cours	En poste
7	KOUOKAM KOUOKAM E. A.	Chargé de Cours	En poste
8	MELATAGIA YONTA Paulin	Chargé de Cours	En poste
9	MOTO MPONG Serge Alain	Chargé de Cours	En poste
10	TAPAMO Hyppolite	Chargé de Cours	En poste
11	ABESSOUC ALO'O Gislain	Chargé de Cours	En poste
12	MONTHE DJIADEUC Valery M.	Chargé de Cours	En poste
13	OLLE OLLE Daniel Claude Delort	Chargé de Cours	<i>C/D Enset. Ebolowa</i>
14	TINDO Gilbert	Chargé de Cours	En poste
15	TSOPZE Norbert	Chargé de Cours	En poste
16	WAKU KOUAMOUC Jules	Chargé de Cours	En poste
17	BAYEM Jacques Narcisse	Assistant	En poste
18	DOMGA KOMGUEM Rodrigue	Assistant	En poste
19	EKODECK Stéphane G. Raymond	Assistant	En poste
20	HAMZA Adamou	Assistant	En poste
21	JIOMEKONG AZANZI Fidel	Assistant	En poste
22	MAKEMBE S. Oswald	Assistant	En poste
23	MESSI NGUELE Thomas	Assistant	En poste
24	MEYEMDOUC Nadège Sylvianne	Assistante	En poste
25	NKONDOCK M. BAHANACK N.	Assistant	En poste

#### 7- DÉPARTEMENT DE MATHÉMATIQUES (MA) (30)

1	EMVUDUC WONO Yves S.	Professeur	<i>Inspecteur MINESUP</i>
2	AYISSI Raoult Domingo	Maître de Conférences	<i>Chef de Département</i>
3	NKUIMI JUGNIA Célestin	Maître de Conférences	En poste
4	NOUNDJEU Pierre	Maître de Conférences	<i>Chef service des programmes &amp; Diplômes</i>
5	MBEHOU Mohamed	Maître de Conférences	En poste
6	TCHAPNDA NJABO Sophonie B.	Maître de Conférences	Directeur/AIMS Rwanda

7	AGHOUKENG JIOFACK J. Gérard	Chargé de Cours	<i>Chef</i> <i>MINPLAMAT</i>	<i>Cellule</i>
8	CHENDJOU Gilbert	Chargé de Cours	En poste	
9	DJIADEU NGAHA Michel	Chargé de Cours	En poste	
10	DOUANLA YONTA Herman	Chargé de Cours	En poste	
11	FOMEKONG Christophe	Chargé de Cours	En poste	
12	KIANPI Maurice	Chargé de Cours	En poste	
13	KIKI Maxime Armand	Chargé de Cours	En poste	
14	MBAKOP Guy Merlin	Chargé de Cours	En poste	
15	MBANG Joseph	Chargé de Cours	En poste	
16	MBELE BIDIMA Martin Ledoux	Chargé de Cours	En poste	
17	MENGUE MENGUE David Joe	Chargé de Cours	En poste	
18	NGUEFACK Bernard	Chargé de Cours	En poste	
19	NIMPA PEFOUKEU Romain	Chargée de Cours	En poste	
20	POLA DOUNDOU Emmanuel	Chargé de Cours	En poste	
21	TAKAM SOH Patrice	Chargé de Cours	En poste	
22	TCHANGANG Roger Duclos	Chargé de Cours	En poste	
23	TCHOUNDJA Edgar Landry	Chargé de Cours	En poste	
24	TETSADJIO TCHILEPECK M.E.	Chargée de Cours	En poste	
25	TIAYA TSAGUE N. Anne-Marie	Chargée de Cours	En poste	
26	MBIAKOP Hilaire George	Assistant	En poste	
27	BITYE MVONDO Esther Claudine	Assistante	En poste	
28	MBATAKOU Salomon Joseph	Assistant	En poste	
29	MEFENZA NOUNTU Thiery	Assistant	En poste	
30	TCHEUTIA Daniel Duviol	Assistant	En poste	

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

1	ESSIA NGANG Jean Justin	Professeur	<i>Chef de Département</i>	
2	BOYOMO ONANA	Maître de Conférences	En poste	
3	NWAGA Dieudonné M.	Maître de Conférences	En poste	
4	NYEGUE Maximilienne Ascension	Maître de Conférences	En poste	
5	RIWOM Sara Honorine	Maître de Conférences	En poste	
6	SADO KAMDEM Sylvain Leroy	Maître de Conférences	En poste	
7	ASSAM ASSAM Jean Paul	Chargé de Cours	En poste	
8	BODA Maurice	Chargé de Cours	En poste	
9	BOUGNOM Blaise Pascal	Chargé de Cours	En poste	
10	ESSONO OBOUGOU Germain G.	Chargé de Cours	En poste	
11	NJIKI BIKOÏ Jacky	Chargée de Cours	En poste	
12	TCHIKOUA Roger	Chargé de Cours	En poste	
13	ESSONO Damien Marie	Assistant	En poste	
14	LAMYE Glory MOH	Assistant	En poste	
15	MEYIN A EBONG Solange	Assistante	En poste	
16	NKOUDOU ZE Nardis	Assistant	En poste	
17	SAKE NGANE Carole Stéphanie	Assistante	En poste	
18	TOBOLBAÏ Richard	Assistant	En poste	

#### 9- DEPARTEMENT DE PYSIQUE(PHY) (40)

1	BEN- BOLIE Germain Hubert	Professeur	En poste	
2	EKOBENA FOU DA Henri Paul	Professeur	<i>Chef Division UN</i>	
3	ESSIMBI ZOBO Bernard	Professeur	En poste	
4	KOFANE Timoléon Crépin	Professeur	En poste	
5	NANA ENGO Serge Guy	Professeur	En poste	

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

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

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



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

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

<b>NOMBRE D'ENSEIGNANTS</b>					
<b>Département</b>	<b>Professeurs</b>	<b>Maîtres de Conférences</b>	<b>Chargés de Cours</b>	<b>Assistants</b>	<b>Total</b>
BCH	9 (1)	13 (09)	14 (06)	3 (2)	<b>39 (18)</b>
BPA	13 (1)	09 (06)	19 (05)	05 (2)	<b>46 (14)</b>
BPV	06 (0)	11 (02)	9 (06)	07 (01)	<b>33 (9)</b>
CI	10 (1)	9 (02)	12 (02)	03 (0)	<b>34 (5)</b>
CO	7 (0)	17 (04)	09 (03)	02 (0)	<b>35(7)</b>
IN	2 (0)	1 (0)	13 (01)	09 (01)	<b>25 (2)</b>
MAT	1 (0)	5 (0)	19 (01)	05 (02)	<b>30 (3)</b>
MIB	1 (0)	5 (02)	06 (01)	06 (02)	<b>18 (5)</b>
PHY	12 (0)	15 (02)	10 (03)	03 (0)	<b>40 (5)</b>
ST	8 (1)	14 (01)	19 (05)	02 (0)	<b>43(7)</b>
<b>Total</b>	<b>69 (4)</b>	<b>99 (28)</b>	<b>130 (33)</b>	<b>45 (10)</b>	<b>344 (75)</b>

Un total de **343 (75)** dont :

Professeurs **68 (4)**

Maîtres de Conférences **99 (28)**

Chargés de Cours **130 (33)**

Assistants **46 (10)**

() = Nombre de Femmes **75**

## CERTIFICATION

Par la présente, les soussignés, **TSAMO Etienne Voltaire** (*Professeur*), et **LENTA NDJAKOU Bruno** (*Professeur*) co-directeur de thèse de Doctorat/Ph.D de **Madame WALEGUELE Christine Claire**, (titulaire d'un Master en Chimie Organique, Matricule 07T665) certifient que le présent travail a été effectué par la candidate au Laboratoire des Substances Naturelles d'intérêt Thérapeutique et de Synthèse Organique (LSNSO) du Département de Chimie (ENS), de la Faculté des Sciences de l'Université de Yaoundé I (Cameroun). Ce travail a été fait en collaboration avec le Laboratoire de Chimie Organique (F22) de l'Université de Rhodes.

Les résultats obtenus n'ont encore fait l'objet d'aucune présentation pour l'acquisition de quelque diplôme académique que ce soit.

### Les Co-directeurs

**LENTA NDJAKOU Bruno**

**TSAMO Etienne Voltaire**

## DEDICACE

À

*Mon amour Roland Marthial TCHANTCHOU*

*Et*

*À mes enfants*

❖ *Viani Le Roy NONO TCHANTCHOU*

❖ *Sarah Keisha METAGHO TCHANTCHOU*

## REMERCIEMENTS

L'achèvement de ce travail n'aurait été possible sans l'aide, la participation et les conseils de certaines personnes. Je tiens de ce fait à exprimer mes remerciements les plus sincères et ma profonde reconnaissance à tous ceux et celles qui de près ou de loin y ont contribué. J'adresse avant tout, mes sincères remerciements :

À mes superviseurs de thèse, les Professeurs Etienne TSAMO et Bruno LENTA NDJAKOU pour avoir dirigé de bout en bout ce travail ainsi que pour leur grande disponibilité, leurs discussions constructives, les multiples conseils, les encouragements et leur soutien ;

Au Professeur Rui KRAUSE, Université de Rhodes, Afrique du Sud pour m'avoir donné l'opportunité de finaliser ce travail dans son unité de recherche et pour tous les conseils prodigués et le soutien incommensurable ;

Au Professeur Norbert SEWALD, Université de Bielefeld, Allemagne pour m'avoir donné l'opportunité d'analyser une partie des composés dans son laboratoire ;

Aux Professeurs Silvère NGOUELA, Chef de Département de Chimie de la Faculté des Sciences de l'Université de Dschang et Chef de notre laboratoire, Diderot NOUNGOUE, pour les encadrements et multiples conseils tout au long de ce travail.

Au Professeur Augustin Éphrem NKENGFACK, Chef de Département de Chimie Organique de l'Université de Yaoundé I, pour son dynamisme, son dévouement et sa disponibilité dans la bonne marche du Département ;

Aux professeurs, Anglebert AWANTU et Jean-Jules BANKEU pour les multiples conseils, encouragements et soutien ;

Au Docteur Brice MBA'NING, pour l'accompagnement, son soutien moral et scientifique, les conseils qu'il m'a prodigués ;

Aux Docteurs Ferdinand TANTANGMO, Aimée TCHUENTE, Rosine NGAMGWE, Jules NGATCHOU, Joël ATEBA et Flaure ESSOUNG pour les multiples conseils, encouragements et soutien ;

Aux Docteurs Christian NKANGA, Xavier SIWE NOUNDOU, Richard BETECK, Marcelin ATEMKENG, Ogunyemi ODERINLO, pour les multiples conseils, encouragements et leur soutien lors de mes séjours en Afrique du Sud,

À mes promotionnaires, amis et camarades au sein du laboratoire Dr. Donald Ulrich KAGHO, Maxime THIENEHOM TADJUDJE, Thierry KOAGNE WAFO, Linda MATCHI TOUSSI, Gertrude FOU DJO MELACHEU, Dr. Pamela NANGMO pour les encouragements et les bons moments passés ensemble ;

À mes camarades de laboratoire Padiki NARTEY ADWOA, Okafor NNAMDI, Theresa COSSA, Alain BAPOLISI, Mbaba MZIYANDA, Ebenezer M'BAA, Melody MANYERUKE, Bertha CHITHAMBO, Gervaise MAKONI, Lidya KISULA, Ayanda ZULU, Khethobole SEKGOTA et Fostino BOKOSI pour les encouragements et leur soutien au sein du laboratoire pendant mes séjours en Afrique du Sud.

À mes cadets de laboratoire Sonia DJIKI YANKEP, Clémence DONFACK GOUNI, Suzy Hardo DONFACK CHOUNA, Kevine Johanne JUMETA DONGMO, Jean KOFFI GARBA, Argan Kelly WOUNKAM et Armelle TSAKOU pour l'ambiance qu'ils ont amené au sein du laboratoire ;

À Monsieur Victor NANA de l'Herbier National du Cameroun pour l'identification du matériel végétal ;

À ma maman Esther METAGHO qui, grâce à son affection permanente et à sa détermination dans le travail m'a soutenu au prix de sacrifices inoubliables ;

À mes frères Gabriel FOYET, Fernand ZOMO, Lazard NGUENEYET et Barnabé GUEMO qui m'ont toujours soutenu et encouragés ;

À mes sœurs Anne MAFOKOU, Denise METIASOCK, Micheline MEGNI et Ernestine NANGMO pour leurs soutiens et sacrifices inoubliables ;

À mes nièces et neveux Ariel Fayol ZEUDOM, Yann LEUKEUFACK, Sindy LEMOFOUET et Didi KENFACK pour leur soutien et encouragements ;

À mon Beau père Paul TCHANTCHOUANG pour son soutien et ses encouragements,

À la DAAD (*German Academic Exchange Service*) avec le financement du Ministère Fédéral de la Coopération économique et du Développement (BMZ) à travers « *the Yaoundé-Bielefeld Graduate School of Natural Products with Antiparasite and Antibacterial activities* » (YABINAPA, [www.yabinapa.de](http://www.yabinapa.de)), N° 57316173 ;

L'OWSD (*The Organization Of Women In Science For the developping countries*) et SIDA pour le financement de mes séjours de 18 mois passé en Afrique du Sud ayant permis de finaliser les travaux de cette thèse à travers la bourse de mobilité « *OWSD Postgraduate Fellowship FR number : 3240287314* » à Rhodes University.

# SOMMAIRE

LISTE PROTOCOLAIRE DES ENSEIGNANTS DE LA FACULTE DES SCIENCES	ii
CERTIFICATION	xi
DEDICACE	xii
REMERCIEMENTS	xiii
SOMMAIRE	xv
LISTE DES ABBRÉVIATIONS ET ACRONYMES	xviii
LISTE DES FIGURES	xx
LISTE DES SCHEMAS	xxvi
LISTE DES TABLEAUX	xxvii
RÉSUMÉ	xxix
ABSTRACT	xxx
INTRODUCTION GENERALE	1
CHAPITRE I: REVUE DE LA LITTERATURE	3
I- Bref aperçu sur le paludisme et la trypanosomiase	4
I.1- Généralités sur le paludisme	4
I.1.1- Définition	4
I.1.2- Épidémiologie et fardeau économique du paludisme	4
I.1.3- L'agent vecteur et agent pathogène	5
I.1.4- Le cycle évolutif du parasite	6
I.1.3- Traitement du paludisme	11
I.1.4- Prévention et avancées dans la lutte contre le paludisme	17
I.2- Généralités sur la trypanosomiase	18
I.2.1- Généralités sur la trypanosomiase Africaine	18
I.2.2- La trypanosomiase humaine américaine ou maladie de chagas	24
II- Aperçu botanique sur la famille des Lauraceae	27
II.1- Les Lauraceae	27
II.1.1- Le genre <i>Beilschmiedia</i>	28
I.1.2- Le genre <i>Persea</i>	29
III- Usage des plantes des genres <i>Beilschmiedia</i> et <i>Persea</i>	30
III.1- Usage des plantes du genre <i>Beilschmiedia</i>	30
III.1.1- Sur le plan alimentaire	30
III.1.2- Sur le plan artisanal et ornemental	31

III.1.3-Sur le plan agricole -----	31
III.1.4-En la médecine traditionnelle -----	31
III.2- Usages des plantes du genre <i>Persea</i> .....	32
III.2.1-Sur plan alimentaire (plantes botaniques). -----	32
III.2.2-Dans la médecine traditionnelle. -----	32
IV- Études chimiques et pharmacologiques antérieures sur les plantes des genres <i>Beilschmiedia</i> et <i>Persea</i> .....	33
IV.1- Le Genre <i>Beilschmiedia</i> .....	33
IV.1.1- Travaux chimiques antérieurs.....	33
IV.1.2. Études pharmacologiques antérieures sur les plantes du genre <i>Beilschmiedia</i> . --	52
IV.2- Le genre <i>Persea</i> . .....	54
IV.2.1- Travaux chimiques antérieures-----	54
IV.2.2- Études pharmacologiques antérieures sur le genre <i>Persae</i> . -----	59
V- Généralités sur les acides endiandriques.....	60
V. 1- Les acides endiandriques.....	60
V.1.1 Spectres de masse -----	61
V. 1. 2 Spectre RMN-----	62
CHAPITRE II: RÉSULTATS ET DISCUSSION -----	65
II.1-ÉTUDES CHIMIQUES .....	66
II.1.1- Extraction et isolement des composés. -----	66
II.2. Préparation de quelques dérivés d'acide beilschmiedique E (composé majoritaire) ...	69
II.3- Détermination structurale des composés.....	70
II.3.1- Les flavonoïdes. -----	70
II.3.2- Les stéroïdes -----	97
II.3.3- Les lactones -----	100
II.3.4- Détermination de la structure de l'alcène BOET4-----	106
II.3.5- Identification de l'acide gras BOET5 -----	108
II.3.6- Elucidation structurale du phénylalcène BOET2 -----	113
II.3.7- Identification de l'alcool PAF3.-----	118
II.3.8- Identification de la bilignane PAR3 -----	125
II.3.9- Identification de PAF4 à la carotène -----	132
II.3.10- Identification de la coumarine PAF1 -----	142
II.3.11-Les acides endiandriques. -----	146
II.4-Determination de structures des autres dérivés d'hemisynthèse.....	179



II.5- Activités biologiques des extraits et des composés isolés.....	186
II.5.1- Activite antitrypanosomiale.-----	189
II.5.2- Activite antiplasmodiale-----	190
II.5.3- Cytotoxicité sur les cellules HeLa -----	191
CONCLUSIONS ET PERSPECTIVES-----	193
CHAPITRE 3: PARTIE EXPERIMENTALE -----	196
III.1- Généralités. ....	197
III.1.1- Les techniques chromatographiques-----	197
III.1.2- Appareillage-----	197
III.2- Tests de caractérisation chimique .....	198
III.2.1- Test de Liebermann-Burchard (Identification des terpenoïdes et stéroïdes)----	198
III.2.2- Test au chlorure ferrique (Identification des composés phénoliques) -----	198
III.2.3- Test de Shinoda (Identification des flavonoïdes)-----	198
III.2.4- Test de Dragendorff pour identifier les alcaloïdes -----	198
III.2.5- Test de Molish pour identifier les sucres.-----	198
III.2.6 Test des acides pour identifier les acides -----	198
III.3- Matériel végétal .....	199
III.3.1- Extraction-----	199
III.4- Isolement des composés.....	200
III.4.1- Isolement des composés des racines de <i>B. louisii</i> .-----	200
III.4.2- Isolement des composés des écorces du tronc de <i>B. obscura</i> . -----	202
III.4.3- Isolement des composés des feuilles de <i>Persea americana</i> . -----	204
III.4.4- Isolement des composés des racines de <i>Persea americana</i> . -----	205
III.5. Transformations chimiques sur quelques composés isolés .....	206
III.5.1-Synthèse du thiosemicarbazone BLR5-TH-----	206
III.5.2-Synthèse de BLR5-Bz-----	208
III.6- Évaluation des activités biologiques .....	208
III.6.1- Activité antiplasmodiale-----	208
III.6.2- Test <i>in vitro</i> de la trypanosomiase. -----	209
III.6.3- Test de cytotoxicité.-----	209
III.7- Caractéristiques physicochimiques des composés isolés.....	210
Références -----	219

## LISTE DES ABBRÉVIATIONS ET ACRONYMES

$\delta$	:	Echelle de déplacement chimique en ppm
$\lambda_{\max}$	:	Longueur d'onde maximale
AE	:	Acétate d'éthyle
APG	:	<i>Angiosperms Phylogeny Group</i>
APT	:	<i>Attached Proton Test</i>
CC	:	Chromatographie sur Colonne
CCM	:	Chromatographie sur Couche Mince
CI <sub>50</sub>	:	Concentration Inhibitrice à 50 %
CMI	:	Concentration Minimale Inhibitrice
COSY	:	<i>Correlation Spectroscopy</i>
<i>C. spectabilis</i>	:	<i>Cassia spectabilis</i>
d	:	Doublet
<i>B. louisii</i>	:	<i>Beilschmiedia louisii</i>
<i>B. obscura</i>	:	<i>Beilschmiedia obscura</i>
<i>P. americana</i>	:	<i>Persea americana</i>
dd	:	Doublet de doublets
dl	:	Doublet large
DEPT	:	<i>Distortionless Enhancement by Polarization Transfer</i>
DMSO	:	Diméthylsulfoxyde
ESI	:	<i>ElectroSpray Ionisation</i>
EP	:	<i>Ether de pétrole</i>
ESI-HR	:	<i>ElectroSpray Ionization-High Resolution</i>
FS	:	Faculté des Sciences
Hex	:	Hexane
HMBC	:	<i>Heteronuclear Multiple Bond Connectivity</i>
HSQC	:	<i>Heteronuclear Single Quantum Coherence</i>
GBIF	:	<i>Global Biodiversity Information Facility</i>
IE	:	Ionisation par Impact Electronique
IR	:	Infra Rouge
IV	:	Intraveineuse
J	:	Constante de couplage
m	:	Multiplet
m/z	:	Rapport masse / charge atomique
MHz	:	MégaHertz

NADPH	:	<i>Nicotinamide Adenine Dinucleotide Phosphate H</i>
NOESY	:	<i>Nuclear Overhauser Effect Spectroscopy</i>
OMS	:	Organisation Mondiale de la Santé
P F	:	Point de Fusion
PM	:	Poids moléculaire
ppm	:	Partie par million
q	:	Quartet
RMN <sup>13</sup> C	:	Résonance Magnétique Nucléaire du carbone 13
RMN <sup>1</sup> H	:	Résonance Magnétique Nucléaire du proton
RMN 1D et 2D	:	Résonance Magnétique Nucléaire à une et à deux Dimensions
s	:	Singulet
<i>sl</i>	:	Singulet large
SM	:	Spectrométrie de Masse
t	:	Triplet
tr	:	Trypanosomiase
UNICEF	:	<i>United Nations International Children's Emergency Fund</i>
UV	:	Ultraviolet
VIH	:	Virus de l'Immunodéficience Humaine
WHO	:	<i>World Health Organization</i>
ta	:	Temperature ambiante
THA	:	Trypanosomiase humaine africaine

## LISTE DES FIGURES

<b>Figure 1:</b> Répartition mondiale des cas de paludisme dans le monde -----	5
<b>Figure 2 :</b> Cycle de vie du <i>Plasmodium</i> chez l'homme et chez l'anophèle -----	8
<b>Figure 3:</b> Photo de <i>Persea americana</i> -----	30
<b>Figure 4:</b> RMN <sup>1</sup> H des squelettes d'acides endiandriques -----	63
<b>Figure 5:</b> RMN <sup>13</sup> C des squelettes d'acides endiandriques -----	64
<b>Figure 6:</b> Quelques corrélations observées sur le spectre COSY de BLR2 -----	72
<b>Figure 7:</b> Quelques corrélations observées sur le spectre HMBC de BLR2. -----	72
<b>Figure 8:</b> Spectre de RMN <sup>1</sup> H de BLR2. -----	74
<b>Figure 9:</b> Spectre de RMN <sup>13</sup> C de BLR2. -----	74
<b>Figure 10:</b> Spectre DEPT 135 de BLR2. -----	74
<b>Figure 11:</b> Spectre COSY de BLR2. -----	75
<b>Figure 12:</b> Spectre HSQC de BLR2. -----	75
<b>Figure 13:</b> Spectre HMBC de BLR2. -----	76
<b>Figure 14:</b> Quelques corrélations observées sur le spectre COSY de PAF8. -----	78
<b>Figure 15:</b> Quelques corrélations observées sur le spectre HMBC de PAF8. -----	78
<b>Figure 16:</b> Spectre de masse ESI de PAF8 -----	80
<b>Figure 17:</b> Spectre de RMN <sup>1</sup> H de PAF8 -----	81
<b>Figure 18:</b> Spectre de RMN <sup>13</sup> C de PAF8 -----	81
<b>Figure 19:</b> Spectre DEPT 135 de PAF8 -----	82
<b>Figure 20:</b> Spectre COSY de PAF8 -----	82
<b>Figure 21:</b> Spectre HSQC de PAF8 -----	83
<b>Figure 22 :</b> Spectre HMBC de PAF8 -----	83
<b>Figure 23:</b> Quelques corrélations observées sur le spectre COSY de PAF8. -----	85
<b>Figure 24:</b> Quelques corrélations observées sur le spectre HMBC de PAF8. -----	85
<b>Figure 25:</b> spectre de masse ESI de PAF7 -----	87
<b>Figure 26:</b> Spectre de RMN <sup>1</sup> H de PAF7 -----	87
<b>Figure 27:</b> Spectre de RMN <sup>13</sup> C de PAF7 -----	87
<b>Figure 28:</b> Spectre COSY de PAF7 -----	88
<b>Figure 29:</b> Spectre HSQC de PAF7 -----	88
<b>Figure 30:</b> Spectre HMBC de PAF7 -----	89
<b>Figure 31:</b> Quelques corrélations observées sur le spectre HMBC de PAF6. -----	91
<b>Figure 32:</b> Spectre ESI de PAF6 -----	93

<b>Figure 33:</b> Spectre de RMN <sup>1</sup> H de PAF6	93
<b>Figure 34:</b> Spectre de RMN <sup>1</sup> H élargi (6-8 ppm) de PAF6	94
<b>Figure 35:</b> Spectre de RMN <sup>13</sup> C de PAF6	94
<b>Figure 36:</b> Spectre de RMN <sup>13</sup> C élargi (100-180 ppm) C de PAF6	95
<b>Figure 37:</b> Spectre DEPT 135 de PAF6	95
<b>Figure 38:</b> Spectre COSY de PAF6	96
<b>Figure 39 :</b> Spectre HSQC de PAF6	96
<b>Figure 40:</b> Spectre HMBC de PAF6	97
<b>Figure 41 :</b> Spectre de RMN <sup>1</sup> H de BLR7	98
<b>Figure 42:</b> Spectre de RMN <sup>13</sup> C de BLR7	98
<b>Figure 43:</b> Spectre DEPT 135 de BLR7	99
<b>Figure 44 :</b> Spectre RMN <sup>1</sup> H de BLR8	100
<b>Figure 45 :</b> Spectre RMN <sup>13</sup> C de BLR8	100
<b>Figure 46:</b> Quelques corrélations observées sur le spectre COSY de BOET3.	102
<b>Figure 47:</b> Quelques corrélations observées sur le spectre HMBC de BOET3.	102
<b>Figure 48:</b> Spectre de masse ESI de BOET3	103
<b>Figure 49:</b> Spectre de RMN <sup>1</sup> H de BOET3	103
<b>Figure 50:</b> Spectre de RMN <sup>1</sup> H élargi (1,2-2,6 ppm) de BOET3	104
<b>Figure 51:</b> Spectre de RMN <sup>1</sup> H élargi (4,2-7,5 ppm) de BOET3	104
<b>Figure 52:</b> Spectre de RMN <sup>13</sup> C de BOET3	104
<b>Figure 53:</b> Spectre COSY de BOET3	105
<b>Figure 54:</b> Spectre HSQC de BOET3	105
<b>Figure 55 :</b> Spectre HMBC de BOET3	106
<b>Figure 56 :</b> Spectre de masse ESI de BOET4	107
<b>Figure 57:</b> Spectre de RMN <sup>1</sup> H de BOET4	108
<b>Figure 58:</b> Spectre de RMN <sup>13</sup> C de BOET4	108
<b>Figure 59:</b> Quelques corrélations observées sur le spectre COSY de BOET5.	109
<b>Figure 60:</b> Quelques corrélations observées sur le spectre HMBC de BOET5.	109
<b>Figure 61:</b> Spectre de masse ESI de BOET5	110
<b>Figure 62:</b> Spectre de RMN <sup>1</sup> H de BOET5	110
<b>Figure 63:</b> Spectre de RMN <sup>13</sup> C de BOET5	111
<b>Figure 64:</b> Spectre COSY de BOET5	111
<b>Figure 65:</b> Spectre HSQC de BOET5	112
<b>Figure 66:</b> Spectre HSQC élargi (0,82-3,2 ppm) de BOET5	112

<b>Figure 67:</b> Spectre HMBC de BOET5 -----	113
<b>Figure 68:</b> Quelques corrélations observées sur le spectre HMBC de BOET2. -----	114
<b>Figure 69 :</b> Spectre de masse ESI de BOET2 -----	115
<b>Figure 70 :</b> Spectre de masse ESI de BOET2 -----	115
<b>Figure 71:</b> Spectre de RMN <sup>1</sup> H de BOET2-----	116
<b>Figure 72 :</b> Spectre de RMN <sup>1</sup> H élargi (0,4-3,6 ppm) de BOET2-----	116
<b>Figure 73:</b> Spectre de RMN <sup>13</sup> C de BOET2-----	117
<b>Figure 74:</b> Spectre DEPT 135 de BOET2 -----	117
<b>Figure 75:</b> Spectre COSY de BOET2 -----	117
<b>Figure 76:</b> Spectre HSQC de BOET2 -----	118
<b>Figure 77:</b> Spectre HMBC de BOET2 -----	118
<b>Figure 78:</b> Quelques corrélations observées sur le spectre COSY de PAF3. -----	119
<b>Figure 79 :</b> Spectre de masse ESI de PAF3 -----	120
<b>Figure 80 :</b> Spectre RMN <sup>1</sup> H de PAF3-----	121
<b>Figure 81:</b> Spectre RMN <sup>1</sup> H élargi (3,2-6 ppm) de PAF3-----	121
<b>Figure 82:</b> Spectre de RMN <sup>1</sup> H élargi (0,8-2,5 ppm) de PAF3-----	122
<b>Figure 83:</b> Spectre de RMN <sup>13</sup> C de PAF3 -----	122
<b>Figure 84:</b> Spectre DEPT 135 de PAF3 -----	123
<b>Figure 85:</b> Spectre COSY de PAF3 -----	123
<b>Figure 86:</b> Spectre HSQC de PAF3 -----	124
<b>Figure 87:</b> Spectre HMBC de PAF3 -----	124
<b>Figure 88:</b> Spectre NOESY de PAF3 -----	125
<b>Figure 89:</b> Quelques corrélations observées sur le spectre COSY de PAR3. -----	126
<b>Figure 90:</b> Quelques corrélations observées sur le spectre HMBC de PAR3. -----	127
<b>Figure 91:</b> Spectre de masse ESI de PAR3-----	129
<b>Figure 92:</b> Spectre de RMN <sup>1</sup> H de PAR3-----	129
<b>Figure 93:</b> Spectre de RMN <sup>1</sup> H élargi (6,2-9,2 ppm) de PAR3 -----	130
<b>Figure 94:</b> Spectre de RMN <sup>1</sup> H élargi (2,1-5 ppm) de PAR3-----	130
<b>Figure 95:</b> Spectre de RMN <sup>13</sup> C de PAR3-----	131
<b>Figure 96:</b> Spectre DEPT 135 de PAR3 -----	131
<b>Figure 97:</b> Spectre COSY de PAR3 -----	131
<b>Figure 98:</b> Spectre HSQC de PAR3 -----	132
<b>Figure 99:</b> Spectre HMBC de PAR3 -----	132
<b>Figure 100:</b> Quelques corrélations observées sur le spectre COSY de PAF4. -----	134

<b>Figure 101:</b> Quelques corrélations observées sur le spectre HMBC de PAF4. -----	135
<b>Figure 102:</b> spectre de masse ESI de PAF4 -----	136
<b>Figure 103:</b> Spectre de RMN $^1\text{H}$ de PAF4 -----	136
<b>Figure 104:</b> Spectre de RMN $^1\text{H}$ élargi (0,9-2,8 ppm) de PAF4 -----	137
<b>Figure 105:</b> Spectre de RMN $^1\text{H}$ élargi (5-7 ppm) de PAF4 -----	137
<b>Figure 106:</b> Spectre de RMN $^{13}\text{C}$ de PAF4 -----	138
<b>Figure 107:</b> Spectre de RMN $^1\text{H}$ élargi (12-66 ppm) de PAF4 -----	138
<b>Figure 108:</b> Spectre de RMN $^1\text{H}$ élargi (125-139 ppm) de PAF4 -----	139
<b>Figure 109:</b> Spectre DEPT 135 de PAF4 -----	139
<b>Figure 110:</b> Spectre COSY de PAF4 -----	140
<b>Figure 111:</b> Spectre HSQC de PAF4 -----	140
<b>Figure 112:</b> Spectre HMBC de PAF4 -----	141
<b>Figure 113:</b> Spectre HMBC élargi de PAF4 -----	141
<b>Figure 114:</b> Quelques corrélations observées sur le spectre HMBC de PAF1. -----	142
<b>Figure 115:</b> Spectre de masse ESI de PAF1 -----	143
<b>Figure 116 :</b> Spectre de RMN $^1\text{H}$ de PAF1 -----	144
<b>Figure 117:</b> Spectre de RMN $^{13}\text{C}$ de PAF1 -----	144
<b>Figure 118:</b> Spectre DEPT 135 de PAF1 -----	144
<b>Figure 119:</b> Spectre COSY de PAF1 -----	145
<b>Figure 120:</b> Spectre HSQC de PAF1 -----	145
<b>Figure 121:</b> Spectre HMBC de PAF1 -----	146
<b>Figure 122:</b> Quelques corrélations observées sur le spectre HMBC de BLR6. -----	147
<b>Figure 123:</b> Quelques corrélations observées sur le spectre COSY de PAF3. -----	148
<b>Figure 124 :</b> Spectre RMN $^1\text{H}$ de BLR6 -----	149
<b>Figure 125:</b> Spectre RMN $^{13}\text{C}$ de BLR6 -----	149
<b>Figure 126:</b> Spectre DEPT 135 de BLR6 -----	150
<b>Figure 127 :</b> Spectre COSY de BLR6 -----	150
<b>Figure 128:</b> Spectre HSQC de BLR6 -----	150
<b>Figure 129:</b> Spectre HMBC de BLR6 -----	151
<b>Figure 130:</b> Quelques corrélations observées sur le spectre HMBC de BLR5. -----	152
<b>Figure 131:</b> Spectre de RMN $^1\text{H}$ de BLR5 -----	153
<b>Figure 132:</b> Spectre de RMN $^{13}\text{C}$ de BLR5 -----	154
<b>Figure 133:</b> Spectre DEPT 135 de BLR5 -----	154
<b>Figure 134:</b> Spectre HMBC de BLR5 -----	154

<b>Figure 135:</b> Quelques corrélations observées sur le spectre HMBC de BLR4. -----	156
<b>Figure 136:</b> Spectre de RMN <sup>1</sup> H de BLR4 -----	157
<b>Figure 137:</b> Spectre de RMN <sup>1</sup> H élargi (1,2-3,4 ppm) de BLR4 -----	157
<b>Figure 138:</b> Spectre de RMN <sup>13</sup> C de BLR4 -----	158
<b>Figure 139:</b> Spectre DEPT 135 de BLR4-----	158
<b>Figure 140:</b> Spectre HMBC de BLR4-----	159
<b>Figure 141:</b> Quelques corrélations observées sur le spectre COSY de BLR3.-----	161
<b>Figure 142:</b> Quelques corrélations observées sur le spectre HMBC de BLR3. -----	162
<b>Figure 143:</b> Spectre de RMN <sup>1</sup> H de BLR3. -----	163
<b>Figure 144 :</b> Spectre de RMN <sup>13</sup> C de BLR3.-----	163
<b>Figure 145 :</b> Spectre de DEPT135 de BLR3. -----	164
<b>Figure 146:</b> Spectre COSY de BLR3.-----	164
<b>Figure 147 :</b> Spectre de HSQC de BLR3 -----	165
<b>Figure 148:</b> Spectre HMBC de BLR3.-----	165
<b>Figure 149:</b> Quelques corrélations observées sur le spectre HMBC de BLR5-AL. -----	168
<b>Figure 150:</b> correlations HMBC observées des figures beilschmiedol B et beilschmiedol C -----	169
<b>Figure 151:</b> Spectre de masse ESI de BOET3' -----	170
<b>Figure 152:</b> Spectre de RMN <sup>1</sup> H de BOET3' -----	170
<b>Figure 153:</b> Spectre de RMN <sup>1</sup> H élargi (5,3-6,2 ppm) de BOET3' -----	170
<b>Figure 154:</b> Spectre de RMN <sup>1</sup> H élargi (0,80-4,5 ppm) de BOET3' -----	171
<b>Figure 155:</b> Spectre de RMN <sup>13</sup> C de BOET3' -----	171
<b>Figure 156:</b> Spectre de RMN <sup>13</sup> C élargi (14-70 ppm) de BOET3'-----	172
<b>Figure 157:</b> Spectre de DEPT 135 de BOET3' -----	172
<b>Figure 158:</b> Spectre de DEPT 135 élargi (14-48 ppm) de BOET3' -----	172
<b>Figure 159:</b> Spectre COSY de BOET3' -----	173
<b>Figure 160:</b> Spectre HSQC de BOET3' -----	173
<b>Figure 161:</b> Spectre HSQC élargi (0,80-2,82 ppm) de BOET3' -----	174
<b>Figure 162:</b> Spectre HSQC de BOET3' -----	174
<b>Figure 163:</b> Spectre HMBC de BOET3'-----	175
<b>Figure 164:</b> Spectre HMBC élargi (0,80-4,4 ppm) de BOET3' -----	175
<b>Figure 165:</b> Spectre HMBC élargi (5,1-5,3 ppm) de BOET3' -----	176
<b>Figure 166:</b> Spectre HMBC élargi (0,5-6,5 ppm) de BOET3' -----	176
<b>Figure 167:</b> Spectre de masse ESI de BLR5-AL -----	176



<b>Figure 168:</b> Spectre de RMN $^1\text{H}$ de BLR5-AL -----	177
<b>Figure 169:</b> Spectre de RMN $^{13}\text{C}$ de BLR5-AL -----	177
<b>Figure 170:</b> Spectre de DEPT 135 de BLR5-AL -----	177
<b>Figure 171 :</b> Spectre COSY de BLR5-AL-----	178
<b>Figure 172 :</b> Spectre HSQC de BLR5-AL-----	178
<b>Figure 173 :</b> Spectre HMBC de BLR5-AL-----	179
<b>Figure 174:</b> Spectre de RMN $^1\text{H}$ de BLR5-AL -----	180
<b>Figure 175 :</b> Spectre de RMN $^1\text{H}$ élargi de BLR5-ald -----	180
<b>Figure 176 :</b> Spectre de RMN $^{13}\text{C}$ de BLR5-AL -----	181
<b>Figure 177:</b> Spectre de RMN $^{13}\text{C}$ de BLR5-ald -----	181
<b>Figure 178 :</b> Spectre de masse ESI de BLR5-TH -----	182
<b>Figure 179 :</b> Spectre de RMN $^1\text{H}$ de BLR5-TH -----	182
<b>Figure 180:</b> Spectre de RMN $^{13}\text{C}$ de BLR5-TH -----	183
<b>Figure 181:</b> Spectre de masse ESI de BLR5-BZ -----	184
<b>Figure 182 :</b> Spectre de RMN $^1\text{H}$ de BLR5-BZ -----	184
<b>Figure 183 :</b> Spectre de RMN $^1\text{H}$ de BLR5-BZ -----	184
<b>Figure 184 :</b> Spectre de RMN $^{13}\text{C}$ BLR5-BZ -----	185
<b>Figure 185:</b> Structures des composés ayant présentés une activité biologique. -----	188

## LISTE DES SCHEMAS

<b>Schéma 1:</b> Squelettes de base de quelques lignanes.....	38
<b>Schéma 2:</b> Biosynthèse générale des acides gras. ....	60
<b>Schéma 3:</b> Biosynthèse du squelette des acides endiandriques à partir des acides gras. ....	61
<b>Schéma 4:</b> Fragmentation rencontrée dans certaines acides endiandriques .....	62
<b>Schéma 5:</b> Mécanisme de fragmentation des acides beilschmidiques A et C .....	62
<b>Schéma 6:</b> Protocole d'extraction et d'isolement des composés des racines de <i>B. louiisi</i> .....	66
<b>Schéma 7:</b> Protocole d'extraction et d'isolement des composés des écorces du tronc de <i>B obscura</i> .....	67
<b>Schéma 8:</b> Protocole d'extraction et d'isolement des composés des feuilles de <i>P. americana</i> .....	68
<b>Schéma 9:</b> Protocole d'extraction et d'isolement des composés des racines de <i>P. americana</i>	69
<b>Schéma 10:</b> Préparation des dérivés de l'acide beilschmiédique E.....	70

## LISTE DES TABLEAUX

<b>Tableau 1:</b> Quelques alcaloïdes et amides isolés des espèces du genre <i>Beilschmiedia</i> . -----	<b>35</b>
<b>Tableau 2:</b> Quelques lignanes isolées des espèces du genre <i>Beilschmiedia</i> -----	<b>39</b>
<b>Tableau 3 :</b> Quelques flavonoïdes isolés des espèces du genre <i>Beilschmiedia</i> -----	<b>41</b>
<b>Tableau 4 :</b> Quelques dérivés de benzène isolés des espèces du genre <i>Beilschmiedia</i> -----	<b>43</b>
<b>Tableau 5:</b> Quelques acides endiandriques isolés des espèces du genre <i>Beilschmiedia</i> -----	<b>46</b>
<b>Tableau 6:</b> Quelques flavonoïdes isolés de l'espèce <i>Persea americana</i> -----	<b>54</b>
<b>Tableau 7 :</b> Données spectrales de RMN <sup>13</sup> C de BLR5-AL, BOET3'a et b-----	<b>169</b>
<b>Tableau 8:</b> Données du spectre de RMN <sup>13</sup> C de BLR3 comparées avec celles de l'acide beilschmiedique A et de l'acide beilschmiedique C.-----	<b>162</b>
<b>Tableau 9:</b> Données spectrales de RMN <sup>13</sup> C de BLR6 Comparées à celles de l'acide beilschmiedique D -----	<b>148</b>
<b>Tableau 10:</b> Données spectrales de RMN <sup>13</sup> C de BLR5 comparées à celles de l'acide beilschmidique E -----	<b>151</b>
<b>Tableau 11:</b> Données spectrales de RMN <sup>13</sup> C de BLR4 comparées à celles de l'acide 3",4"- méthylènedioxyendiandrique A (SiMe <sub>4</sub> ) -----	<b>156</b>
<b>Tableau 12:</b> Données du spectre RMN <sup>13</sup> C de BLR2 comparées avec celles de l'épicatéchine. -----	<b>73</b>
<b>Tableau 13:</b> Données de RMN <sup>1</sup> H et <sup>13</sup> C de PAF6 comparées à celles de 3- <i>O</i> - $\alpha$ -L-(2" <i>E</i> ,4" <i>E</i> - di- <i>p</i> -coumaroyl) rhamnopyranoside de kaempferol (RpK) -----	<b>92</b>
<b>Tableau 14:</b> Données de RMN <sup>1</sup> H et <sup>13</sup> C de PAF8 comparées à celles de kaempferol-3- astragalindans le CD <sub>3</sub> OD -----	<b>85</b>
<b>Tableau 15:</b> Données de RMN <sup>1</sup> H et <sup>13</sup> C de PAF8 comparées à celles de kaempferol-3- isoquercitrinedans le CD <sub>3</sub> OD-----	<b>79</b>
<b>Tableau 16:</b> Données spectrales de RMN <sup>13</sup> C de BOET3a/b comparées à celles de (2R,3S,4S) -3-hydroxy-4-méthyl-2-( 13'-phényl-1'- <i>n</i> -tridecyl) -butanolide (HMPTB) et (2R,3S,4S) - 3-hydroxy-4-méthyl-2-(11'-phényl- 1'- <i>n</i> -undecyl) -butanolide (HMPUB).-----	<b>102</b>
<b>Tableau 17:</b> Données spectrales de RMN <sup>1</sup> H et <sup>13</sup> C de BOET4 -----	<b>107</b>
<b>Tableau 18:</b> Données spectrales de RMN <sup>1</sup> H et <sup>13</sup> C de BOET5 -----	<b>110</b>
<b>Tableau 19:</b> Données spectrales de RMN <sup>1</sup> H et <sup>13</sup> C de BOET2 -----	<b>114</b>
<b>Tableau 20:</b> Données spectrales de RMN <sup>13</sup> C et <sup>1</sup> H de PAF3-----	<b>120</b>
<b>Tableau 21:</b> Données de RMN <sup>1</sup> H et <sup>13</sup> C de PAR3 comparée à celles de 9,9'-di- <i>O</i> -feruloyl- 5,5'-diméthoxysecoisolariciresinol (DDS) -----	<b>127</b>

<b>Tableau 22:</b> Données RMN $^1\text{H}$ et $^{13}\text{C}$ de PAF4 comparées à celles de la lutéine dans le chloroforme et $^{13}\text{C}$ .....	<b>135</b>
<b>Tableau 23:</b> Données de RMN $^{13}\text{C}$ et $^1\text{H}$ de PAF1 comparées à celles de la scopoletine RMN $^{13}\text{C}$ et $^1\text{H}$ .....	<b>143</b>
<b>Tableau 24:</b> Données de RMN $^{13}\text{C}$ de BLR5-AL, BLR5-ald, BLR5-Bz ( $\text{CDCl}_3$ ) et BLR5-TH .....	<b>185</b>
<b>Tableau 25:</b> Activités antipaludiques, antitrypanosomales et cytotoxicité des extraits et composés. ....	<b>186</b>
<b>Tableau 26:</b> Activités antipaludiques, antitrypanosomales et cytotoxicité des composés.--	<b>186</b>
<b>Tableau 27:</b> Activités antipaludiques, antitrypanosomales et cytotoxicité des Combinaisons des composés.....	<b>188</b>
<b>Tableau 28:</b> Masses des différents extraits.....	<b>199</b>
<b>Tableau 29:</b> Masse de différents extraits .....	<b>200</b>
<b>Tableau 30:</b> Chromatogramme de l'extrait alcaloïdique des racines de <i>B. louisii</i> .----- Erreur ! Signet non défini.	
<b>Tableau 31:</b> Chromatogramme de l'extrait neutre des racines de <i>B. louisii</i> .-----	<b>200</b>
<b>Tableau 32:</b> Chromatogramme de la fraction B. ....	<b>201</b>
<b>Tableau 33:</b> Chromatogramme de la fraction C. ....	<b>201</b>
<b>Tableau 34:</b> Chromatogramme de la fraction D. ....	<b>202</b>
<b>Tableau 35:</b> Chromatogramme de l'extrait des écorces du tronc de <i>B. obscura</i> .-----	<b>203</b>
<b>Tableau 36:</b> Chromatogramme de la fraction C. ....	<b>203</b>
<b>Tableau 37:</b> Chromatogramme de l'extrait des feuilles de <i>Persea americana</i> .-----	<b>204</b>
<b>Tableau 38:</b> Chromatogramme de l'extrait des racines de <i>Persea americana</i> .-----	<b>205</b>
<b>Tableau 39:</b> Chromatogramme de la fraction B. ....	<b>206</b>

## RÉSUMÉ

Le présent travail porte sur l'étude chimique et l'évaluation des propriétés antiplasmodiales et antitrypanosomales des constituants de trois plantes médicinales camerounaises : *Beilschmiedia louisii*, *Beilschmiedia obscura* et *Persea americana* (Lauraceae), trois espèces utilisées en médecine traditionnelle camerounaise pour le traitement des maladies parasitaires et dont les extraits ont montré de bonnes activités antitrypanosomales et antiplasmodiales lors du screening préliminaire *in vitro*.

L'investigation phytochimique, grâce aux méthodes chromatographiques usuelles, a conduit à l'isolement de vingt-six composés parmi lesquels vingt-deux ont été entièrement caractérisés à l'aide des techniques spectroscopiques (UV, IR, SM, RMN 1D et 2D) et par comparaison de certaines données physiques et spectrales avec celles décrites dans la littérature. Quatre de ces composés sont nouveaux [deux dérivés d'acide endiandrique (beilschmiedol B et beilschmiedol C), un alcène (obscurène A) et un alcool gras (perseatriol)]. Les dix-huit autres composés caractérisés appartiennent à huit classes de métabolites secondaires, à savoir: quatre flavonoïdes (épicatechine, kaempferol-3-*O*- $\alpha$ -L-(3''*E*,4''*E*-di-*p*-coumaroyl)-rhamnoside, isoquercitrine, astragaline), deux stéroïdes ( $\beta$ -sitostérol, 3-*O*- $\beta$ -D-glucopyranoside de  $\beta$ -sitostérol), une coumarine (scopoletine), une lignane (9,9'-di-*O*-feruloyl-5,5'-dimethoxysecoisolariciresinol), un alcène (pentacosan-1-ène), cinq acides endiandriques (acide beilschmiedique A, acide beilschmiedique C, acide 3'',4''-méthylènedioxyendiandrique A, acide beilschmiedique D, acide beilschmidique E), une carotène (lutéine), deux  $\gamma$ -lactones (3-hydroxy-4-méthyl-2-(13'-phényl-1'-*n*-tridecyl)-butanolide et 3-hydroxy-4-méthyl-2-(11'-phényl-1'-*n*-undecyl)-butanolide) et un acide phénylalcanoïque (acide 15-phénylpentadecanoïque). Les trois derniers composés sont isolés pour la première fois du genre *Beilschmiedia*. À partir de l'acide beilschmidique E, quatre dérivés semi-synthétiques ont été préparés par des réactions de réduction, oxydation et addition nucléophile. Ces dérivés ont été nommés à beilschmiedol A, beilschmiedal, beilschmiecarbazonne et beilschmiegalate.

Les composés isolés et sémi-synthétiques ont également été testés pour leurs activités antitrypanosomale sur *Trypanosoma brucei brucei* et antiplasmodiale sur *Plasmodium falciparum* 3D7 *in vitro*. Parmi les composés testés, le mélange de beilschmiedols B/ C et le  $\beta$ -sitostérol et le mélange de 3-hydroxy-4-méthyl-2-(13'-phényl-1'-*n*-tridecyl)-butanolide et 3-hydroxy-4-méthyl-2-(11'-phényl-1'-*n*-undecyl)-butanolide ont montré les meilleurs potentiels antitrypanosomales avec des CI<sub>50</sub> <10  $\mu$ g/mL alors que les dérivés d'hémisynthèses ont eu des

activités modérées sur la même souche. Beilschmiedol A, a quant à lui montré une faible activité sur *T.b. bucei* avec une  $CI_{50}$  de 20,38  $\mu\text{g}/\text{mL}$ .

Concernant les activités antiplasmodiales, le 9,9'-di-*O*-feruloyl-5,5'-diméthoxysecoisolariciresinol, kaempferol-3-*O*- $\alpha$ -L-(3''E,4''E-di-*p*-coumaroyl)-rhamnoside et la lutéine ont montré de très bonnes activités sur la souche *Pf3D7* avec les  $CI_{50}$ s de 0,04, 0,63 et 2,5  $\mu\text{g}/\text{mL}$ , respectivement. Le persiatriol a quant à lui montré une activité modérée avec une  $CI_{50}$  de 9,48  $\mu\text{g}/\text{mL}$ . Les composés les plus intéressants, le 9,9'-di-*O*-feruloyl-5,5'-diméthoxysecoisolariciresinol (bilignane  $CI_{50} = 0,04 \mu\text{g} / \text{mL}$ ) et kaempferol-3-*O*- $\alpha$ -L-(3''E,4''E-di-*p*-coumaroyl)-rhamnoside flavonoïde ( $CI_{50} = 0,63 \mu\text{g} / \text{mL}$ ) étaient aussi actifs que le médicament de référence, la chloroquine et non cytotoxique.

Les extraits et les composés ont aussi été évalués pour leur cytotoxicité sur les cellules du Carcinome humain HeLa Cells. Les extraits et les composés isolés de *Beilschmiedia* se sont révélés inactifs alors que ceux des racines et des écorces de *Persea americana* se sont révélés cytotoxiques avec des valeurs de  $CI_{50} < 6,00 \mu\text{g}/\text{mL}$ . Parmi les composés actifs sur *Pf3D7*, seul le persiatriol a montré une faible sélectivité ( $IS=0,34$ ).

Les activités antiplasmodiales et antitrypanosomales intéressantes des extraits, fractions et composés isolés contribuent à la valorisation de *B. louisii*, *B. obscura* et de *P. americana* en médecine traditionnelle dans le traitement des maladies parasitaires.

**Mots Clés :** *Beilschmiedia louisii*, *Beilschmiedia obscura*, *Persea americana*, Activité antiparasitaire, beilschmiedol B, beilschmiedol C, obsurène A, perseatriol.

## ABSTRACT

The present work deals with the chemical investigation and the evaluation of the antiplasmodial and antitrypanosomal activities of three Cameroonian plant species: *Beilschmiedia louisii*, *Beilschmiedia obscura* and *Persea americana* (Lauraceae). These three plants are used in traditional medicine for the treatment of parasitic diseases and whose extracts showed potent antitrypanosomal and antiplasmodial activities during the preliminary screening *in vitro*.

The phytochemical investigation, using usual chromatographic methods, led to the isolation of twenty-six compounds among which twenty-two have been fully characterized with different spectroscopic techniques of analysis (UV, IR, MS, 1D and 2D NMR) and by comparison of some physical and spectral data with those described in the literature. Four of these compounds are new and isolated for the first time from a natural source [two endiandric acid derivatives (beilschmiedol B and beilschmiedol C), an alkene (obscurene A) and an alcohol (perseatriol)]. The eighteen other characterized compounds belong to eight classes of natural substances, among which: four flavonoids (epicatechin, kaempferol-3-*O*- $\alpha$ -L- (3'' E, 4'' E-di-*p*-coumaroyl) -rhamnoside, isoquercitrin, astragalol), two steroids ( $\beta$ -sitosterol,  $\beta$ -sitosterol 3-*O*- $\beta$ -D-glucopyranoside), a coumarin (scopoletin), a lignan (9,9'-di-*O*-feruloyl-5, 5'-dimethoxysecoisolariciresinol), one alkene (pentacosan-1-ene), five endiandric acids (beilschmiedic acid A, beilschmiedic acid C, 3'', 4''-methylenedioxyendiandric acid A, beilschmiedic acid D, beilschmiedic acid (E)), one carotene (lutein), two  $\gamma$ -lactones (3-hydroxy-4-methyl-2- (13'-phenyl-1'-n-tridecyl) -butanolide and 3-hydroxy-4-methyl-2- (11'-phenyl-1'-n-undecyl) -butanolide) and a phenylalkanoic acid (15-phenylpentadecanoic acid). The last three compounds are isolated for the first time from the genus *Beilschmiedia*.

From beilschmiedic acid E, four semisynthetic derivatives have been prepared by reduction, oxidation and nucleophilic addition reactions. These derivatives have been named as beilschmiedol A, beilschmiedol B, beilschmiedol C and beilschmiedol D.

Isolated and semi-synthetic compounds have also been evaluated for their antitrypanosomal and antiplasmodial activities. Among the tested compounds, the mixture of beilschmiedols B / C and  $\beta$ -sitosterol and the mixture of 3-hydroxy-4-methyl-2- (13'-phenyl-1'-n-tridecyl) -butanolide and 3-hydroxy-4-methyl-2- (11'-phenyl-1'-n-undecyl) -butanolide showed the best antitrypanosomal activities with  $IC_{50} < 10 \mu\text{g/mL}$  whereas the semisynthesis

derivatives showed moderate activities on the same strain. Beilschmiedol A showed low activity on *T.b. bucei* with an IC<sub>50</sub> value of 20.38 µg/mL.

Regarding antimalarial activity, 9,9'-di-*O*-feruloyl-5,5'-dimethoxysecoisolariciresinol kaempferol-3-*O*- $\alpha$ -L- (3''*E*,4''*E*-di-*p*-coumaroyl) - rhamnoside and lutein exhibited very good activities with IC<sub>50</sub> values of 0.04, 0.63 and 2.5 µg/mL while persatriol showed moderate activity with the IC<sub>50</sub> value of 9.5 µg/mL. The most interesting compounds, 9,9'-di-*O*-feruloyl-5,5'-dimethoxysecoisolariciresinol (bilignane IC<sub>50</sub> = 0,04 µg / mL) and kaempferol-3-*O*- $\alpha$ -L- (3''*E*,4''*E*-di-*p*-coumaroyl)-rhamnoside flavonoïd (IC<sub>50</sub> = 0,63 µg / mL) were as active as the reference drug, chloroquine and not cytotoxic.

The extracts and compounds were also evaluated for their cytotoxicity on human carcinoma cells (HeLa Cells). Extracts and compounds isolated from *Beilschmiedia* were found to be inactive, whereas those from the roots and leaves of *Persea americana* were shown to be cytotoxic with IC<sub>50</sub> values <6.00 µg/mL. Among the active compounds, only persatriol showed low selectivity (SI = 0.34). These results contribute to the chemotaxonomy and to the valorization of *B. louisii*, *B. obscura* and of *P. americana* in folk medicine in the treatment of parasitic diseases. *B. louisii* and *B. obscura* are also new sources of endiandric acids.

**Key words:** *Beilschmiedia louisii*, *Beilschmiedia obscura*, *Persea americana*, Antiparasitic activity, beilschmiedol B, beilschmiedol C, Obsurene A, Perseatriol.



## INTRODUCTION GENERALE

Les maladies parasitaires telles que le paludisme et la trypanosomiase, sont une cause majeure de mortalité et de morbidité dans de nombreux pays tropicaux, ce qui en fait un problème de santé publique. Le paludisme, infection parasitaire la plus répandue, est transféré à l'homme par l'anophèle femelle. Chaque année, environ 3,2 milliards de personnes sont exposées au paludisme dans le monde. Cela conduit à environ 219 millions de cas et à environ 405 000 décès, dont 93 % en Afrique, principalement parmi les enfants de moins de 5 ans (OMS, 2019).

La trypanosomiase humaine africaine (THA), ou maladie du sommeil, est classée par l'OMS parmi les maladies tropicales négligées. Il est transféré à l'homme par la mouche tsé-tsé (genre *Glossina*), agent vecteur des parasites protozoaires du genre *Trypanosoma*. Le trypanosome est très virulent et la mortalité est de 100 % en l'absence de traitement. Les deux principales formes de trypanosomiase humaine africaine résultent d'une infection à *Trypanosoma brucei gambiense* (représentant plus de 98 % de tous les cas signalés) et à *Trypanosoma brucei rhodesiense*. On estime actuellement à 65 millions de personnes à risque et 20 000 cas réel (OMS, 2019).

Le traitement de ces maladies devient de plus en plus préoccupant en raison de la résistance des parasites responsables aux médicaments existants, des cas de toxicité et des effets secondaires des médicaments disponibles pour le paludisme et la trypanosomiase (OMS, 2018).

Pour cette raison, la recherche de nouveaux médicaments efficaces est une urgence. Les plantes médicinales peuvent jouer un rôle clé dans ce cas. En effet, on estime que plus de la moitié de la population mondiale fait recours à la médecine traditionnelle pour leurs soins primaires. Ceci peut se justifier par la disponibilité limitée et du coût élevé des produits pharmaceutiques (Tagboto et Townson, 2001). Les screening phytochimique et biologique de plusieurs plantes médicinales utilisées de part le monde a montré que ces dernières renferment des constituants dotés de nombreuses activités biologiques parmi lesquelles les activités antiparasitaires (Camacho et al., 2000 ; Kayser et al., 2003). Considérant le grand potentiel du Cameroun en termes de plantes médicinales nous avons axé notre recherche sur la valorisation

des plantes médicinales utilisées pour le traitement du paludisme, et de la trypanosomiase. Nous nous sommes intéressés aux plantes de la famille des Lauraceae qui sont utilisées au Cameroun pour traiter des maladies parasitaires dont le paludisme (Iwu., 1993). Sur la base des données de la littérature, les espèces *Beilschmiedia louiisi*, *Beilschmiedia obscura* et *Persea americana* ont été récoltées.

Le choix porté sur ces plantes a été motivé par leur usage en médecine traditionnelle dans le traitement de quelques maladies parasitaires, et de plus, les travaux sur les espèces des mêmes genres (*Beilschmiedia* et *Persea*) ont révélé la présence des molécules présentant des activités intéressantes. Les plantes de ces genres sont, en effet, une source importante de flavonoïdes, des alcaloïdes, des acides endiandriques, métabolites secondaires de structures variées présentant les activités antifongiques, antileishmaniales, antibactériennes, antiplasmodiales, anti-inflammatoires, antimicrobiennes et anticancéreuse (Appel et al., 2014 ; Ding et al, 2007 ; Leite et al., 2009 ; Deepth et al., 2013). L'objectif global était de rechercher des extraits, fractions ou molécules bioactives et non toxiques pouvant servir de matières premières dans la formulation de nouveaux agents thérapeutiques pour le traitement du paludisme et/ou de la trypanosomiase.

Les objectifs spécifiques que nous nous sommes assignés au cours de ce travail étaient triples :

- Récolter, extraire et faire un screening préliminaire sur les extraits de chaque plante,
- Isoler et purifier les métabolites secondaires des extraits et fractions actifs de ces trois plantes,
- Déterminer les structures des composés isolés et faire quelques modifications structurales,
- Enfin évaluer les activités biologiques des composés isolés et semisynthétiques, notamment les activités antiplasmodiale et antitrypanosomale ainsi que la cytotoxicité.

Après une généralité sur le paludisme et la trypanosomiase et une revue bibliographique sur les plantes étudiées, nous présenterons les résultats obtenus suivis d'une discussion et enfin nous décrirons le matériel et les méthodes.

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

## **I- Bref aperçu sur le paludisme et la trypanosomiase**

Les maladies parasitaires représentent la cause majeure de mortalité et de morbidité dans le monde (Osorio et *al.*, 2007). Les zones tropicales et subtropicales sont les plus touchées. Parmi elles on peut citer la leishmaniose, la trypanosomiase et le paludisme entre autres.

### **I.1- Généralités sur le paludisme**

#### **I.1.1- Définition**

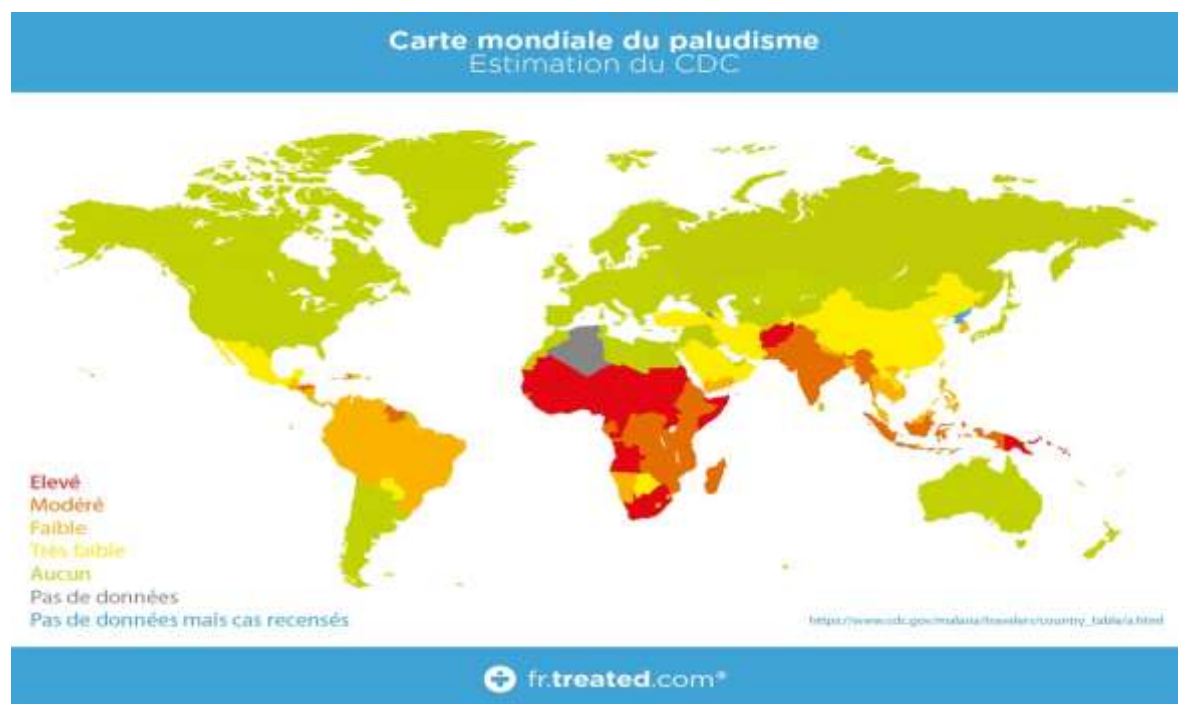
Le paludisme est une maladie protozoaire potentiellement mortelle transmise par la piqûre des moustiques. On pensait à l'origine que cette maladie provenait des zones marécageuses, d'où le nom de paludisme dérivé du mot latin « *palus* », qui signifie marais. Le paludisme existerait depuis longtemps ; nos lointains ancêtres préhistoriques furent vraisemblablement sujets à cette maladie également connue sous le nom de malaria, de l'italien « *malaria* » qui signifie mauvais air. De nos jours, certainement à cause de la fréquence des voyages, le paludisme est la maladie parasitaire la plus répandue dans le monde.

#### **I.1.2- Épidémiologie et fardeau économique du paludisme**

Le paludisme est une maladie infectieuse évitable et traitable transmise par les moustiques, qui affecte plus de deux cents millions de personnes chaque année. La plupart de personnes affectées se trouve en Afrique subsaharienne où le paludisme est la principale cause de décès, surtout, chez les enfants de moins de cinq ans et les femmes enceintes. Il perpétue ainsi un cercle vicieux de la pauvreté dans ces pays en développement. Le nombre de décès dus au paludisme a été estimé à 405 000 en 2018, 93% de ces décès étaient reportés en Afrique (OMS, 2019).

Au Cameroun, le paludisme demeure l'endémie majeure et la première cause de morbidité et de mortalité dans les groupes les plus vulnérables, à savoir les enfants de moins de cinq ans et les femmes enceintes. Les statistiques sanitaires révèlent qu'il est responsable de 35 à 40 % du total des décès dans les formations sanitaires : 50 % de morbidité chez les enfants de moins de 5 ans, 40 à 45 % des consultations médicales et 30 % des hospitalisations. Le paludisme est aussi la cause de 26 % des absences en milieu professionnel et de 40 % des dépenses de santé des ménages (Aubry et Gaüzère, 2020).

En 2017, 2,7 milliards US\$ ont été investis pour le contrôle de l'élimination du paludisme par les gouvernements des pays endémiques et les partenaires internationaux. On estime à plus de 12 milliards de dollars la perte annuelle du PIB (Produit Intérieur Brut) due au paludisme en Afrique, alors qu'une fraction de cette somme suffirait à le maîtriser Aubry et Gaüzère, 2020).



**Figure 1:** Répartition mondiale des cas de paludisme dans le monde (CDC, 2009)

### I.1.3- L'agent vecteur et agent pathogène

L'anophèle femelle est l'agent vecteur responsable de la transmission du paludisme. L'agent pathogène est un protozoaire du genre *Plasmodium*. Seules quatre espèces de *Plasmodium* sont responsables de l'infection chez l'Homme :

-*Plasmodium falciparum* : responsable de la fièvre tierce maligne, la seule espèce qui tue, très fréquente (99 % des cas de paludisme en Afrique, 90 % à Madagascar et aux Comores). C'est une espèce tropicale, résistante à la chloroquine, mais vite éteinte si le malade survit.

- *P. vivax* : responsable de la fièvre tierce bénigne. Il a une distribution plus étendue que *P. falciparum*, sauf en Afrique subsaharienne. Il prédomine dans la Région des Amériques (64 % des cas). Il n'est pas si anodin qu'on le dit : des formes graves, voire mortelles, ont été rapportées en Inde et en Amazonie (Aubry et Gaüzère, 2020).

- *P. ovale* : responsable de la fièvre tierce bénigne.

- *P. malariae* : responsable de la fièvre quarte bénigne.

Une cinquième espèce, *P. knowlesi*, responsable du paludisme du singe, a été trouvée comme infection humaine à fièvre quarte dans quelques pays d'Asie du sud-est. Attribuée au début à *P. malariae*, elle est due en fait à *P. knowlesi*. L'évolution est potentiellement grave et l'infection doit être traitée comme *P. falciparum*.

#### I.1.4-Le cycle évolutif du parasite

Le cycle évolutif du Plasmodium comprend quatre phases :

- ❖ Le développement parasitaire chez l'homme depuis la migration des sporozoïtes vers le foie jusqu'aux gamétocytes en passant par le cycle érythrocytaire schizogonique ou asexué,
- ❖ La transmission « homme - moustique » avec l'ingestion par le moustique des gamétocytes,
- ❖ Le développement sporogonique chez le moustique depuis les gamétocytes dans l'estomac jusqu'aux sporozoïtes dans les glandes salivaires,
- ❖ La transmission « moustique - homme » avec l'injection par le moustique à l'homme des sporozoïtes. Au cours de la première phase, les schizontes se rompent environ une semaine après la piqûre du moustique et libèrent les mérozoïtes dans le sang. Ils envahissent les globules rouges (GR) puis se développent en trophozoïtes qui mûrissent en schizontes et se divisent en mérozoïtes qui envahissent de nouveau les GR. Ce processus au sein des GR correspond aux accès palustres avec fièvre et frissons. Après 1 à 2 semaines, des gamétocytes sont produits et sont repris au cours de nouvelles piqûres de moustiques. Les hypnozoïtes sont des formes dormantes intra-hépatocytaires responsables des accès de reviviscence qui peuvent survenir après des mois ou des années dans les infections à *P. vivax* et à *P. ovale*. Il n'existe pas d'hypnozoïtes pour *P. falciparum* et *P. malariae* (Aubry et Gaüzère, 2020).

#### I.1.2.3-Multiplication chez l'Homme.

En piquant l'Homme, l'anophèle lui inocule des milliers de sporozoïtes. En une demi-heure, ces sporozoïtes atteignent les cellules du foie où s'effectuera la schizogonie exoérythrocytaire (Aubry et Gaüzère, 2020).

##### ❖ Schizogonie exoérythrocytaire

Dans le foie, les sporozoïtes se transforment en cryptozoïtes dont le noyau se subdivise plusieurs fois pour donner un schizonte géant ou corps bleu basophile volumineux. Quand le corps bleu est mûr, il éclate et libère plusieurs mérozoïtes, qui dans le cas d'une infestation à *P. falciparum*, rejoignent la circulation sanguine. Certaines schizontes restent à l'état latent dans

les cellules hépatiques, ce sont des hypnozoïtes qui sont à l'origine des rechutes tardives dans des infestations à *P. vivax* (3 ou 5 ans) ou *P. ovale* (2 ou 3 ans) (Aubry et Gaüzère, 2020).

#### ❖ Schyzogonie érythrocytaire

Chaque mérozoïte pénètre dans une hématie et devient un trophozoïte qui grossit, se développe en forme d'une « bague à chaton ». Le noyau se développe et le trophozoïte devient un schizonte multinucléé ou « corps en rosace » qui éclate et libère des mérozoïtes. Ces éclatements sont responsables des accès de fièvre. Après plusieurs cycles schizogoniques érythrocytaires, certains schizontes mures se transforment en gamétocytes mâles et femelles (Aubry et Gaüzère, 2020).

#### I.1.2.4-Multiplication chez l'anophèle : Sporogonie

En piquant l'Homme malade, l'anophèle absorbe les gamétocytes mâles et femelles, ces derniers se transforment en gamètes dans son estomac. Leur fécondation donne un œuf mobile appelé ookinète qui se transforme en oocyste après avoir traversé la paroi de l'estomac et qui, en se divisant donne des sporozoïtes. Ces sporozoïtes gagnent les glandes salivaires de l'anophèle sont transmis à un autre sujet à l'occasion d'une piqûre (Aubry et Bernard-Alex, 2020).

#### I.1.2.5-Particularités des espèces plasmodiales.

*Plasmodium falciparum* possède un seul cycle intra- hépatique durant environ une à deux semaines ; le cycle érythrocytaire est de 48 heures ; la schizogonie s'effectue dans les capillaires profonds ; la parasitémie périphérique est intense atteignant jusqu'à 50 % d'hématies. C'est l'espèce la plus répandue, la plus redoutable, responsable de la fièvre tierce maligne ou accès pernicieux. Il n'y a pas de rechutes tardives.

*Plasmodium vivax* et *P. ovale* ont une schizogonie hépatique de 8 jours. Les rechutes tardives ou reviviscences peuvent se produire jusqu'à 4 ans après l'infestation. La schizogonie érythrocytaire dure 48 heures avec une parasitémie dépassant rarement 2 %. Cliniquement, ils donnent une fièvre tierce bénigne.

*Plasmodium malariae* présente des accès de reviviscence tardive au-delà de 20 ans. La schizogonie érythrocytaire dure 72 heures d'où l'expression clinique par une fièvre quarte bénigne. La parasitémie est faible, inférieure à 1 %.

*Plasmodium knowlesi* est une espèce proche génétiquement, cliniquement et macroscopiquement de *Plasmodium malariae*. Connue auparavant chez le singe, elle a été découverte récemment chez l'Homme. L'espèce est sensible à la chloroquine (Barber et al., 2011).

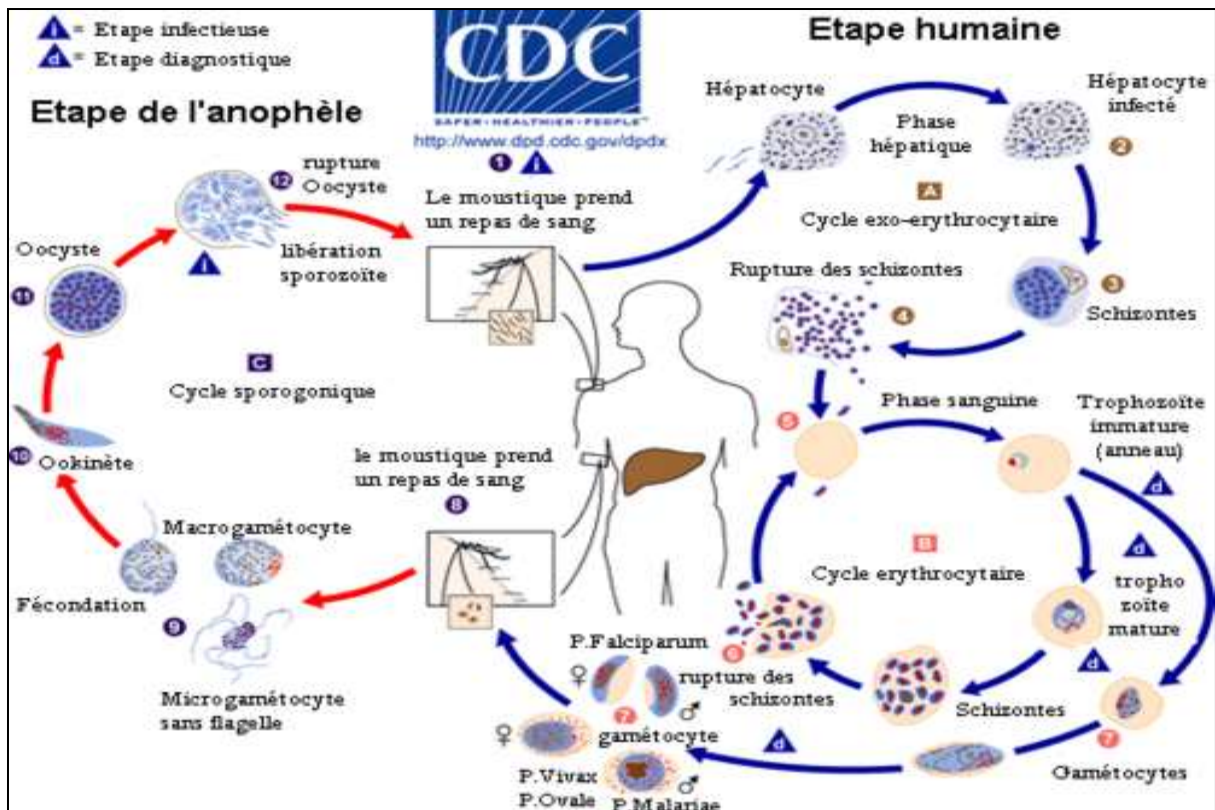


Figure 2 : Cycle de vie du *Plasmodium* chez l'homme et chez l'anophèle (CDC, 2009)

### I.1.2.6-Les différentes formes de paludisme

Les manifestations cliniques du paludisme sont très diverses et dépendent de l'espèce plasmodiale impliquée, de la densité parasitaire dans le sang et de la susceptibilité de l'hôte. Le paludisme débute par une fièvre 8 à 30 jours après l'infection, qui peut s'accompagner ou non de maux de têtes, de douleurs musculaires, d'un affaiblissement, de vomissements, de diarrhées ou de toux. Des cycles typiques alternant fièvre, frissons avec sueurs froides et transpiration intense peuvent alors survenir : c'est « l'accès palustre ». La périodicité de ces cycles dépend de l'espèce plasmodiale en cause et coïncide avec la multiplication des parasites et l'éclatement des globules rouges qui conduit également à l'anémie. Le paludisme à *P. falciparum* peut être fatal s'il n'est pas traité. Dans certains cas, les globules rouges infectés peuvent bloquer les vaisseaux sanguins irrigant le cerveau causant ainsi le neuropaludisme très souvent mortel (Aubry et Gaüzère, 2020).

#### ➤ Accès palustre simple

Il peut être suspecté au retour d'une zone d'endémie et est caractérisé par des accès fébriles avec une fièvre à plus de 40°C, des frissons suivies d'une chute de température accompagnée de sueurs abondantes et d'une sensation de froid. Classiquement, on distingue



une fièvre tierce bénigne due à *P. vivax* et *P. ovale*, une fièvre tierce maligne due à *P. falciparum* et une fièvre quarte bénigne due à *P. malariae* (Brenier-Pinchard et Pelloux, 2002).

➤ **Le paludisme viscéral évolutif**

Autrefois appelée cachexie palustre, elle associe fièvre intermittente modérée, anémie, cytopénie et splénomégalie (hypertrophie de la rate) modérée chez les enfants de 2 à 5 ans. D'autres symptômes tels que l'asthénie, l'anorexie, les œdèmes des membres inférieurs et les diarrhées peuvent être observés. Comme complication, il peut avoir une rupture traumatique de la rate du fait de son développement important (Brenier-Pinchard et Pelloux, 2002).

**I.1.2.7-Accès palustres graves à *Plasmodium falciparum***

❖ **Paludisme cérébral ou neuropaludisme (Accès pernicieux)**

Cette forme de paludisme appelée ainsi à cause de l'obstruction des capillaires du cerveau par les débris d'hématies éclatées, associe une élévation importante de température (40 °C), des convulsions et le coma (d'une durée supérieure à 30 minutes). La mortalité s'élève parfois à 20 % chez les adultes et 15 % chez les enfants. Cette variété de paludisme s'accompagne d'un nystagmus (tressautement des yeux dans le plan horizontal de façon incessante), des hémorragies de la rétine dans environ 15 % des cas, d'une anémie et d'un ictère (jaunisse). Les autres signes de ce type de paludisme sont : l'hypoglycémie, particulièrement chez les enfants et les femmes enceintes (due à un mauvais fonctionnement du foie et à une consommation exagérée de sucre par le parasite), une augmentation de l'acidité du sang, un œdème pulmonaire (présence de liquide dans les poumons) et une insuffisance rénale (Encarta, 2009 ; Recueil de formation à la santé : paludisme).

❖ **La fièvre bilieuse hémoglobinurie**

Une autre complication du paludisme susceptible de survenir est la fièvre bilieuse hémoglobinurique. Elle survient chez des individus anciennement atteints de la malaria à *P. falciparum* vivants dans des pays de forte endémie et prenant irrégulièrement une prophylaxie et/ou un traitement par la quinine ou la méfloquine. Elle est consécutive à un éclatement de globules rouges à l'intérieur des vaisseaux (hémolyse intra-vasculaire). Elle se caractérise par une fièvre élevée, un état de choc avec prostration, un ictère, des urines de plus en plus foncées, une anémie, une hémoglobinurie et surtout une insuffisance rénale mortelle due à une destruction des tubules rénaux appelée nécrose tubulaire aigüe (Brenier-Pinchard et Pelloux, 2002).

### **I.1.2.8-La malaria de la femme enceinte**

Le paludisme est beaucoup plus fréquent chez la femme enceinte, surtout pendant le 3<sup>ème</sup> trimestre et à l'accouchement. Des complications aiguës et graves sont notées : mortalité foëto-maternelle, accès pernecieux palustre dans les régions d'endémie instable où les cas sont peu fréquents en dehors des épisodes épidémiques. En zone de paludisme stable, problèmes d'anémie chez la mère et retard de croissance foëtale responsable d'un déficit pondéral à la naissance, principalement marqué chez les primipares. Fréquence de l'hypoglycémie sévère après début du traitement par la quinine (qui favorise la libération d'insuline), de l'œdème pulmonaire, de l'anémie. La prophylaxie pendant la grossesse dans les zones d'endémie doit être systématique (Aubry et Gaüzère, 2020 ; OMS, 2019).

### **I.1.2.9-Le paludisme de l'enfant**

Dû à *P. falciparum*, il est à l'origine d'environ 1 à 3 millions de décès chaque année. Cette variété de paludisme touche essentiellement les africains et s'accompagne de troubles neurologiques avec des convulsions pouvant aller jusqu'au coma, d'une hypoglycémie, d'une augmentation du taux d'acidité du sang (acidose métabolique) et d'une anémie sévère. Contrairement aux autres formes de paludisme, celui de l'enfant ne s'accompagne pas ou très peu d'une insuffisance rénale ni d'un œdème pulmonaire aiguë (Brenier-Pinchard et Pelloux, 2002 ; OMS, 2019 ; Aubry et Gaüzère, 2020).

### **I.1.2.10-La splénomégalie tropicale**

Cette splénomégalie (augmentation de volume de la rate) se rencontre chez quelques individus qui vivent dans une zone où le paludisme est endémique. Ces personnes présentent une réponse immunologique anormale aux infections dues au paludisme, ce qui se traduit, en dehors de la splénomégalie, par une hépatomégalie (augmentation de volume du foie), par l'élévation du nombre de lymphocytes à l'intérieur des sinusoides hépatiques. Environ 10 % d'entre eux développent en Afrique une lymphocytose B (augmentation des lymphocytes B). Les symptômes sont le tiraillement abdominal, la présence d'une masse abdominale, les douleurs abdominales violentes et l'anémie. Les complications conduisent à un taux de mortalité élevé et à une prolifération des lymphocytes avec apparition d'un syndrome lymphoprolifératif malin susceptible de se développer chez les individus présentant une résistance au traitement antipaludique (Brenier-Pinchard et Pelloux, 2002 ; OMS, 2019 ; Aubry et Gaüzère, 2020).

### I.1.2.11-Diagnostic du paludisme

L'OMS recommande que dans tous les cas présumés, le paludisme soit confirmé par un diagnostic basé sur la recherche des plasmodiums par microscopie ou test de diagnostic rapide (TDR) avant d'administrer un traitement.

Les techniques microscopiques conventionnelles, frottis mince, goutte épaisse demeurent la référence. Elles nécessitent une méthodologie simple, mais précise et rigoureuse et un long apprentissage. La sensibilité est corrélée au temps d'observation (pour un frottis : lecture d'au moins 100 champs, en pratique 20 minutes). Le frottis mince permet :

- l'étude morphologique des hématozoaires,
- le diagnostic différentiel entre les espèces plasmodiales (il reste toujours un défi même pour un lecteur averti).

La goutte épaisse, examen de référence de l'OMS, est largement utilisée pour le diagnostic de routine. Sa sensibilité (seuil de détection d'hématies parasitées/ $\mu\text{L}$ ) est de 20 hématies parasitées/ $\mu\text{L}$ , 10 fois plus élevée que celle du frottis mince (100 à 200). Le problème du diagnostic d'espèce se pose rarement et l'incertitude est le plus souvent sans conséquence sur la conduite thérapeutique (OMS, 2019 ; Aubry et Gaüzère, 2020).

### I.1.3- Traitement du paludisme

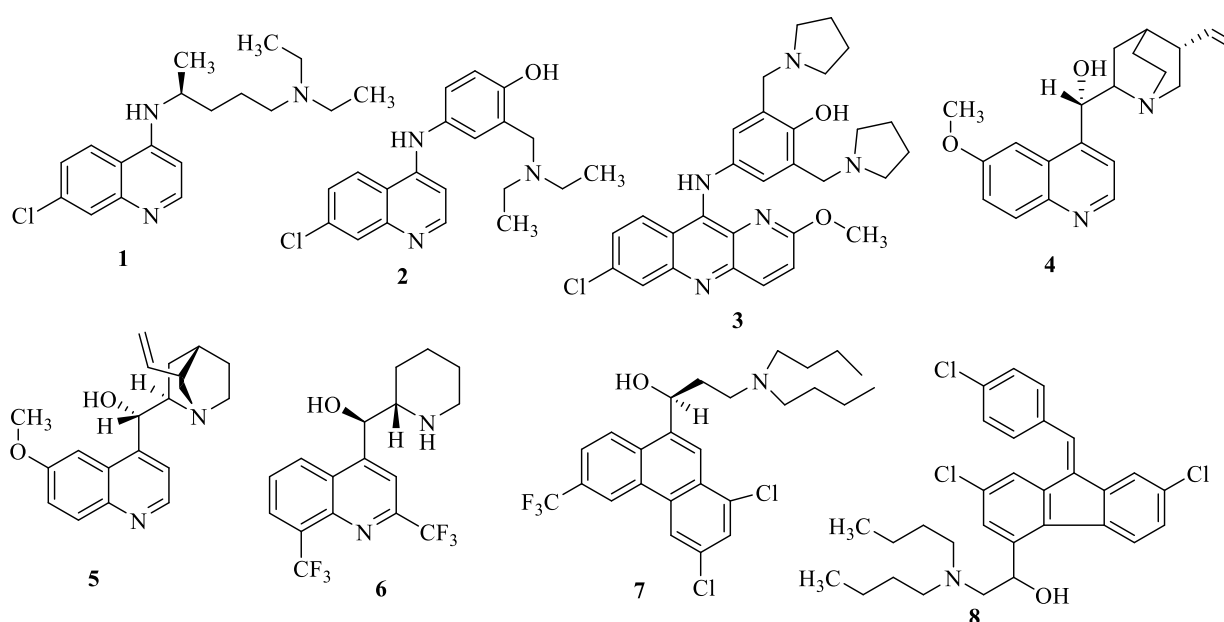
De plus en plus de résistances se développent contre les traitements actuels du paludisme, et les chercheurs tentent d'identifier de nouvelles armes pour éliminer le paludisme. Les traitements étudiés ci-dessous concernent des médicaments à notre disposition (OMS, 2014. OMS, 2019 ; Aubry et Gaüzère, 2020).

Au cours de sa vie au sein de l'organisme humain, le parasite passe successivement par plusieurs stades, chaque stade se terminant par une forme différente. Les traitements antipaludéens mis au point pour lutter contre ce parasite agissent sur les différentes étapes de son évolution. Ces traitements dépendent de plusieurs facteurs, notamment de l'espèce de parasite mise en cause, de la gravité de l'infection, de l'âge de la personne atteinte et du profil de résistance aux médicaments antipaludéens dans la région du monde où la personne a contracté la maladie (Gentilini, 1990 ; Encarta, 2009). Ainsi, selon leur mode d'action, on classe les médicaments antipaludiques en schizontocides et en gamétocytocides (Basco et *al.*, 1994).

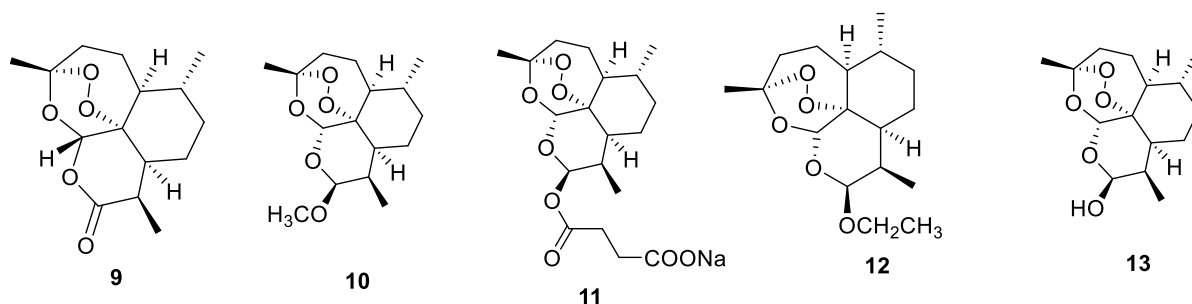
### I.1.3.1-Les schizontocides

Les piliers sont les quinolines, l'artémisinine et ses dérivés, les antifolates et les antibiotiques.

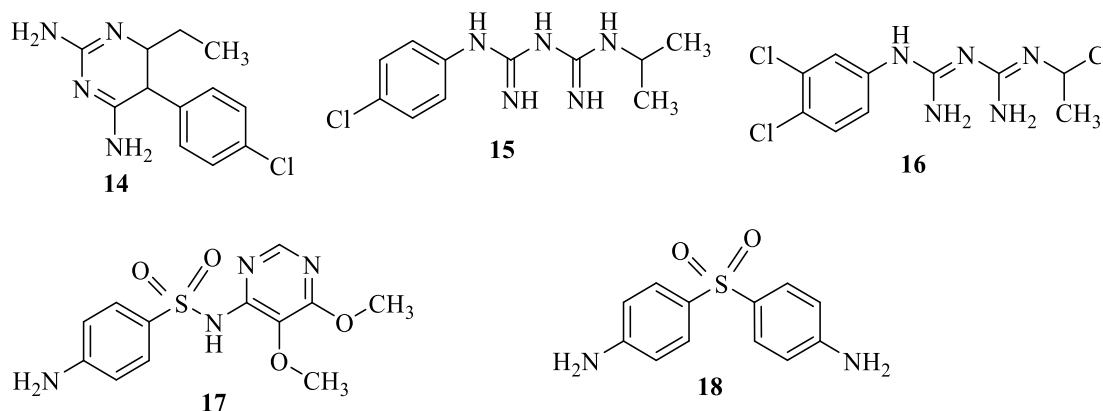
Les quinolines incluent celles de type I, à savoir les 4-amino-quinolines [chloroquine (1), amodiaquine (2) et pyronaridine (3)] et celles de type II, les amino-alcools [quinine (4), quinidine (5), méfloquine (6), halofantrine (7) et luméfántrine (8)]. Les quinolines de type I inhibent la détoxification de l'hème (un des métabolites de la digestion de l'hémoglobine). Les médicaments de type II ont des cibles différentes. Les parasites ont une susceptibilité (résistance) inverse entre quinolines de type I et II (Genton et D'Acremont, 2007).



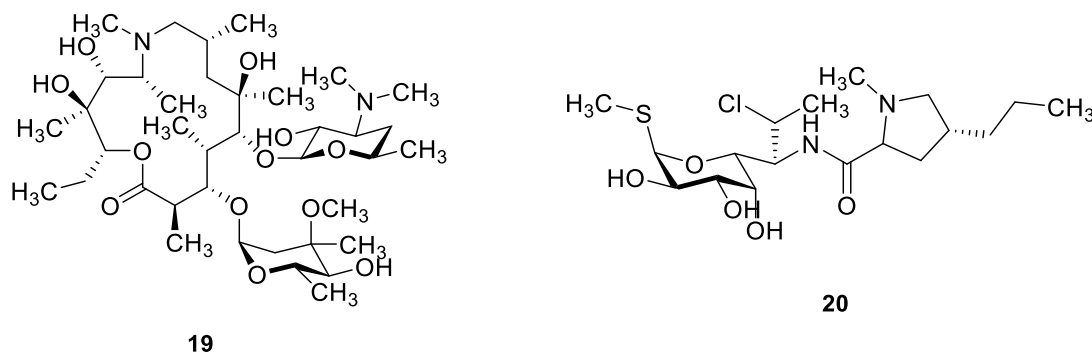
L'artémisinine (9) est le composant actif de l'herbe chinoise *Artemisia annua* utilisée en Chine depuis des décennies. L'artémisinine bloquerait une enzyme qui permet au parasite de pomper le calcium, l'empêchant ainsi de se développer (Dondorp et al. 2009). Active sur toutes les espèces de *Plasmodium*, elle pénètre rapidement dans les globules rouges et stoppe la maturation des schizontes. Actuellement sont utilisés ses dérivés semi-synthétiques tels que l'artéméter (10), l'artésunate (11), l'artéether ou artémotyl (12) et le dihydroartémisinine (13) (dérivé le plus actif et métabolite commun de tous les autres dérivés) (Genton et D'Acremont, 2007). L'artéméter réagit avec le fer des globules rouges pour créer des radicaux libres qui, à leur tour, détruisent les membranes des parasites et les tue (Dondorp et al., 2009).

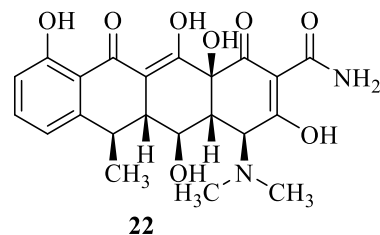
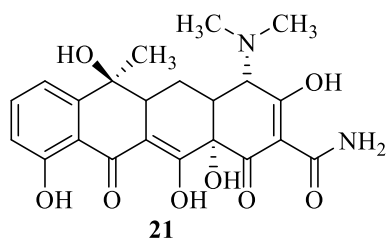


Les antifolates incluent la pyriméthamine (**14**), les biguanides [proguanil (**15**) et chloroproguanil (**16**)], la sulfadoxine (**17**) et le dapsoné (**18**). Ces antifolates sont classifiés en deux groupes : les antifoliques (sulfamides, dont la sulfadoxine et sulfone) qui préviennent la formation du dihydrofuroate catalysée par la dihydrofuroate synthase (DHPS) et qui produit l'acide folique, et les antifoliniques (pyriméthamine et biguanides) qui inhibent la dihydrofolate réductase (DHFR) prévenant ainsi la réduction de la dihydrofolate en tétrahydrofolate (Genton et D'Acremont, 2007). La dihydrofolate réductase produit l'acide folinique. Proguanil est bien toléré mais peut provoquer la diarrhée et les ulcères (Ashley *et al.*, 2006).



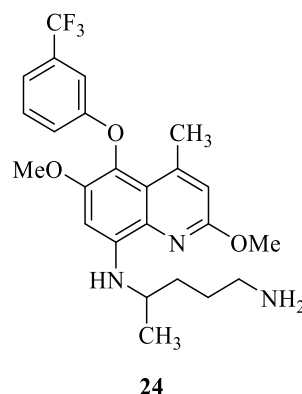
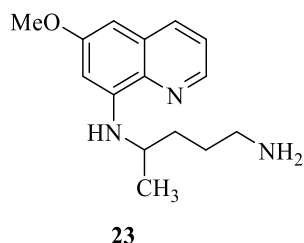
Parmi les antibiotiques on range l'azithromycine (**19**), la clindamycine (**20**), la tetracycline (**21**) et la doxycycline (**22**) (Genton et D'Acremont, 2007 ; OMS, 2000).





### I.1.3.2-Les gamétocytocides

Les plus connus sont les 8-aminoquinoléines tels que la primaquine (**23**) et la tafénoquine (**24**). Ces molécules très toxiques sont peu employées (Robert et *al.*, 2001). Dans cette classe entre aussi le dihydroartémisinine et ses dérivés qui ont pour cible le *Plasmodium falciparum* ATPase6 (Genton et D'Acremont, 2007).



La large utilisation de ces antipaludiques a eu pour conséquence la chimiorésistance du *Plasmodium*, en particulier *P. falciparum*. La chloroquine, principale antipaludique, a rencontré des résistances dans toutes les zones d'endémie. Une résistance aux autres antipaludéens utilisés en prophylaxie ou en traitement curatif s'est également développée. Seule la quinine restait une molécule toujours active même si quelques souches de *P. falciparum* ont une sensibilité diminuée en Asie du Sud Est et en Amazonie (Desowitz, 1991). Les associations médicamenteuses s'avèrent être la voie plausible pour combattre le paludisme. C'est d'ailleurs ce que recommande l'OMS (OMS, 2000).

### I.1.3.3-Traitement par association d'antipaludiques

La combinaison thérapeutique consiste à associer au moins deux médicaments schizontocides dont les modes d'action sont indépendants et les cibles biochimiques différentes afin d'améliorer leur efficacité et de retarder le développement de la résistance à chacun des constituants par le parasite.

Comme combinaisons thérapeutiques nous pouvons citer les associations : pyriméthamine-sulfadoxine (Fansidar), chlorproguanil-dapsone (Lab-Dap), atovaquone-

proguanil (Malarone), méfloquine-sulfadoxine-pyriméthamine (Fansimef), quinine-doxycycline, quinine-sulfadoxine-pyriméthamine, chloroquine ou amodiaquine + sulfadoxine-pyriméthamine et chloroquine-proguanil (Savarine). Ces combinaisons sont à base d'antifolates.

Les antifolates rencontrent des résistances à cause des accumulations séquentielles de points de mutations des gènes de dihydrofolate réductase. En effet, quatre mutations de la dihydrofolate réductase rendent inefficaces les antifolates (Ashley et al., 2006).

L'OMS recommande les combinaisons thérapeutiques à base d'artémisinine (CTA) pour traiter le paludisme non compliqué causé par *P. falciparum*. Associant 2 principes actifs qui ont des modes d'action différents, les CTA sont les antipaludiques les plus efficaces dont on dispose aujourd'hui. Actuellement, l'OMS recommande 5 CTA contre le paludisme à *P. falciparum*. Le choix des CTA doit se fonder sur les résultats des études d'efficacité thérapeutique contre les souches locales de paludisme à *P. falciparum* (OMS, 2019).

#### **I.1.3.4-Vaccins contre le paludisme**

Le RTS, S/AS01 (RTS, S) est le premier, et jusqu'ici le seul, vaccin conférant une protection partielle au jeune enfant. Il est actif contre *P. falciparum*, le parasite du paludisme le plus meurtrier au niveau mondial qui est aussi le plus courant en Afrique. Son utilisation lors d'essais cliniques à grande échelle chez des enfants avec l'administration de 4 doses a permis d'éviter environ 4 cas sur 10 sur une période de 4 ans.

En raison de l'intérêt potentiel du vaccin du point de vue de la santé publique, les principaux organes consultatifs de l'OMS chargés du paludisme et de la vaccination ont ensemble recommandé son introduction progressive dans des zones déterminées en Afrique subsaharienne. Il devait être en 2019 dans trois pays pilotes le Ghana, le Kenya et le Malawi.

Le programme pilote cherchera à régler plusieurs problèmes en suspens concernant l'utilisation du vaccin sur le terrain. Il sera déterminant pour trouver le meilleur moyen d'administrer les quatre doses nécessaires du vaccin, comprendre le rôle qu'il pourrait jouer en vue de réduire la mortalité de l'enfant et vérifier son innocuité dans le contexte d'une utilisation systématique.

Le programme coordonné par l'OMS regroupe le Ministère de la santé des trois pays concernés ainsi qu'un éventail de partenaires nationaux et internationaux, dont PATH, une organisation à but non lucratif, et le fabricant GSK qui a mis au point le vaccin.

#### **I.1.3.5-Médecine traditionnelle et antipaludiques naturels**

La médecine traditionnelle se définit comme un ensemble de diverses pratiques, approches, connaissances et croyances sanitaires intégrant des médicaments à base de plantes,

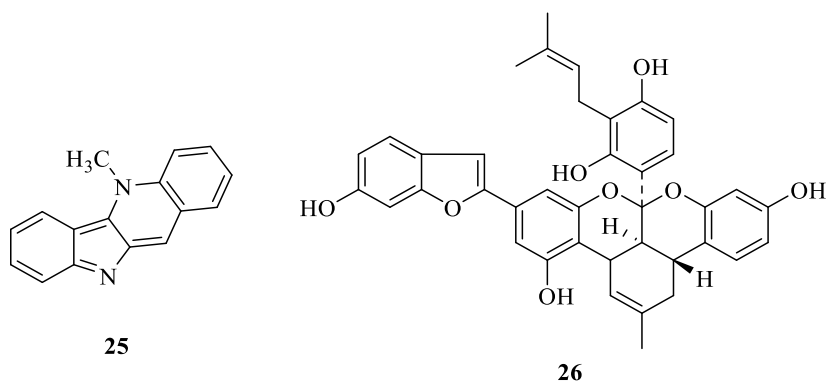
d'animaux et/ou de minéraux, des traitements spirituels, des techniques manuelles et exercices, appliqués seuls ou en association afin de maintenir le bien-être et traiter, diagnostiquer ou prévenir une maladie (OMS, 2002).

Une étude menée par une organisation non gouvernementale (ONG) malienne, *Aidem* et Ong, a montré que les tradithérapeutes avaient une bonne connaissance de la symptomatologie du paludisme. Les traitements étaient en majorité à base de substances végétales. L'usage de ces plantes a été soutenu par évaluation de l'activité antiplasmodiale de leurs extraits. Les extraits des différents organes de ces plantes ont été testés *in vitro* sur des souches standards de *P. falciparum* résistantes à la chloroquine. Une des plantes les plus actives a été *Argemone mexicana*, dont les extraits organiques (méthanol et dichlorométhane) ont montré des  $CI_{50}$  respectivement de 1,00 et 1,22  $\mu\text{g/mL}$  (Aidem et Ong., 2007), comparables à celles des extraits d'*Artemisia annua*, dont le principe actif est à la base des combinaisons thérapeutiques utilisées en première ligne pour le traitement du paludisme. Des études similaires réalisées sur certaines plantes du genre *Beilschmiedia* et *Persae* ont confirmé leur utilisation dans le traitement du paludisme (Lenta et al., 2015; Falodun et al., 2014). En effet, les études menées sur les extraits des plantes du genre *Persea* et *Beilschmiedia* contiennent des métabolites secondaires, qui possèdent les activités intéressantes contre les souches de *Plasmodium falciparum* sensibles à la chloroquine (D6, 3D7, NF54) et résistantes à la chloroquine (W2, K1) (Falodun et al., 2014, Lenta et al., 2015). C'est ainsi que les composés 1,2,4-trihydroxyheptadec-16-ène (**148**) et 1,2,4-tétrahydroxyheptadécane-6,16-diène (**153**) isolés des noyaux de *Persea americana* ont présenté les  $CI_{50} = 1,6$  et 1,4  $\mu\text{g/mL}$  pour la souche D6, respectivement, et 2,1 et 1,4  $\mu\text{g/mL}$  pour la souche W2, respectivement (Falodun et al., 2014). L'acide cryptobéilique A (**95**) et la tsangibeiline B (**96**) isolés de *B. cryptocaryoides* collectés à Madagascar ont montré une activité antiplasmodiale *in vitro* contre la souche sensible à la chloroquine de *P. falciparum* NF54 avec des valeurs de  $CI_{50}$  de 17,7 et 8,2  $\mu\text{M}$ , respectivement (Talontsi et al., 2013). La dehatrine (**40**) isolés de *B. madang*, a présenté une bonne activité antiplasmodiale contre la souche résistante à la chloroquine *P. falciparum* k1 avec une valeur de  $CI_{50}$  de 0,17  $\mu\text{M}$  (Kitagawa et al., 1993).

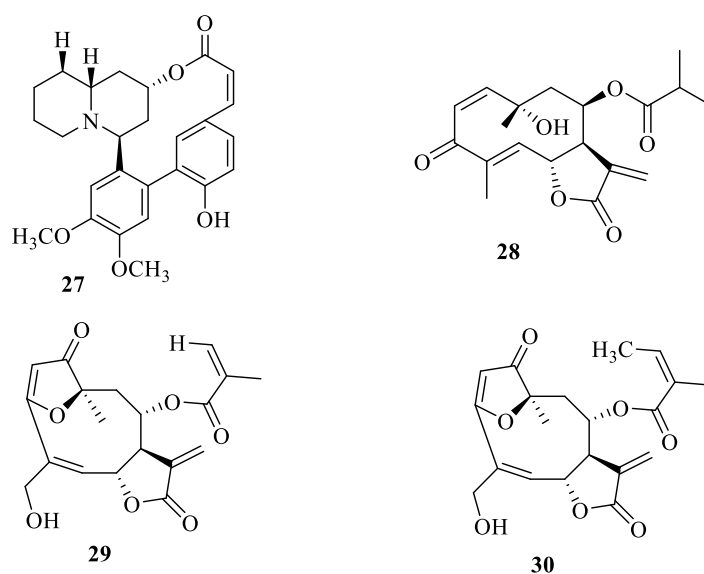
D'autres travaux réalisés sur diverses autres familles de plantes ont permis d'isoler de nouvelles molécules possédant une activité antiplasmodiale intéressante. La criptolépine (**25**), isolée de *Cryptolepis sanguinolenta* a présenté une  $CI_{50}$  de 0,44  $\mu\text{M}$  sur la souche K1 de *P. falciparum* (Kirby et al., 1995). La mulberrofurane F (**26**), isolée de l'extrait au méthanol des



écorces de *Morus mesozygia* ont montré une activité antiplasmodiale intéressante ( $CI_{50} = 1,55 \mu M$ ) sur la souche W2 (résistante à la chloroquine) de *P. falciparum* (Soh, 2010).



Les sesquiterpènes tels que la neurolénine B (**27**) et la tagitinine C (**28**) ont montré de bonnes activités antiplasmodiales contre *P. falciparum* avec des  $CI_{50}$  de  $0,62 \mu M$  et  $0,33 \mu g/mL$  respectivement. Les lactones sesquiterpéniques (**29**) et (**30**) isolées de *Camchaya calcarea* ont montré des effets inhibiteurs de la croissance (développement) de *P. falciparum* avec des  $CI_{50}$  de 1,2 et  $0,3 \mu g/mL$ , respectivement (Kaur et al., 2009).



#### I.1.4-Prévention et avancées dans la lutte contre le paludisme

La prévention du paludisme passe par des moyens tels que :

- ❖ L'utilisation des moustiquaires imprégnées d'insecticides.

- ❖ La pulvérisation intra domiciliaire d'insecticides à effet rémanent, les pyréthriinoïdes. Mais ces insecticides rencontrent de nombreuses résistances qui pourraient menacer le progrès dans la lutte contre le paludisme (OMS, 2011).
- ❖ La suppression des eaux stagnantes.
- ❖ La protection individuelle qui consiste au port de vêtements couvrants pour se protéger de piqûres de moustiques.
- ❖ La chimioprophylaxie qui consiste à prévenir la maladie par la prise des médicaments.

Dans une autre approche, des scientifiques japonais évoquent la possibilité d'un moustique antipaludique. En effet, selon le laboratoire de l'Université de Jichi (près de Tokyo), des moustiques qui provoquent le paludisme pourraient être génétiquement modifiés pour vacciner les gens contre cette maladie. La naissance de ce « moustique antipaludique » devra toutefois attendre la mise au point d'un vaccin efficace contre cette maladie, vaccin nécessaire pour modifier génétiquement l'insecte. Les scientifiques japonais ont déjà réussi ce type d'expérience en modifiant le patrimoine génétique de l'insecte responsable de la leishmaniose, autre fièvre mortelle. Dans la salive de ce moustique génétiquement modifié, se trouve une protéine venue d'ailleurs. Lorsqu'une souris de laboratoire a été piquée par ce moustique transgénique, elle a développé un anticorps la protégeant de la leishmaniose.

Malgré le problème de la résistance aux médicaments, le paludisme est une maladie guérissable et n'est pas un fléau inévitable. Lorsque les traitements sont effectués de manière appropriée et lorsque la maladie est prise en charge rapidement, la guérison est possible.

## **I.2- Généralités sur la trypanosomiase.**

On distingue deux types de trypanosomiase : trypanosomiase africaine et américaine ou maladie de chagas.

### **I.2 1- Généralités sur la trypanosomiase Africaine.**

#### **I.2.1.1- Définition et rappels historiques**

La Trypanosomiase Africaine est une maladie tropicale négligée causée par les parasites protozoaires flagellés appartenant au genre *Trypanosoma* (Barrett et al., 2003) qui prolifèrent dans les tissus et les liquides de l'hôte mammifère (sang, lymphe, liquide céphalo-rachidien) (OMS, 2014). Le parasite est un protozoaire du genre *Trypanosoma* transmis à l'homme par la

piqûre d'une mouche du genre *Glossina* (mouche tsé-tsé), qui se trouve uniquement en Afrique subsaharienne. Ces trypanosomes sont responsables de la Trypanosomiase Humaine Africaine (THA) encore appelée maladie du sommeil tandis que chez les animaux ils sont à l'origine de la Trypanosomiase Animale Africaine (TAA) connue sous le nom de la *Nagana* (OMS, 2015). Il s'agit donc d'une maladie strictement africaine. Il existe deux trypanosomes différents, tous deux agents de la THA :

- *Trypanosoma brucei gambiense* en Afrique de l'ouest et en Afrique centrale,
- *Trypanosoma brucei rhodesiense* en Afrique de l'est et en Afrique australe.

La ligne de démarcation entre les deux trypanosomes passe par la Vallée du Rift.

*T. Brucei gambiense* regroupe plus de 98 % des cas notifiés et provoque une maladie chronique.

*T. Brucei rhodesiense* regroupe moins de 2 % des cas notifiés et provoque une maladie aiguë.

La maladie n'est présentée sous ses deux formes qu'en Ouganda.

La première grande épidémie connue de THA a eu lieu entre 1898 et 1906, principalement en Ouganda et dans le bassin du Congo. Grâce aux équipes mobiles de lutte contre la maladie du sommeil, « inventées » par Jamot dès 1916, la THA avait pratiquement disparu entre 1960 et 1965. Puis la maladie a été oubliée, négligée. Un signal d'alarme a été lancé en 1994 dans l'indifférence générale par l'OMS sur la situation de la THA en Afrique centrale, la maladie étant de nouveau devenue préoccupante. Ainsi, en 1998, près de 40 000 cas ont été notifiés, mais 300 000 cas n'avaient pas été diagnostiqués et donc pas traités.

Il a fallu attendre l'an 2000 pour qu'on s'intéresse de nouveau à la THA avec :

- L'accord le 03/05/2001 entre Aventis et l'OMS, Aventis accordant une subvention de 25 millions de dollars pour restructurer les équipes de lutte, fournir gratuitement les médicaments et développer de nouvelles molécules,
- la Campagne panafricaine d'éradication de la mouche tsé-tsé et des Trypanosomoses (PATTEC) initiée par les Chefs d'État de l'OUA (volonté politique) en juin 2001,
- le programme OMS d'élimination de la Maladie du Sommeil en 2002.

Grâce aux efforts de lutte, 27 millions de personnes ont été dépistées depuis 2001, avec plus de 175 000 patients traités. En 2009, le nombre de cas notifiés est passé en-dessous des 10 000 (9878 cas) pour la première fois en 50 ans. En 2015, 2804 cas ont été recensés. C'est le chiffre le plus bas jamais enregistré. Cependant, la THA est toujours d'actualité. On estime actuellement à 20 000 le nombre réel de cas et à 65 millions de personnes la population exposée au risque. La THA est classée par l'OMS parmi les maladies tropicales négligées. Le

trypanosome est très virulent et la mortalité est de 100 % en l'absence de traitement. La lutte efficace contre la THA est basée sur les « postulats » de Jamot :

- surveillance active des populations à risque par le dépistage actif par les équipes mobiles et le traitement systématique des malades,
- réduction des populations de glossines par la lutte anti vectorielle (Aubry et Gaüzère, 2020; OMS, 2019 ; PATTEC, 2010).

### **I.2.1.2- Epidémiologie**

#### **➤ La Trypanosomiase Humaine Africaine (THA)**

L'Afrique a connu plusieurs grandes endémies de la maladie du sommeil : entre 1896 et 1906 principalement en Ouganda et dans le bassin du Congo ; en 1920 et en 1970 jusqu'en 1990 dans plusieurs pays africains (Aubry et Gaüzère, 2020). Des équipes mobiles organisées pour le dépistage chez les millions de personnes à risque avaient réussi à réduire la maladie à ses plus faibles proportions voire à l'éradiquer. Mais après ce succès, la surveillance s'est relâchée au profit de nouveaux fléaux comme le sida et on a assisté à une résurgence de la maladie dans plusieurs pays ces trente dernières années. La trypanosomiase africaine est actuellement en recrudescence et sévit exclusivement dans 36 pays d'Afrique subsaharienne où près de 60 millions d'individus sont exposés aux mouches tsé-tsé pouvant transmettre la maladie, 300 à 500 mille personnes sont affectées chaque année et 100 milles personnes décèdent chaque jour (Keumen, 2003). Les populations rurales vivant dans les régions où a lieu la transmission et qui dépendent de l'agriculture, de la chasse, de la pêche et de l'élevage sont plus exposées aux mouches tsé-tsé et par conséquent à la maladie. Après des efforts constants pour lutter contre cette maladie, le nombre de cas notifiés est passé de 26 000 en 2000 à 7 200 en 2010 même si le nombre de cas effectifs est actuellement estimé à 20000 (OMS, 2013 ; OMS 2014). Au cours des 10 dernières années, plus de 70% des cas notifiés ont été observés en République Démocratique du Congo (RDC). En 2011 et 2012, seule la RDC déclarait plus de 1000 nouveaux cas par an. Le Tchad, le Soudan et la République Centrafricaine ont déclaré entre 100 et 1000 cas par an. L'Angola, l'Ouganda et le Malawi déclaraient moins de 100 cas par an tandis que le Cameroun, le Kenya, le Nigéria, la Tanzanie, le Gabon, le Zimbabwe et la Zambie ont notifié moins de 20 cas par an. Dans d'autres pays comme le Benin, le Botswana, le Niger, le Mali, le Ghana, le Sénégal, le Burkina Faso, l'Éthiopie, le Burundi, la maladie a presque disparu puisqu'aucun cas n'y a été notifié ces 10 dernières années (OMS, 2014).

➤ **La Trypanosomiase Animale Africaine (TAA)**

La Trypanosomiase Animale Africaine est la première maladie à transmission vectorielle chez le bétail. En effet, elle cause la mort de 3 millions d'animaux chaque année et constitue de ce fait un obstacle majeur au développement de l'élevage en Afrique Subsaharienne (Boda et al., 2005 ; FAO, 2014). De plus, elle réduit les disponibilités de viande et de lait d'au moins 50% soit un déficit annuel de productivité de 1 million de tonnes et 1,6 million de tonnes respectivement (Boda, 2005 ; PATTEC, 2010). Ces pertes sous-entendent également une réduction des protéines alimentaires disponibles pour l'homme. En effet, la rareté de ces denrées crée une inflation du coût qui limite de ce fait l'accès par les populations démunies (Boda et al., 2005).

Au Cameroun, pour donner suite à une enquête menée auprès des éleveurs de bovins dans certains départements, il ressort que la trypanosomiase constitue la plus fréquente des maladies rencontrées par les éleveurs et celle dont le poids économique est le plus lourd (PATTEC, 2010).

**I.2.1.3- L'agent vecteur et agent pathogène**

➤ **L'agent vecteur**

Les vecteurs : les glossines ou mouches tsé-tsé sont des diptères hématophages. Les mouches tsé-tsé vivent en Afrique et leur distribution est liée à leur habitat : la végétation au bord des cours d'eaux et des lacs, des forêts galeries et des vastes étendues de savane arbustive. On distingue : *Glossina palpalis*, *Glossina tachinoides* qui transmettent *T. brucei gambiense* et *Glossina morsitans* qui transmet *T. brucei rhodesiense*.

La glossine s'infeste chez l'homme et chez un animal porteur de parasites pathogènes pour l'homme. L'inoculation se fait par piqûre infestant. La présence des glossines dépend de quatre facteurs : la chaleur (température entre 25 et 30 °C), l'humidité, l'ombrage, la présence de nourriture. La limite de distribution des glossines est entre deux lignes situées d'une part du 14<sup>ème</sup> au 10<sup>ème</sup> parallèle Nord (Sénégal / Somalie) et d'autre part sur le 20<sup>ème</sup> parallèle Sud, au nord du désert du Kalahari (Jordan, 1993 ; OMS, 2019; Aubry et Gaüzère, 2020).

➤ **L'agent pathogène**

L'agent pathogène de la maladie du sommeil est le trypanosome du groupe *Brucei*. C'est un protozoaire flagellé qui présente deux espèces pathogènes pour l'homme :

- *Trypanosoma brucei gambiense* (*T. b. gambiense*), est responsable de la THA dans sa forme chronique : un sujet peut être infecté pendant des mois, voire des années, sans présenter le

moindre symptôme de la maladie qui est une fois déclarée constamment mortelle en l'absence de traitement.

- *Trypanosoma brucei rhodesiense* (*T. b. rhodesiense*), est responsable de la forme aiguë d'évolution rapide, mortelle en l'absence de traitement, en quelques semaines ou mois (Gentilini et al., 1986 ; Brun et al., 2010).

Les principales espèces ou sous-espèces de trypanosomes responsables de la Trypanosomiase Animale Africaine sont : *Trypanosoma vivax*, *Trypanosoma congolense*, *Trypanosoma simiae*, *Trypanosoma evansi* et *Trypanosoma brucei brucei* (*T. b. brucei*) (Kroubi, 2010). Contrairement à *T. b. gambiense* et *T. b. rhodesiense* ; *T. b. brucei* n'est pas infectieux pour l'Homme en raison de l'effet trypanolytique du sérum humain causé par une protéine de type haptoglobine présente dans les complexes lipoprotéiques de haut poids moléculaire (Muranjan et al., 1998). Cependant, du fait de sa similarité génétique avec les deux sous-espèces précédentes, de son absence de pathogénicité pour l'homme, de la facilité de sa culture *in vitro*, *T. b. brucei* représente le principal modèle d'étude expérimental de la maladie du sommeil (Poltera et al., 1985). C'est ainsi que cette sous-espèce a été choisie dans le cadre de notre étude.

#### I.2.1.4- Cycle du parasite

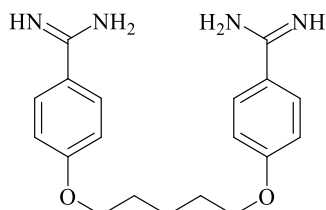
Le cycle est indirect et le parasite est hétéroxène car ses transformations ont lieu chez deux hôtes successifs : la mouche tsé-tsé (hôte intermédiaire) et l'homme (hôte définitif) pour *T. gambiense*.

Les glossines (mouches tsé-tsé) mâles et femelles s'infestent en absorbant le sang des hommes ou des animaux sauvages malades. Les parasites (trypomastigote) alors ingérés se multiplient dans l'intestin de l'insecte et subissent une évolution cyclique pour donner des formes épimastigotes qui gagnent les glandes salivaires puis se transforment en formes trypomastigotes métacycliques infectieuses qui assurent la transmission chez l'hôte définitif. La mouche reste infectieuse pendant toute sa vie qui est d'environ six mois. La durée du cycle du parasite chez la glossine est d'environ trois ou quatre semaines.

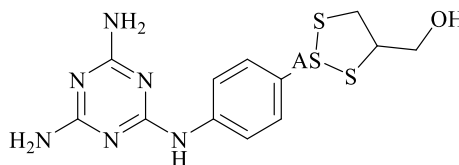
Chez l'homme, les trypomastigotes métacycliques injectés lors de la piqûre par la glossine subissent une multiplication exocellulaire locale pendant 1 à 2 semaines puis migrent dans le système lymphatico-sanguin et même le système nerveux. L'invasion par voie lymphatico-sanguine a lieu quelques jours plus tard, provoquant une adénopathie régionale ou générale, et assure une très large diffusion des trypanosomes (Aubry et Gaüzère, 2020; Kroubi, 2010).

### I.2.1.5-Traitement du THA (Kennedy, 2004 ; Kappagoda et al., 2011)

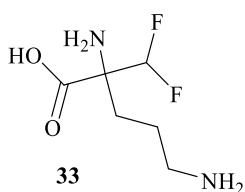
L'arsenal thérapeutique est toujours très réduit avec 5 médicaments (dont 3 sont anciens) : pentamidine (31), mélarsoprol (32), DL- $\alpha$ -difluoromethylornithine ou DFHO ou éflornithine (33), Suramine (34), Nifurtimox (35)



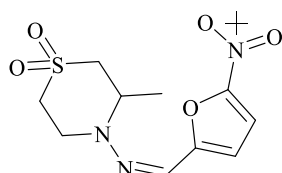
31



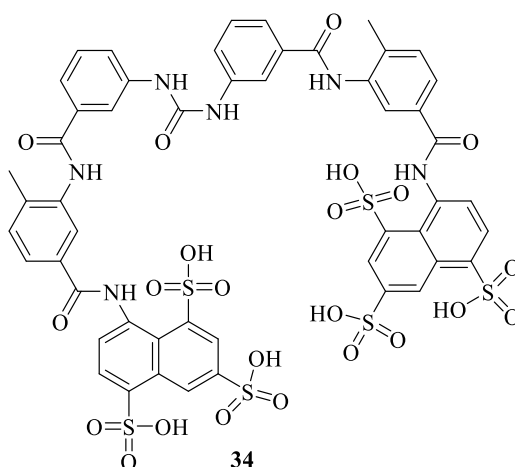
32



33



35



34

#### ➤ Les candidats-médicaments

Deux candidats-médicaments sont à l'étude :

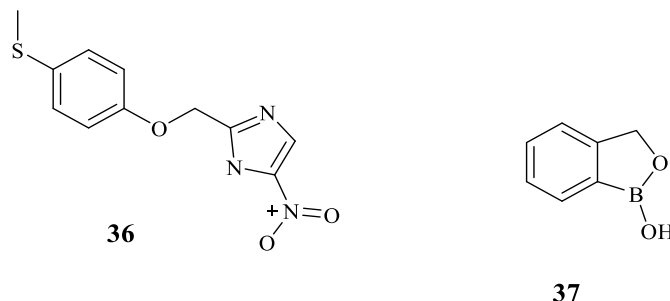
Le flexinidazole (36) a été découvert en 2005 par DNDi (Initiative Médicaments contre les maladies négligées), organisation de recherche et de développement indépendante à but non lucratif bénéficiant du soutien de plusieurs États européens et de donateurs privés, comme la Fondation Bill et Melinda Gates et Médecins Sans Frontières. Un accord de collaboration avait été conclu en 2009 entre DNDi et Sanofi qui a procédé au développement industriel et à l'enregistrement réglementaire, de la production. Le flexinidazole se présente sous la forme d'un simple comprimé, à prendre une fois par jour pendant 10 jours.

Il n'y a pas de différence notable entre le traitement par flexinidazole oral et l'association nifurtimox oral et éflornithine IV en ce qui concerne l'efficacité et les effets secondaires.

Le 28/11/2018, Sanofi et DnDi ont fait part de l'avis favorable du comité d'experts de l'Agence européenne des médicaments (EMA) la voie à sa distribution en Afrique dès 2019.

Sanofi et DNDi vont faire don de ce médicament à l'Organisation mondiale de la santé (OMS) qui sera gratuitement mis à disposition des populations concernées.

- l'oxaborole (**37**) en essais cliniques (phase 1), administré par voie orale, utilisé à la fois au stade 1 et 2 de la THA.



### I.2.1.6-les trypanosomiasis humaines atypiques

La trypanosomiase à *Trypanosoma evansi* a été identifiée en 1880 chez le cheval et le chameau au Punjab en Inde. Elle est connue chez l'animal en Afrique, en Asie, en Amérique du sud sous le nom de *surra*. Le premier cas humain a été diagnostiqué en Inde en 2004. La transmission se fait par des insectes hématophages ou par l'intermédiaire de plaies des mains lors de la délivrance d'un animal infecté (cas en Inde). La maladie se caractérise par des poussées fébriles. Il n'y a pas d'atteinte du LCR. Le diagnostic est parasitologique et biomoléculaire. Le traitement fait appel à la suramine (Germanine) à la dose de 1 g IV par semaine x 5 semaines (20 mg/kg). Un foyer a été recensé en octobre 2000 chez des dromadaires d'élevage en France dans l'Aveyron.

La trypanosomiase à *Tr. lewisi*, est due à un parasite naturel du rat transmis par la puce. L'homme est un hôte accidentel avec une infection qui ne dure qu'un temps très court et ne nécessite pas de traitement. Cependant, chez des sujets immunodéprimés, ou fortement dénutris, ce parasite pourrait devenir opportuniste. Un déficit spécifique du facteur sérique trypanolytique, l'apolipoprotéine L1, a été évoqué.

### I.2.2- La trypanosomiase humaine américaine ou maladie de chagas (Aide-mémoire N° 340, 2014)

#### I.2.2.1- Définition

La maladie de Chagas est une infection parasitaire qu'on détermine par la présence d'un protozoaire flagellé extracellulaire, transmis par des insectes vecteurs, les triatomés ou réduves.



### I.2.2.2- Épidémiologie et quelques chiffres

Limitée au départ seulement en Amérique (d'où le nom trypanosomiase humaine américaine), la maladie de chagas est endémique dans 18 pays d'Amérique latine (du sud des États-Unis au sud de l'Argentine). À cause des flux migratoires, cette maladie est connue aujourd'hui en Guyane française, au Mexique, en France, en Espagne, aux USA, au Japon, au Canada, en Australie et dans les Caraïbes. Le rapport de l'OMS en 2014 estime que 7 à 8 millions de personnes dans le monde sont infectées principalement en Amérique latine. Il y aurait 50000 nouveaux cas chaque année et plus de 10000 décès. Ces chiffres font de cette maladie un problème de santé publique en Amérique latine car il s'agit de la 4<sup>e</sup> maladie transmise. Environ 30% des personnes infectées de façon chronique présentent des troubles cardiaques, et jusqu'à 10% des troubles digestifs, neurologiques ou les deux à la fois, ce qui impose un traitement particulier.

### I.2.2.3- Le parasite et l'agent vecteur

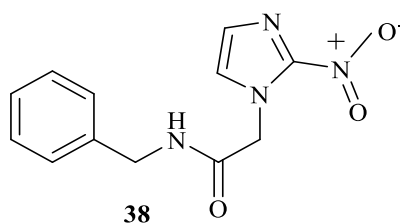
La maladie est transmise par le triatome encore appelé réduve. C'est un insecte piqueur-suceur hématophage. Ces insectes mesurent 2 à 3 cm avec une tête allongée et vivent dans les terriers d'animaux sauvages, les feuilles de palmiers, les fentes des murs et les toitures de chaume. Elles sont incapables de voler et ne sortent que la nuit pour se nourrir. Il existe plusieurs espèces de réduves dont trois bien adaptées à l'habitat humain, les deux sexes étant hématophages : *Triatomainfestans*, *Rhodnius prodixus* et *Panstrongylus megistus*. Le parasite responsable de la maladie est *Trypanosoma cruzi*.

### I.2.2.4- Cycle du parasite

Il existe deux cycles épidémiologiques : un cycle sylvestre chez les mammifères sauvages puis un cycle domestique chez l'homme et les mammifères domestiques. Les triatomes se contaminent sur un homme ou un animal parasité en absorbant du sang contenant des formes trypomastigotes qui se transforment en formes épimastigotes puis en formes trypomastigotes métacycliques infectieuses attachées à la cuticule du rectum. Ces dernières seront rejetées avec les déjections des réduves, vont pénétrer dans l'organisme à la faveur d'une excoriation cutanée, d'un grattage, ou en traversant les muqueuses notamment la conjonctive. Ils se multiplient dans les cellules (forme amastigote), puis gagnent par voie sanguine les organes cibles (forme trypomastigote).

### I.2.2.5- Traitement de la maladie de chagas

Il existe deux médicaments de référence pour le traitement de cette maladie : le Lampit et le Radanil de principes actifs respectifs : nifurtimox (**35**) et benznidazole (**38**) sont efficaces à près de 100% et permettent de guérir la maladie s'ils sont administrés suffisamment tôt après l'infection. Le traitement est également indiqué pour les personnes chez qui l'infection a été réactivée (par exemple en raison d'une immunodépression), pour les nourrissons présentant une infection congénitale et pour les patients au cours de la phase chronique précoce. Ils ne doivent pas être administrés aux femmes enceintes, ni aux personnes souffrant d'insuffisance rénale ou hépatique. Le nifurtimox est également contre-indiqué chez les personnes présentant des antécédents de troubles neurologiques ou psychiatriques.



### I.2.2.6- Prophylaxie

Il n'y a pas de vaccin contre cette maladie. La prophylaxie repose sur :

- La généralisation du dépistage et le traitement des malades.
- La lutte antivectorielle par pulvérisation domiciliaires d'insecticides (pyréthrinoïdes) et l'utilisation des moustiquaires.
- L'éducation sanitaire et l'amélioration du mode de vie et de l'habitat (habitat en maçonnerie).
- Le dépistage des donneurs de sang, des donneurs et des receveurs d'organes, de tissus ou de cellules.
- Le dépistage des nouveau-nés de mères infectées, de frères et sœurs d'enfants infectés.
- Les bonnes pratiques d'hygiène alimentaire.

En plus des effets secondaires et la toxicité des médicaments utilisés, de nombreuses études ont décrit l'apparition de souches résistantes à ceux-ci (Delespaux and de Koning, 2007), relevant ainsi la nécessité de développer de nouvelles solutions thérapeutiques pour lutter contre ces pathologies. Une des stratégies pour cette recherche consiste à utiliser les plantes à activité antiparasitaire. En effet, depuis des millénaires les plantes médicinales jouent un rôle important dans le traitement des maladies infectieuses affectant les hommes et les animaux (Wakil et *al.*, 2016). De plus, en médecine traditionnelle, différentes parties de

diverses espèces de plantes sont généralement combinées afin d'accroître l'effet recherché (Van Vuuren et Viljoen, 2011). Les plantes de la famille des Lauraceae sont utilisées traditionnellement pour le traitement des affections parasitaires des Hommes et des animaux. C'est ainsi que nous avons entrepris dans le cadre de nos travaux l'étude de *B. louisii*, *B. obscura* et *Persea americana* dans le but de rechercher de nouveaux composés à activité antiplasmodiale et antitrypanosomale pouvant servir de molécules phares dans l'élaboration de nouveaux médicaments.

## II-Aperçu botanique sur la famille des Lauraceae.

### II.1- Les Lauraceae

La famille des Lauraceae est pantropicale et quelque fois subtropicale, mais se concentre essentiellement dans les zones tempérées (Gottlieb, 1972). Elle renferme 55 genres, avec 2000 à 2500 espèces (Perry et Metzgr, 1980). Les Lauraceae sont des arbres et arbustes persistants ou caducs, généralement aromatiques. Les feuilles sont toujours simples, persistantes et souvent coriaces. Cependant certaines espèces comme *B. corbisieri* Rob et Wilcz ont des feuilles pubescentes sous les nervures. Les inflorescences sont axillaires et subterminales. Les fleurs, parfois odorantes, sont toujours petites, longues de 1 à 10 mm. Le fruit est une baie ou une drupe, libre ou enveloppée partiellement ou entièrement dans le calice accrescent. La graine est droite et charnue (Fouilloy, 1974). On dénombre 5 sous-familles de Lauraceae :

Les Lauroideae sont le seul groupe possédant une inflorescence avec un involucre. Elle comporte deux genres : le genre *Laurus* avec deux (02) espèces et le genre *Litsea* avec environ 400 espèces.

Les Cinnamoideae ont la partie basale du fruit entourée par une cupule. Elles comprennent plusieurs genres parmi lesquels *Ocotea* et *Cinnamomum*.

Les Hypodaphnoideae ont un ovaire infère et un fruit entouré d'une sorte de tissu durci.

Les Cryptocaryoideae ont un ovaire plutôt supère et aussi un fruit entouré de tissu durci. Elle est composée de plusieurs genres produisant des épices parmi lesquels *Cryptocarya* et *Ravensara*.

Les Persoideae ne possèdent pas de cupule. On y trouve les genres *Persea* (avec environ 150 espèces), *Beilschmiedia* et *Endiandria*. Dans le monde entier, les Lauraceae sont regroupées en 55 genres, avec 2000 à 2500 espèces (Perry et Metzgr, 1980). A ce jour, environ 50 genres et plus de 1000 espèces ont été décrits. On estime à 89 le nombre d'espèces recensées

en Afrique intertropicale parmi lesquelles celles des genres *Beilschmiedia* et *Persea* qui ont particulièrement retenu notre attention.

### II.1.1- Le genre *Beilschmiedia*

*Beilschmiedia* est l'un des genres pantropicaux les plus répandus de la famille des Lauraceae, car se rencontre en Afrique tropicale, en Asie du Sud, en Australie, en Nouvelle-Zélande, en Amérique Centrale, dans les Caraïbes et en Amérique du Sud (Liao, 1996).

Les plantes du genre *Beilschmiedia* sont des arbres ou arbustes. Les feuilles sont alternes et paraissent souvent presque opposées. Elles sont plus ou moins coriaces et penninerves. Les inflorescences sont axillaires en grappes ou panicules de cymes. Les fleurs sont hermaphrodites et caduques. Le fruit est une baie presque sèche de forme variable (sphérique, ovoïde, pyriforme), nu ou entouré inférieurement par la base persistante du calice (Fouilloy, 1974). Elles sont généralement situées à des altitudes, de plus en plus du niveau de la mer, à près de 2200 m (William *et al.*, 2000).

Le genre *Beilschmiedia* comprend environ 250 espèces parmi lesquelles 80 sont identifiées en Afrique tropicale et à Madagascar. Au Cameroun, on dénombre 41 espèces parmi lesquelles *B. obscura* et *Beilschmiedia louissi* (Pierry *et al.*, 1980).

#### I.1.1.1-L'espèce *Beilschmiedia louisii*

C'est un grand arbre sempervirent atteignant 50 m de haut, parfois buissonnant, possédant un fût dépourvu de branches sur une hauteur atteignant 32 m. *B. louisii* est un arbre rectiligne, cylindrique, avec un diamètre atteignant 100 cm, dépourvu de contreforts. Elle possède deux types d'écorces : une écorce externe qui est rugueuse, brune, qui s'écaille et une écorce interne rose brunâtre avec une forte odeur de térébenthine. Ses feuilles alternes sont presque opposées, simples et entières et n'ont pas de stipules. Ses fleurs sont bisexuées, régulières, ocre-rouge à vert olive, courtement pubescentes. Ses fruits sont des baies de 2-4,5 cm, 1,5-2 cm, lisses, brillantes, brunes, renfermant une seule graine (Fouilloy *et al.*, 1974).

#### ➤ Répartition géographique de l'espèce *B. louisii*

*Beilschmiedia louisii* est une espèce originaire de la forêt pluviale et des forêts galeries d'Afrique tropicale (Zaïre, Centrafrique, Cameroun). Elle a une aire de répartition limitée, et on ne peut pas dire à coup sûr si l'espèce est menacée d'érosion génétique. Au Cameroun, on

retrouve l'espèce *B. louisii* aux rives de la Sanaga dans la région du centre, à Ebaka près de Bertoua et à Ngola près de Lomié dans la région de l'Est (Fouilloy et *al.*, 1974).

#### **I.1.1.2-L'espèce *B. obscura*.**

C'est une espèce de la forêt Camerouno-gabonaise qui a pour synonymes *Tylostemon obscurus*, *Afrodaphne obscura* (Vivien et Faure, 1938). Il est un arbre de 25 à 35 m de hauteur, dont le fût cylindrique atteint 15 m de long pour un diamètre de 90 cm. Son écorce est rouge, sa tranche rose avec cerne extérieur un peu foncé. Ses feuilles sont alternes, simples atteignant 10-15 cm de long et 4-6 cm large avec un pétiole pubescent (long : 6-10 mm). Ses inflorescences sont axillaires ou terminales de 2,5-6 cm. Ses fleurs ont 2 mm de diamètre et finement pubérulents. Son fruit est une drupe stipitée et pyriforme (long : 40 mm ; diam: 15 mm), contenant une graine (Fouilloy, 1974).

##### **➤ Répartition géographique l'espèce *Beilschmiedia obscura***

Au Cameroun, cette espèce a été localisée dans la région du Littoral, précisément dans les localités de Douala (route Razel), Dibanga près d'Édéa (au bord des marigots). Elle se retrouve aussi dans les régions du Centre (au mont Kalla, Yaoundé), du Sud (à Bipindi) et de l'Est (à Mouloundou) (Fouilloy, 1974). En fonction des localités, elle admet plusieurs noms vernaculaires : « kanda ou zolé » en Bulu, « kanda ou zoulé » en Ewondo, « ésoulé » en Mabéa et « mobakosso ou yombo » en Pygmées Baka (Vivien et Faure, 1938).

#### **I.1.2-Le genre *Persea* (plantes botanique)**

Le genre *Persea* est originaire des régions tropicales d'Amérique Centrale et du Sud, sauf quelques espèces qui sont endémiques d'Asie, des Açores et des Canaries. Il est représenté par plus de 150 espèces. Ces plantes sont des d'arbres et d'arbustes persistants, aux feuilles alternes, simples, entières, aromatiques. Les fleurs sont actinomorphes et bisexuées. Elles sont groupées en cymes composées et axillaires. Le genre *Persea* est subdivisé en trois sous genres : *Persea*-Amérique centrale, *Eriodaphne*-Amériques ou Macaronésie et *Machilus*-Asie. L'espèce la plus connue est l'avocatier (*Persea americana*) largement cultivé dans les régions tropicales et subtropicales pour son fruit, l'avocat.

##### **I.1.2.1-L'espèce *Persea americana* (plantes botanique)**

C'est un arbre persistant de 20 m de hauteur, de forme variable. Le tronc est court et aux rameaux érigés. Les écorces sont grisâtres et crevassées longitudinalement. Les feuilles sont

elliptiques de 10-30 cm de long et 5-20 cm de large, avec 7-10 nervures latérales. Les fleurs sont verts jaunâtres (long : 1 cm), petites, avec des tépales de 5 mm de long, groupées par 100-300 en panicules terminales (long : 20 cm) (plantes botaniques).



**Figure 3:** Photo de *Persea americana* (Treben M., 2000)

➤ **Répartition géographique de l'espèce *Persea americana***

Cette espèce, sensible au gel et à la sécheresse, a produit de nombreux cultivars. La culture de l'avocat est liée aux premiers Amérindiens, surtout les Mayas. On a pu démontrer qu'il était déjà cultivé en 7 500 av. J.-C. De nos jours, sa culture s'est étendue à de nombreux pays tropicaux ou subtropicaux, les principaux pays producteurs étant les États-Unis, le Mexique, le Brésil, Israël.

**III-Usage des plantes des genres *Beilschmiedia* et *Persea*.**

**III.1-Usage des plantes du genre *Beilschmiedia*.**

Plusieurs espèces du genre *Beilschmiedia* sont largement utilisées dans plusieurs domaines de la vie tels que : alimentation, artisanat, ornement, agriculture et médecine traditionnelle.

**III.1.1-Sur le plan alimentaire**

Au Cameroun, la pulpe du fruit de *B. obscura* est consommée par les pygmées Baka de la Sangha (Vivien et Faure, 1988). Les fruits de *B. anacardioides*, *B. manii*, *B. gaboonensis* et *B. zenkeri* sont utilisés comme stimulants des fonctions digestives et comme condiment ou épice (Raponda-Walker et Sillans, 1961 ; Eyog *et al.*, 2003). Le fruit de *B. louisii* est employé comme condiment ; il a un goût qui rappelle la cannelle (Eyog *et al.*, 2003).

Au Liberia, les fleurs de *B. mannii* sont couramment employées pour assaisonner le riz et autres mets. Son fruit est consommé naturellement et en ingrédient de sauces. Sa graine est un aliment populaire couramment vendu sur les marchés d'Afrique occidentale ; elle est rôtie et pilée avant d'être consommée, et ajoutée comme condiment et complément dans les soupes, le riz et les légumes (Burkill, 1995).

### III.1.2-Sur le plan artisanal et ornemental

Au Cameroun, les bois de *B. osbcura* et *B. anacardioides* sont utilisés en ébénisterie et pour le placage (Vivien et Faure, 1938).

En R.D. C et au Cameroun, le bois de *B. Zenkeri* est utilisé pour faire des madriers, pour confectionner des pirogues et des pagaies (Louppe *et al.*, 2008).

Au Cameroun, au Gabon, au Congo et en R.D C, les tiges de *B. insulanun* sont utilisées pour faire des arcs (Abbiw, 1990).

Au Cameroun, en Centrafrique et en R.D C, le bois de *B. louisii* est utilisé pour la construction navale, la carrosserie, les traverses de chemin de fer, les contreplaqués (Bolza et Keating, 1972).

### III.1.3-Sur le plan agricole

Au Liberia, *B. mannii* est planté comme arbre d'ombrage pour les caféiers (Abbiw, 1990).

### III.1.4-En la médecine traditionnelle

À l'Ouest du Cameroun, les écorces du tronc de *B. anacardioides* sont utilisées pour soigner la rubéole, les tumeurs utérines, les rhumatismes et les infections génitales chez la femme. Les grains de *B. lancilimba* sont utilisés pour soigner les infections bactériennes de la peau. Les écorces du tronc de *B. manii* sont utilisées pour traiter la dysenterie et les maux de tête (Chouna *et al.*, 2009).

La population locale de Madagascar utilise les feuilles, l'écorce et les fruits de *B. cryptocaryoides* pour traiter les maladies infectieuses et le paludisme (Talonsi *et al.*, 2013). En Indonésie, la décoction du bois de *B. madang* est utilisée pour soigner le paludisme (Kitagawa *et al.*, 1993).

L'extrait des écorces de *B. gaboonensis* est utilisé en médecine traditionnelle pour soigner les inflammations (Burkill, 1995).

Les feuilles de *B. tsangii* broyées sont utilisées dans le traitement de la tuberculose (Chen et *al.*, 2007).

Dans la Région du centre, le décocté des écorces de *B. obscura* est utilisé pour soigner les infections microbiennes et parasitaires (Iwu, 1993).

### **III.2- Usages des plantes du genre *Persea***

#### **III.2.1-Sur plan alimentaire (plantes botaniques).**

La chair de l'avocat est très grasse. Les végétariens l'utilisent comme substitut à la viande. Une cure d'avocat est utilisée pour lutter contre le mauvais cholestérol. Comme tous les fruits et légumes, l'avocat ne contient pas de cholestérol. Toutefois, pour un fruit, son contenu en matières grasses est relativement élevé, mais n'est pas néfaste pour la santé. En effet, la majorité des gras contenus dans l'avocat sont de type mono insaturé. Ces « bons » gras sont notamment reconnus pour leur capacité à réduire le taux de cholestérol sanguin et leur impact est positif sur la santé cardiaque (Javier-Germain et *al.*, 2010 ; Deepti et *al.*, 2013 ; Tene et *al.*, 2016).

Côté minéraux, l'avocat représente une grande source de magnésium, et surtout de potassium (550 mg pour 100 g), bénéfique pour la tension artérielle. De même, le phosphore, mais aussi le fer, le cuivre et le zinc font de ce fruit une mine non négligeable de minéraux et oligo-éléments.

La richesse de l'avocat en vitamines lui permet de couvrir une bonne partie des apports journaliers recommandés. On compte, entre autres, la vitamine C (11 mg pour 100 g, soit autant que la banane), la vitamine B, et surtout la vitamine E, qui offre des propriétés antioxydantes permettant de lutter efficacement contre le vieillissement.

La cuisine mexicaine fait un grand usage de l'avocat. Il est notamment utilisé pour la préparation du *guacamole* qui est une sorte de sauce d'avocat. Ses feuilles sont aussi utilisées comme condiment, toujours dans la cuisine mexicaine

#### **III.2.2-Dans la médecine traditionnelle.**

*P. americana* a longtemps été utilisé traditionnellement pour traiter divers maux du corps humain dans de nombreuses régions du globe. Les racine, les écorce, les nayaux et les feuilles sont largement utilisés en médecine traditionnelle dans de nombreux pays tropicaux et



subtropicaux pour le traitement de diverses maladies (Owalabi et al., 2011). Sa graine est utilisée dans le traitement de la diarrhée, de la dysenterie, des maux de dents et des parasites intestinaux (Akpabio et al., 2011). À Cuba, cette plante est utilisée comme antitussif, antidiarrhéique, diurétique, dépuratif, spasmogène et stomacal. Il est également indiqué en cas d'aménorrhée, d'obstruction du foie, de grippe et d'excès d'acide urique (Roig, 1998). La graine (brute ou grillée) est utilisée dans la médecine traditionnelle mexicaine pour traiter les éruptions cutanées, la diarrhée et la dysenterie causées par les helminthes et les amibes, pour la guérison des processus infectieux causés par les champignons et les bactéries, ainsi que pour le traitement de l'asthme, la tension artérielle et les rhumatismes (Aguilar, 1994; Del et al., 2004). Le fruit est utilisé comme vermifuge et comme remède contre la dysenterie. La décoction de feuilles se prend également comme remède contre la diarrhée, les maux de gorge et les hémorragies, ainsi que pour stimuler et réguler les menstruations (Morton, 1987). Odugbemi a également documenté l'efficacité des cotylédons de la graine d'avocat pour le traitement de l'hypertension. Au Cameroun, la décoction de feuilles se prend pour traiter les maux de dents, l'hypertension artérielle, le diabète, le paludisme ; pour stimuler les contractions utérines et soulager les menstruations douloureuses (Tene et al., 2016).

Les multiples usages des plantes des genres *Beilschmiedia* et *Persea* en thérapeutique locale peuvent expliquer l'intérêt particulier porté par les chimistes, les chimiotaxonomistes et les pharmacologues sur ces espèces végétales.

#### **IV- Études chimiques et pharmacologiques antérieures sur les plantes des genres**

##### ***Beilschmiedia* et *Persea***

##### **IV.1- Le Genre *Beilschmiedia***

##### **IV.1.1- Travaux chimiques antérieurs**

Les travaux chimiques antérieurs réalisés sur les plantes du genre *Beilschmiedia* ont révélé la présence de plusieurs classes de métabolites secondaires dont les plus caractéristiques sont les alcaloïdes, les lignanes, les dérivés d'acide endiandrique, les flavonoïdes, etc... (Lenta et al., 2015).

##### **IV.1.1.1- Les alcaloïdes et amides**

Les alcaloïdes sont des composés azotés, plus ou moins basiques d'origine naturelle (plantes, microbes, animaux), exception faite aux aminoacides simples, aux protéines et aux composés azotés antibiotiques. Ils précipitent avec des réactifs iodométriques (réactifs de

Dragendorff), ce qui permet de les caractériser (Bruneton, 1999). Plusieurs classes d'alcaloïdes ont été isolées des plantes du genre *Beilschmiedia* (Tableau 1)

Tableau 1: Quelques alcaloïdes et amides isolés des espèces du genre *Beilschmiedia*.

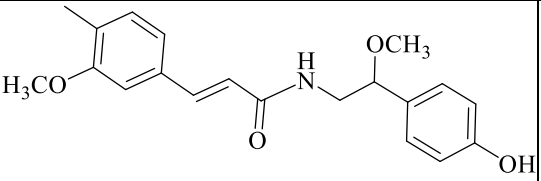
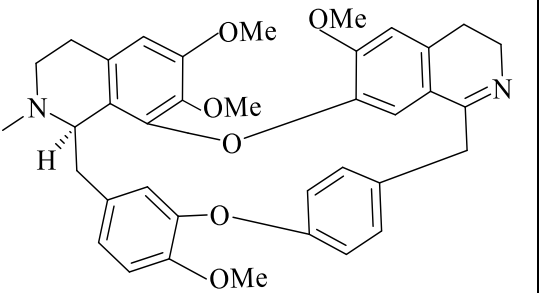
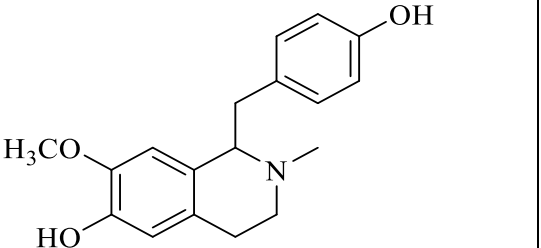
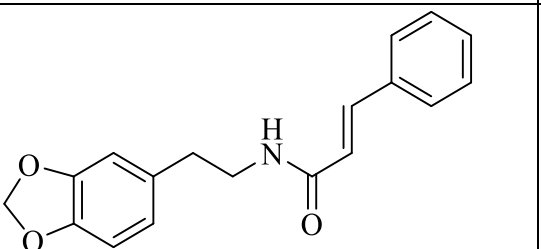
Structures	Noms	Source	Références
 <p style="text-align: center;"><b>39</b></p>	Beilschamide	Écorces du tronc de <i>B. erythrophloia</i>	Chen et <i>al.</i> , 2015
 <p style="text-align: center;"><b>40</b></p>	Dehatrine	Écorces du tronc de <i>B. madang</i>	Kitagawa et <i>al.</i> , 1993
 <p style="text-align: center;"><b>41</b></p>	<i>N</i> -méthylisococlaurine	Feuilles de <i>B. kunstleri</i>	Mollataghi et <i>al.</i> , 2012
 <p style="text-align: center;"><b>42</b></p>	Zanthonamide	Écorces du tronc de <i>B. zenkeri</i>	Lenta et <i>al.</i> , 2009

Tableau 1: Quelques alcaloïdes et amides isolés des espèces du genre *Beilschmiedia* (Suite).

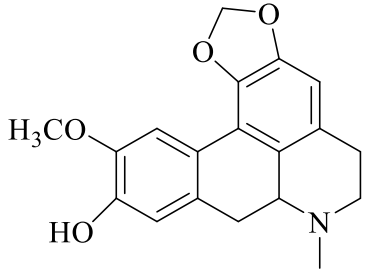
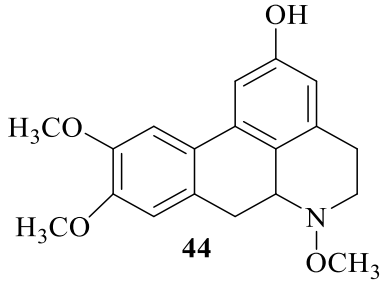
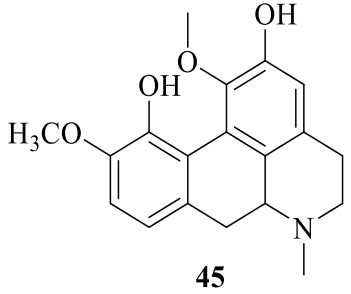
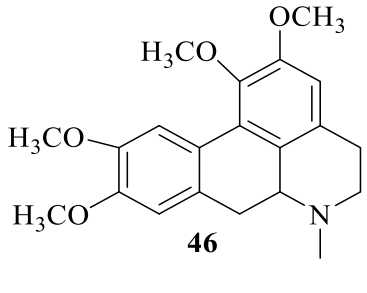
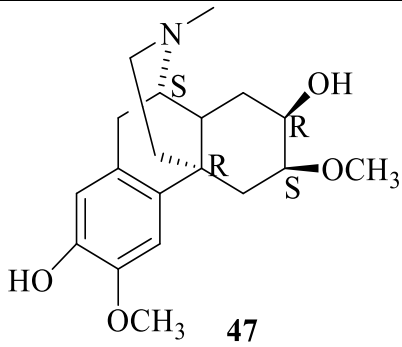
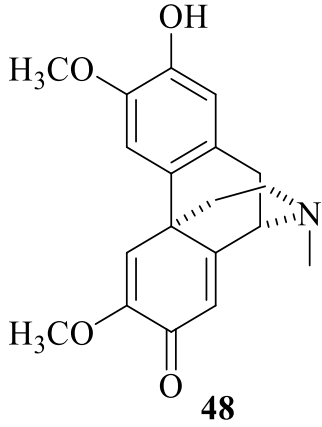
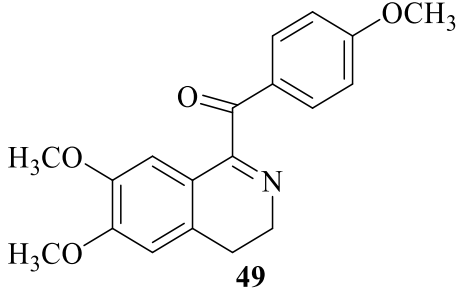
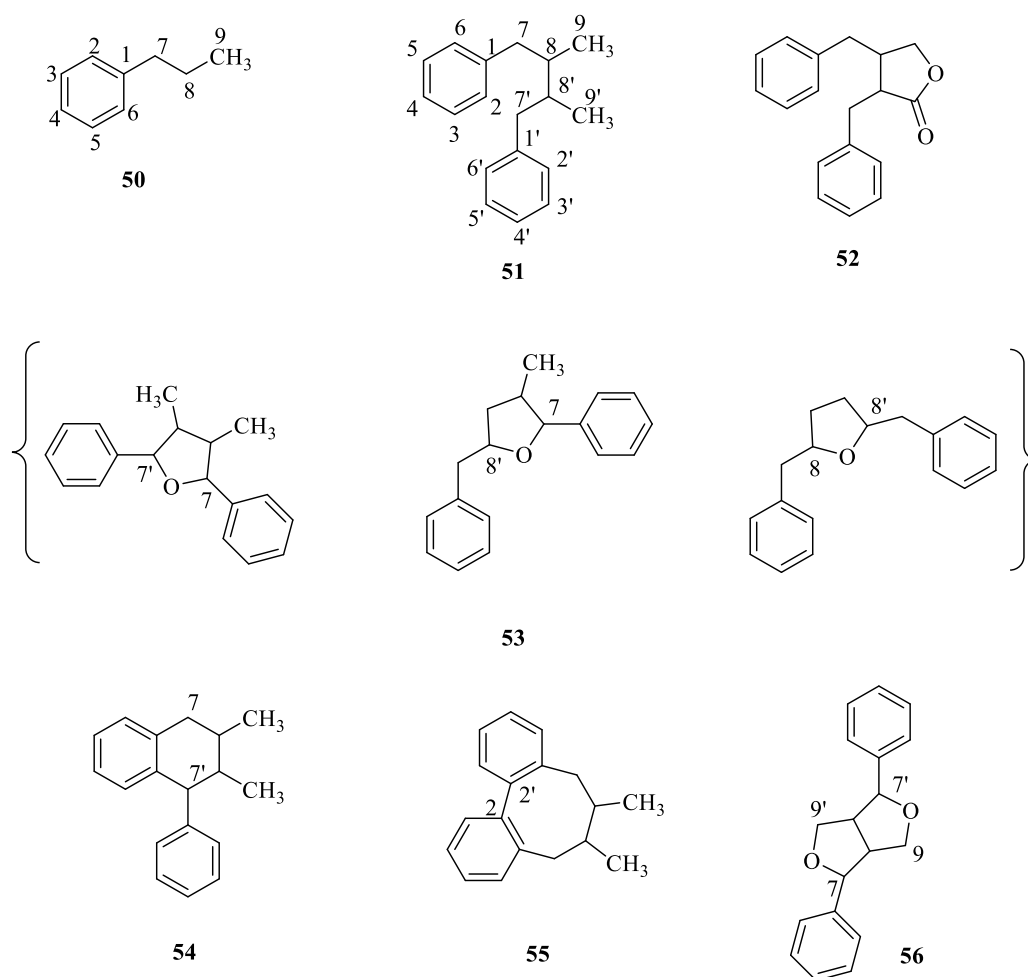
Structures	Noms	Source	Références
 <p style="text-align: center;"><b>43</b></p>	(+) -cassithicine	Bois de <i>B. kunstleri</i>	Mollataghi et al., 2012
 <p style="text-align: center;"><b>44</b></p>	(+) -prédicentrine		
 <p style="text-align: center;"><b>45</b></p>	2,11-dihydroxy-1,10-diméthoxyaporphine	Feuilles <i>B. podagrica</i>	Jonhs et al., 1969
 <p style="text-align: center;"><b>46</b></p>	Glaucine	Feuilles <i>B. podagrica</i>	Jonhs et al., 1969

Tableau 1: Quelques alcaloïdes et amides isolés des espèces du genre *Beilschmiedia* ((Suite et fin)).

Structures	Noms	Source	Références
 <p>47</p>	Sécoboldine	Bois de <i>B. olliophylla</i>	
 <p>48</p>	(-) -pallidine	Feuilles of <i>B. kunstleri</i>	Mollataghi et al., 2012
 <p>49</p>	<i>O</i> -méthylvelucryptine	Feuilles of <i>B. brevipes</i>	Pidjiasttuti et al., 2010

## IV.1.1.2 Les lignanes et neolignanes

Les lignanes sont des composés dont le squelette résulte de l'établissement d'une liaison entre les carbones  $\beta$  des chaînes latérales de deux unités dérivées du phénylpropane (**50**). On rencontre généralement six groupes structuraux chez les lignanes. Les plus simples sont les dibenzylbutanes (**51**) (liaison 8-8'), qui par cyclisation peuvent engendrer trois types de lignanes monofuraniques (**52**) (cyclisation 7-O-7', 7-O-8' ou 8-O-8') et les butyrolactones (**53**). La cyclisation peut impliquer un carbone aromatique (arylnaphtalène (**54**) ou (2,2'-dibenzocyclooctane (**55**)). La double cyclisation 7-O-9' et 7'-O-9 conduit aux lignanes furanofuraniques (**56**) (Tazoo, 2008). Le schéma 1, montre quelques squelettes des lignanes.



**Schéma 1:** Squelettes de base de quelques lignanes (Tazoo, 2008).

Ceux isolés de plantes du genre *Beilschmiedia* sont pour la plupart des lignanes monofuraniques (Tableau 2).

Tableau 2: Quelques lignanes isolées des espèces du genre *Beilschmiedia*

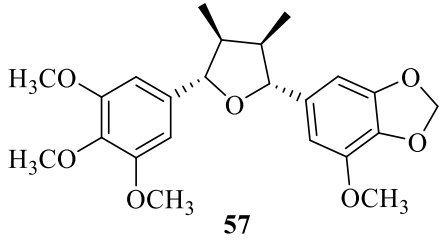
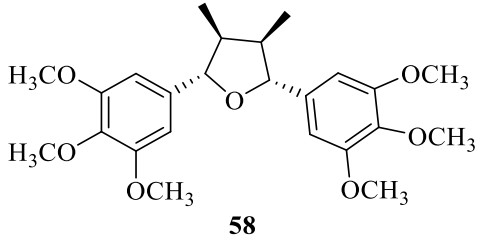
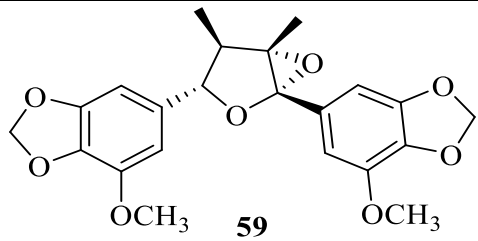
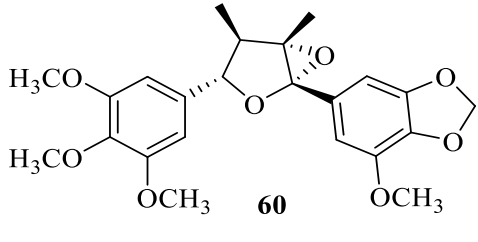
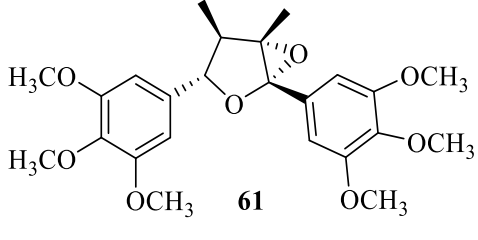
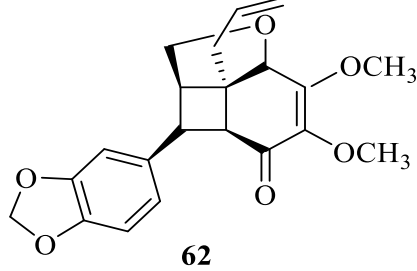
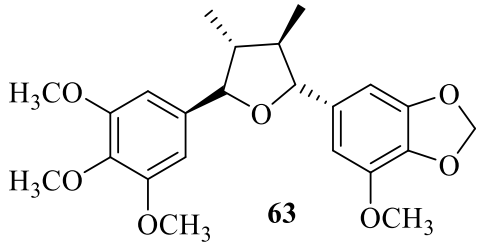
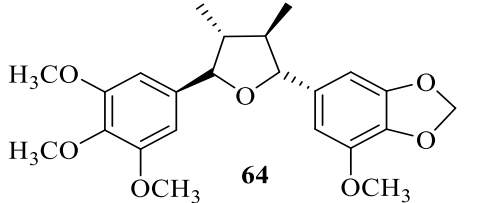
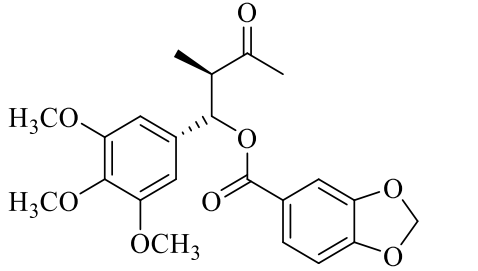
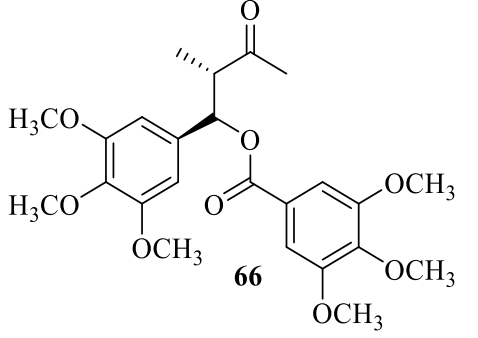
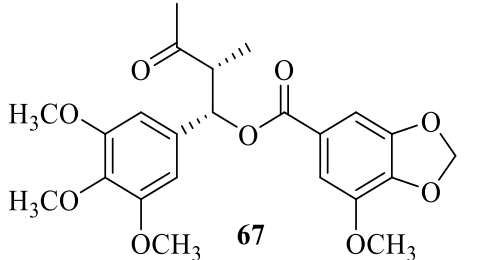
Structures	Noms	Sources	Références
 <p>57</p>	Beilschmine A		
 <p>58</p>	Beilschmine B		
 <p>59</p>	Beilschmine D	Feuilles de <i>B. tsangii</i>	Chen et <i>al.</i> , 2007
 <p>60</p>	4 $\alpha$ ,5 $\alpha$ - époxybeilschmine A		
 <p>61</p>	4 $\alpha$ ,5 $\alpha$ - époxybeilschmine B		
 <p>62</p>	(+) -kunstlerone	Feuilles de <i>B. kunstleri</i>	Mallotaghi et <i>al.</i> , 2011

Tableau 2: Quelques lignanes isolées des espèces du genre *Beilschmiedia* (Suite et fin)

Structures	Structures	Sources	Références
 <p>63</p>	<p>Ambo- (7<i>R</i>,8<i>R</i>,7'<i>R</i>,8'<i>R</i>) - 3',4'- méthylènedioxy- 3,4,5,5'- tétraméthoxy-7,7'- époxygignane</p>	Racines de <i>B. tsangii</i>	Huang et <i>al.</i> , 2011
 <p>64</p>	Beilschminone A		
 <p>65</p>	Tsangine A		
 <p>66</p>	Tsangine C	Écorces du tronc de <i>B.</i> <i>tsangii</i>	Chen et <i>al.</i> , 2006
 <p>67</p>	Tsangine B		



## IV.1.1.3- Les flavonoïdes

Les flavonoïdes représentent une très large classe de produits naturels dérivés des plantes et présentant une exceptionnelle diversité. Ces métabolites secondaires, molécules aromatiques polysubstituées de la famille des polyphénols, possèdent un squelette à 15 atomes de carbone de type C<sub>6</sub>-C<sub>3</sub>-C<sub>6</sub>. Le tableau 3 suivant résume les structures et noms de quelques flavonoïdes isolés des espèces du genre *Beilschmiedia*.

Tableau 3 : Quelques flavonoïdes isolés des espèces du genre *Beilschmiedia*

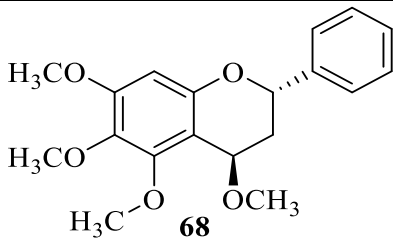
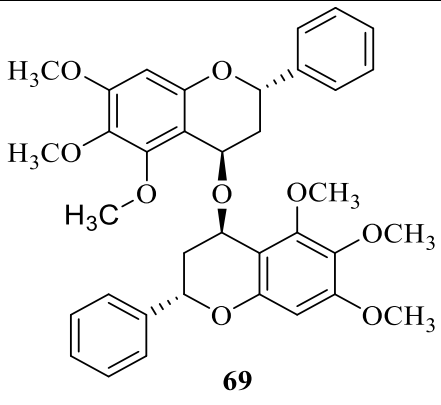
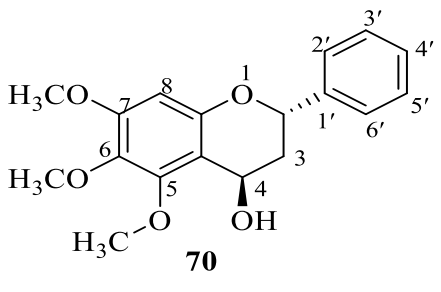
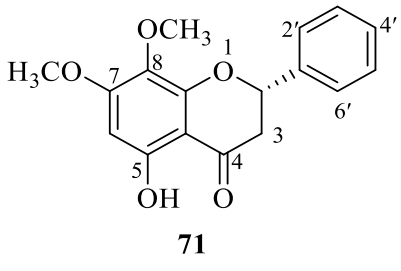
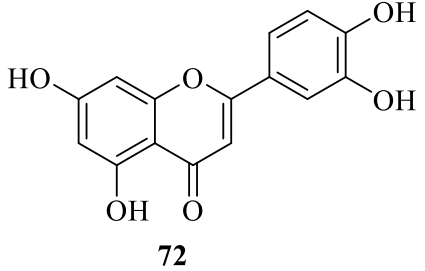
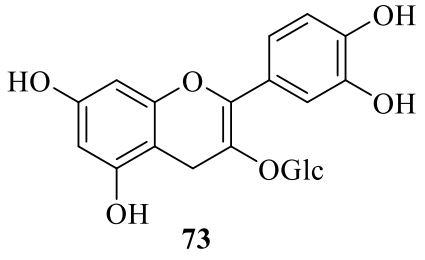
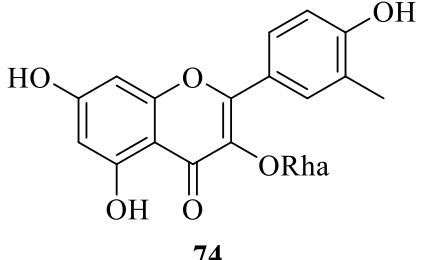
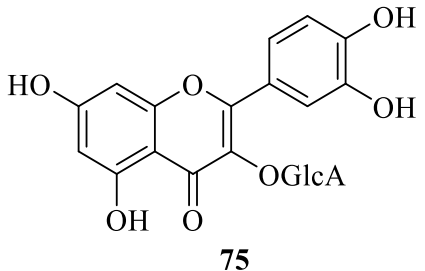
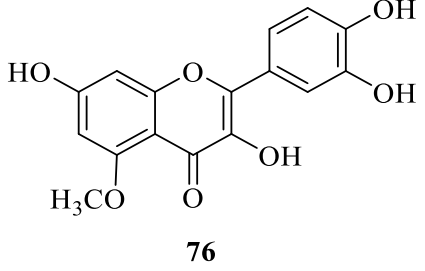
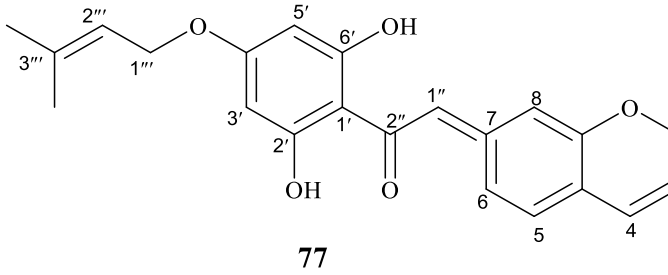
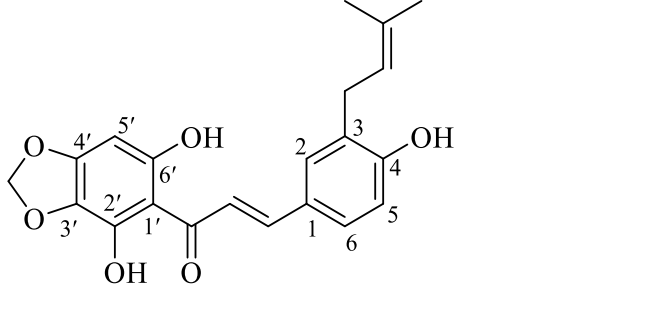
Structures	Noms	Sources	Références
 <p>68</p>	(2 <i>S</i> , 4 <i>R</i> ) -4, 5, 6, 7-tétraméthoxyflavane		
 <p>69</p>	Beilschmieflavonoïde B	Écorces du tronc de <i>B. Zenkeri</i>	Lenta et <i>al.</i> , 2009
 <p>70</p>	(2 <i>S</i> , 4 <i>R</i> ) -5, 6, 7-triméthoxyflavan-4-ol	Écorces de <i>B. zenkeri</i>	
 <p>71</p>	5-hydroxy-7,8-diméthylflavanone		Harborne et Mendez, 1969

Tableau 3 : Quelques flavonoïdes isolés des espèces du genre *Beilschmiedia* (Suite)

Structures	Noms	Sources	Références
 <p>72</p>	Quercétrine		
 <p>73</p>	Isoquercétrine		
 <p>74</p>	Afzéloside	Feuilles de <i>B. miersii</i>	Harborne et Mendez, 1969
 <p>75</p>	Mikwelianin		
 <p>76</p>	Azaléatin		

**Tableau 3 : Quelques flavonoïdes isolés des espèces du genre *Beilschmiedia* (Suite et fin)**

Structures	Noms	Sources	Références
 <p>77</p>	2',6'-dihydroxy-4-isoprenyloxy-3,4-(3''',3''')-diméthylpyrno) chalcone	Le bois de <i>B. tovarensis</i>	Suarez et vargas, 2005
 <p>78</p>	4,2',6'-trihydroxy-3',4'-méthylenedioxy-3-isopent-2-énylchalcone		

#### IV.1.1.4 Les dérivés de benzène

Les composés de benzène ont été isolés principalement à partir de plantes du genre *Beilschmiedia*. Le tableau 4 suivant résume les structures et noms de quelques composés de benzène isolés des espèces du genre *Beilschmiedia*.

**Tableau 4 : Quelques dérivés de benzène isolés des espèces du genre *Beilschmiedia***

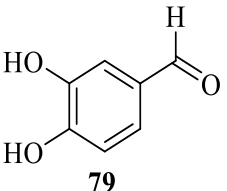
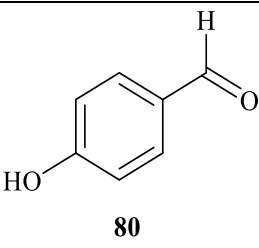
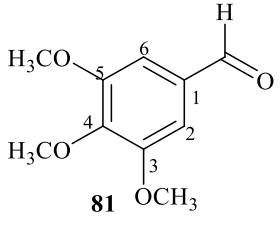
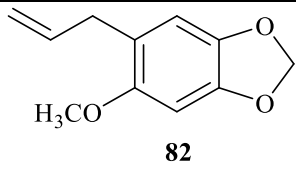
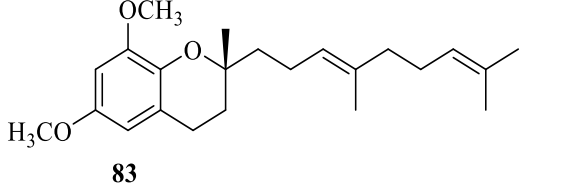
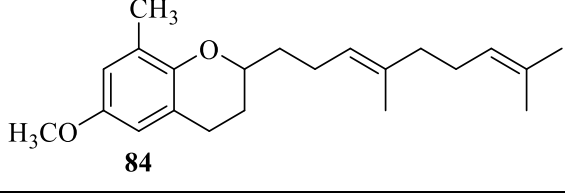
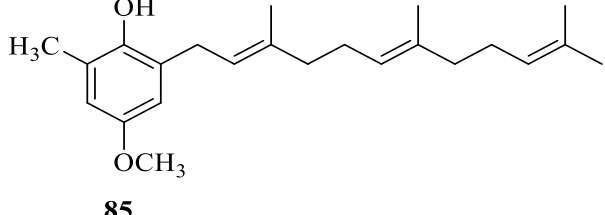
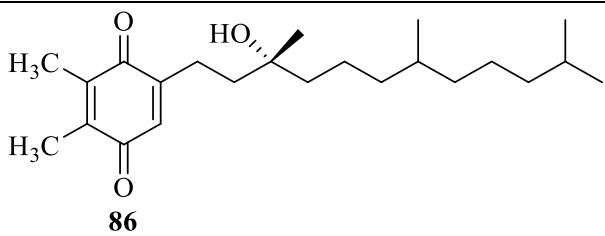
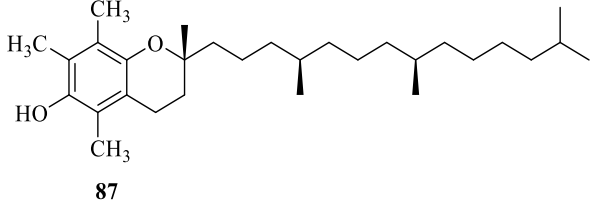
Structures	Noms	Sources	Références
 <p>79</p>	Vanilline	Écorce du bois de <i>B. erytrophia</i>	Chen et <i>al.</i> , 2015
 <p>80</p>	<i>p</i> -hydroxybenzaldéhyde		

Tableau 4 : Quelques dérivés de benzène isolés des espèces du genre *Beilschmiedia* (Suite et fin)

Structures	Noms	Sources	Références
 <p>81</p>	3, 4, 5-triméthoxybenzaldéhyde	Écorce du bois de <i>B. erythrophia</i>	Chen et <i>al.</i> , 2015
 <p>82</p>	Sarisan	Feuilles de <i>B. miersii</i>	Kumamoto et <i>al.</i> , 1970
 <p>83</p>	Benzopyranoligandrol	Bois de <i>B. oligandra</i>	Banfiled et <i>al.</i> , 1994
 <p>84</p>	Oligandrolméthyléther		
 <p>85</p>	Benzenoidfarnesylol	Racines de <i>B. oligandra</i>	Yang et <i>al.</i> , 2009
 <p>86</p>	$\alpha$ -tocophényl quinone	Racines de <i>B. erythrophloia</i>	
 <p>87</p>	$\alpha$ -tocophérol	Racines de <i>B. tsangui</i>	Chen et <i>al.</i> , 2006

#### IV.1.1.5 Les acides endiandriques

Les acides endiandriques sont des dérivés d'acides gras polycycliques ayant un squelette particulier, isolés jusqu'à présent uniquement dans les espèces des genres *Beilschmiedia* et *Endiandra*. Les études phytochimiques ont été principalement menées sur 31 espèces de *Beilschmiedia* : *Beilschmiedia alloiophylla*, *B. anacardioides*, *B. bernesii*, *B. brevipes*, *B. chanco chanco*, *B. collina*, *B. costaricensis*, *B. cryptocaryoides*, *B. elliptica*, *B. erythrophloia*, *B. fulva*, *B. tsangii*, *B. ferruginea*, *B. kunstleri*, *B. madang*, *B. manii*, *B. miersii*, *B. obscura*, *B. obtusifolia*, *B. oligandra*, *B. oreophila Schlechter*, *B. pendula*, *B. podagrica*, *Beilschmiedia spp* ( du Gabon), *B. talaranensis*, *B. tarairie*, *B. tawa*, *B. tooram*, *B. towarensis*, *B. volckii* et *B. zenkeri* (Lenta et al., 2015). Tous ces composés ont certaines propriétés structurales en commun, telles que la nature cyclique, la présence de doubles liaisons et de groupes acides carboxyliques terminaux. Ils peuvent être regroupés selon la disposition du squelette de carbone en trois groupes. Le premier groupe est celui des composés caractérisés par un système cyclique tétracyclique condensé à 13 atomes de carbone contenant  $\Delta^{8,9}$  et  $\Delta^{4,5}$  ou  $\Delta^{5,6}$  (**1**); le deuxième groupe est celui des composés avec un système cyclique tétracyclique formé avec 11 atomes de carbone avec  $\Delta^{10,11}$  (**2**) et le dernier groupe contient des composés qui possèdent des systèmes cycliques bi-, tri- ou tétracycliques autres que les squelettes 1 et 2. La chaîne attachée à C-11 en **1** ou C-4 en **2** contient dans certains cas des doubles liaisons, des résidus phényle ou un fragment méthylènedioxyphényle. Les substituants en C-6 en **1** ou C-8 en **2** sont généralement un acide carboxylique, un cycle phényle ou un fragment méthylènedioxyphényle. Le tableau 5 suivant résume les structures et noms de quelques acides endiandriques isolés des espèces du genre *Beilschmiedia*.

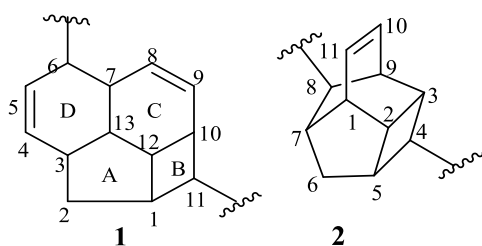


Tableau 5: Quelques acides endiandriques isolés des espèces du genre *Beilschmiedia*

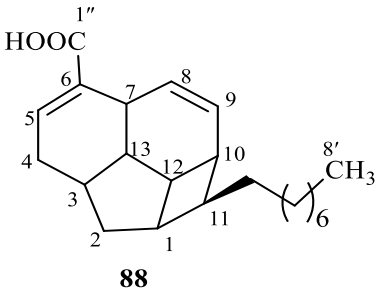
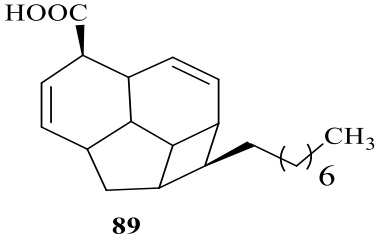
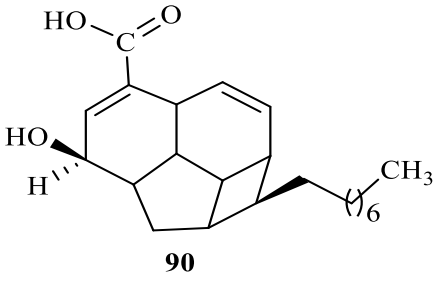
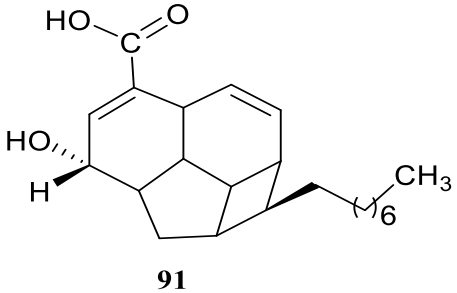
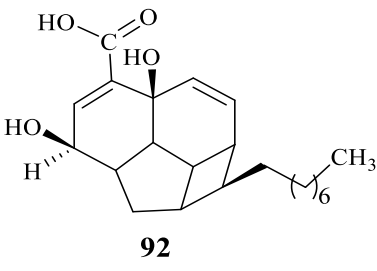
Structures	Noms	Sources	Références
 <p>88</p>	Acide beilschmiedique D		
 <p>89</p>	Acide beilschmiedique E	Écorces du tronc de <i>B.</i> <i>anarcadioïdes</i>	Chouna et <i>al.</i> , 2009
 <p>90</p>	Acide beilschmiedique A		
 <p>91</p>	Acide beilschmiedique C		
 <p>92</p>	Acide beilschmiedique B	Écorces du tronc de <i>B.</i> <i>anarcadioïdes</i>	Chouna et <i>al.</i> , 2009

Tableau 5: Quelques acides endiandriques isolés des espèces du genre *Beilschmiedia* (Suite)

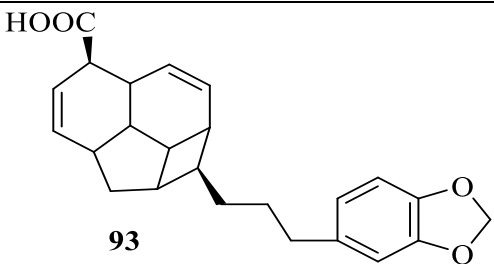
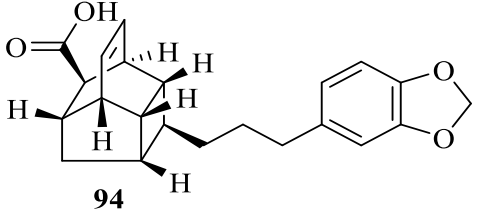
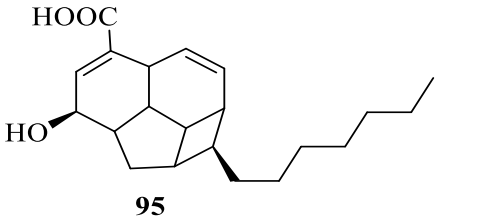
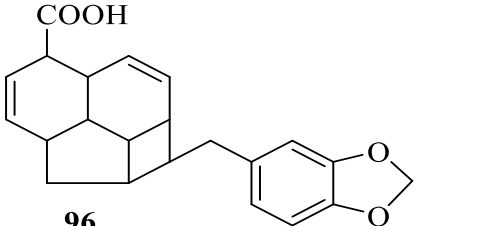
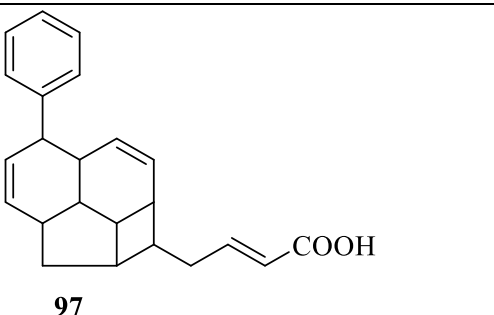
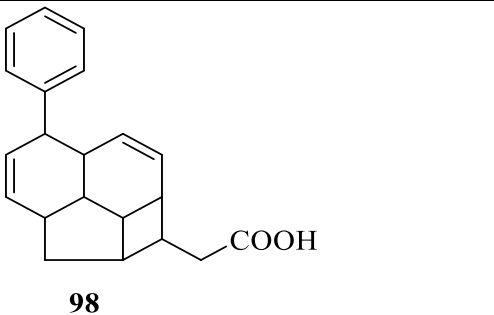
Structures	Noms	Sources	Références
 <p>93</p>	Tsangibeiline A	Racines de <i>B. tsangii</i>	Huang et al., 2011
 <p>94</p>	Acide endiandrique K		
 <p>95</p>	Acide cryptobeilique A	Tronc de <i>B. cryptocaryoide</i>	Talontsi et al., 2013
 <p>96</p>	Tsangibeiline B	Racines de <i>B. cryptocaryoide</i> s	
 <p>97</p>	Acide endiandrique B	Feuilles de <i>B. tooram</i>	Banfield et al., 1994
 <p>98</p>	Acide endiandrique A	Feuilles de <i>B. tooram</i>	

Tableau 5: Quelques acides endiandriques isolés des espèces du genre *Beilschmiedia* (Suite)

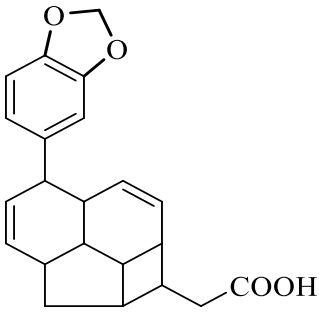
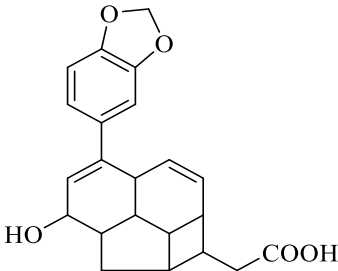
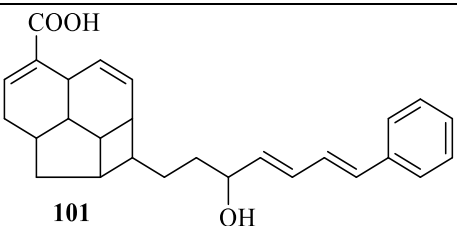
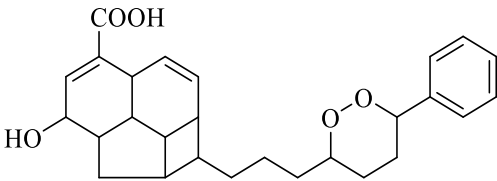
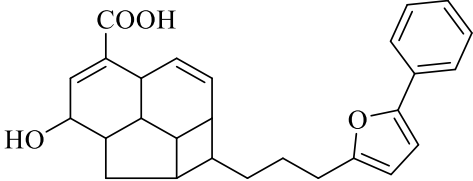
Structures	Noms	Sources	Références
 <p><b>99</b></p>	3'',4''- methylenedioxyacide ndiandrique A	Feuilles de <i>B. oligandra</i>	Banfield et <i>al.</i> , 1994
 <p><b>100</b></p>	Acideendiandrique H	Tiges de <i>B. Fulva</i>	Eder et <i>al.</i> , 2004
 <p><b>101</b></p>	Acide beilschmiedique J		
 <p><b>102</b></p>	Acide beilschmiquie N	Feuilles du genre <i>Beilschmiedia</i>	Williams et <i>al.</i> , 2012
 <p><b>103</b></p>	Acide beilschmiquie O		



Tableau 5: Quelques acides endiandriques isolés des espèces du genre *Beilschmiedia* (Suite)

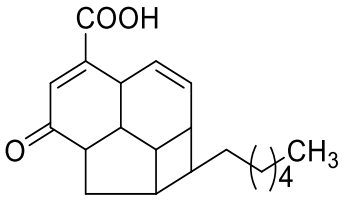
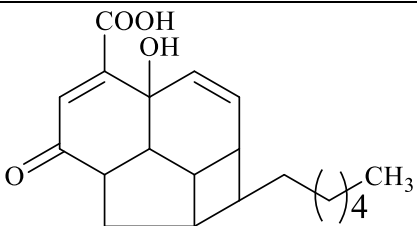
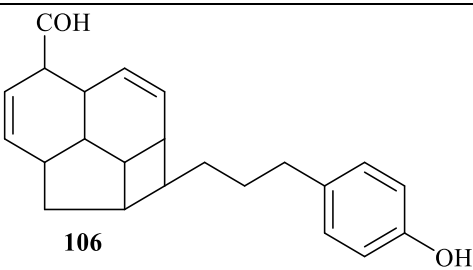
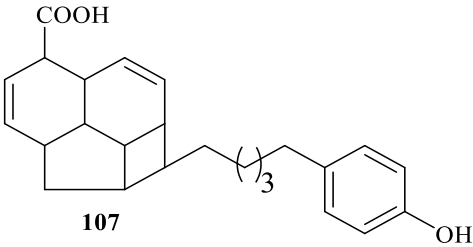
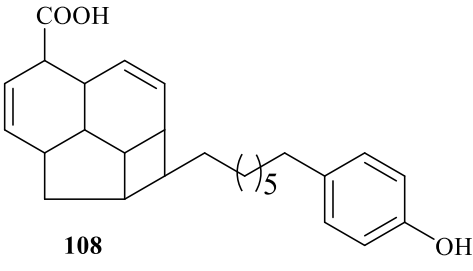
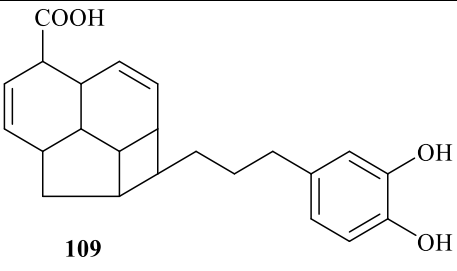
Structures	Noms	Sources	Références
 <p>104</p>	Tsangibeiline C	Racines de <i>B. tsangii</i>	Huang et <i>al.</i> , 2012
 <p>105</p>	Tsangibeiline D		
 <p>106</p>	Acide ferrugineique A	Feuilles et fleurs de <i>B. ferruginea</i>	Apel et <i>al.</i> , 2014
 <p>107</p>	Acide ferrugineique B		
 <p>108</p>	Acide ferrugineique C		
 <p>109</p>	Acideferrugineique D		

Tableau 5: Quelques acides endiandriques isolés des espèces du genre *Beilschmiedia* (Suite)

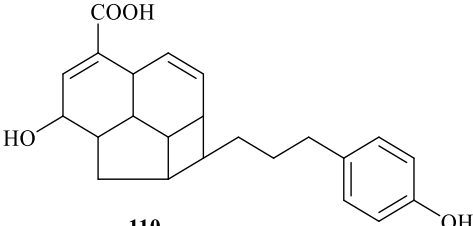
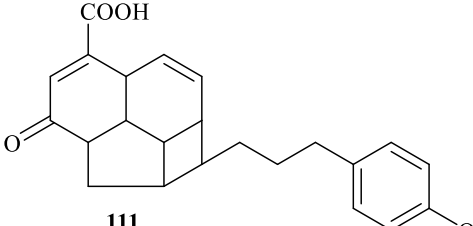
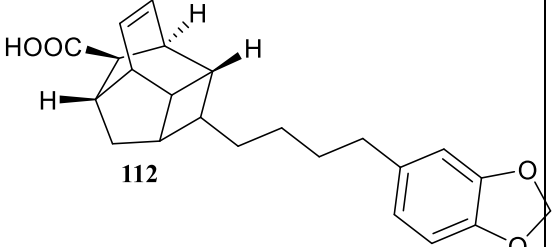
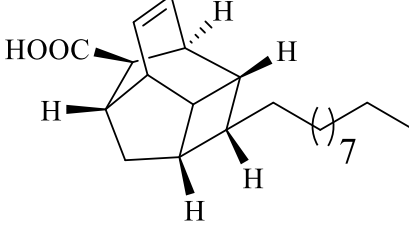
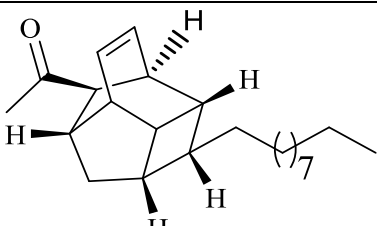
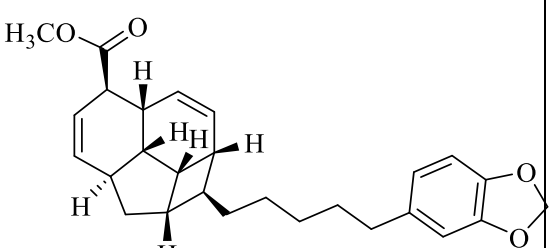
Structures	Noms	Sources	Références
 <p>110</p>	Acideferrugineique F	Feuilles et fleurs de <i>B. ferruginea</i>	Apel <i>et al.</i> , 2014
 <p>111</p>	Acideferrugineique H		
 <p>112</p>	Acideendiandrique I	Racines de <i>B. erythrophia</i>	Yang <i>et al.</i> , 2008
 <p>113</p>	Acide endiandrique J		
 <p>114</p>	Beicycone A	Yang <i>et al.</i> , 2009	
 <p>115</p>	Erythrofloin A		

Tableau 5: Quelques acides endiandriques isolés des espèces du genre *Beilschmiedia* (Suite)

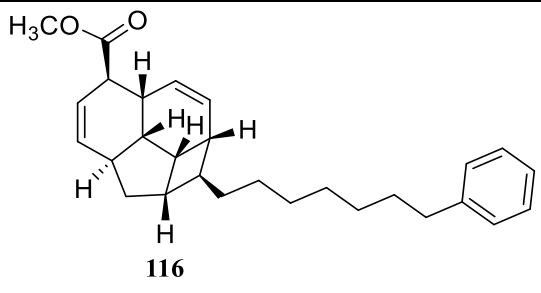
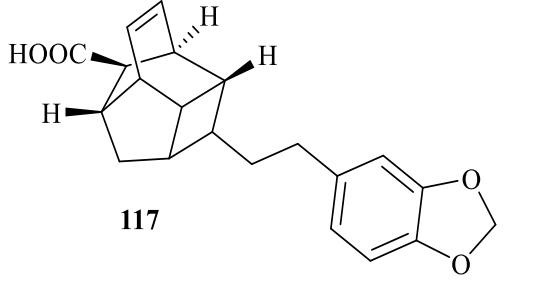
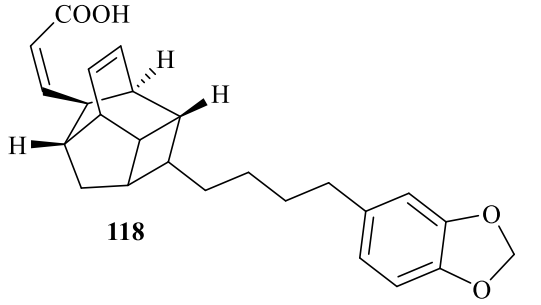
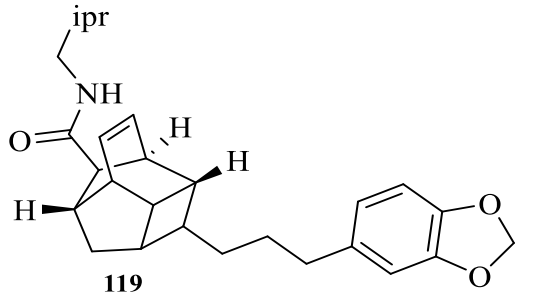
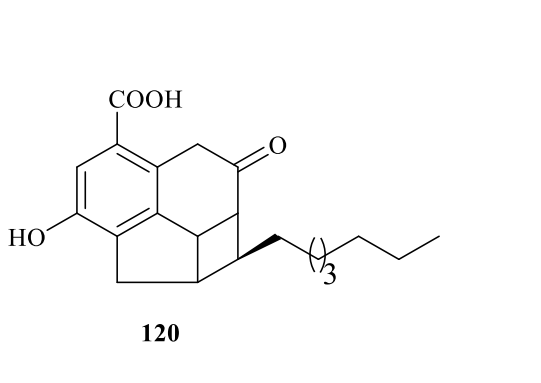
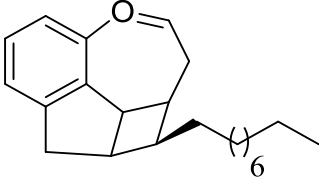
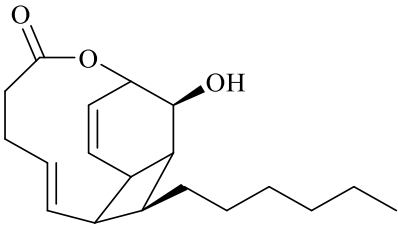
Structures	Noms	Sources	Références
 <p>116</p>	Erythrophloin C	Racines de <i>B. erythrophaia</i>	Yang <i>et al.</i> , 2009
 <p>117</p>	Acide endiandrique K		
 <p>118</p>	Acide endiandrique L	Racines de <i>B. tsangii</i>	Huang <i>et al.</i> , 2011
 <p>119</p>	Endiandramide		
 <p>120</p>	Acide beilschmiedique G	Ecorces du tronc de <i>B. anacardioides</i>	Chouna <i>et al.</i> , 2010

Tableau 5: Quelques acides endiandriques isolés des espèces du genre *Beilschmiedia* (Suite et fin)

Structures	Noms	Sources	Références
 <p>121</p>	Beilschmiedine	Ecorces du tronc de <i>B. anacardioides</i>	Chouna <i>et al.</i> , 2010
 <p>122</p>	Trycyclotsangibeiline	Racines de <i>B. tsangii</i>	Huang <i>et al.</i> , 2012

Certains composés isolés de diverses espèces du genre *Beilschmiedia* ainsi que les extraits dont ils proviennent ont présenté des propriétés biologiques justifiant leurs usages dans la médecine traditionnelle.

#### IV.1.2. Études pharmacologiques antérieures sur les plantes du genre *Beilschmiedia*.

Les travaux pharmacologiques effectués sur les espèces du genre *Beilschmiedia* ont permis de mettre en évidence voire de confirmer certaines de leurs vertus thérapeutiques.

Les extraits des écorces et des feuilles de *B. acuta* ont été évalués sur les lignées de cellules cancéreuses humaines, y compris divers phénotypes multi résistants. Les extraits de feuilles ont montré des valeurs de  $CI_{50}$  inférieures ou d'environ 30 mg / mL dans 10 lignées cellulaires (Kuete *et al.*, 2014).

L'extrait au dichlorométhane des écorces de *B. zenkiri* a présenté une activité antibactérienne *in vitro* modérée contre trois souches de bactéries : *Pseudomonas agarici*, *Bacillus subtilis* et *Streptococcus minor* et une forte activité antiplasmodiale *in vitro* contre la souche W2 du *Plasmodium falciparum* (Lenta *et al.*, 2009).

La déhatrine (40), isolée des écorces du tronc de *B. madang* a montré une activité antipaludéenne *in vitro* contre la souche résistante K1 du *Plasmodium falciparum*, avec une activité comparable à celle de la quinine (Kitagawa *et al.*, 1993).

L'extrait des fruits de *B. obscura* a présenté une bonne activité antibactérienne avec une CMI de 100  $\mu\text{g}/\text{mL}$  (Fankam et al., 2014).

Les acides Beilschmiediques A (90), B (92) et C (91), isolés des écorces de *B. anacardioides*, ont présenté des activités antibactériennes contre un large éventail de micro-organismes (*Bacillus subtilis*, *Micrococcus luteus*, *Streptococcus faecalis*) avec les valeurs de concentrations minimales d'inhibition (CMI) de 0,7 à 364  $\mu\text{M}$ . L'acide Beilschmiedique C (91) s'est avéré être le dérivé le plus actif contre les trois souches testées avec des CMI de 5,6, 0,7 et 22,7  $\mu\text{M}$  respectivement. L'acide beilschmiedique B (valeur CMI de 11,3 M) et l'acide beilschmiedique C (valeur CMI de 5,6 M) se sont révélés plus actifs que le médicament de référence ampicilline (valeur CMI de 89,5  $\mu\text{M}$ ) contre *B. subtilis*. L'acide Beilschmiedique C a été également plus actif que le médicament de référence, l'ampicilline (valeur CMI de 5,58  $\mu\text{M}$ ) contre *M. luteus* (Chouna et al., 2009).

La zanthonamide (42), isolée des écorces du tronc de *B. zenkeri* a montré une activité bactérienne *in vitro* sur *Bacillus subtilis* et *Streptococcus minor* (Lenta et al., 2009)

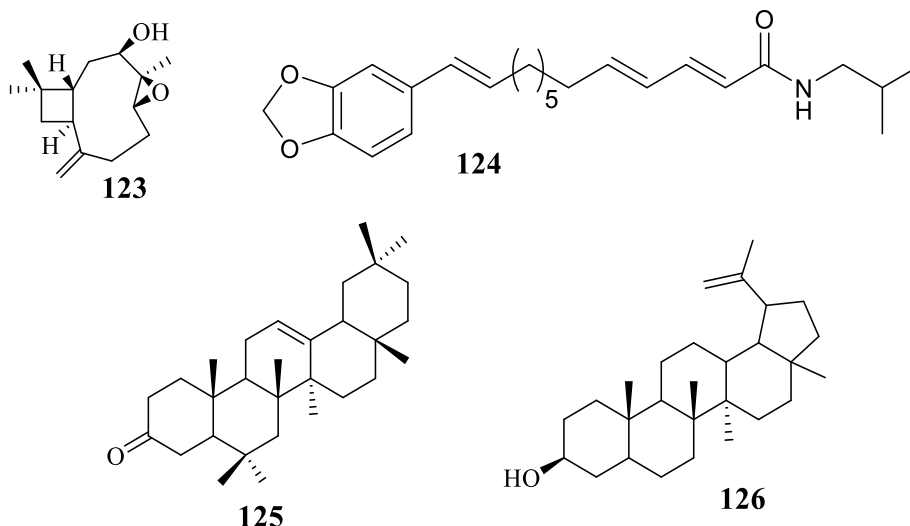
Les lignanes beilschmine A (57) et beilschmine B (58), isolés de feuilles de *B. tsangii* ont montré des fortes activités antituberculeuses *in vitro* contre *Mycobacterium tuberculosis* 90-221387 avec les valeurs de CMI de 2,5 et 7,5  $\mu\text{g}/\text{mL}$ , respectivement (Chen et al., 2007).

Le (+)-kunstlerone (62), isolé des feuilles de *B. kunstleri* a montré une activité antioxydante avec une  $\text{CI}_{50}$  de 20  $\mu\text{g}/\text{mL}$  (Mollataghi et al., 2011).

L'erythrophloin C (115) et suberosol B (123), isolés des racines de *B. erythrophloia* ont montré des activités antituberculeuses contre *Mycobacterium tuberculosis* H37Rv avec des CMI de 50 et 28,9  $\mu\text{g}/\text{mL}$ , respectivement (Yang et al., 2009).

La pipyahyine (124), la 5-hydroxy-7,8-diméthoxyflavanone (71) et l'acide bétulinique (125) isolés à partir de *B. zenkeri* ont été actifs sur *Plasmodium falciparum* avec des  $\text{CI}_{50}$  de 3,7 ; 9,3 et 5,2  $\mu\text{M}$ , respectivement. Leur activité était modérée par rapport à la chloroquine (valeur  $\text{CI}_{50}$  de 0,13), qui a été utilisée comme contrôle positif (Lenta et al., 2009).

Le lupéol (126) isolé de *B. erythrophloia* qui a montré une activité inhibitrice *in vitro* contre la souche *P. falciparum* 3D7 avec une valeur  $\text{CI}_{50}$  de  $27,7 \pm 0,5$ , s'est avéré provoquer une transformation de la forme des érythrocytes humains vers celle des stomatocytes (Ziegler et al., 2002).



## IV.2- Le genre *Persea*.

### IV.2.1- Travaux chimiques antérieures

*Persea americana* est l'espèce la plus répandue du genre *Persea*. Par son intérêt sur le plan économique, thérapeutique, cosmétique et nutritionnel, plusieurs études chimiques ont été faites sur l'espèce *P. americana*. Il découle que cette espèce est une importante source des métabolites secondaires bioactifs dont les flavonoïdes, les tanins, les alcaloïdes, les saponines, les stéroïdes, les polyols et les phénols.

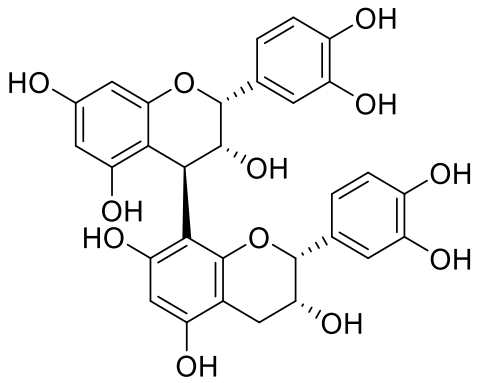
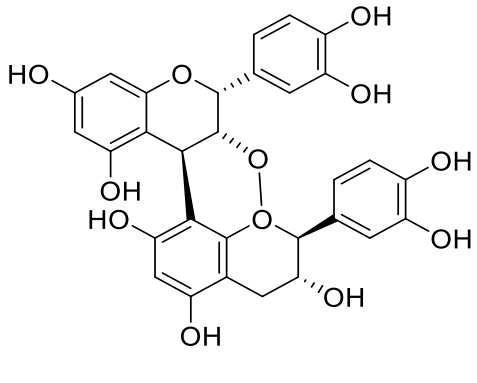
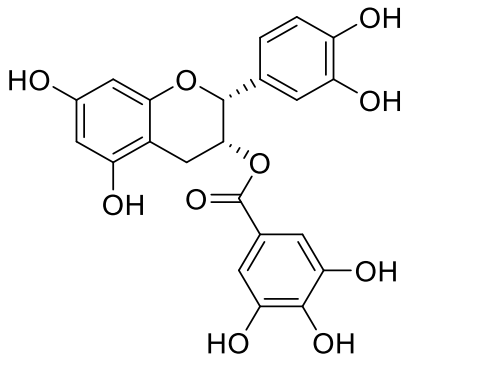
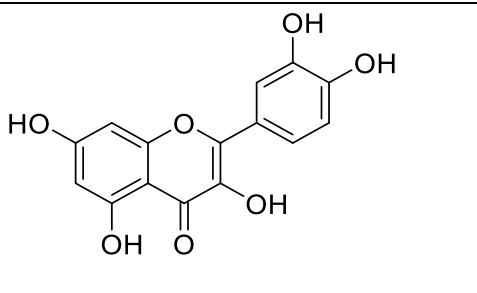
#### IV.2.1.1 Les flavonoïdes

Le tableau 6 présente quelques flavonoïdes isolés de *Persea americana*.

**Tableau 6: Quelques flavonoïdes isolés de l'espèce *Persea americana***

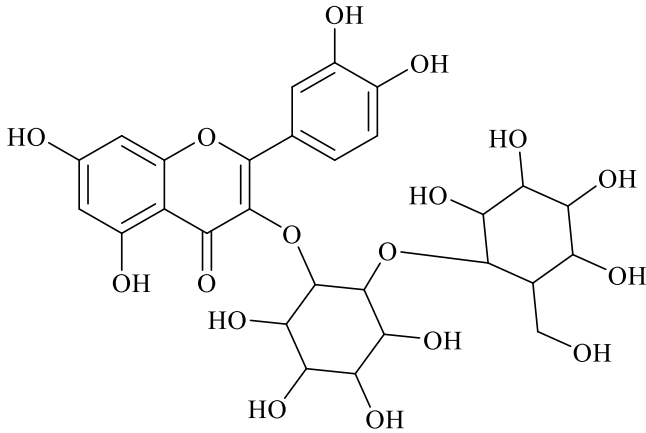
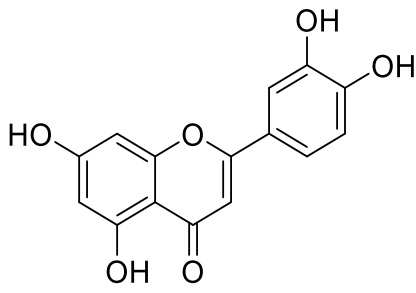
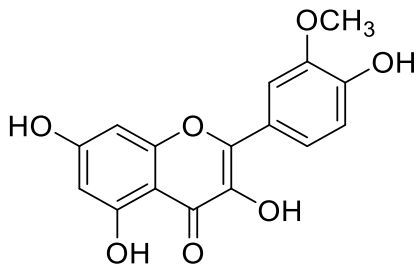
Structures	Noms	Sources	Référence
<p>127</p>	(-) -épicatechine	Noyaux	Deept <i>et al.</i> , 2013
<p>128</p>	(+) -catéchine		

Tableau 6: Quelques flavonoïdes isolés de l'espèce *Persea americana* (Suite)

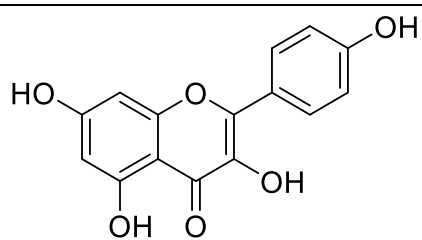
Structures	Noms	Sources	Référence
 <p>129</p>	Epicatéchine (4 $\beta$ -8) epicatechine		
 <p>130</p>	Epicatéchine (4 $\beta$ -8) catechine	Noyaux	Deept et al., 2013
 <p>131</p>	Galloate de l'epicatéchine		
 <p>132</p>	Quercétine	Feuilles	Owalabi et al., 2010

--	--	--	--

**Tableau 6: Quelques flavonoïdes isolés de l'espèce *Persea americana* (Suite)**

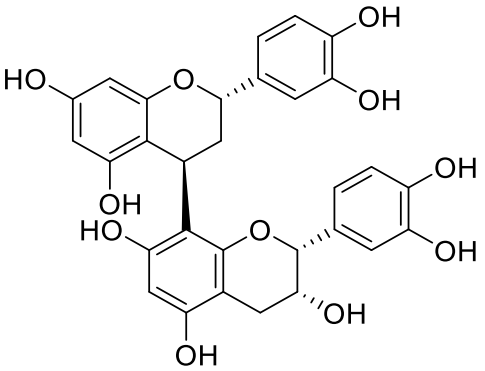
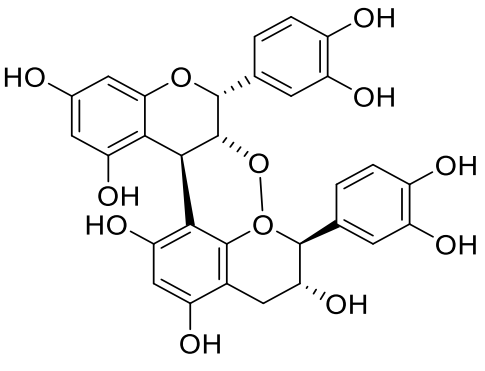
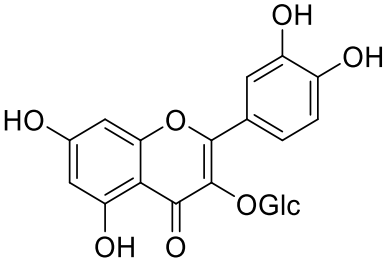
Structures	Noms	Sources	Référence
 <p style="text-align: center;">133</p>	Rutine	Feuilles	Owalabi et <i>al.</i> , 2010
 <p style="text-align: center;">134</p>	Lutéoline		
 <p style="text-align: center;">135</p>	Isorhamnétine		
	Apergénine		





136

Tableau 6: Quelques flavonoïdes isolés de l'espèce *Persea americana* (Suite)

Structures	Structures	Structures	Structures
 <p>137</p>	<p>Epicatechine (4β-8) epicatechine</p>		
 <p>138</p>	<p>Epicatechine (4α-8) epicatechine</p>	Noyaux	Deepti et <i>al.</i> , 2013
 <p>139</p>	<p>3-O-β-D- glucopyranoside</p>	Feuilles	Owalabi et <i>al.</i> , 2010

## IV.2.1.2 Les alcools ou polyols

Le tableau 7 présente quelques alcools gras isolés de *Persea americana*.

**Tableau 7: Quelques polyols isolés de l'espèce *Persea americana***

Structures	Noms	Sources	Référence
<p>140</p>	1, 2, 4-trihydroxynonadecane	Fruit	Nicholas et al., 1998
<p>141</p>	1, 2, 4-trihydroxyheptadec-16-ène		
<p>142</p>	2,4-méthylènedioxyheptadec-16-ène-1-ol		
<p>143</p>	1, 2, 4-trihydroxyheptadec-16-yne	noyaux	Deepti et al., 2013 ; Falodun et al., 2014
<p>144</p>	1-acetoxy-2,4-dihydroxy-n-heptadec-16-ène		
<p>145</p>	1-acetoxy-2,4-dihydroxy-n-heptadec-16-yne		
<p>146</p>	1, 2, 4-tétrahydroxyheptadec-6, 16-diène		

IV.2.2- Études pharmacologiques antérieures sur le genre *Persae*.

Les travaux pharmacologiques effectués sur *Persea americana* ont permis de mettre en évidence voire de confirmer certaines de leurs vertus thérapeutiques. Les extraits de noyaux ont montré les activités antioxydantes, anticancéreuses, antiinflammatoires, antidiabétiques, antimicrobiennes, antihypertensives et antiplasmodiales. Ces extraits sont aussi utilisés comme insecticides, colorants et pour la diminution du taux de cholestérol (Deepti et al., 2013).

Les extraits des feuilles ont montré les activités antiplasmodiales, antivirales, anticonvulsantes, antiulcéreuses, gastro protectrices, antibactériennes, antimicrobiennes,

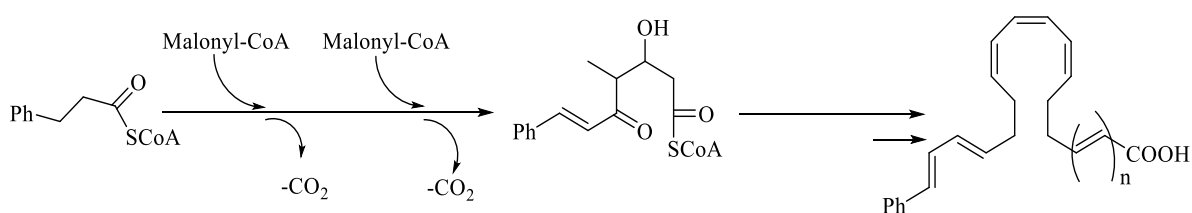
anti-inflammatoires, analgésiques, antihypercholestérolémiques, antioxydante, anti-diarhée, anticancéreuse, cardiovasculaires, hypoglycémiques, antidiabétiques, hypotensives, hépatoprotectrice, vasorelaxantes etc. Par ailleurs les flavonoïdes isolés des feuilles ont montré de très bonnes activités antioxydantes (Owalabi *et al.*, 2010).

Le 1,2,4-trihydroxyheptadéc-16-ène (**141**) et 1,2,4-tétrahydroxyheptadécane-6, 16-diène (**146**) isolés des noyaux de *Persea americana* ont été active sur souche D6 de *P. falciparum* avec des  $CI_{50}$ s de 1,6 et 1,4  $\mu\text{g} / \text{mL}$ , respectivement, et des  $CI_{50}$ s de 2,1 et 1,4  $\mu\text{g} / \text{mL}$  sur la souche W2, respectivement. Les alcools gras 1,2,4- tétrahydroxyheptadécane-6,16-diène (**146**); Le 1,2,4-trihydroxyheptadéc-16-yne (**143**) et le 1,2,4- trihydroxyheptadécane (**141**) ont également montré une activité antibactérienne *in vitro* prometteuse contre un panel de bactéries pathogènes, *S. aureus* et *E. coli* à des valeurs  $CI_{50}$ s de 21,1, 8, 200  $\mu\text{g}/\text{mL}$ ; 3,25, 86,32  $\mu\text{g}/\text{mL}$ , respectivement. Les résultats de cette étude prouvent que les alcools gras constituent une classe prometteuse d'agents antipaludiques et antimicrobiens (Falodun *et al.*, 2014).

## V- Généralités sur les acides endiandriques

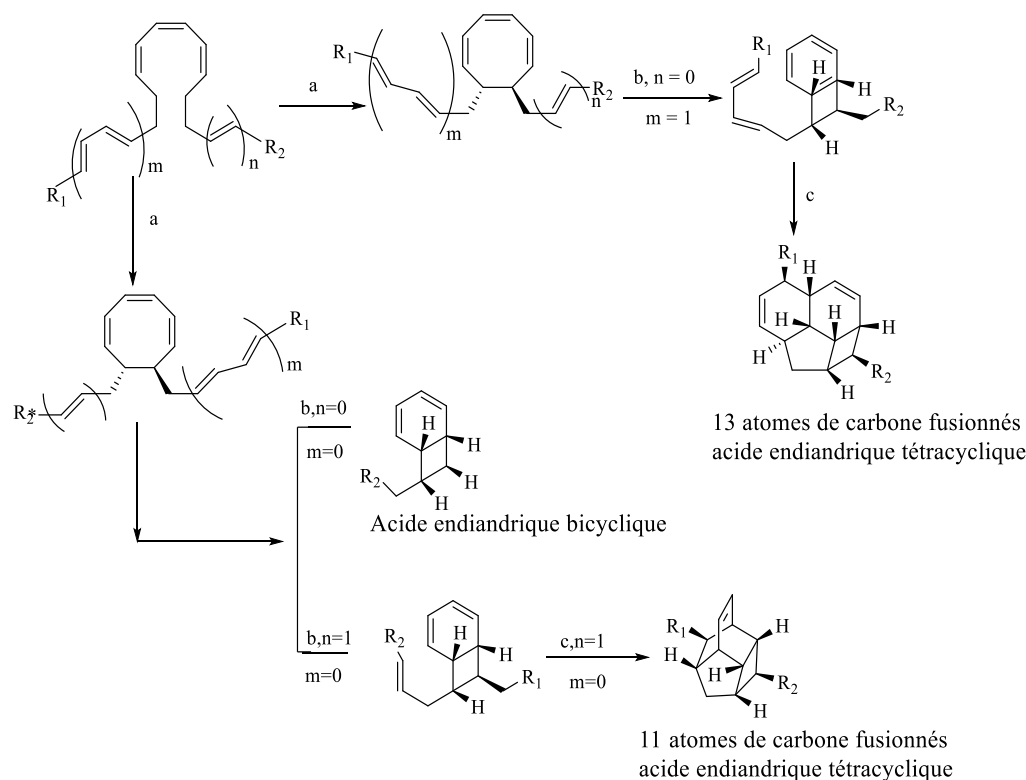
### V. 1- Les acides endiandriques.

Les acides endiandriques sont des dérivés d'acides gras polycycliques ayant un squelette particulier, isolés jusqu'à présent uniquement dans les espèces des genres *Beilschmiedia* et *Endiandra*. Ce sont des produits d'électrocyclisation d'acides gras formés par voie shikimique ou polyacétique (Nicolaou *et al.*, 1982). Le **Schéma 2** suivant montre la biosynthèse générale des acides gras.



**Schéma 2:** Biosynthèse générale des acides gras (Nicolaou *et al.*, 1982).

La biosynthèse des acides endiandriques passe par deux réactions consécutives électrocycliques non enzymatiques suivies d'une réaction intramoléculaire Diels-Alder. Le résultat de toutes ces réactions donne un composé à chaîne ouverte qui est converti en composé tétracyclique. Ils sont de nature cyclique contenant des doubles liaisons et un groupe acide carboxylique dans leur squelette (Bandaranayake *et al.*, 1980) (**Schéma 3**).



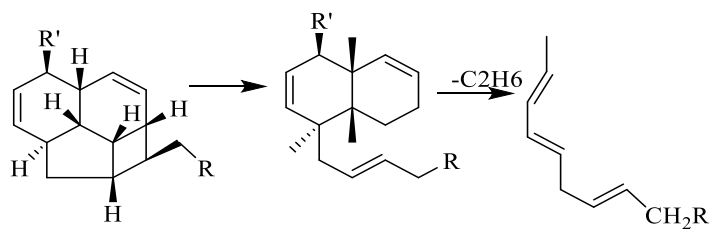
**Schéma 3:** Biosynthèse du squelette des acides endiandriques à partir des acides gras (Nicolaou et *al.*, 1982).

**a :** cyclisation conrotatoire à  $8\pi$  électrons ; **b :** cyclisation disrotatoire à  $6\pi$  électrons ; **c :** cyclisation Diels-Alder.

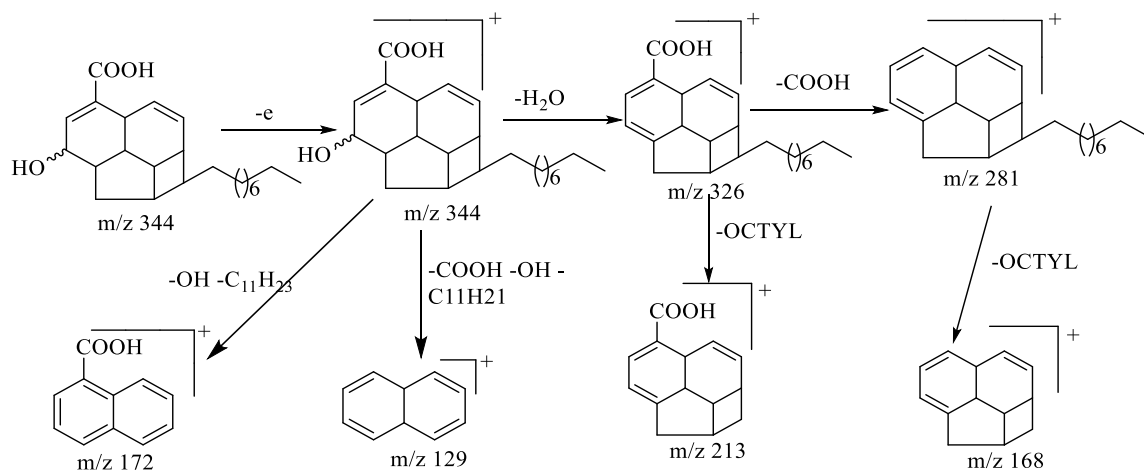
Ils possèdent des principes actifs qui luttent contre les tumeurs utérines, les rubéoles, les infections vaginales, le rhumatisme, les troubles digestifs et de colon, le paludisme, les maux de tête, les infections bactériennes et fongiques (Lenta et *al.*, 2015).

### V.1.1 Spectres de masse

Le spectre de masse des dérivés d'acide endiandrique avec un système cyclique tétracyclique condensé en C13 et une double liaison C4, 5 présente généralement un schéma de fragmentation inhabituel dans lequel un fort ion M-78 est souvent observé, en raison de la perte d'un fragment benzène (**Schéma 4**) (Bandaranayake et *al.*, 1980 ; Bandaranayake et *al.*, 1981). La plupart des spectres IE ont présenté des pics de base à  $m/z$  172 ou  $m/z$  129 comme ceux de l'acide beilschmidique A et C. D'autres fragments correspondant au clivage de la chaîne latérale et à la déshydratation ont également été observés (**Schéma 5**) (Chouna et *al.*, 2011 ; Chouna et *al.*, 2010 ; Chouna et *al.*, 2009).



**Schéma 4 :** Fragmentation rencontrée dans certains acides endiandriques (Harborne et *al.*, 1969)



**Schéma 5 :** Mécanisme de fragmentation des acides beilschmidiques A et C, EI, 70 ev (Chouna et *al.*, 2009).

## V. 1. 2 Spectre RMN

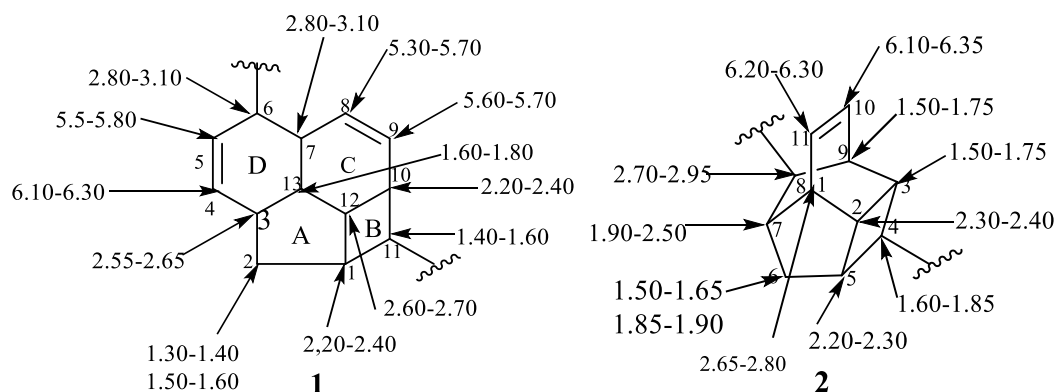
### V.1.2.1-Spectre RMN<sup>1</sup>H

Les spectres RMN <sup>1</sup>H des dérivés d'acide endiandrique sont complexes et l'élucidation de la structure doit reposer sur une combinaison de techniques de RMN 1D et 2D.

Les spectres RMN <sup>1</sup>H de dérivés avec le squelette 1 (**figure 4**) ayant une double liaison C-4/ C-5 montreraient, entre autres pics, un large singulet du proton méthine H-7 autour de 3,0 ppm ; des signaux d'un groupe méthylène dont un doublet de triplet entre 1,30 et 1,40 ppm. (H-2) et un doublet de doublet entre 1,50 et 1,60 (H-2') ; quatre protons cis-oléfiniques à 6,10-6,30 (dt, H-4), 5,50-5,80 (dt,  $J = 9,7$  et  $3,0$  Hz, H-5), 5,30-5,70 (ld,  $J = 9,8$  Hz, H-8) et 5,60-5,70 (dt,  $J = 10,2$  et  $3,4$  Hz, H-9). Cependant, certains signaux sont décalés lorsqu'une double liaison est présente en C-5 / C-6. Dans ce cas, un singulet du proton oléfinique H-5 est observé entre 6,80 et 7,50 ppm. Ce proton résonne autour de 6,20 ppm quand un groupe cétone est présent en C-4.

Les dérivés d'acide endiandrique avec le squelette 2 présentent, entre autres pics, des signaux de protons de méthylène compris entre 1,50-1,60 (H-6) et 1,80-1,90 (1H, H-6') et deux protons cis-oléfiniques entre 6,10-6,30 (H-10) et 6,20 à 6,30 (H-11). Ceux des composés de

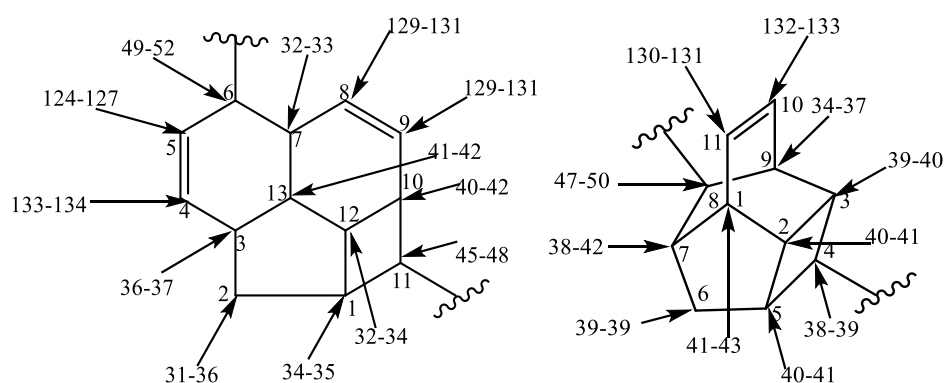
squelette 1 ou 2 portant un fragment méthylènedioxyphényle présenteraient en outre un système ABX oléfinique à trois protons à 6,60-6,66 (1H, dd,  $J = 8,0$  et  $1,6$  Hz), 6,64-6,90 (1H, d,  $J = 1,6$  Hz) et 6,72 à 7,20 (1H, d,  $J = 8,0$  Hz) (Lenta *et al.*, 2015). La Figure 4 résume la plage des données de RMN  $^1\text{H}$  de dérivés endiandriques.



**Figure 4:** RMN  $^1\text{H}$  des squelettes d'acides endiandriques

#### V.1.2.2-Spectre RMN $^{13}\text{C}$

La spectroscopie RMN  $^{13}\text{C}$  est très utile pour l'élucidation de la structure des dérivés d'acide endiandrique, car les bases de données de transfert chimique peuvent être utilisées pour rechercher des modèles similaires. De plus, les déplacements chimiques de la RMN  $^{13}\text{C}$  ont tendance à être plus reproductibles et sont moins influencés par le solvant, la température ou le pH (Reynolds *et al.*, 2002 ; Bross-wash *et al.*, 2005). Le spectre RMN $^{13}\text{C}$  des acides endiandriques tétracycliques présente, entre autres signaux, 10 ou 12 méthines et un à deux méthylènes pour les squelettes basiques (Lenta *et al.*, 2015). Les signaux des méthines (C-1, C-3, C-7, C-10, C-11, C-12, C-13) et du méthylène C-2 dans les dérivés de squelette 1 et ceux de méthines (C-1, C-2, C-3, C-4, C-5, C-7, C-8, C-9) et le méthylène C-6 dans les composés du squelette 2 sont caractéristiques pour les acides endiandriques tétracycliques (Lenta *et al.*, 2015). Le déplacement chimique du groupe carboxy en C-6 dans les composés du squelette 1 permet de confirmer l'emplacement de la double liaison dans le cycle D. En fait, lorsque la double liaison est C-5/C-6, le carbone du groupe carboxyle apparaît à environ 170 ppm. Dans le cas d'une double liaison C-4/C-5, il apparaît entre 175 et 181 ppm (Lenta *et al.*, 2015). Cependant, certains signaux sont décalés lorsque la double liaison est C-5/C-6. Dans ce cas, le carbone oléfinique C-5 apparaît à environ 141 ppm dans un composé portant un groupe carboxylique en C-6. Ce carbone chimique peut passer à 145 ppm lorsque l'hydroxyle est présent en C-4 (Lenta *et al.*, 2015). La plage de transfert chimique (en ppm) des atomes de carbone des squelettes endiandriques tétracycliques est donnée à la **figure 5**.



**Figure 5:** RMN  $^{13}\text{C}$  des squelettes d'acides endiandriques

Au regard des usages des plantes sélectionnées dans la médecine traditionnelle, de la diversité des activités biologiques présentées par leurs extraits et compte tenu du fait que *B. louisii*, *B. obscura* et *P. americana* restent très peu étudiées, nous avons entrepris dans le cadre de nos travaux de recherche, l'investigation chimique de ces trois plantes médicinales ainsi que l'évaluation de leurs propriétés antiplasmodiales et antitrypanosomales et leur cytotoxicité.



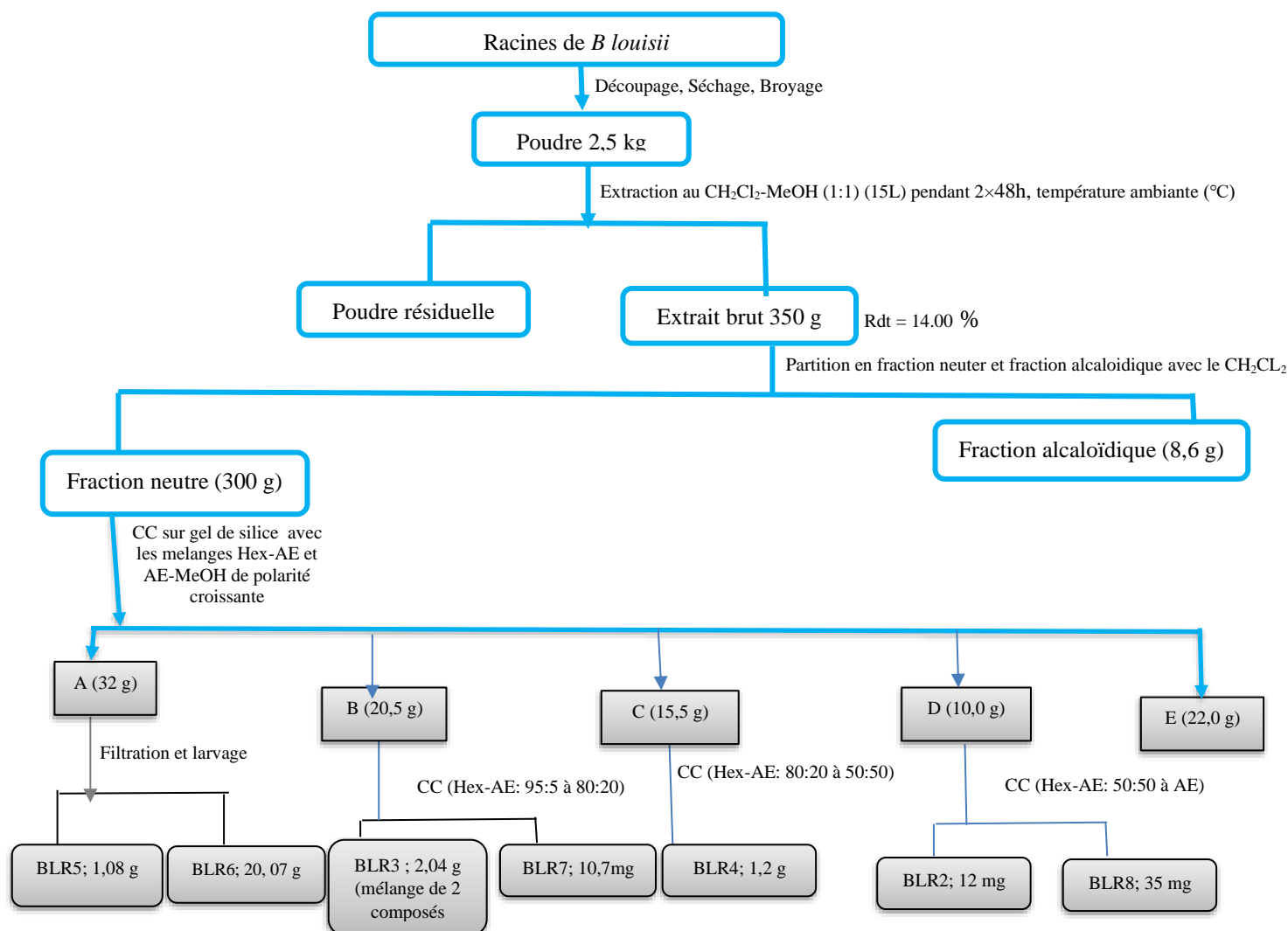
## **CHAPITRE II: RÉSULTATS ET DISCUSSION**

## II.1-ÉTUDES CHIMIQUES

### II.1.1- Extraction et isolement des composés.

#### II.1.1.1 *B. louisii*

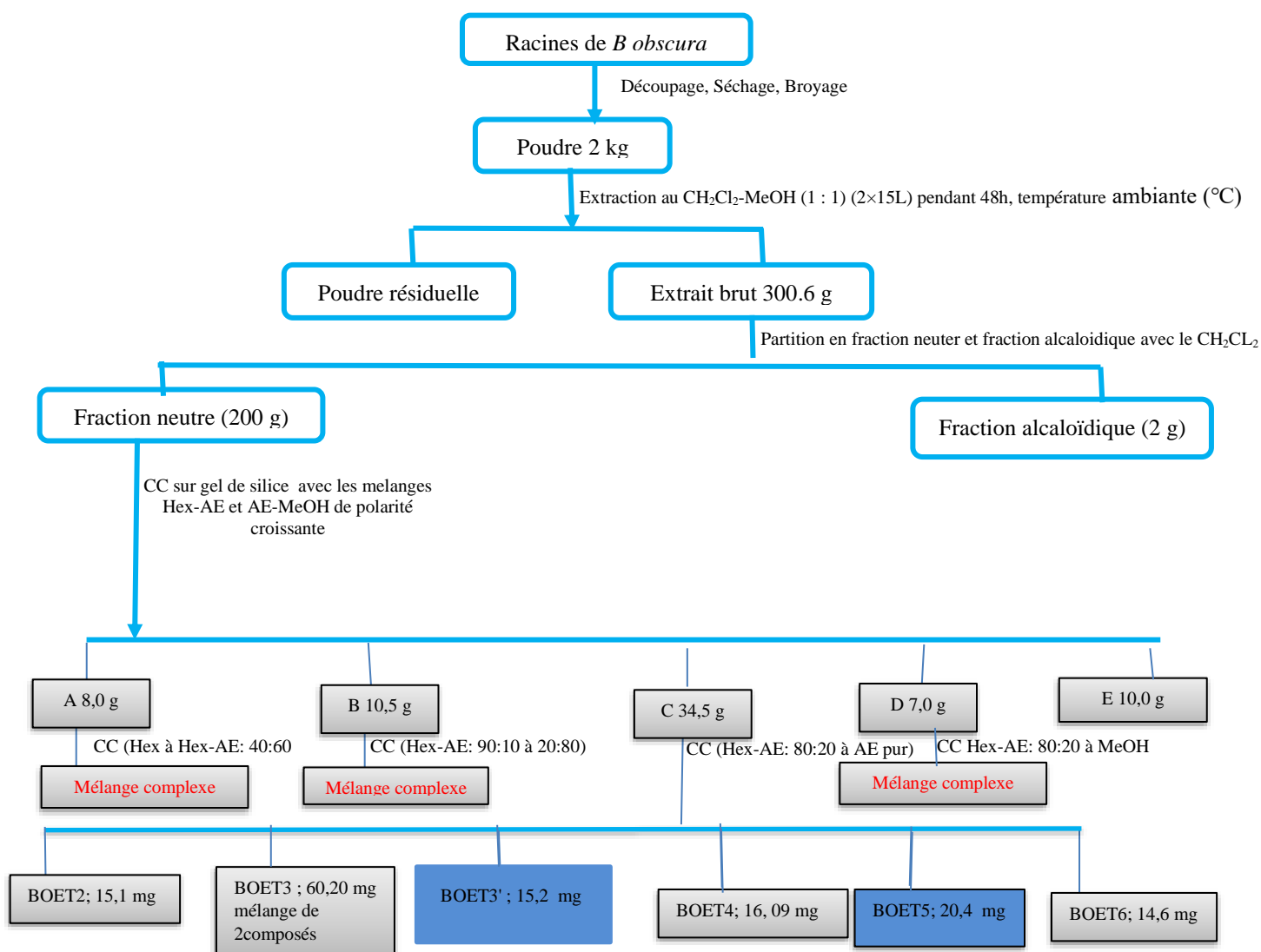
Les racines de *B. louisii* ont été récoltées en Mars 2014 à Batchenga (au bord de la Sanaga) dans la Région du Centre Cameroun. L'identification a été faite à L'Herbier National du Cameroun à Yaoundé où un échantillon avait été conservé sous le numéro 3360 SRFK. Ces racines ont été découpées, séchées puis broyées. La poudre obtenue de 2,5 kg a été extraite par macération au mélange MeOH-CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> (1:1) pendant 48 h à température ambiante. Après évaporation du solvant sous pression réduite, 350 g d'extrait brut ont été obtenus. 340 g ont été partitionnés en fractions neutre (300 g) et alcaloïdique (8,6 g). 280 g de la fraction neutre ont été soumis à différentes méthodes chromatographiques sur gel de silice (chromatographie flash et chromatographie sur colonne) avec le mélange Hex-AE et AE-MeOH de polarité croissante. Huit composés ont été entièrement caractérisés (**Schéma 6**).



**Schéma 6:** Protocole d'extraction et d'isolement des composés des racines de *B. louisii*

### II.1.1.2 *B. obscura*

Les écorces du tronc de *B. obscura* ont été récoltées en novembre 2016 au Mont Kala dans la Région du Centre Cameroun. L'identification a été faite à L'Herbier National du Cameroun à Yaoundé où un échantillon avait été conservé sous le numéro 6933 /SRF/Cam. Ces écorces ont été découpées, séchées puis broyées. La poudre obtenue (2 kg) a été extraite par macération au mélange MeOH-CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> (1:1) pendant 48 h, ceci 2 fois et à température ambiante. Après évaporation du solvant sous pression réduite, 300,6 g d'extrait brut ont été obtenus. 290 g ont été partitionnés en fractions neutre (200 g) et alcaloïdique (2 g). 190 g de la fraction neutre ont été soumis à différentes méthodes chromatographiques sur gel de silice (chromatographie flash et chromatographie sur colonne) pour donner huit composés donc 7 ont été entièrement caractérisés (Schéma 7)

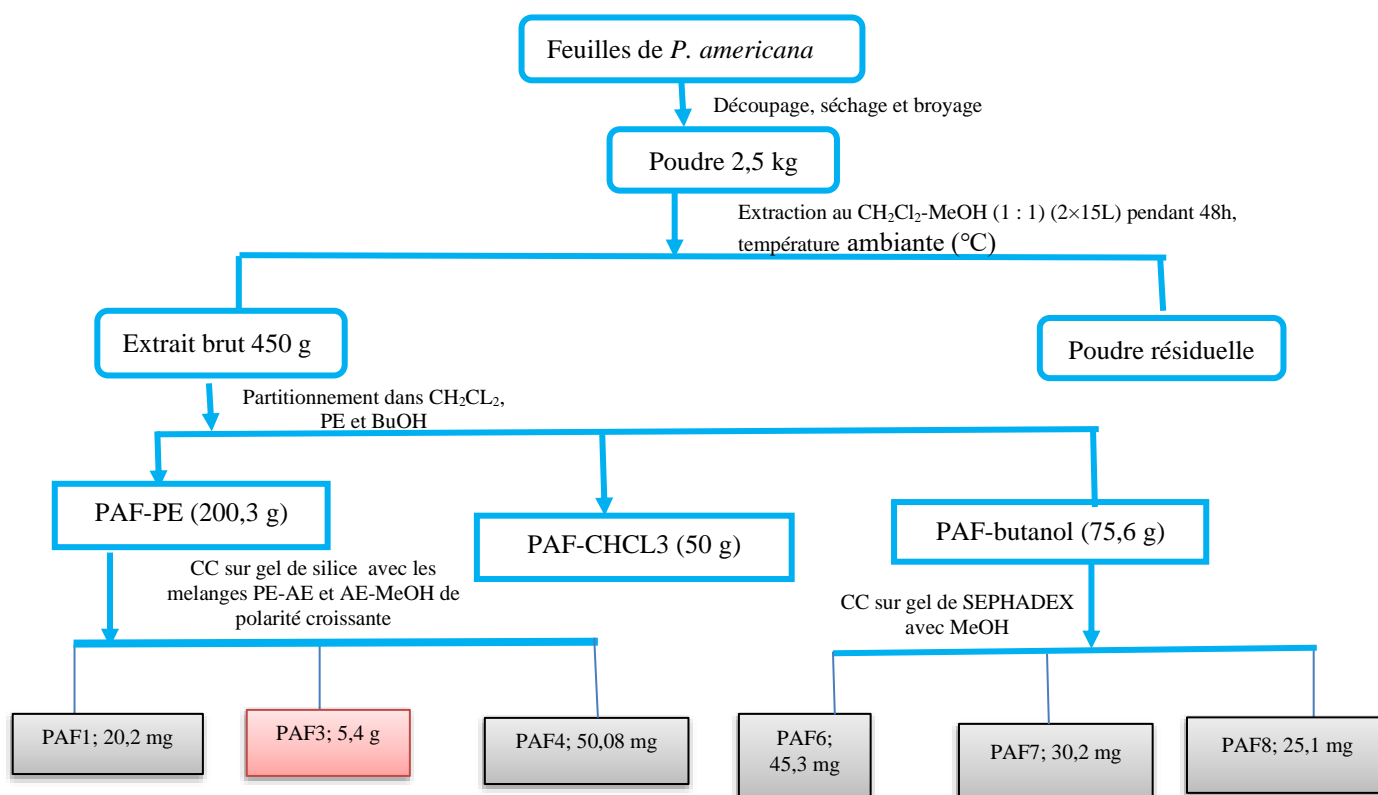


**Schéma 7:** Protocole d'extraction et d'isolement des composés des écorces du tronc de *B. obscura*

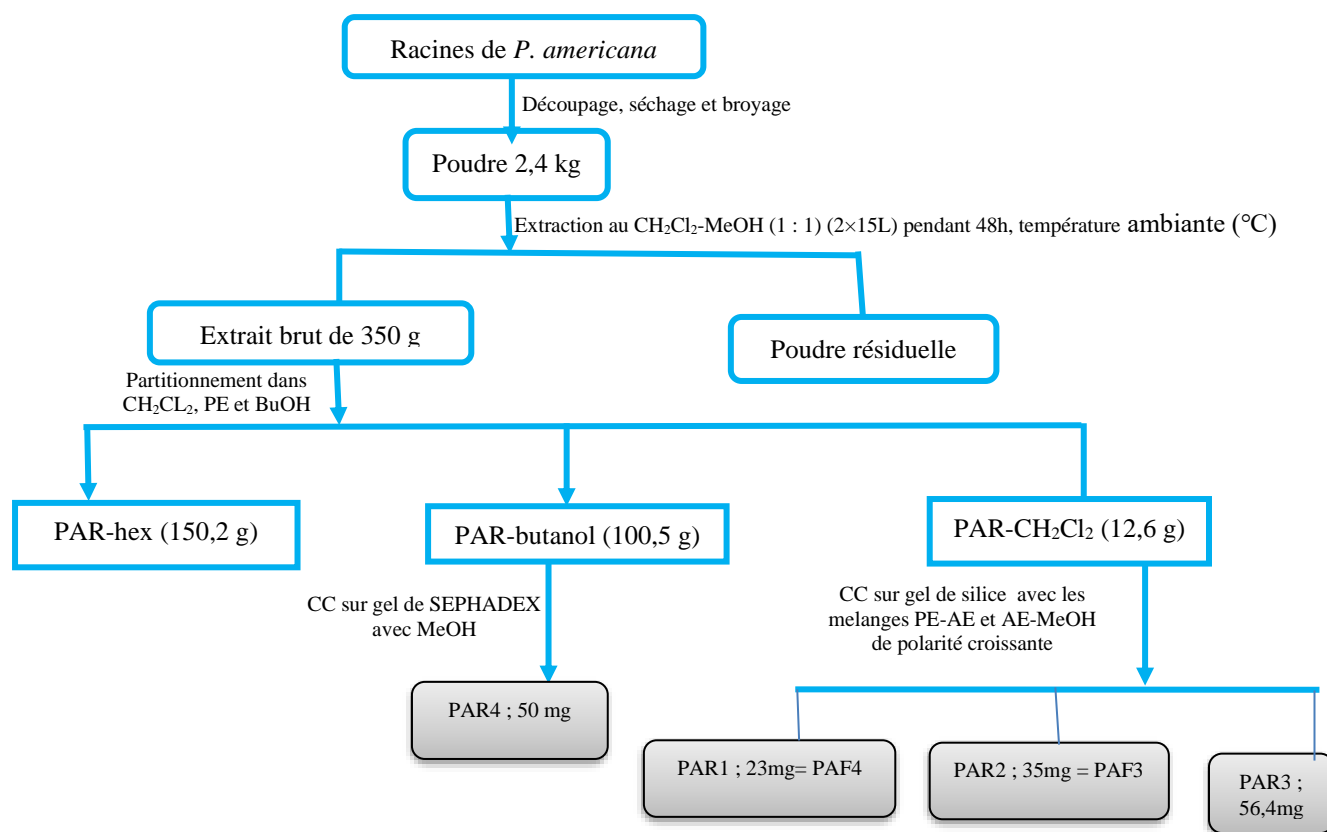
**NB** : les composés isolés des fractions alcaloïdiques des racines de *B. louisii* et des écorces de *B. obscura* n'ont dissout dans aucun solvant organique.

### II.1.1.3 *P. americana*

Les feuilles et les racines de *P americana* ont été récoltées en Novembre 2018 à Nkolbisson dans la Région du Centre Cameroun. L'identification a été faite à l'Herbier National du Cameroun à Yaoundé où un échantillon a été conservé et identifié au numéro 57756 HNC. Les feuilles et les racines ont été découpées, séchées puis broyées. Les poudres obtenues 2,5 kg et 2,4 kg, respectivement, ont été extraites par macération au mélange MeOH-CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> (1:1) pendant 48 h, ceci 2 fois et à température ambiante (°C). Après évaporation des solvants sous pression réduite, 450 g et 350 g d'extraits bruts ont été obtenus respectivement. L'extrait des racines a été partitionné, successivement, dans l'hexane, le chlorure de méthylène et le *n*-butanol pour conduire à trois fractions de masses respectives 150,2 g ; 12,9 g et 100,5 g. L'extrait des feuilles, quant à lui, a été partitionné successivement dans l'éther de pétrole, le chloroforme et le *n*-butanol pour conduire également à 3 fractions de 200,3 g ; 50 g et 75,6 g, respectivement. Les différentes fractions obtenues ont subi des chromatographies successives sur gel de silice et sur gel de sephadex pour donner **10** composés donc **8** entièrement caractérisés (Schéma 8 et Schéma 9)



**Schéma 8**: Protocole d'extraction et d'isolement des composés des feuilles de *P. americana*



**Schéma 9:** Protocole d'extraction et d'isolement des composés des racines de *P. americana*

## II.2. Préparation de quelques dérivés d'acide beilschmiedique E (composé majoritaire)

Des réactions, utilisant le thiosemicarbazide et l'acide 3,4,5- trihydroxybenzoïque, ont été réalisées sur l'acide beilschmiedique E dans le but de voir leur activité vis-à-vis des souches testées. En effet, il a été démontré que les thiosemicarbazones sont une classe de molécules utilisées comme antiviraux, anticancéreux et antiparasitaires (Mishra *et al.*, 2002 ; Condit *et al.*, 1991 ; Finch *et al.*, 1999 ; Klayman *et al.*, 1979 ; Wilson *et al.*, 1974 ; Du *et al.*, 2002). Il a été également reporté que l'acide gallique et quelques gallates d'esters constituent de bons antipaludéens (El Babili *et al.*, 2011 ; Sannela *et al.*, 2010). Les réactions réalisées ont conduit, dans toutes les étapes, à l'obtention de 4 dérivés nouveaux qui ont été identifiés à bielschmiedol A, beischmiedal, bielschmiecarbazonne et beilschmiegallate.

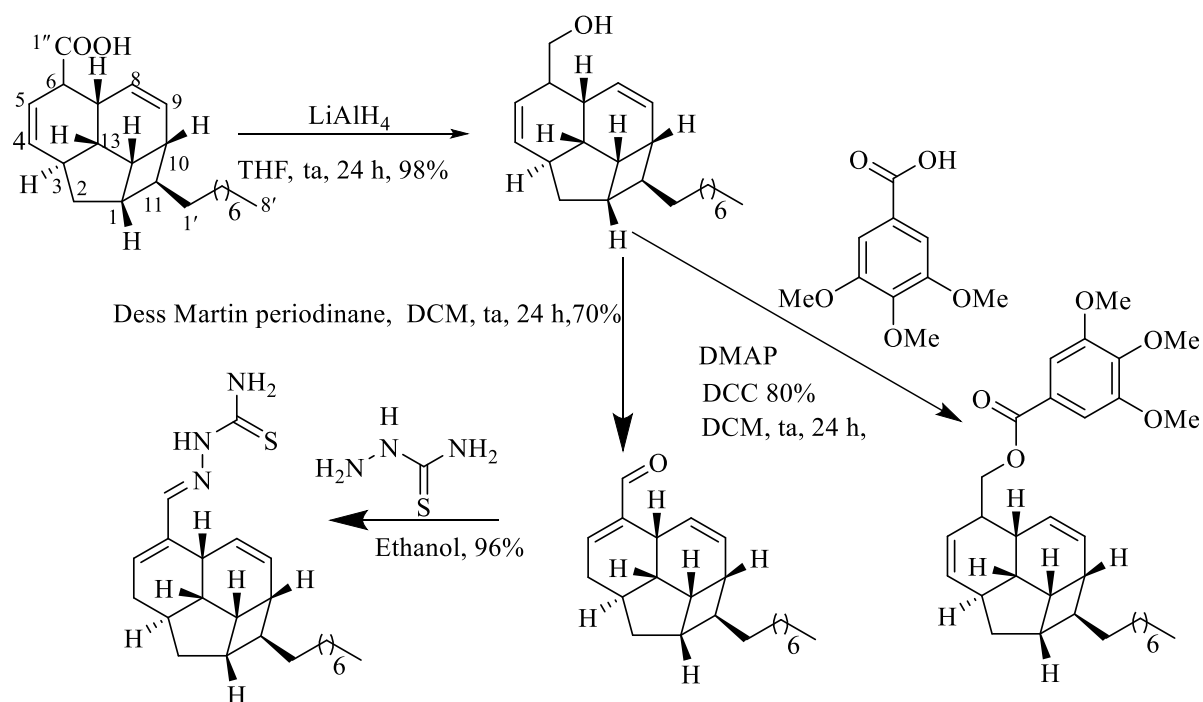


Schéma 10: Préparation des dérivés de l'acide beilschmiédique E

### II.3- Détermination structurale des composés

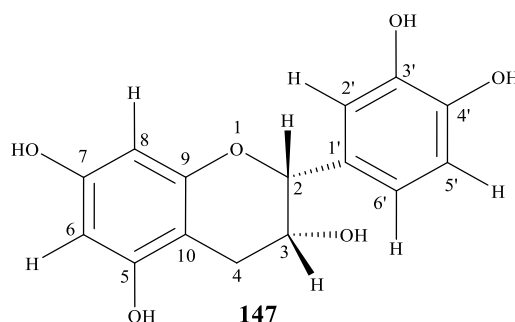
L'élucidation des structures des différents composés isolés a été faite soit à partir d'une analyse rigoureuse de leurs données spectrales et physiques, soit par comparaison pour les composés connus de leurs données spectroscopiques avec celles décrites dans la littérature. Ainsi 30 composés ont été isolés (10 des racines de *B. louisii*, 10 des écorces de *B. obscura* et 10 des racines et feuilles de *P. americana*). Vingt-deux de ces composés ont été caractérisés et regroupés en : quatre flavonoïdes, deux terpénoïdes, une coumarine, deux  $\gamma$ -Lactones, sept acides endiandriques, une lignane, un alcène, un phénylalcène, un phénylalcanoïque, un carotène et un alcool gras.

#### II.3.1- Les flavonoïdes.

##### II.3.1.1-Identification du flavonoïde BLR2

Le composé BLR2 a été obtenu sous forme de poudre jaune dans un mélange Hex- AE (1:1), et est soluble dans l'acétone. Il répond positivement au test au chlorure ferrique, en donnant une coloration bleue, caractéristique des composés phénoliques ; ainsi qu'au test de SHINODA, en donnant une coloration rouge brique, caractéristique des flavonoïdes.

Son spectre de masse ESI montre le pic de l'ion pseudo-moléculaire  $[M+H]^+$  à  $m/z$  291,0867 correspondant à la formule brute  $C_{15}H_{15}O_6$ , renfermant neuf degrés d'insaturation. L'ensemble de ces données combinées à celles des spectres de RMN  $^1H$  et  $^{13}C$ , nous a permis d'attribuer au composé BLR2 la structure **147**.



En effet, son spectre de RMN  $^1\text{H}$  (Figure 8) fait ressortir :

- Deux doublets de deux protons aromatiques *mé*ta-couplés (cycle A) à  $\delta_{\text{H}}$  6,02 (1H, d,  $J = 2,3$  Hz, H-8) et 5,93 (1H, d,  $J = 2,3$  Hz, H-6).
- Les signaux de protons d'un noyau aromatique 1,3,4-trisubstitué (cycle B) à  $\delta_{\text{H}}$  6,81 (1H, dd,  $J = 8,2$  et 2,0 Hz, H-6'); 6,85 (1H, d,  $J = 8,2$  Hz, H-5') et 7,06 (1H, d,  $J = 2,1$  Hz, H-2')
- Les signaux de deux protons diastéréotopiques d'un groupement méthylène à  $\delta_{\text{H}}$  2,89 (1H, dd,  $J = 4,6$  et 3,3 Hz, H-4a) et 2,76 (1H, dd,  $J = 4,7$  et 3,3 Hz, H-4b) et deux protons d'oxyméthines à  $\delta_{\text{H}}$  4,21 (1H, d, H-3) et 4,89 (1H, sl, H-2).

Sur son spectre de RMN  $^{13}\text{C}$  (Figure 9) totalement découplé, 15 signaux d'atomes de carbone ont été distingués grâce aux techniques DEPT (Figure 10) et HSQC (Figure 12) en:

- Sept carbones quaternaires dont quatre oxygénés à  $\delta_{\text{C}}$  156,6 (C-7), 156,7 (C-5), 144,4 (C-3') et 144,5 (C-4').
- Sept méthines, dont deux oxyméthines à  $\delta_{\text{C}}$  66,0 (C-3) et 78,5 (C-2)
- Un méthylène à  $\delta_{\text{C}}$  28,8 (C-4).

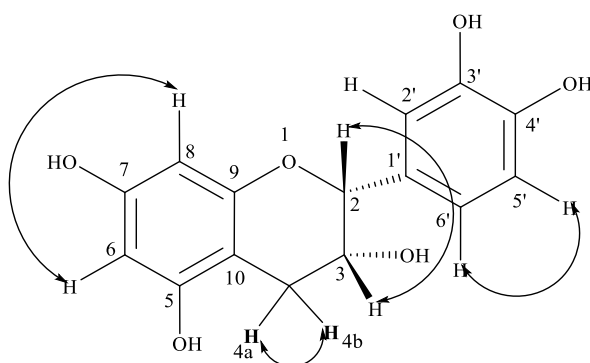
Sur son spectre COSY (Figure 11), on observe des couplages entre les protons à  $\delta_{\text{H}}$  4,21 (H-3) et les protons à  $\delta_{\text{H}}$  4,89 (H-2), 2,89 (H-4a) et 2,76 (H-4b), et aussi entre les protons à  $\delta_{\text{H}}$  2,89 (H-4a) et 2,76 (H-4b), confirmant ainsi la présence des groupements oxyméthines et méthylène.

Sur ce même spectre, on observe aussi des couplages entre les protons à  $\delta_{\text{H}}$  5,93 (H-6) et 6,02 (H-8), et entre le proton à  $\delta_{\text{H}}$  6,81 (H-6') et 7,06 (H-2') confirmant d'une part la présence du système de deux protons *mé*ta-couplés, et d'autre part la présence d'un système 1,3,4-trisubstitué. L'ensemble de ces données indiquent que BLR2 est une flavane pentahydroxylée.

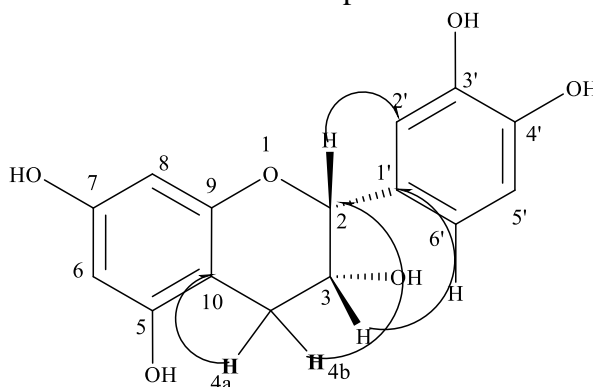
Sur son spectre HMBC (Figure 13) on observe les corrélations entre :

- Le proton H-2 ( $\delta_H$  4,89) et les carbones C-4 ( $\delta_C$  28,8), C-3 ( $\delta_C$  66,0), C-1' ( $\delta_C$  131,4) ; C-2' ( $\delta_C$  114,4) et C-6' ( $\delta_C$  118,5).
- Le proton H-3 ( $\delta_H$  4,21) et les carbones C-10 ( $\delta_C$  98,9) et C-1' ( $\delta_C$  131,4).
- Les protons H-4a et H-4b ( $\delta_H$  2,89 ; 2,76) et les carbones C-2 ( $\delta_C$  78,5) ; C-3 ( $\delta_C$  66,0) ; C-10 ( $\delta_C$  98,9) ; C-9 ( $\delta_C$  156,3) et C-5 ( $\delta_C$  156,7).
- Le proton H-6 ( $\delta_H$  5,93) et les carbones C-5 ( $\delta_C$  156,7) ; C-7 ( $\delta_C$  156,6) ; C-8 ( $\delta_C$  95,2) et C-10 ( $\delta_C$  98,9).
- Le proton H-8 ( $\delta_H$  6,02) et les carbones C-6 ( $\delta_C$  94,8) ; C-7 ( $\delta_C$  156,6) ; C-9 ( $\delta_C$  156,3) et C-10 ( $\delta_C$  98,9).
- Le proton H-2' ( $\delta_H$  7,06) et les carbones C-2 ( $\delta_C$  78,5) ; C-1' ( $\delta_C$  131,4) ; C-3' ( $\delta_C$  144,4) ; C-4' ( $\delta_C$  144,5) et C-6' ( $\delta_C$  118,5).
- Le proton à  $\delta_H$  6,85 (H-5') et les carbones à  $\delta_C$  131,4 (C-1') ; 144,4 (C-3') ; 144,5 (C-4') et 118,5 (C-6').
- Le proton à  $\delta_H$  6,81 (H-6') et les carbones à  $\delta_C$  78,5 (C-2) ; 131,4 (C-1') ; 114,4 (C-2') et 144,5(C-4').

Le proton H-2 apparaissant sous forme de singulet large indique que H-2 et H-3 sont *cis*.



**Figure 6:** Quelques corrélations observées sur le spectre COSY de BLR2



**Figure 7:** Quelques corrélations observées sur le spectre HMBC de BLR2.



L'ensemble de ces données nous a permis d'attribuer à BLR2 la structure **147** qui est celle de la 3,5,7,3',4'-pentahydroxyflavane. Toutes ces informations nous permettent d'attribuer à BLR2 le nom de (-) -*épi-catéchine* précédemment isolée des thés vert et noir Par Abd El-Razek en 2007.

**Tableau 8 : Données du spectre RMN  $^{13}\text{C}$  (125 MHz) dans l'acétone- $d_6$ , de BLR2 comparées avec celles de l'épicatéchine  $^{13}\text{C}$  (125 MHz) dans le méthanol- $d_4$ , (Jang et al., 2009).**

Position du carbone	BLR2 (Acétone- $d_6$ , 125 MHz)	Épicatéchine (Méthanol- $d_4$ , 125 MHz)
	$\delta_c$ (ppm)	$\delta_c$ (ppm)
<b>2</b>	78,5	80,0
<b>3</b>	66,0	67,6
<b>4</b>	28,8	29,4
<b>5</b>	156,7	158,1
<b>6</b>	94,8	96,0
<b>7</b>	156,6	157,8
<b>8</b>	95,2	96,6
<b>9</b>	156,3	157,5
<b>10</b>	98,9	100,4
<b>1'</b>	131,4	132,4
<b>2'</b>	114,4	115,5
<b>3'</b>	144,4	145,9
<b>4'</b>	144,5	146,1
<b>5'</b>	114,6	116,0
<b>6'</b>	118,5	119,6

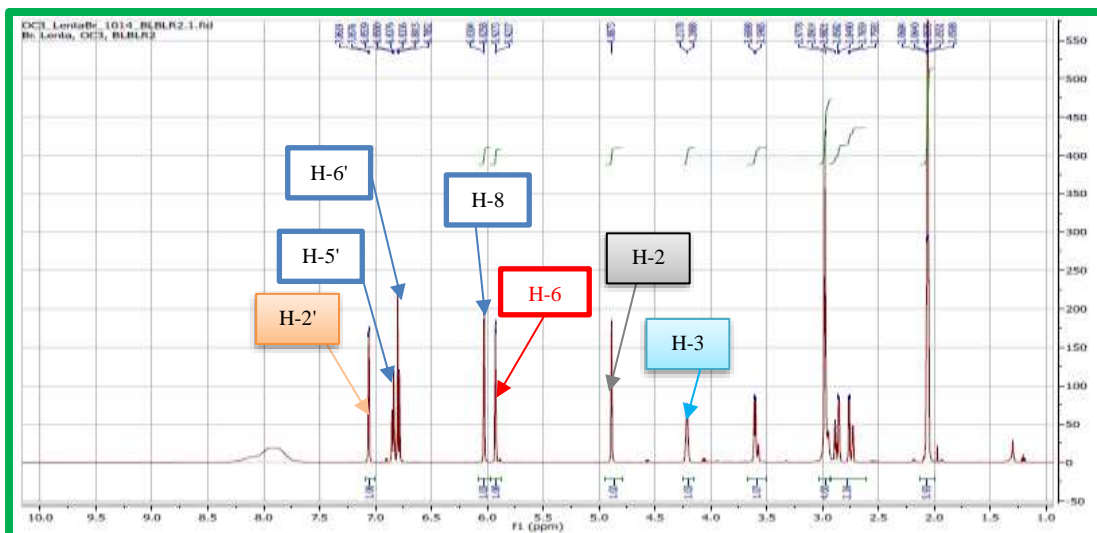


Figure 8: Spectre de RMN  $^1\text{H}$  (Acétone- $d_6$ , 500 MHz) de BLR2.

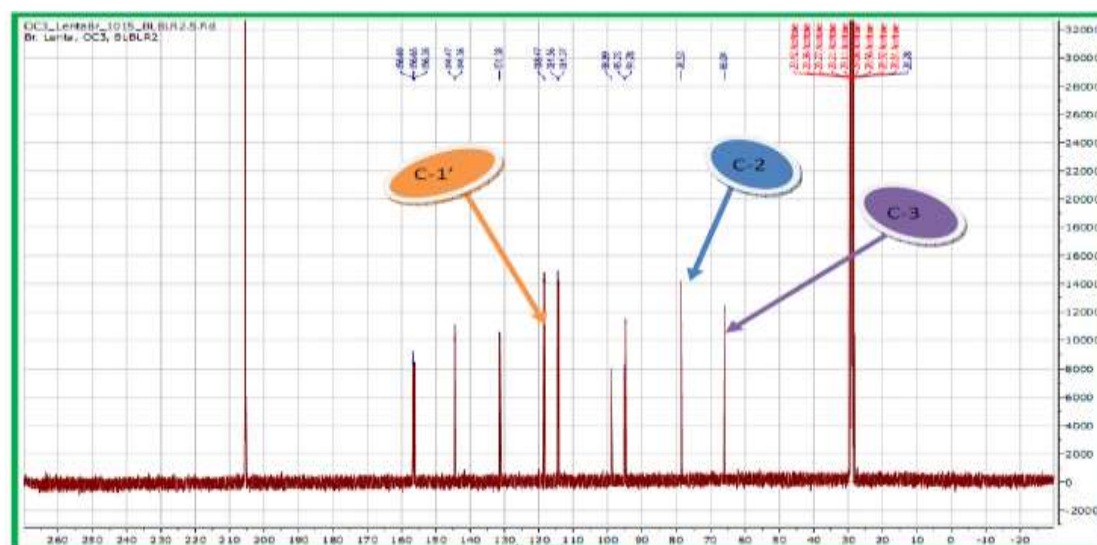


Figure 9: Spectre de RMN  $^{13}\text{C}$  (Acétone- $d_6$ , 125 MHz) de BLR2.

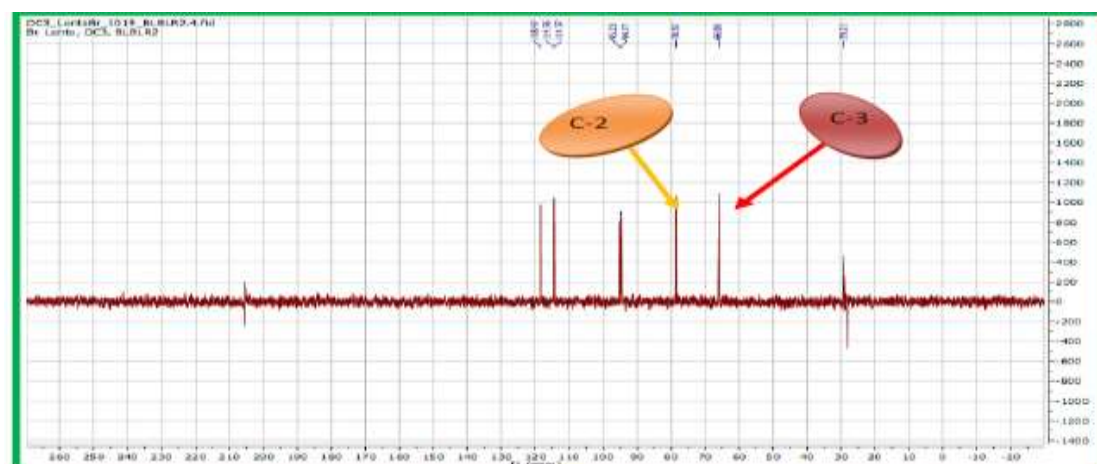


Figure 10: Spectre DEPT 135(Acétone- $d_6$ , 125 MHz) de BLR2.

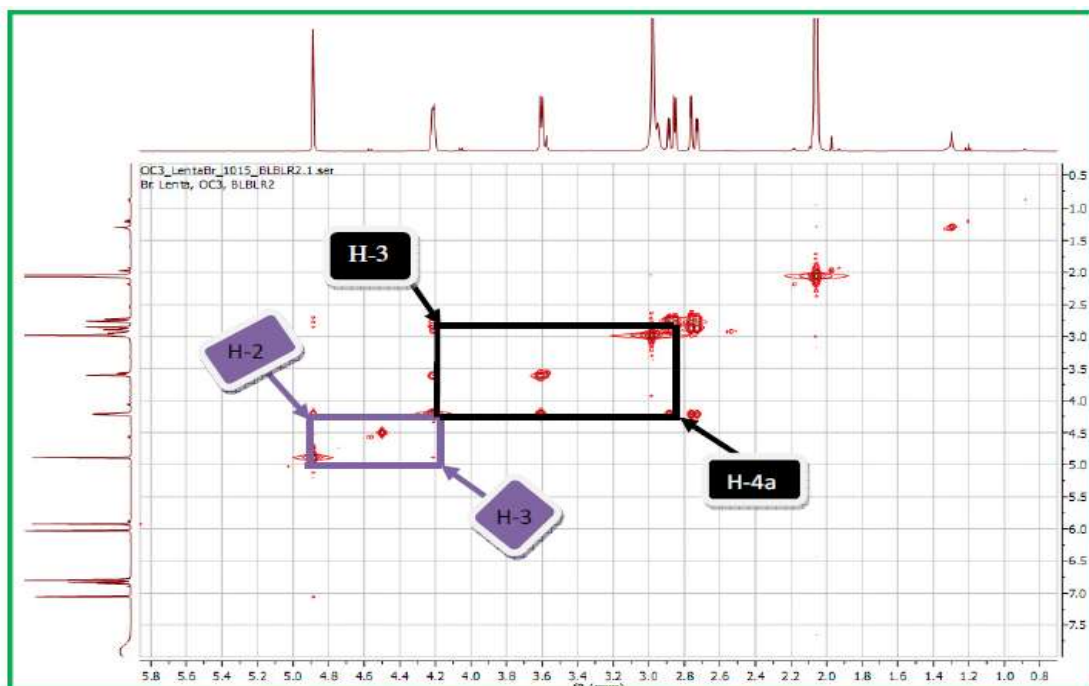


Figure 11: Spectre COSY de BLR2.

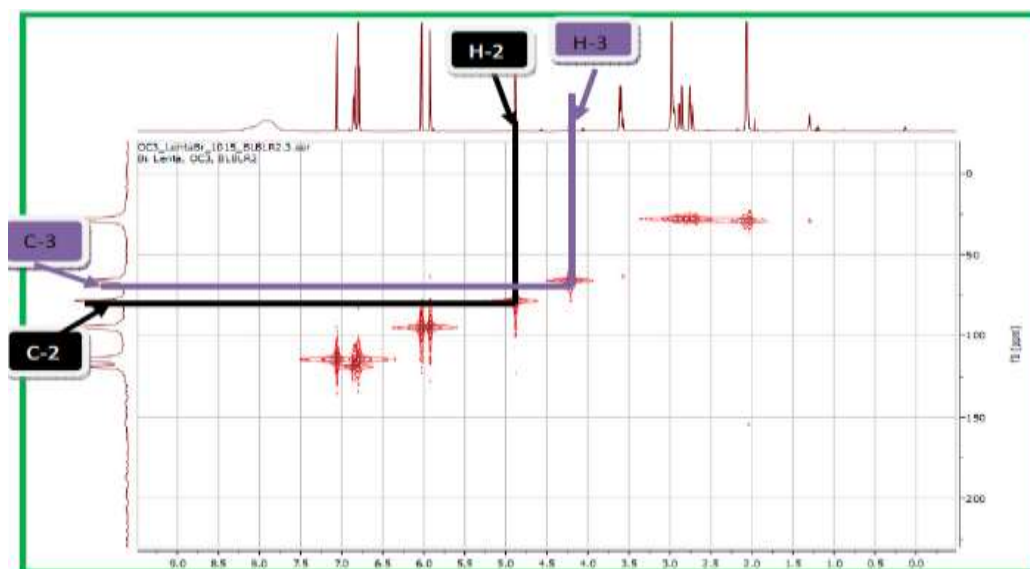


Figure 12: Spectre HSQC de BLR2.

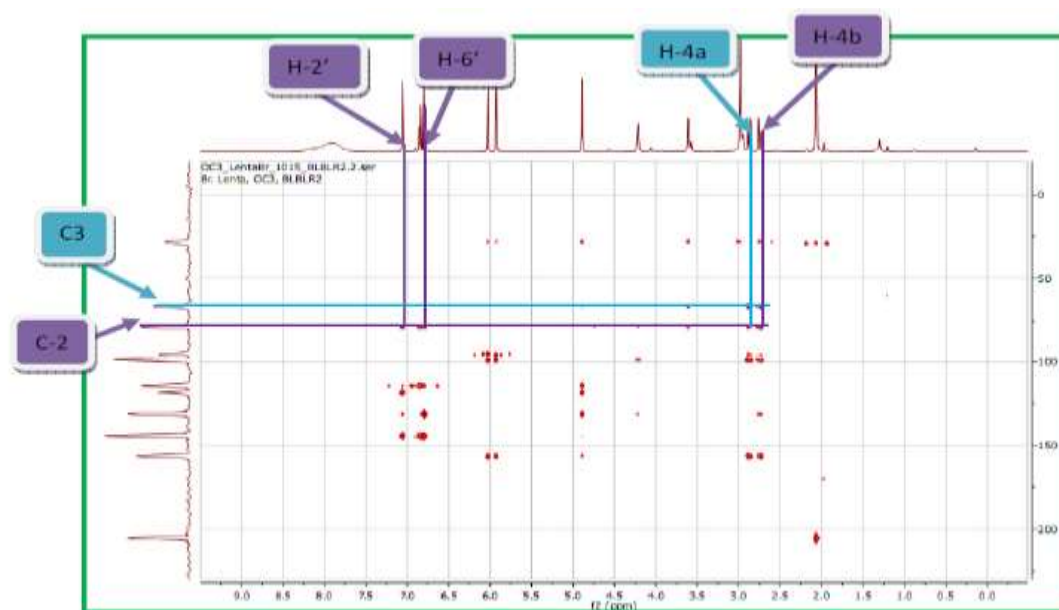
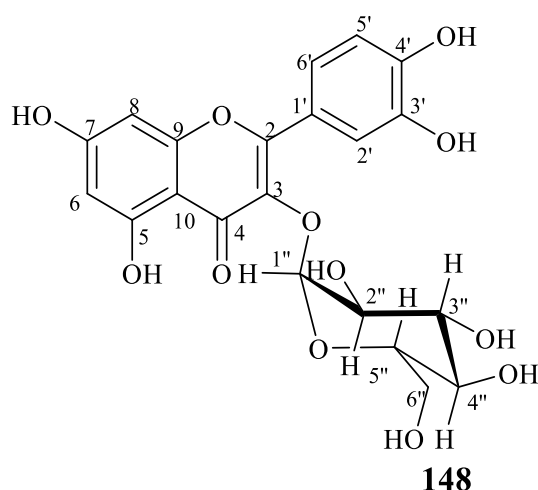


Figure 13 : Spectre HMBC de BLR2.

### II.3.1.2- Identification de PAF8.

Le composé **PAF8** se présente sous forme de poudre jaune dans le mélange Hex-AE (1:9). Il est soluble dans la pyridine et réagit positivement aux tests au chlorure ferrique, de SHINODA et de MOLISH indiquant sa triple nature phénolique, flavonoïdique et osidique respectivement. Son spectre de masse ESI à haute résolution montre le pic de l'ion pseudo-moléculaire  $[M-H]^+$  à  $m/z$  463,0961 (Figure 16) compatible avec la formule brute  $C_{21}H_{19}O_{12}$ , renfermant douze insaturations. Toutes ces données combinées à celles des données de RMN  $^1H$  et  $^{13}C$  permettent d'attribuer à PAF8 la structure **148**.



En effet, sur son spectre de RMN  $^1H$  (Figure 17), on observe :

- Un hydroxyle chélaté à  $\delta_H$  13,18 ;
- Un système ABX à  $\delta_H$  7,25 (1H, d,  $J = 8,2$  Hz, H-5'), 8,08 (1H, dd,  $J = 8,2$  et 2,1 Hz, H-6') et 8,48 (1H, d,  $J = 2,1$  Hz, H-2') ;
- Deux doublets d'un proton chacun à  $\delta_H$  6,63 (1H, d,  $J = 4,0$  Hz, H-8) et 6,12 (1H, d,  $J = 4,0$  Hz, H-6) attribuables à des protons aromatiques couplés en position *mé*ta ;
- Un ensemble de signaux à  $\delta_H$  entre 4,15-4,85 attribuable aux signaux d'un sucre qui est le glucose et dont proton anomérique apparait à  $\delta_H$  4,85 (H-1''). La configuration  $\beta$  de ce sucre a été déduite de la constante de couplage  $J = 8,8$  Hz de son proton anomérique.

Le spectre de RMN  $^{13}C$  (Figure 19) de PAF8 fait ressortir les signaux de 21 atomes de carbone, répartis grâce à la technique DEPT 135 (Figure 20) et HSQC en :

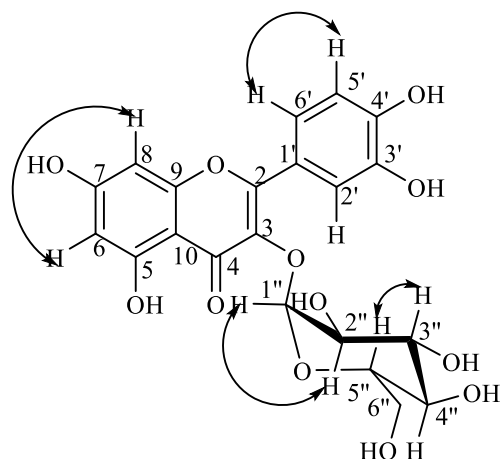
- Dix carbones quaternaires dont le signal correspondant à celui du carbonyle de flavonol à  $\delta_C$  179,6 (Lawrence et al., 2003 ; Kapché, 2000) et neuf carbones oléfiniques à  $\delta_C$  166,8 (C-7), 163,5 (C-5), 158,3 (C-9), 158,8 (C-2), 106,2 (C-10), 147,5 (C-3'), 132,9 (C-3), 151,9 (C-4') et 123,5 (C-1').
- Dix groupements méthines dont cinq méthines aromatique à  $\delta_C$  100,6 (C-6), 96,9 (C-8), 123,1 (C-6'), 117,1 (C-5'), 118,2 (C-2'), et cinq oxyméthines du glucose à  $\delta_C$  106,0 (C-1''), 78,5 (C-3''), 76,3 (C-5''), 74,2 (C-2'') et 70,6 (C-4'').
- Un oxyméthylène du glucose à  $\delta_C$  62,7 (C-6'').

Sur le spectre COSY de PAF8 (Figure 21) on observe les corrélations entre le proton à  $\delta_H$  8,08 (H-6') et les protons à 7,25 (H-5') et 8,48 (H-2'). On observe également sur ce même spectre les corrélations entre le proton à  $\delta_H$  6,63 (H-8) et celui à  $\delta_H$  6,69 (H-6) et les corrélations entre les différents protons du sucre à  $\delta_H$  entre 4,20-4,85.

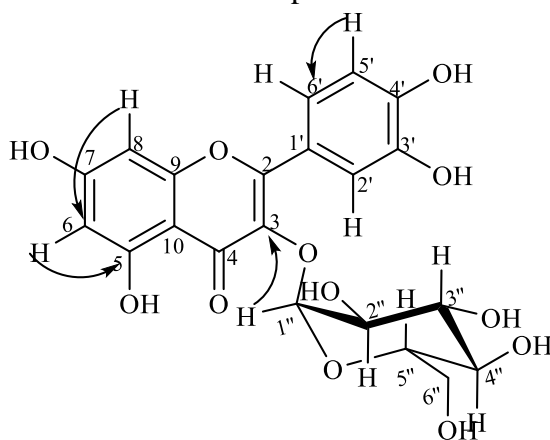
L'ensemble de ces données montre que PAF8 est un flavonoïde portant des groupements hydroxyles dont un chélaté et un sucre qui est le glucose. D'après la littérature faite sur les flavonoïdes et d'après les déplacements chimiques du carbonyle à  $\delta_C$  179,6 et du carbone C-3 à  $\delta_C$  132,9 ; PAF8 à un squelette de type flavonol (Kapché, 2000).

Le glucose a été fixé en C-3 grâce à la tâche de corrélation observée sur le spectre HMBC (Figure 23) entre le proton anomérique à 4,82 et le carbone C-3 à  $\delta_C$  132,9.

Sur ce même spectre, on observe des corrélations entre le proton H-6 et le carbone C-5, H-8 et C-6, H-5' et C-6'



**Figure 14:** Quelques corrélations observées sur le spectre COSY de PAF8.



**Figure 15:** Quelques corrélations observées sur le spectre HMBC de PAF8.

Toutes ces données spectrales comparées à celles décrites dans la littérature par Takayuki *et al.* en 2005, permettent d'attribuer à PAF8 la structure **148** qui est celle de la 3-*O*- $\beta$ -D-glucopyranoside de Quercetine ou isoquercitrine isolée par Jae *et al.* en 2004 d'*Aceriphyllum rossii*.

**Tableau 9: Données de RMN  $^1\text{H}$  (400 MHz) et  $^{13}\text{C}$  (100 MHz) de PAF8 dans la pyridine- $d_6$ , comparées à celles de kaempferol-3-isoquercitrine  $^1\text{H}$  (400MHz) et  $^{13}\text{C}$  (100 MHz) dans le  $\text{CD}_3\text{OD}$**

Position du carbone	Isoquercitrine $\delta_{\text{C}}$ (ppm)	Isoquercitrine $\delta_{\text{H}}$ (ppm)	PAF8 $\delta_{\text{C}}$ (ppm)	PAF8 $\delta_{\text{H}}$ (ppm)
<b>1</b>	-	-	-	-
<b>2</b>	158,2		158,6	
<b>3</b>	135,4		133,0	
<b>4</b>	179,2		179,6	
<b>5</b>	162,7		163,5	
<b>6</b>	99,8	6,17 (d, $J = 2,0$ Hz, 1H)	100,6	6,10 (d, $J = 2,0$ Hz, 1H)
<b>7</b>	165,7		166,8	
<b>8</b>	94,6	6,35 (d, $J = 7,8$ Hz, 1H)	95,6	6,62 (d, $J = 7,8$ Hz, 1H)
<b>9</b>	158,8		158,6	
<b>10</b>	105,5		106,2	
<b>1'</b>	123,1		123,5	
<b>2'</b>	115,8	7,71 (d, $J = 2,4$ Hz, 1H)	118,1	7,25 (d, $J = 2,4$ Hz, 1H)
<b>3'</b>	145,6		147,5	
<b>4'</b>	149,6		151,6	
<b>5'</b>	117,4	6,85 (d, $J = 8,6$ Hz, 1H)	117,1	6,71 (d, $J = 8,6$ Hz, 1H)
<b>6'</b>	122,8	7,56 (dd, $J = 8,6$ et 2,4 Hz, 1H)	123,1	8,10 (dd, $J = 8,6$ et 2,4 Hz, 1H)
<b>1''</b>	104,2	5,23 (d, $J = 7,6$ Hz, 1H)	106,0	6,12 (d, $J = 7,6$ Hz, 1H)
<b>2''</b>	75,6	3,22-3,51(m, 4H)	74,2	4,82 (m, 1H)
<b>3''</b>	78,2		78,5	4,18 (m, 1H)
<b>4''</b>	71,1		70,6	4,60 (m, 1H)
<b>5''</b>	77,9		76,3	4,31 (m, 1H)
<b>6''</b>	62,4	3,71 (dd, $J = 12,0$ et 2,4 Hz, 1H) 3,58(dd, $J = 12,0$ et 5,2 Hz, 1H)	62,7	4,31 (dd, $J = 12,0$ et 2,4, 1H) ; 4,42 (dd, $J = 12,0$ et 5,2 Hz, 1H)

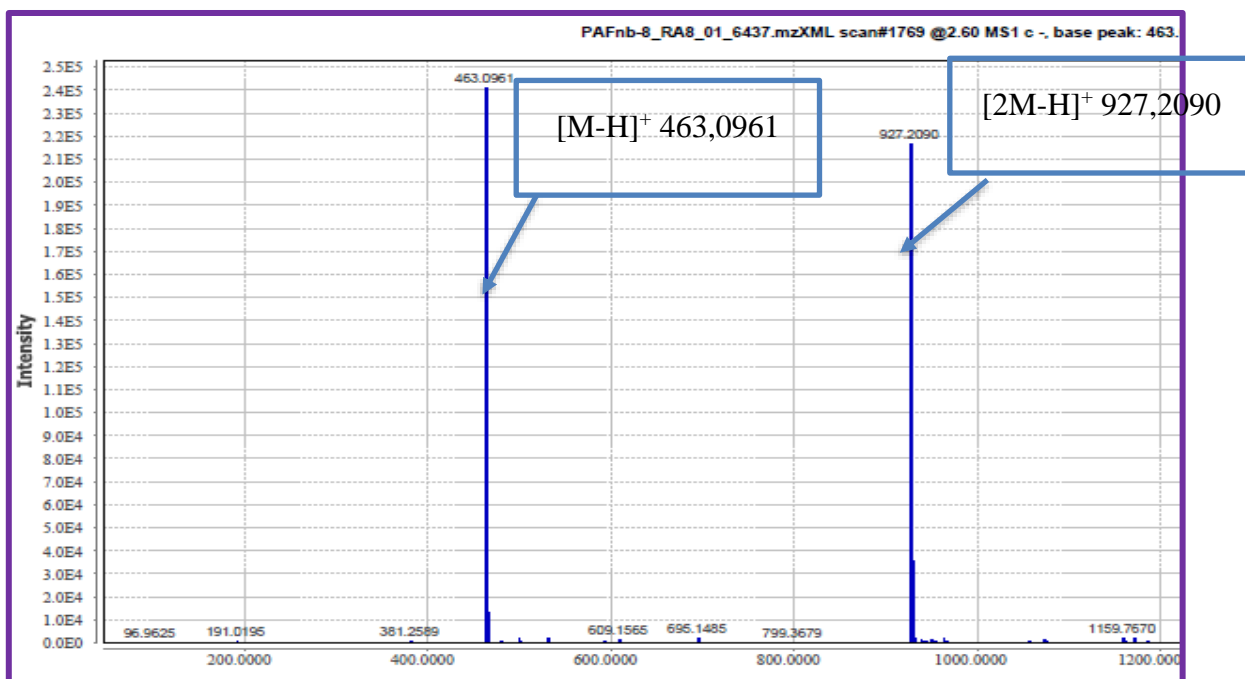


Figure 16: Spectre de masse ESIHR de PAF8

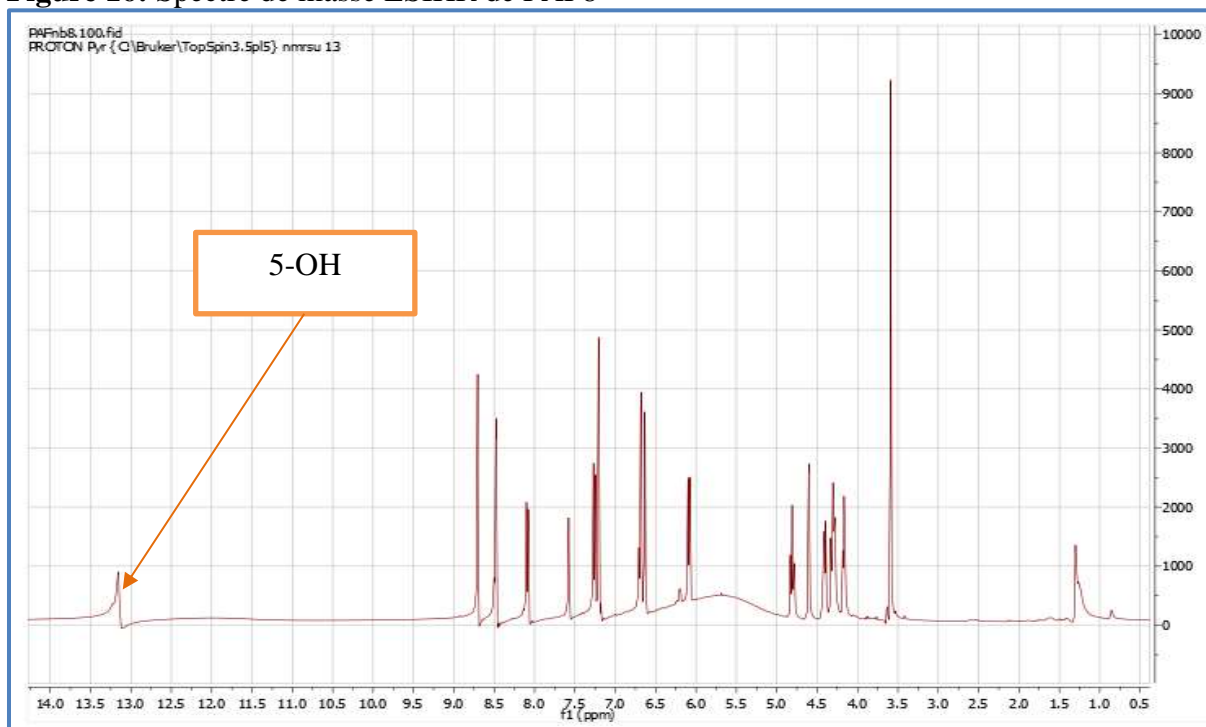


Figure 17: Spectre de RMN <sup>1</sup>H (pyridine-*d*<sub>6</sub>, 400 MHz) de PAF8



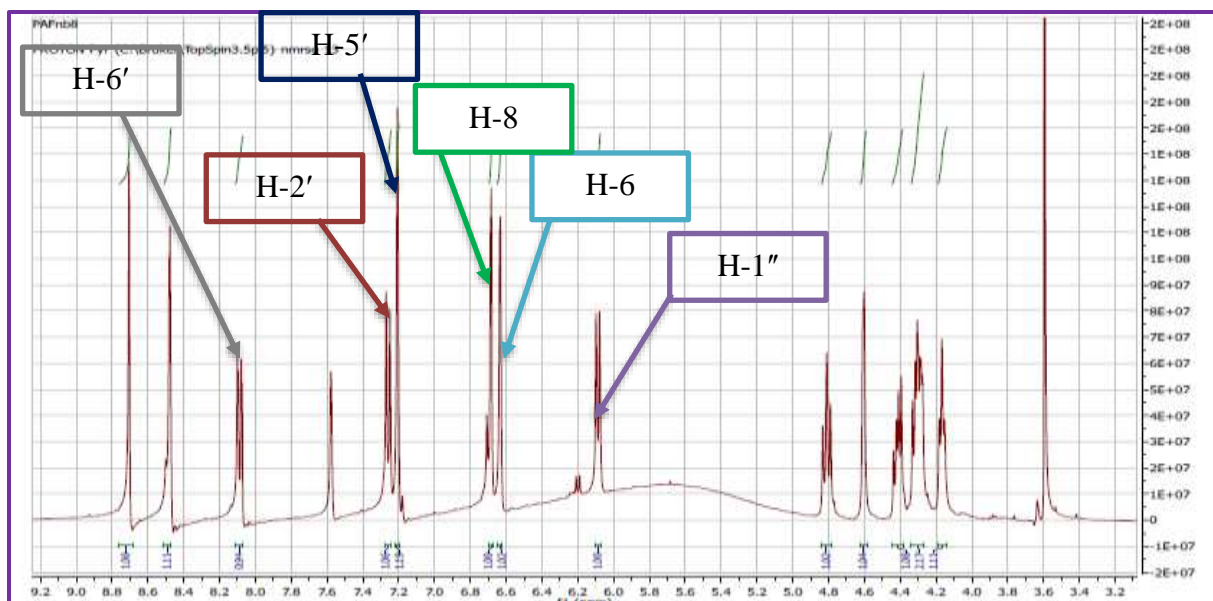


Figure 18: Spectre de RMN  $^1\text{H}$  (pyridine- $d_6$ , 400 MHz) de PAF8

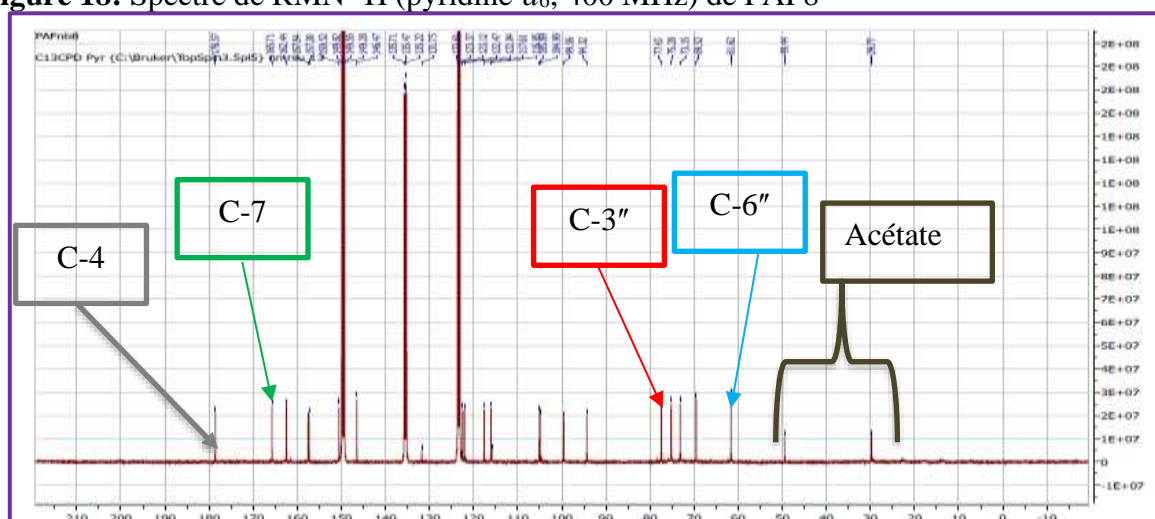


Figure 19: Spectre de RMN  $^{13}\text{C}$  (pyridine- $d_6$ , 100 MHz) de PAF8

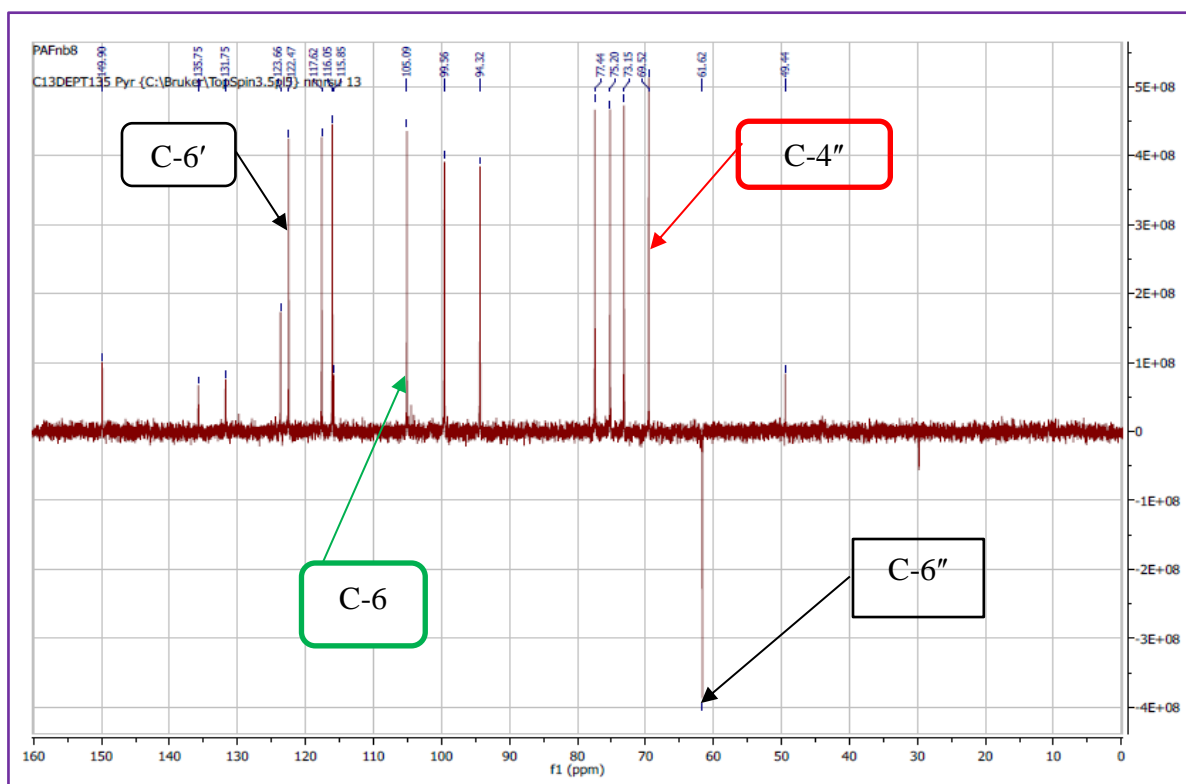


Figure 20: Spectre DEPT 135 de PAF8

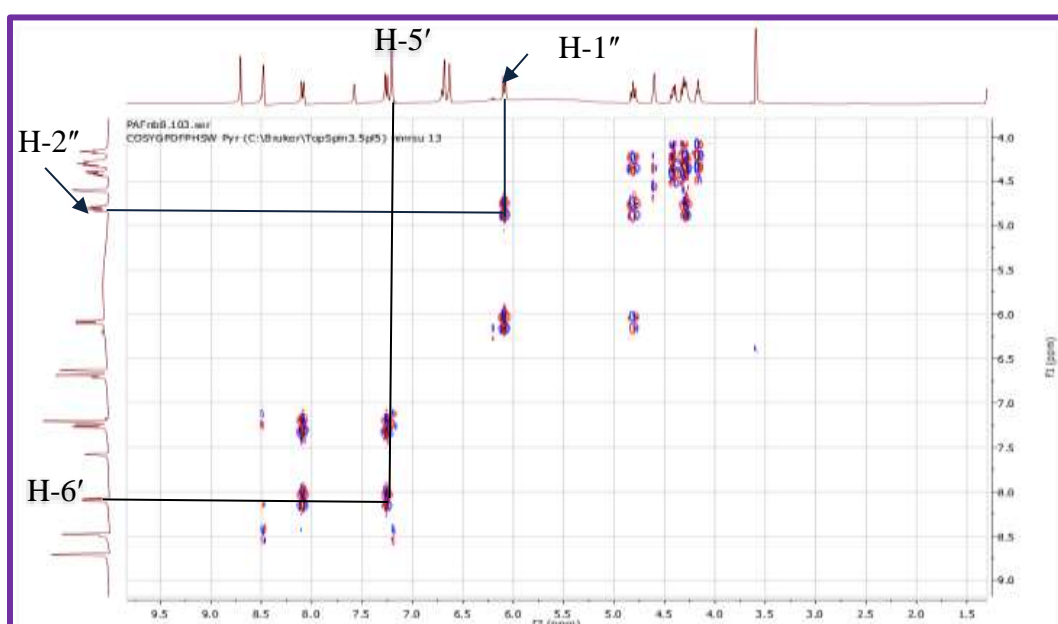


Figure 21: Spectre COSY de PAF8

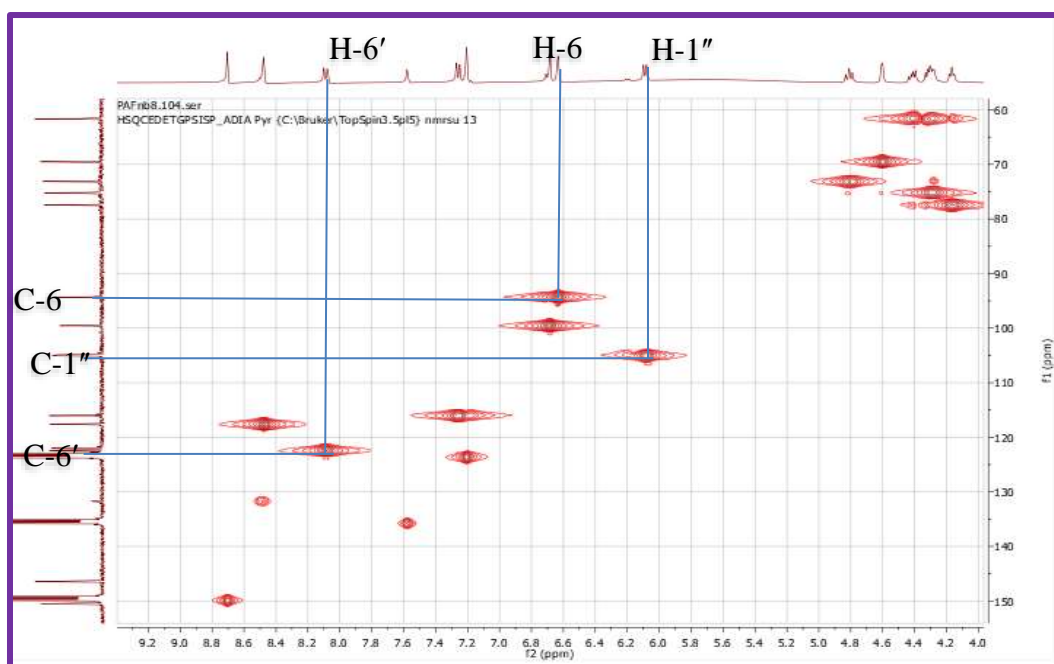


Figure 22: Spectre HSQC de PAF8

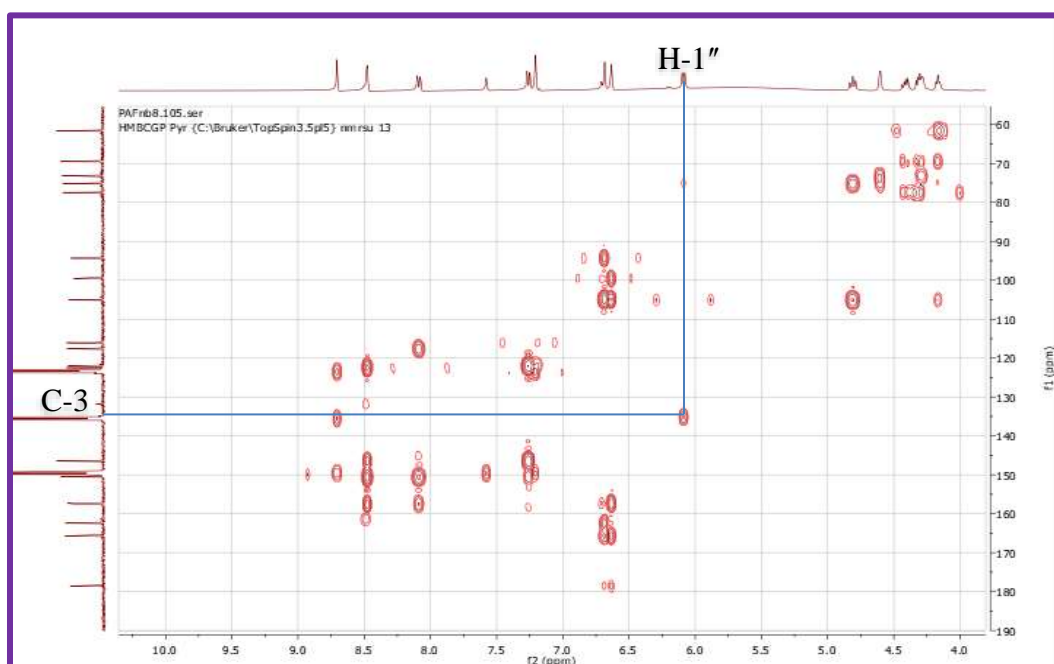


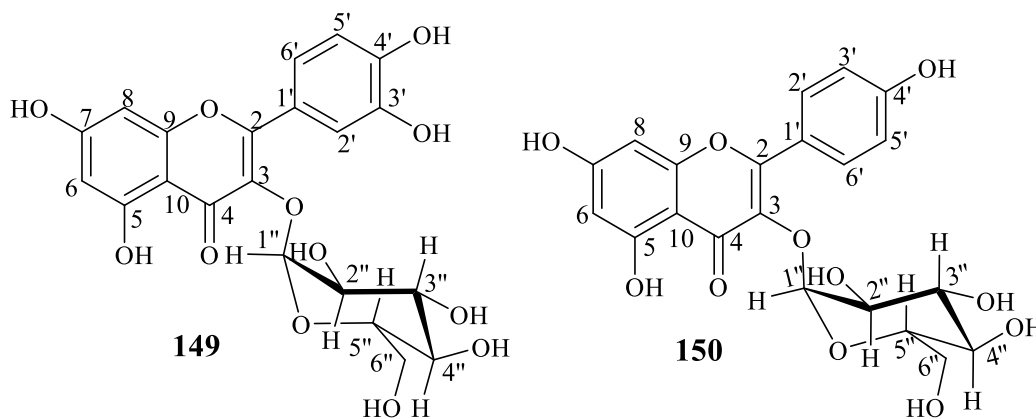
Figure 23 : Spectre HMBC de PAF8

### II.2.1.3- Identification de PAF7

Le composé **PAF7** se présente sous forme de poudre jaune dans méthanol. Il est soluble dans la pyridine et réagit positivement aux tests au chlorure ferrique, de SHINODA et de MOLISH indiquant sa triple nature phénolique, flavonoïdique et osidique respectivement. Son spectre de masse ESI en haute résolution montre les pics des ions pseudomoléculaires  $[M-H]^+$

à  $m/z$  463,0961 et 447,1005 (Figure 26), compatibles avec les formules brutes  $C_{21}H_{19}O_{12}$  et  $C_{21}H_{19}O_{11}$  renfermant douze insaturations chacun.

L'ensemble de ces données combinées à celles des spectres RMN 1D et 2D nous a permis de déduire que PAF7 est un mélange de deux composés (149 et 150) dont la différence de masse est de 16 uma l'un de l'autre.



En effet, son spectre de RMN  $^1H$  (Figure 27) montre :

- Deux hydroxyles chelatés à  $\delta_H$  13,18
- Deux doublets d'un système AA'BB' à  $\delta_H$  7,69 ( $J = 8,8$  Hz, H-2b'/6b') et à  $\delta_H$  6,93 ( $J = 8,8$  Hz, H-3b'/5b'); et un système AX à  $\delta_H$  6,28 (H-6b) et 6,09 (H-8b) ( $J = 1,6$  Hz) attribuable respectivement aux cycles B et A du kaempférol.
- Un système ABX à  $\delta_H$  7,25 (1H, d,  $J = 8,2$  Hz, H-5a'), 8,08 (1H, dd,  $J = 8,2 ; 2,1$  Hz, H-6a') et 8,48 (1H, d,  $J = 2,1$  Hz, H-2a');
- Deux doublets à  $\delta_H$  6,63 (1H, d,  $J = 4$  Hz, H-8a) et 6,12 (1H, ds, H-6a) attribuables à des protons aromatiques couplés en position *mé*ta ;
- Un ensemble de signaux à  $\delta_H$  entre 4,20-4,85 attribuable à un sucre qui est le glucose et dont le proton anomérique apparait à  $\delta_H$  4,85. La configuration  $\beta$  de ce sucre a été déduite de la constante de couplage  $J = 8,8$  Hz de son proton anomérique.

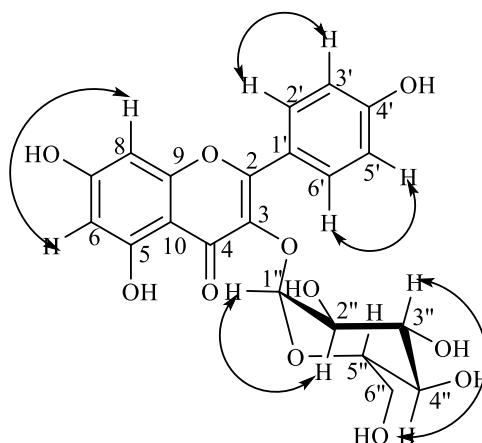
Le spectre de RMN  $^{13}C$  (Figure 28) de PAF8 fait ressortir les signaux de 42 atomes de carbone répartis en :

- Dix-Neuf carbones quaternaires dont deux signaux correspondant au carbonyle de flavonol (Lawrence et al., 2003; Kapché, 2000) à  $\delta_C$  179,2 et 179 ; et dix-sept carbones aromatiques à  $\delta_C$  165,7 (C-7b), 166,8 (C-7a), 163,5 (C-5a), 162,7 (C-5b), 161,3 (C-4b'), 158,8 (C-9b), 158,8 (C-2a), 158,3 (C-9a), 158,2 (C-2b), 105,6 (C-10b), 135,3 (C-3b), 122,6 (C-1b'), 106,2 (C-10a), 147,5 (C-3a'), 132,9 (C-3a), 151,9 (C-4a'), 123,5 (C-1a').
- Vingt-un groupement méthines dont six méthines aromatiques à  $\delta_C$  99,8 (C-6b), 94,7 (C-8b), 132,2 (C-2b'/6b'), 115,9 (C-5b'/3b'), 100,6 (C-6a), 96,9 (C-8a), 123,1 (C-6a'),

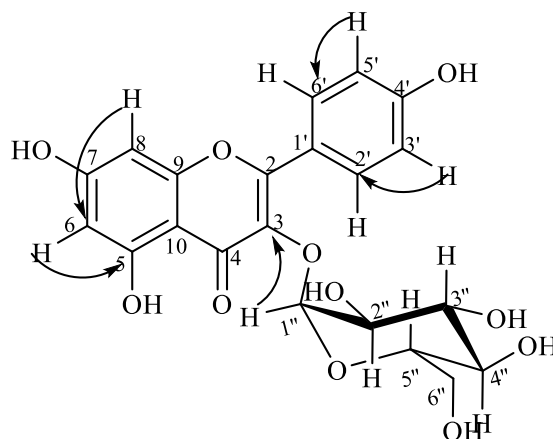
117,1 (C-5a'), 118,2 (C-2a'),

- cinq oxyméthines du glucose à  $\delta_C$  104,0 (C-1ab''), 78,2 (C-3''), 77,9 (C-5''), 75,6 (C-2'') et 71,2 (C-4'') et un oxyméthylène du glucose à  $\delta_C$  62,5 (C-6'') correspondant à deux molécules de glucoses.

L'ensemble de ces données nous a permis de déduire que PAF7 est un mélange de deux flavonols. La structure de l'un du mélange (**149**) étant celle de PAF8. déjà décrite plus haut, nous avons procédé par élimination des signaux correspondant. Ainsi, les deux constituants du mélange diffèrent par la masse (16 uma) et le système de proton du cycle B. Le système ABX du cycle B de PAF8 a été remplacé par un système AA'BB. Ceci est confirmé par les corrélations COSY entre les protons à  $\delta_H$  7,69 (H-2'/6') et à  $\delta_H$  6,93 (H-3'/5') ( $J = 8,8$  Hz); et les protons à  $\delta_H$  6,28 (H-6) et 6,09 (H-8) ( $J = 1,6$  Hz). Le glucose a été positionné en C-3 grâce à la tâche de corrélation observée sur le spectre HMBC (Figure 31) entre le proton anomérique à 4,82 et le carbone C-3 à  $\delta_C$  136,0. Sur ce même spectre, on observe des corrélations entre les protons H-6 et C-5, H-8 et C-6, H-5' et C-6' et H-3' et C-2'.



**Figure 24:** Quelques corrélations observées sur le spectre COSY de PAF8.



**Figure 25:** Quelques corrélations observées sur le spectre HMBC de PAF8.

L'ensemble de ces données comparées à celles de la littérature nous a permis de déduire que PAF7 est un mélange de flavonols : Kaempferol 3-*O*- $\beta$ -D-glucopyranoside ou encore Astragalin et la 3-*O*- $\beta$ -D-glucopyranoside de Quercétine ou isoquercitrine isolé par Jae *et al.* en 2004 d'*Aceriphyllum rossii*.

**Tableau 10: Données de RMN  $^1\text{H}$  (400 MHz) et  $^{13}\text{C}$  (100 MHz) de PAF8 dans la pyridine- $d_6$  comparées à celles de kaempferol-3-astragalindans RMN  $^1\text{H}$  (400MHz) et  $^{13}\text{C}$  (400 MHz) dans le  $\text{CD}_3\text{OD}$**

Position du carbone	Astragalin $\delta_c$ (ppm)	PAF7 $\delta_c$ (ppm)
<b>2</b>	158,2	158,6
<b>3</b>	135,3	136,0
<b>4</b>	179,2	179,7
<b>5</b>	162,7	163,6
<b>6</b>	99,8	99,6
<b>7</b>	165,7	166,9
<b>8</b>	94,7	95,5
<b>9</b>	158,8	158,6
<b>10</b>	105,6	106,2
<b>1'</b>	122,6	122,8
<b>2'</b>	132,2	132,9
<b>3'</b>	115,9	116,9
<b>4'</b>	161,3	162,6
<b>5'</b>	115,9	116,9
<b>6'</b>	132,2	132,9
<b>1''</b>	104,0	104,5
<b>2''</b>	75,6	74,2
<b>3''</b>	78,2	78,5
<b>4''</b>	71,2	70,6
<b>5''</b>	77,9	76,2
<b>6''</b>	62,5	62,7

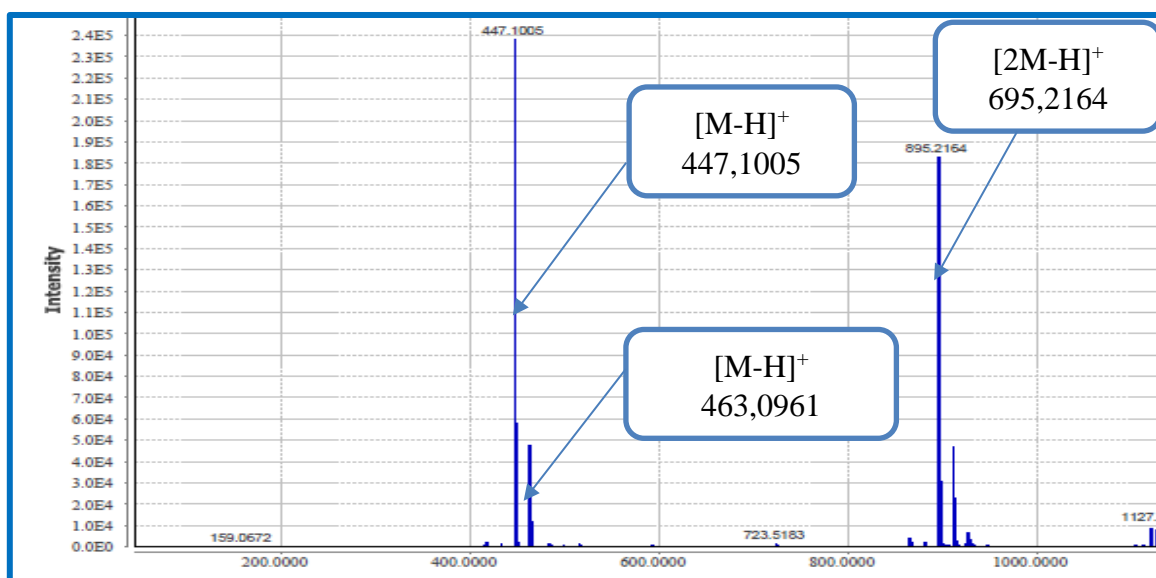


Figure 26: Spectre de masse ESI de PAF7

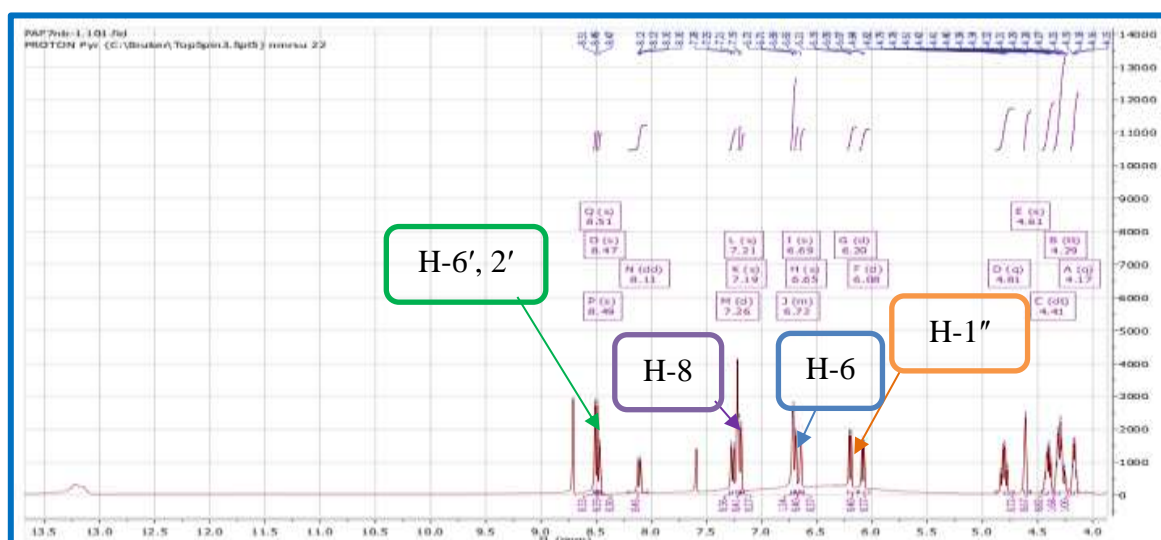


Figure 27: Spectre de RMN <sup>1</sup>H (pyridine-*d*<sub>6</sub>, 400 MHz) de PAF7

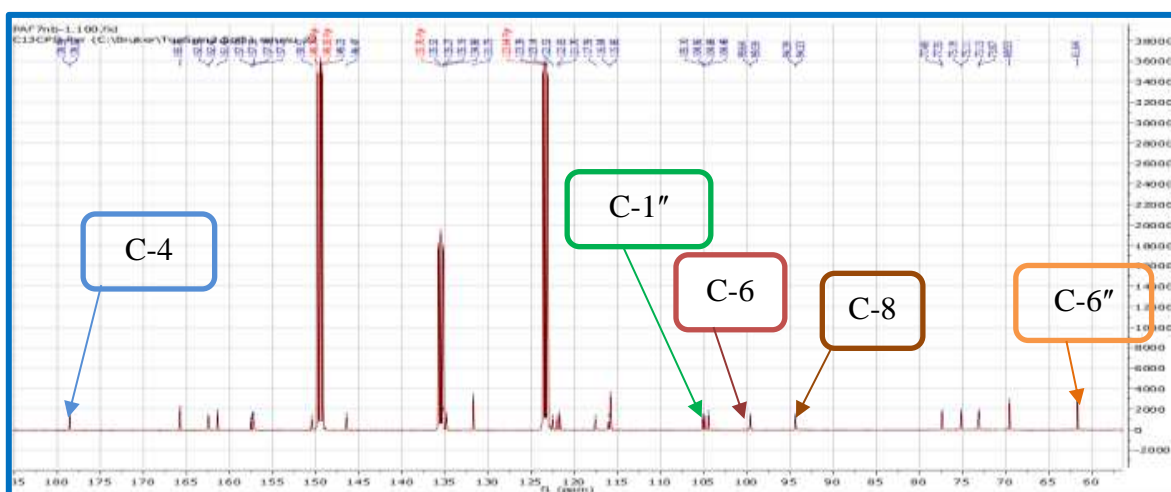


Figure 28: Spectre de RMN <sup>13</sup>C (pyridine-*d*<sub>6</sub>, 100 MHz) de PAF7

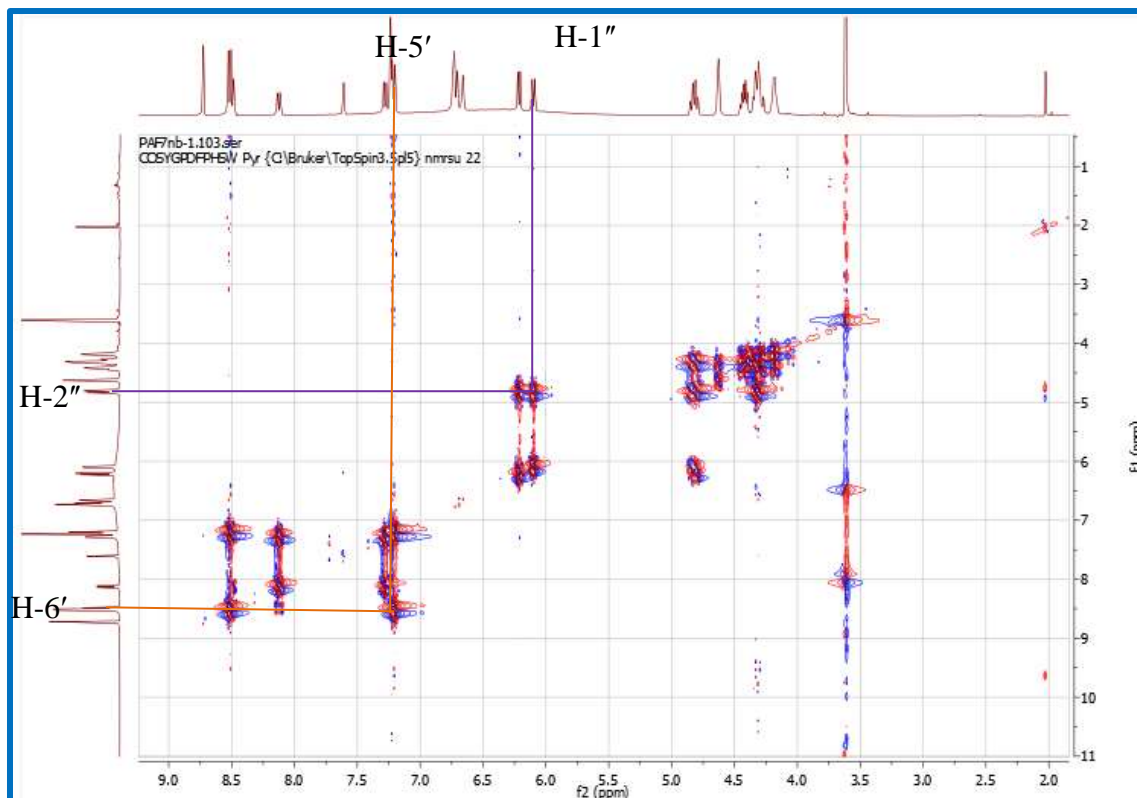


Figure 29: Spectre de COSY de PAF7

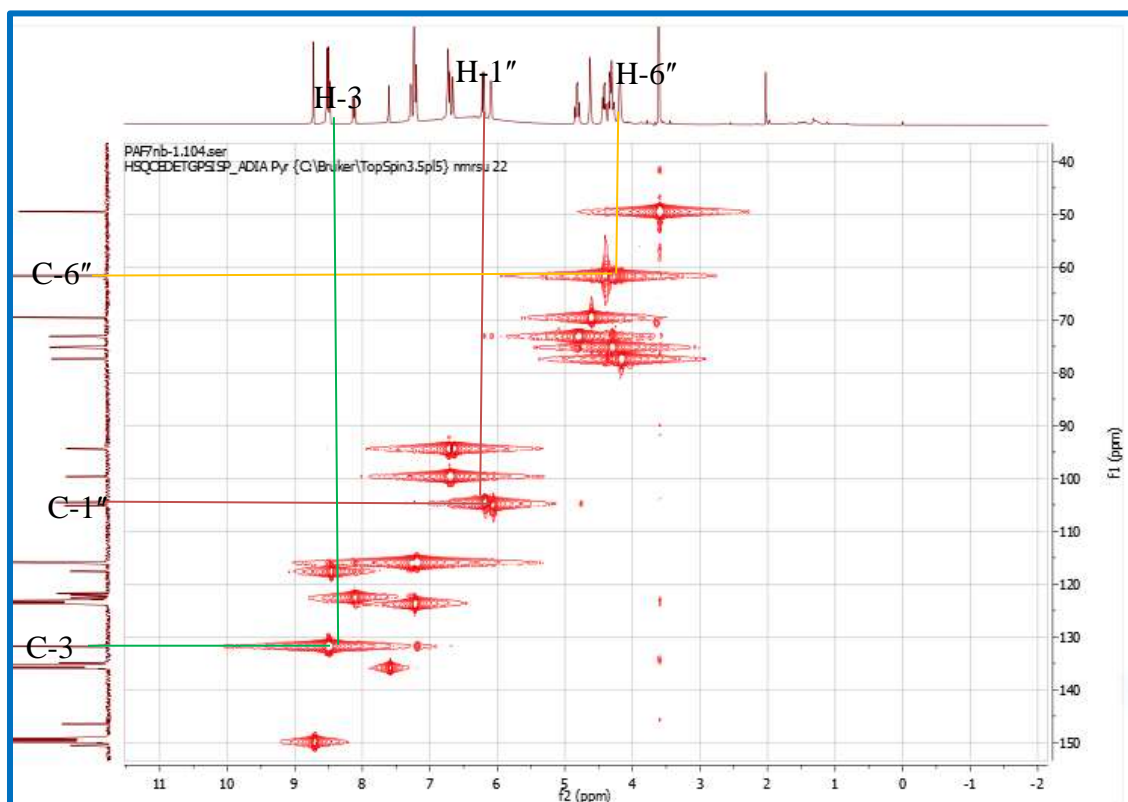


Figure 30: Spectre de HSQC de PAF7



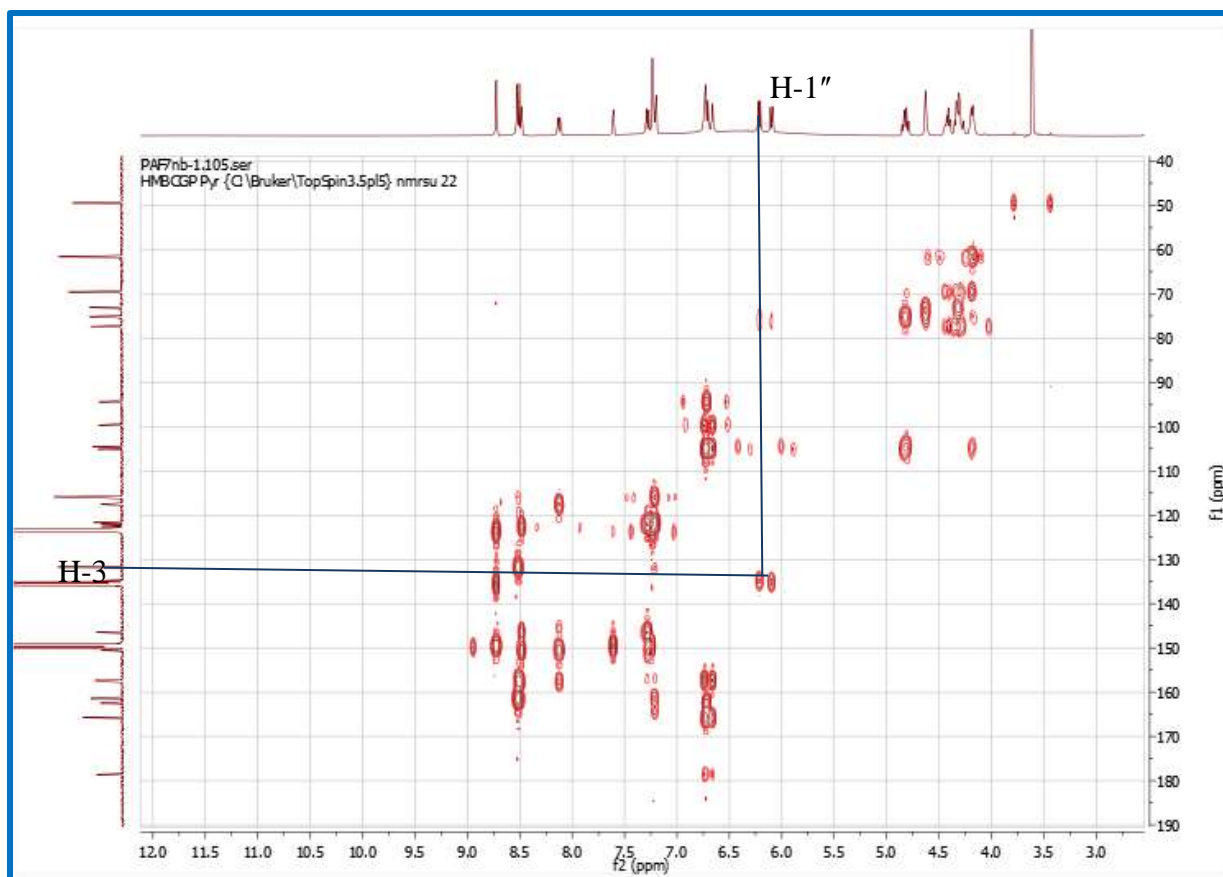
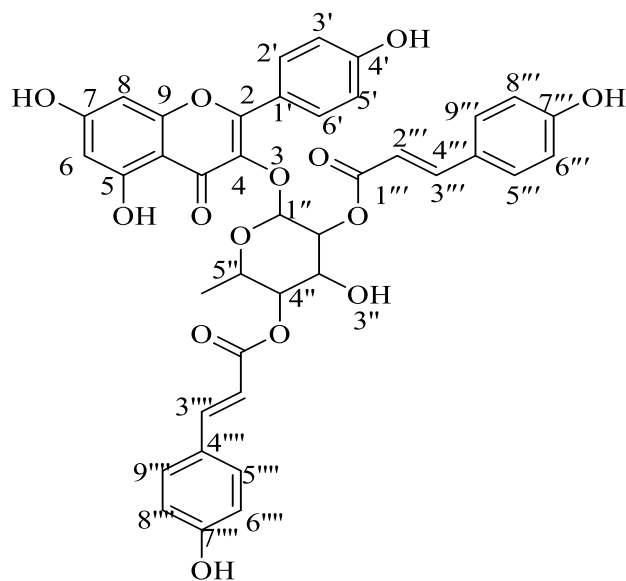


Figure 31: Spectre de HMBC de PAF7

#### II.2.1.4- Identification du composé PAF6.

Le composé **PAF6** se présente sous forme de poudre jaune dans le mélange Hex-AE (1:9). Il est soluble dans le méthanol et répond positivement au test de SHINODA caractéristique des flavonoïdes.

Son spectre de masse ESI (Figure 33) en haute résolution montre le pic de l'ion pseudo-moléculaire  $[M-H]^+$  à  $m/z$  723,1766 de formule brute  $C_{39}H_{31}O_{14}$ , renfermant vingt-quatre degrés d'insaturations. L'ensemble de ces données combinées à celles des spectres RMN 1D et 2D nous a permis d'attribuer à PAF6 la structure **151**.



151

En effet son spectre de RMN  $^1\text{H}$  (Figure 34) montre :

➤ Deux doublets d'un système AA'BB' à  $\delta_{\text{H}}$  7,69 ( $J = 8,8$  Hz, H-2'/6') et à  $\delta_{\text{H}}$  6,93 ( $J = 8,8$  Hz, H-3'/5'), et d'un système AX à  $\delta_{\text{H}}$  6,28 (H-6) et 6,09 (H-8) ( $J = 1,6$  Hz).

Les signaux d'un fragment rhamnopyranosyl à  $\delta_{\text{H}}$  5,66 (sl, H-1''); 5,46 (sl, H-2''); 4,08 (dd,  $J = 9,7$  Hz et 3,3 Hz, H-3''), 4,86 (t, 9,7 Hz, H-4''), 3,25 (m, H-5''), 0,80 (d,  $J = 6,2$  Hz, Me-6). La faible constante de couplage du proton anomérique suggère son orientation  $\alpha$ .

➤ Des signaux de deux fragments (*E*)-*p*-coumaroyle dont deux systèmes AA'BB' [( $\delta_{\text{H}}$  7,41 (d,  $J = 8,8$  Hz, H-2'''/6''') et 6,74 (d,  $J = 8,8$  Hz, H-3'''/5''') et (7,38 (d,  $J = 8,8$  Hz, H-2'''/6''') et 6,71 (d,  $J = 8,4$  Hz, H-3'''/5'''))] et quatre protons oléfinique *trans* couplés deux-à-deux [( $\delta_{\text{H}}$  7,59 (d,  $J = 15,6$  Hz, H-8''') et 6,34 (d,  $J = 15,6$  Hz, H-7''') et (7,49 (d,  $J = 16,0$  Hz, H-8''') et 6,22 (d,  $J = 16,0$  Hz, H-7'''))].

L'analyse de son spectre de RMN  $^{13}\text{C}$  (Figure 36), couplé au spectre DETP 135 (Figure 37) et HSQC montre :

➤ Quinze carbones quaternaires parmi lesquels un carbonyle de flavonol (Lawrence et al., 2003; Kapché, 2000) à  $\delta_{\text{C}}$  179,3 (C-4); deux carbonyles d'esters conjugués à  $\delta_{\text{C}}$  168,4(C-9'') et 168,7(C-9''') et douze carbones quaternaires oléfiniques dont huit oxygénés.

➤ Vingt-trois méthines dont dix-huit oléfinique et cinq oxyméthines à  $\delta_{\text{C}}$  100,1 (C-1''), 69,1 (C-2''), 74,7 (C-3''), 73,3 (C-4''), 69,8 (C-5'').

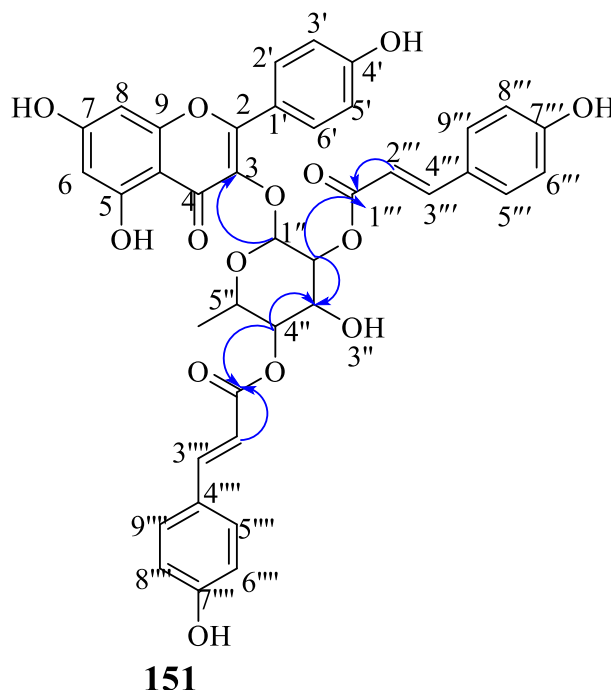
➤ un méthyle à  $\delta_C$  17,8 (C-6'')

Toutes ces données spectrales montrent que PAF6 est un flavonoïde de type kaempférol (Yang et al., 2010). Comportant un fragment rhamnopyranosyle et deux groupements coumaroyles.

Les données RMN  $^1\text{H}$  et RMN  $^{13}\text{C}$  de PAF6 montre des similitudes avec celles de PAF8 notamment le groupement flavonoïdique de type kaempférol. Les différences étant la nature du sucre dans les deux composés (Rhamnose dans PaF6 et Glucose dans PAF8) et la présence de deux groupements (*E*)-*p*-coumaroyles dans PAF6. Le rattachement des groupements coumaroyles au rhamnopyranosyl a été effectué grâce aux corrélations observées sur le spectre HMBC.

En effet sur le spectre HMBC de PAF6 (Figure 41), on observe les corrélations entre : Le proton H-2'' et les carbones C-1''' et C-4'' d'une part et d'autre part entre le proton H-4'' et C-1'''. Ces données indiquent clairement que les groupements hydroxyles du rhamnose en 2'' et 4'' ont été estérifiés par l'acide (*E*)-*p*-coumarique.

Sur ce même spectre, on observe une corrélation entre le proton anomérique H-1'' et le carbone C-3 ( $\delta_C$  134,1) ce qui a permis de relier le sucre à l'aglycone en C-3.



**Figure 32:** Quelques corrélations observées sur le spectre HMBC de PAF6.

L'ensemble de ces données, comparées à celles de la littérature, nous a permis d'attribuer à PAF6 la structure **151**, qui est celle du 3-*O*- $\alpha$ -L-(2''*E*,4''*E*-di-*p*-coumaroyl)rhamnopyranoside de kaempférol reporté dans la littérature par Yang en 2010.

**Tableau 11: Données de RMN  $^1\text{H}$  (400 MHz) et  $^{13}\text{C}$  (100 MHz) dans  $\text{CD}_3\text{OD}$  de PAF6 comparées à celles de 3-O- $\alpha$ -L-(2''E, 4''E-di-p-coumaroyl) rhamnopyranoside de kaempferol (RpK)  $^1\text{H}$  (500Hz) et  $^{13}\text{C}$  (125 Hz) dans  $\text{CD}_3\text{OD}$ .**

Position du carbone	RpK		PAF6	
	$\delta_{\text{C}}(\text{ppm})$	$\delta_{\text{H}}(\text{ppm})$	$\delta_{\text{C}}(\text{ppm})$	$\delta_{\text{H}}(\text{ppm})$
1	-	-	-	-
2	159,8	-	159,5	-
3	134,5	-	134,1	-
4	179,1	-	179,3	-
5	163,5	-	163,3	-
6	99,9	6,19 (d, $J = 1,8$ Hz)	99,3	6,22 (d, $J = 1,8$ Hz)
7	166,7	-	166,0	-
8	95,1	6,35 (d, $J = 1,8$ Hz)	95,0	6,34 (d, $J = 1,8$ Hz)
9	158,8	-	158,6	-
10	105,5	-	106,0	-
1'	121,1	-	122,6	-
2'	131,9	7,75 (d, $J = 8,8$ Hz)	131,5	7,74 (d, $J = 8,8$ Hz)
3'	116,9	7,00 (d, $J = 8,8$ Hz)	116,8	7,41 (d, $J = 8,8$ Hz)
4'	161,2	-	161,8	-
5'	116,9	7,00 (d, $J = 8,8$ Hz)	116,9	7,45 (d, $J = 8,8$ Hz)
6'	131,9	7,75 (d, $J = 8,8$ Hz)	132,1	7,70 (d, $J = 8,8$ Hz)
1''	101,2	5,74 (ls)	100,1	5,66 (ls)
2''	69,7	4,40 (ls)	68,6	4,86 (ls)
3''	72,6	5,4 1 (dd, $J = 9,7$ et 3,3 Hz)	74,7	5,66 (dd, $J = 9,7$ et 3,3 Hz)
4''	71,6	5,21 (t, $J = 9,7$ Hz)	73,3	5,67 (t, $J = 9,7$ Hz)
5''	70,0	3,39 (m)	69,8	3,23 (m)
6''	17,7	0,83 (d, $J = 6,2$ Hz)	17,8	0,77 (d, $J = 6,2$ Hz)
1'''	167,9	-	168,6	-
2'''	115,5	6,21 (d, $J = 16,0$ Hz)	115,0	6,71 (d, $J = 8,8$ Hz)
3'''	146,6	7,53 (d, $J = 16,0$ Hz)	147,1	7,49 (d, $J = 8,8$ Hz)
4'''	126,9	-	127,3	-
5'''	132,2	7,53 (d, $J = 16,0$ Hz)	132,1	7,49 (d, $J = 8,8$ Hz)
6'''	116,7	6,21 (d, $J = 16,0$ Hz)	115,9	6,71 (d, $J = 8,8$ Hz)
7'''	160,0	6,45 (d, $J = 16,0$ Hz)	161,4	6,34 (d, $J = 15,6$ Hz)
8'''	116,0	7,61 (d, $J = 16,0$ Hz)	116,8	7,59 (d, $J = 15,6$ Hz)
9'''	132,2	-	135,1	-
1''''	167,0	-	168,6	-
2''''	115,6	6,31 (d, $J = 16,0$ Hz)	115,0	6,70 (d, $J = 8,8$ Hz)
3''''	146,9	7,64 (d, $J = 16,0$ Hz)	147,6	7,60 (d, $J = 8,8$ Hz)
4''''	127,1	-	127,3	-
5''''	134,0	7,64 (d, $J = 16,0$ Hz)	132,1	7,60 (d, $J = 8,8$ Hz)
6''''	116,0	6,31 (d, $J = 16,0$ Hz)	116,8	6,70 (d, $J = 8,8$ Hz)
7''''	160,9	6,32 (d, $J = 16,0$ Hz)	161,4	6,22 (d, $J = 16,0$ Hz)
8''''	116,0	7,61 (d, $J = 16,0$ Hz)	116,8	7,49 (d, $J = 16,0$ Hz)
9''''	134,0	-	134,7	-

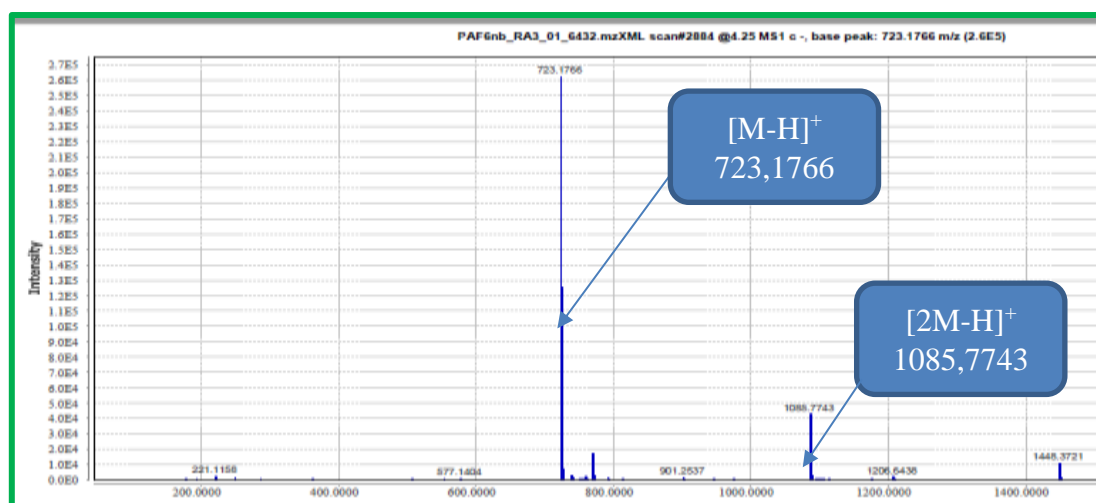


Figure 33: Spectre ESI de PAF6

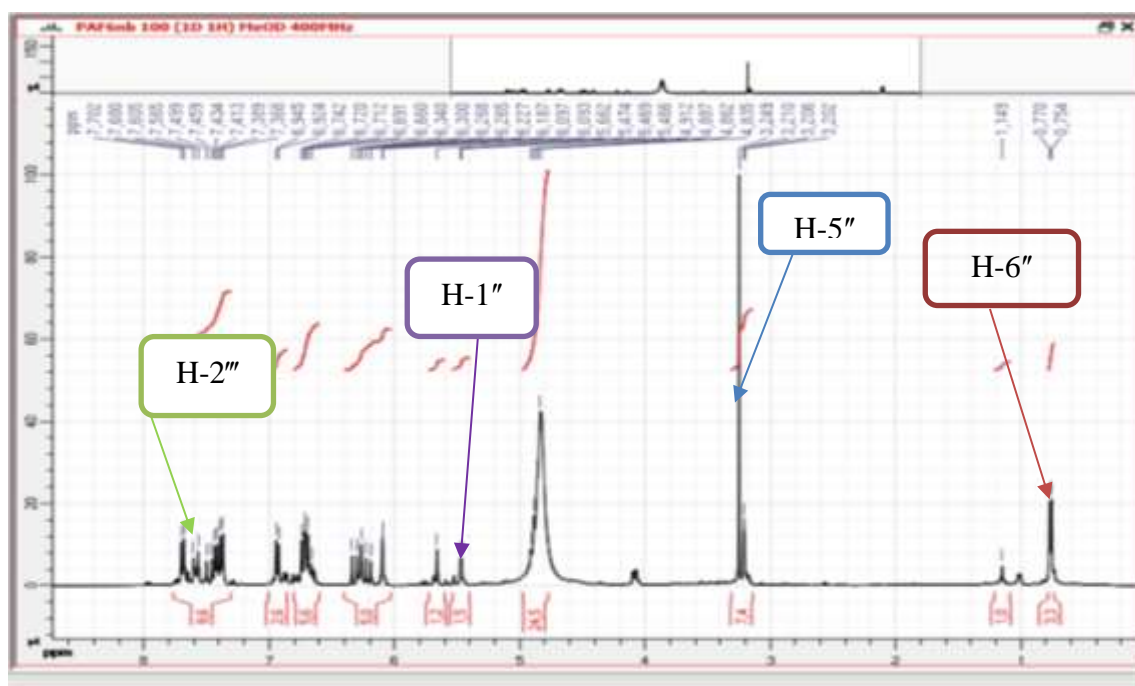


Figure 34: Spectre de RMN <sup>1</sup>H (CD<sub>3</sub>OD, 400 Hz) de PAF6

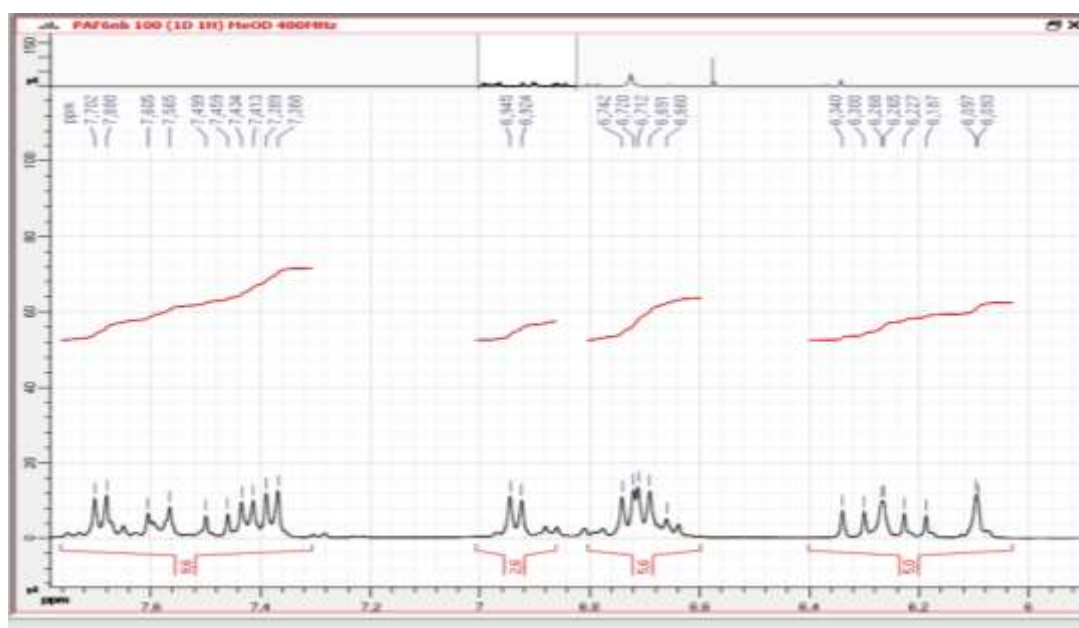


Figure 35 : Spectre de RMN  $^1\text{H}$  élargi (6-8 ppm) ( $\text{CD}_3\text{OD}$ , 400 Hz) de PAF6

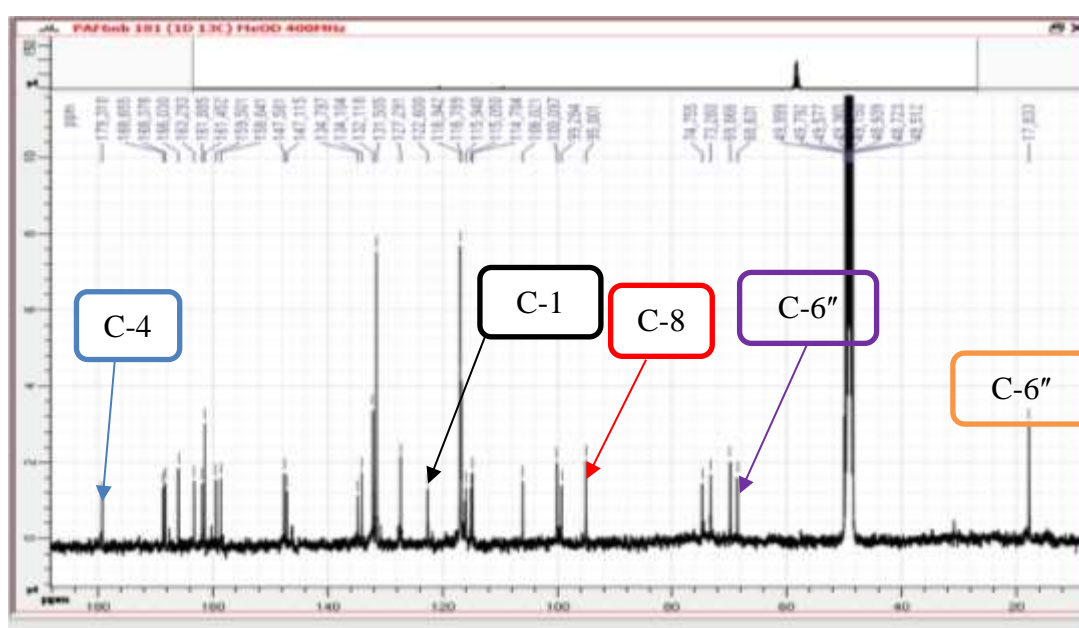


Figure 36: Spectre de RMN  $^{13}\text{C}$  ( $\text{CD}_3\text{OD}$ , 100 MHz) de PAF6

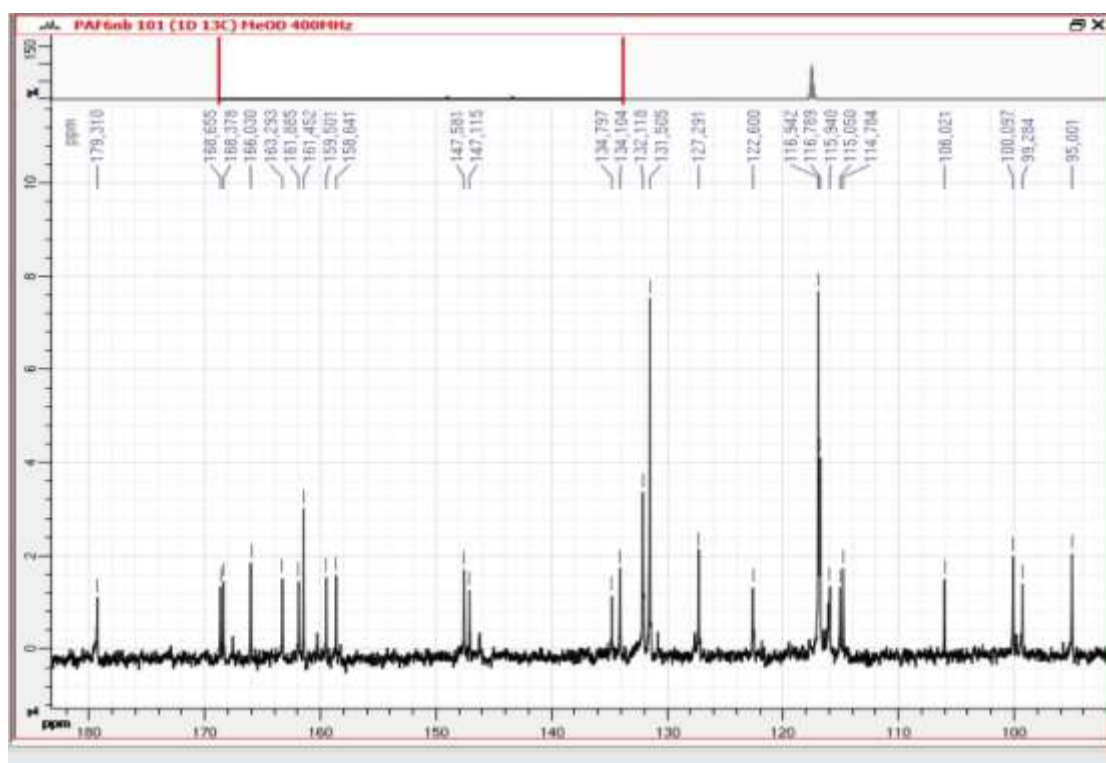


Figure 37: Spectre de RMN  $^{13}\text{C}$  élargi (100-180 ppm) C ( $\text{CD}_3\text{OD}$ , 100 MHz) de PAF6

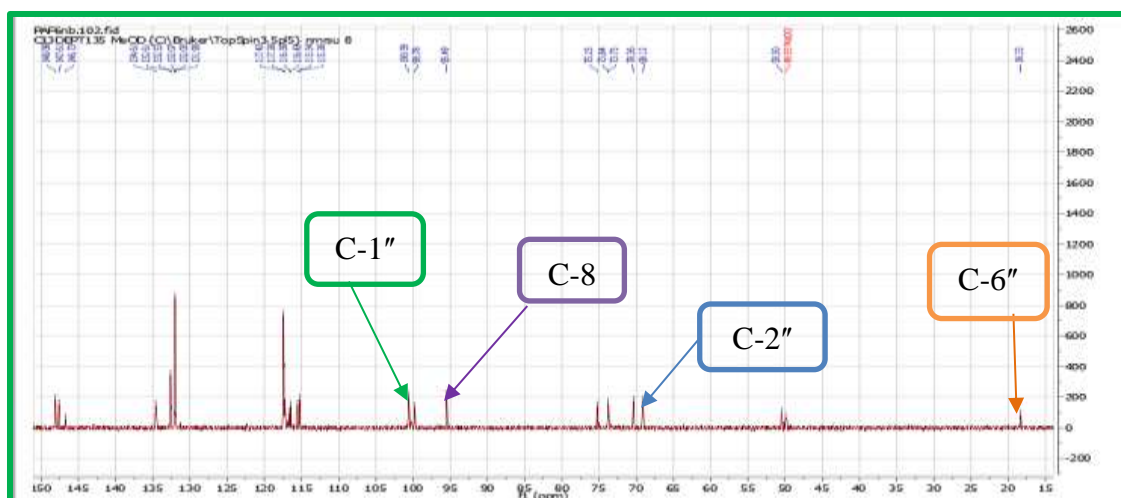


Figure 38: Spectre DEPT 135 ( $\text{CD}_3\text{OD}$ , 100 MHz) de PAF6

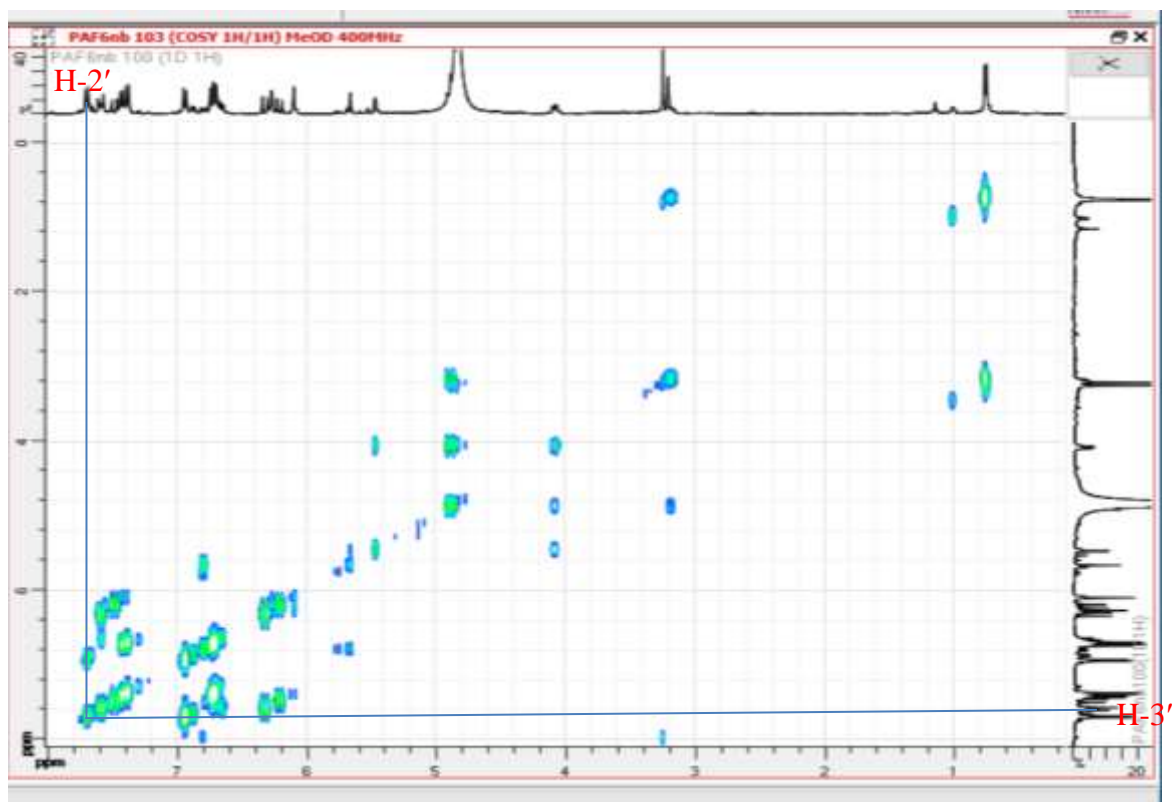


Figure 39: Spectre COSY de PAF6

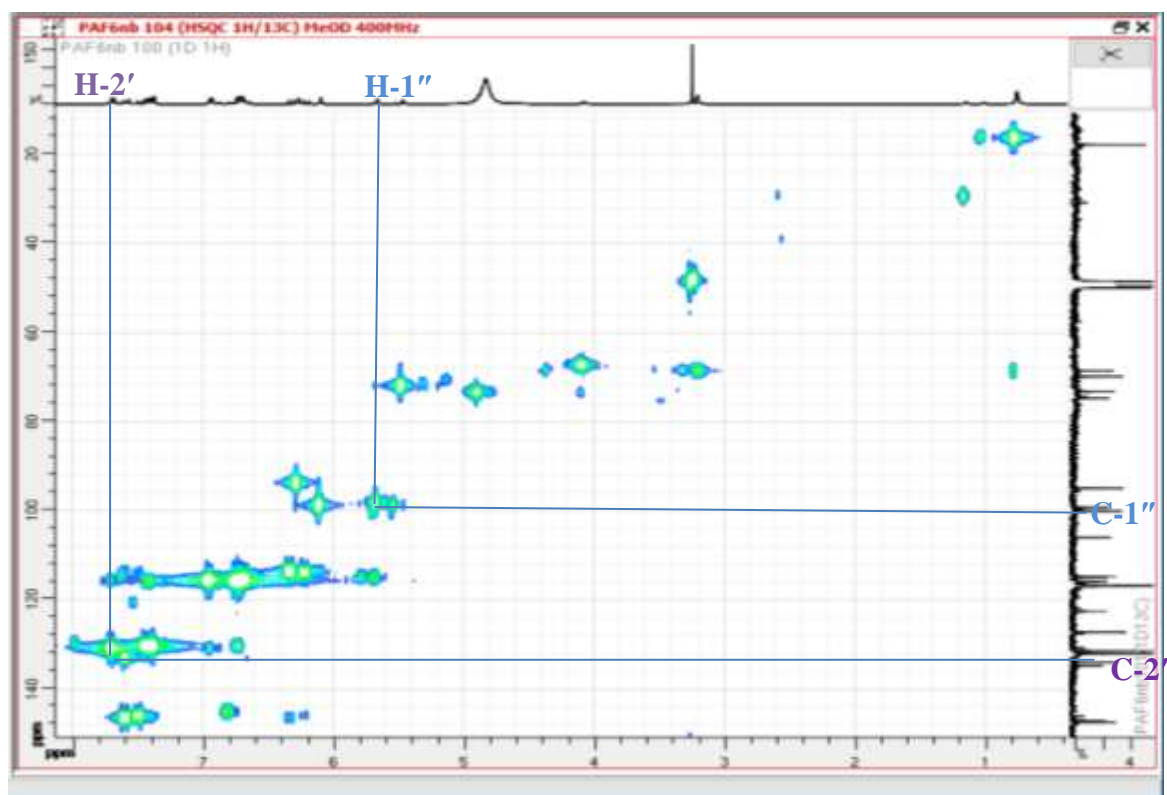


Figure 40 : Spectre HSQC de PAF6



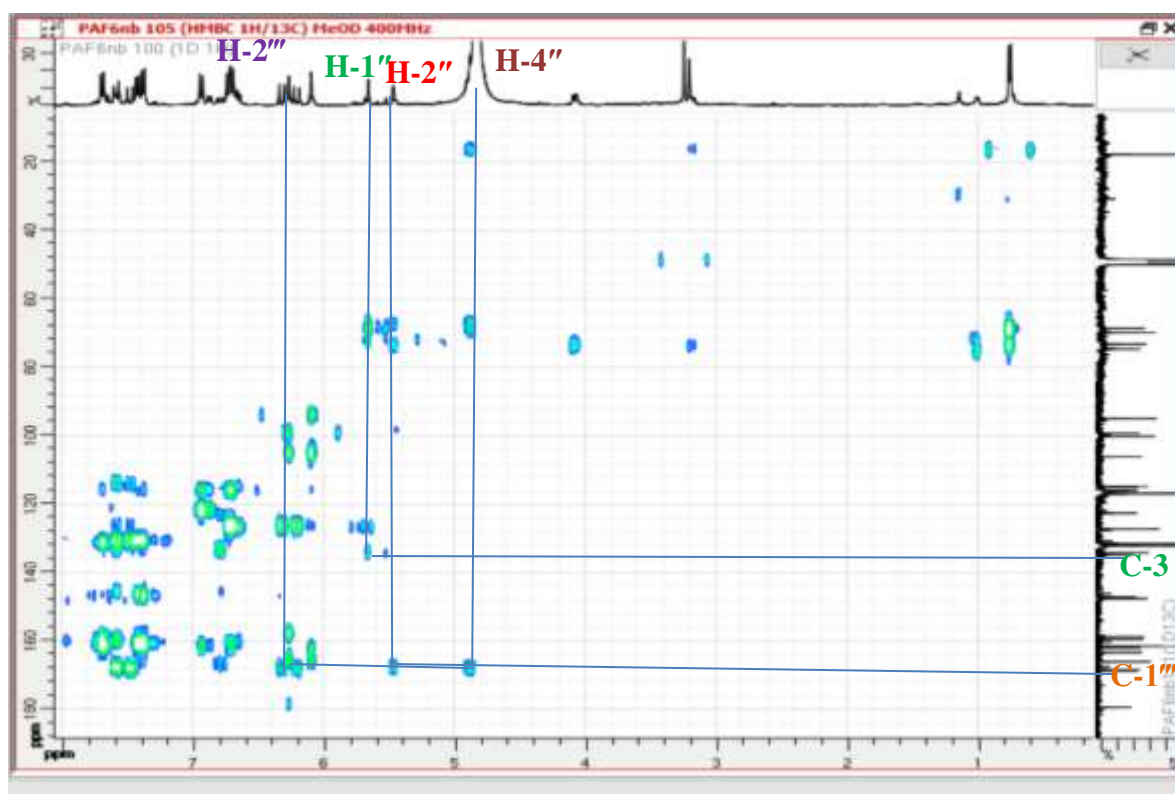


Figure 41: Spectre HMBC de PAF6

## II.3.2- Les stéroïdes

### II.3.2.1- Identification de BLR7

Le composé BLR7 se présente sous forme de palettes blanches dans le mélange Hex/AE (9 : 1) et est soluble dans le chloroforme. Il répond positivement au test de Libermann-Burchard, caractéristique des stéroïdes.

BLR7 a été identifié au  $\beta$ -sitostérol (**152**) grâce à ses données de RMN. En effet, sur son spectre de RMN  $^1\text{H}$  (Figure 42), on observe deux signaux d'un proton chacun à  $\delta_{\text{H}}$  5,32 (m) et 3,50 (m) attribuables à des protons oléfiniques H-6 et oxyméthine H-3 de phytostérols, respectivement. Ceci est confirmé sur le spectre de RMN  $^{13}\text{C}$  (Figure 43) par des signaux de carbones éthyléniques à  $\delta_{\text{C}}$  140,7 (C-5) et 121,7 (C-6) ainsi que le signal des carbones des oxyméthines (C-3) à  $\delta_{\text{C}}$  71,8 (Pateh et *al.*, 2009).

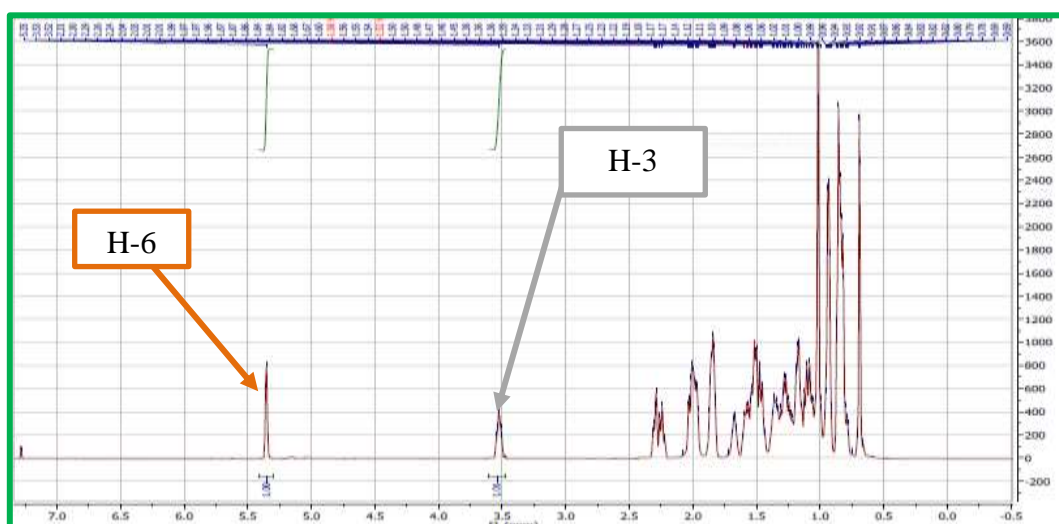
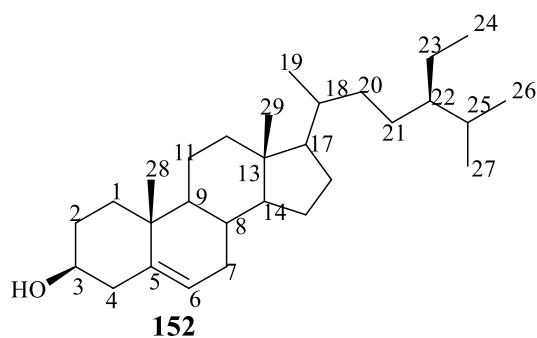


Figure 42 : Spectre de RMN  $^1\text{H}$  ( $\text{CDCl}_3$ , 400 MHz) de BLR7

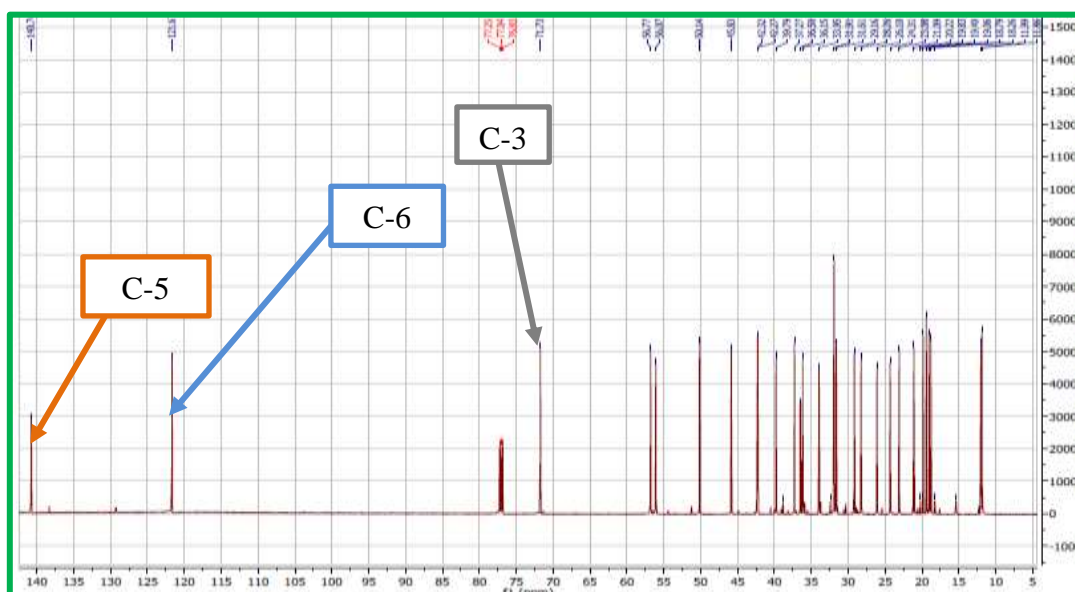


Figure 43: Spectre de RMN  $^{13}\text{C}$  ( $\text{CDCl}_3$ , 100 MHz) de BLR7

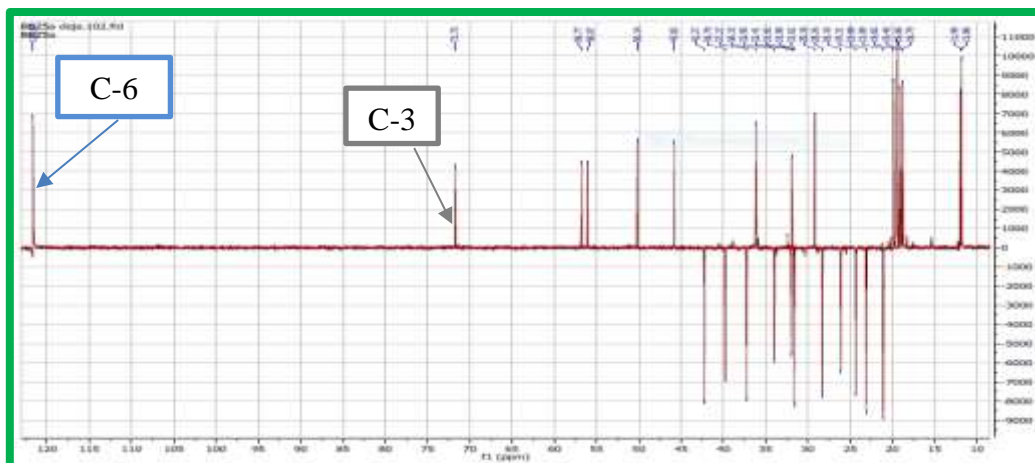
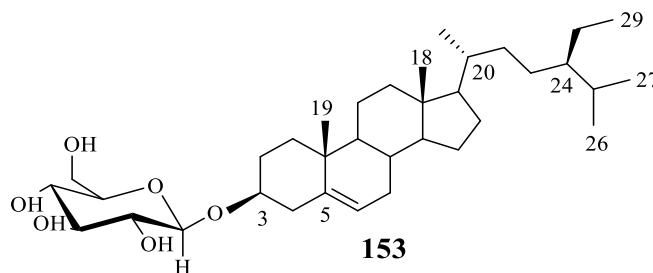


Figure 44: Spectre DEPT 135 de BLR7

### II.2.2.2- Identification de BLR8

Le composé BLR8 se présente sous forme de poudre beige dans le mélange Hex- AE (1 :19). Soluble dans la pyridine, il réagit positivement aux tests de Molish et de Liebermann-Burchard, indiquant sa nature à la fois glycosidique et stéroïdique. Son spectre de masse ESI-HR montre le pic de l'ion  $[M+H]^+$  à  $m/z$  576,8473.

Son spectre de RMN  $^1H$  (Figure 45), comparé à celui de BLR7 montre en plus des signaux caractéristiques du  $\beta$ -sitostérol un ensemble de signaux entre  $\delta_H$  3,90 et 5,03 caractéristiques d'un sucre (glucose) dont le proton anomérique résonne à  $\delta_H$  5,01 (d,  $J = 7,8$  Hz). La valeur de la constante de couplage montre que la jonction du sucre à l'aglycone est  $\beta$ . Ceci est confirmé sur le son spectre de RMN  $^{13}C$  (Figure 46) par la présence des carbones du groupement glucopyranoside à  $\delta_C$  entre 64,7-110,07. L'ensemble de ces données nous a permis d'identifier BLR8 au 3-*O*- $\beta$ -D-glucopyranoside de  $\beta$ -sitostérol (**153**) (Ngouela, 1990).



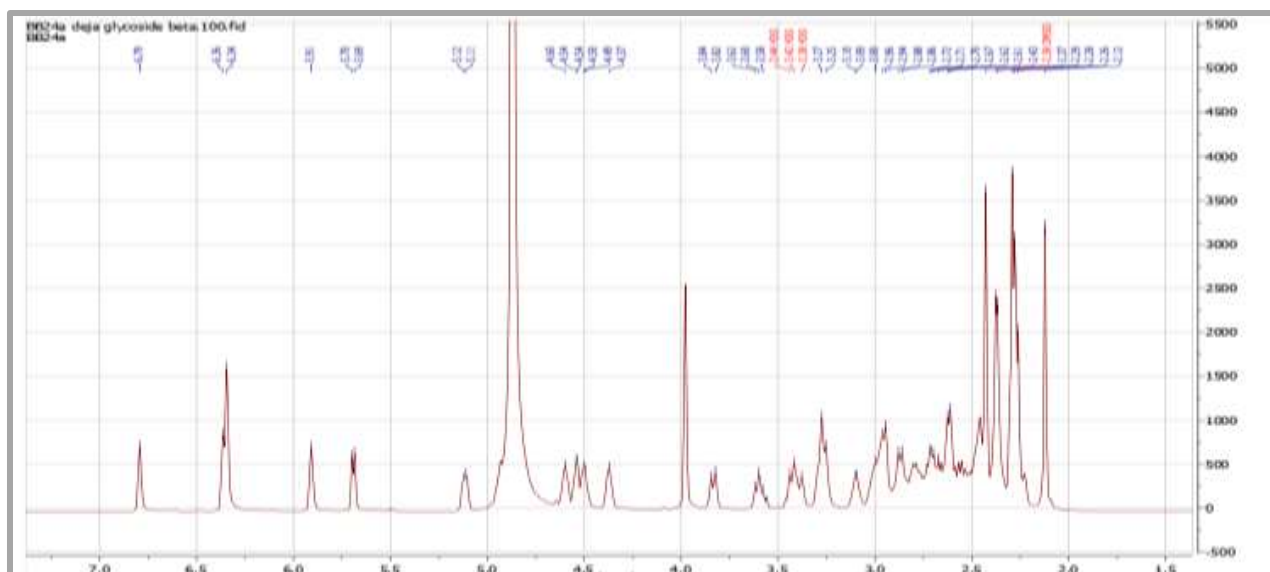


Figure 45 : Spectre de RMN  $^1\text{H}$  ( $\text{CDCl}_3$ , 400 MHz) de BLR8

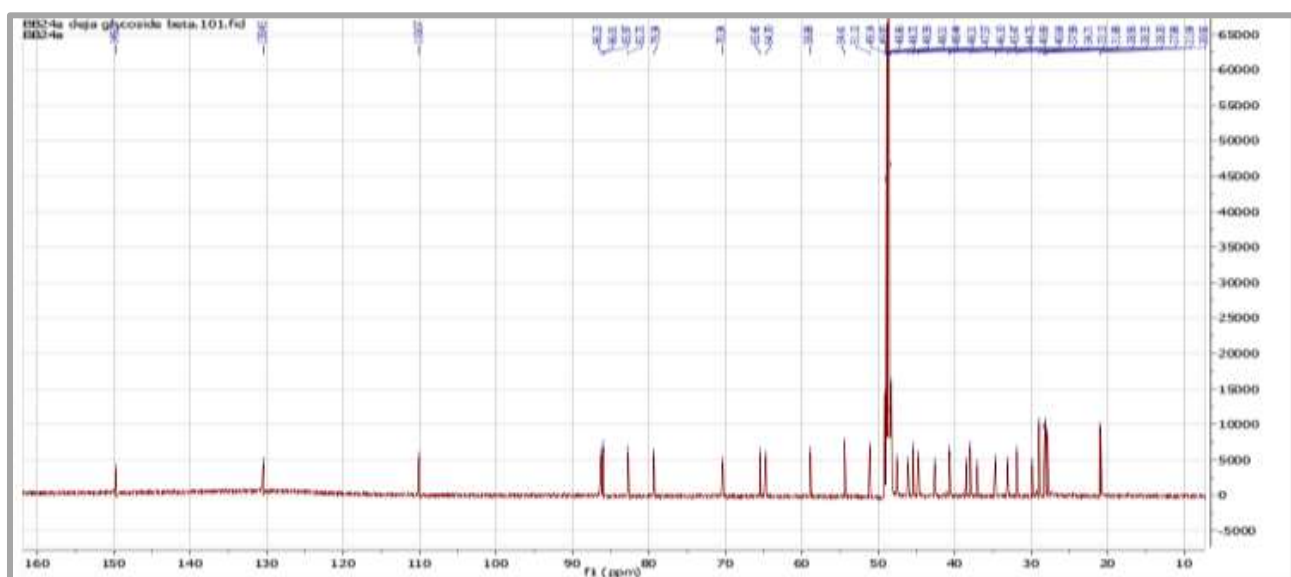
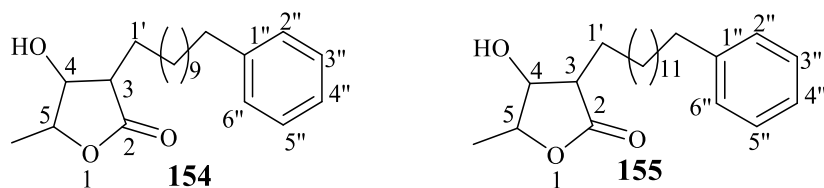


Figure 46 : Spectre de RMN  $^{13}\text{C}$  ( $\text{CDCl}_3$ , 400 MHz) de BLR8

### II.3.3- Les lactones

#### II.3.3.1 Identification des constituants de BOET3

Le composé BOET3 a été obtenu sous forme d'huile dans un mélange Hex- AE (7 :3). Son spectre HRESIMS présente les pics des ions pseudomoléculaires  $[\text{M}+\text{H}]^+$  à  $m/z$  347,2597 et 375,2906 (Figure 49) qui correspondent aux formules moléculaires  $\text{C}_{22}\text{H}_{35}\text{O}_3$  et  $\text{C}_{24}\text{H}_{39}\text{O}_3$ , respectivement, renfermant 5 insaturations chacune. L'ensemble de ces données combinées à celles des données RMN 1D et 2D nous a permis d'identifier les composés BOET3 au mélange de BOET3a (154) et BOET3b (155).



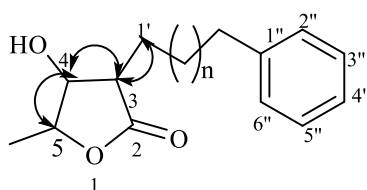
En effet, son spectre de RMN  $^{13}\text{C}$  (Figure 53) montre :

- Des signaux de deux groupements phényles à  $\delta_{\text{C}}$  125,5 (C-4''), 128,2 (C-3''/5''), 128,4 (C-2''/6'') et 142,9 (C-1'').
- Des signaux de carbone de groupement 4-hydroxy-5-méthylidihydrofuran-2-one à  $\delta_{\text{C}}$  71,3 (C-4), 78,7 (C-5),  $\delta_{\text{C}}$  47,6 (C-3) et 177,5(C-2).
- Des signaux de méthylènes d'une chaîne alkyle entre  $\delta_{\text{C}}$  27,6 - 36,0 [dont un groupement méthylène en  $\alpha$  du phényle à  $\delta_{\text{C}}$  36,0 et l'autre en  $\alpha$  du groupement furane à  $\delta_{\text{C}}$  23,4
- Un doublet d'un méthyle à  $\delta_{\text{C}}$  13,7.

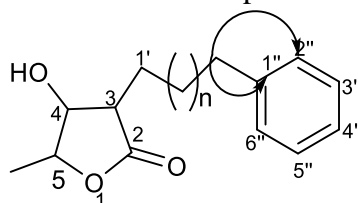
La présence du groupement phényle monosubstitué a été illustrée sur le spectre de RMN  $^1\text{H}$  (Figure 50) par les signaux des protons entre  $\delta_{\text{H}}$  7,14-7,29 (5H, m).

Sur ce même spectre de RMN  $^1\text{H}$ , on observe également des signaux de protons d'une chaîne alkyle entre  $\delta_{\text{H}}$  1,26-2,60 [dont un groupement méthylène en  $\alpha$  du phényle à  $\delta_{\text{C}}$  2,60 et l'autre en  $\alpha$  du groupement furane à  $\delta_{\text{C}}$  1,83 (Monica et al., 1998)], de deux oxyméthines à  $\delta_{\text{H}}$  4,32 (1H, dt,  $J = 7,8$  et  $4,8$  Hz, H-4) et 4,5 (1H, dq,  $J = 6,5$  et  $3,5$  Hz, H-5), un méthine à  $\delta_{\text{H}}$  2,57 (m, H-3) et un méthyle à  $\delta_{\text{H}}$  1,44 (d,  $J = 6,3$  Hz, Me-5).

En effet la jonction entre la chaîne alkyle et le groupement furan-2-one a été déduite des couplages observés sur le spectre COSY (Figure 54) entre les protons H-3/H-1', H-5/H-4 et H-4/H-3 d'une part et d'autre part des corrélations observées sur le spectre HMBC (Figure 56). En effet sur ce spectre, on observe des corrélations entre les protons du groupement méthylène de la chaîne alkyle H-1' et les carbones C-3, C-4. En plus, les protons du groupement méthylène benzylique donne des taches de corrélations avec les carbones C1'' et C2'' du noyau aromatique monosubstitué.



**Figure 47:** Quelques corrélations observées sur le spectre COSY de BOET3.



**Figure 48:** Quelques corrélations observées sur le spectre HMBC de BOET3.

Les données de masses combinées à celles de la littérature nous a permis de déduire que BOET3 est un mélange de deux lactones. La différence de 28 uma entre ces deux valeurs montre que les deux composés du mélange ne diffèrent que de deux groupes méthylènes. Les longueurs de chaînes ont été déduire à 11 et 13 des valeurs de masses observées sur le spectre.

L'ensemble de ces données comparées à celles de la littérature nous a permis d'identifier les composés BOET3a (**154**) au 3-hydroxy-4-méthyl-2-(13'-phényl-1'-*n*-tridecyl) -butanolide et BOET3b (**155**) au 3-hydroxy-4-méthyl-2-(11'-phényl- 1'-*n*-undecyl)-butanolide, composés déjà isolés par Monica et *al.* en 1998 des fruits de *Trichilia claussenii*.

**Tableau 12:** Données spectrales de RMN  $^{13}\text{C}$  (100 MHz) de BOET3a/b dans  $\text{CDCl}_3$ , comparées à celles de 3-hydroxy-4-méthyl-2-(13'-phényl-1'-*n*-tridecyl)-butanolide (HMPTB) et hydroxy-4-méthyl-2-(11'-phényl- 1'-*n*-undecyl) -butanolide (HMPUB)  $^{13}\text{C}$  (100 MHz) dans  $\text{CDCl}_3$ .

Position du carbone	BOET3a	HMPTB	BOET3b	HMPUB
1	-	-	-	-
2	177,5	177,2	177,5	173,3
3	47,6	43,7	47,6	47,6
4	71,3	74,0	71,3	71,3
5	78,7	82,4	78,7	78,6
Me-5	13,7	18,1	13,7	13,7
1'	27,6	23,4	27,6	23,4
2'	29,3	27,7	29,3	27,6
3'	29,3	28,4	29,3	29,4
4'	29,4	29,3	29,4	29,4
5'	29,4	29,3	29,4	29,5
6'	29,5	29,4	29,5	29,5
7'	29,5	29,4	29,5	29,6

8'	29,6	29,5	29,6	29,6
9'	29,6	29,5	29,6	29,7
10'	31,5	31,5	29,6	29,7
11'	36,0	36,0	29,6	29,7
12'			31,5	31,5
13'			36,0	36,0
1''	142,9	142,9	142,9	143,0
2''	128,4	128,4	128,4	128,2
3''	128,2	128,2	128,2	128,5
4''	125,5	125,5	125,5	125,9
5''	128,2	128,2	128,2	128,5
6''	128,4	128,4	128,4	128,2

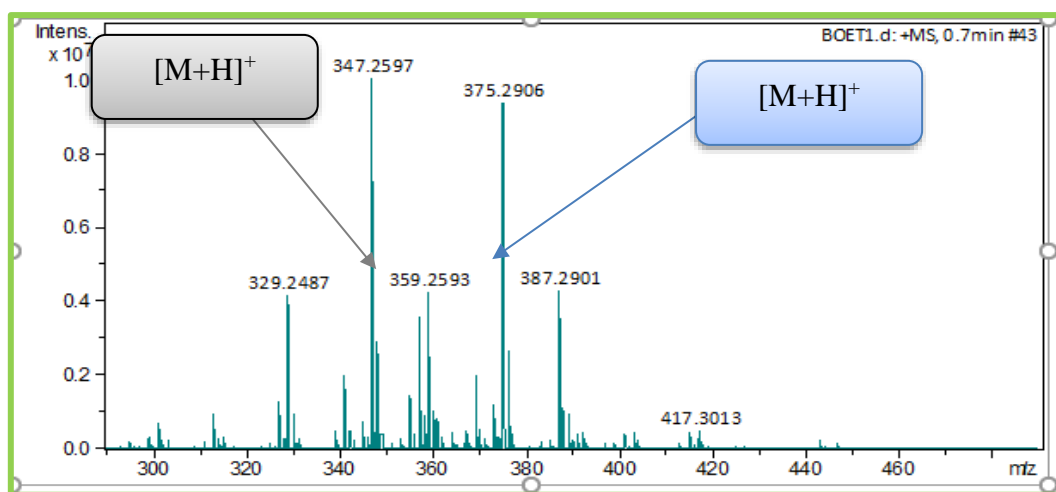


Figure 49: Spectre de masse ESI<sup>+</sup> de BOET3

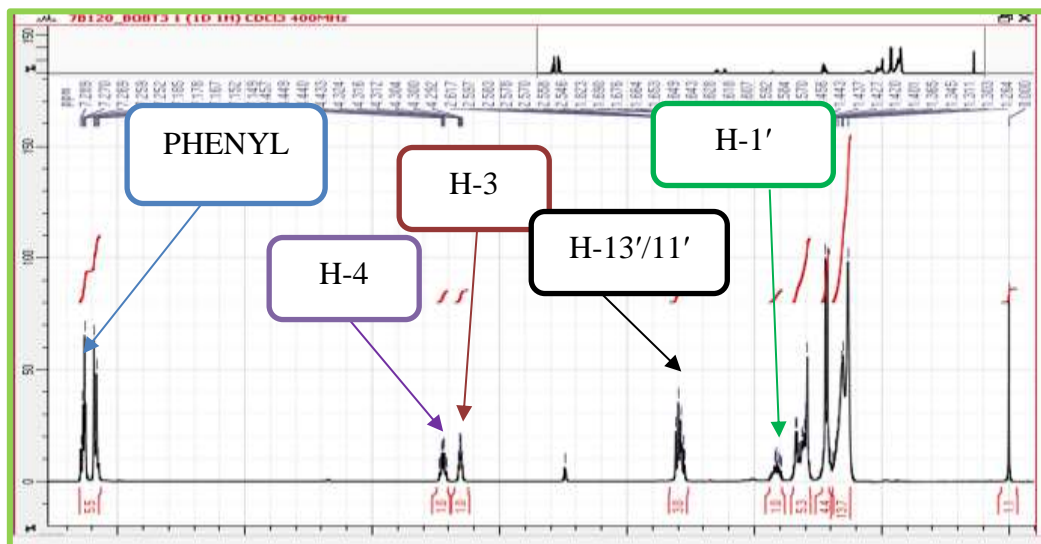


Figure 50: Spectre de RMN <sup>1</sup>H (CDCl<sub>3</sub>, 400 MHz) de BOET3

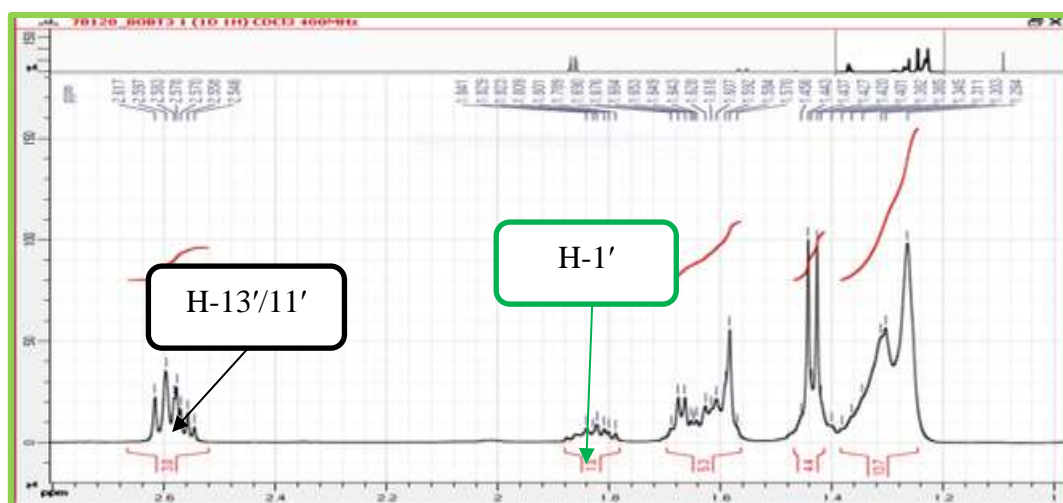


Figure 51: Spectre de RMN  $^1\text{H}$  élargi (1,2-2,6 ppm) ( $\text{CDCl}_3$ , 400 MHz) de BOET3

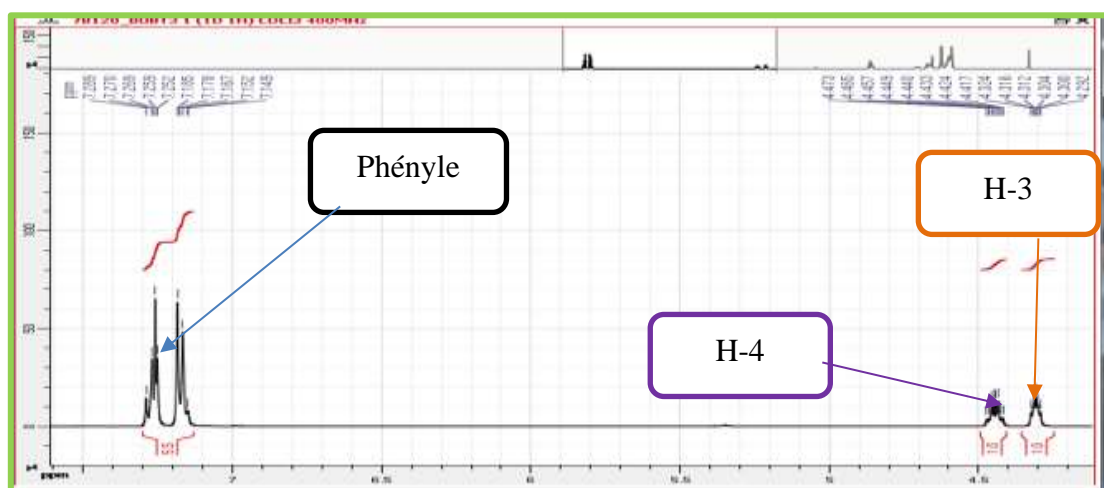


Figure 52: Spectre de RMN  $^1\text{H}$  élargi (4,2-7,5 ppm) ( $\text{CDCl}_3$ , 400 MHz) de BOET3

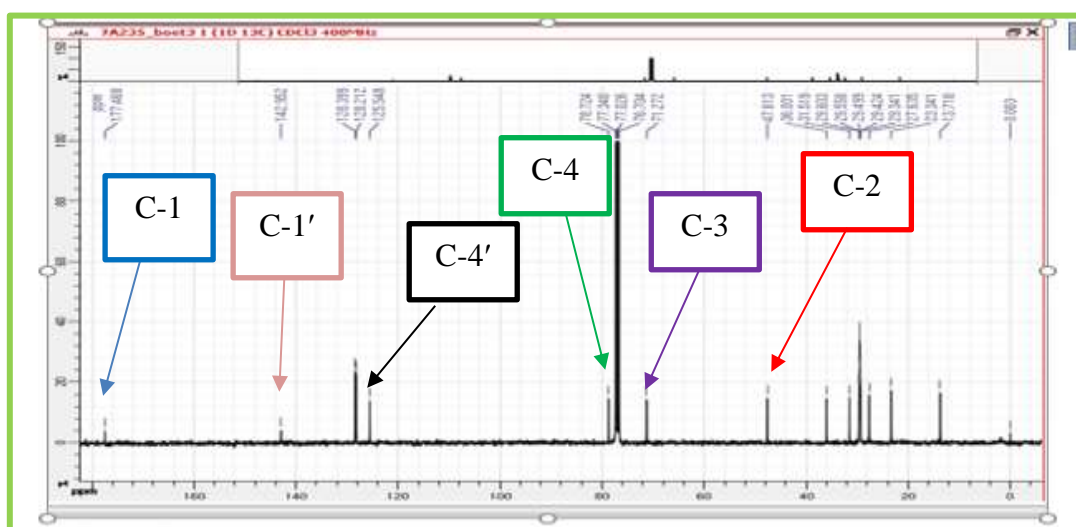


Figure 53: Spectre de RMN  $^{13}\text{C}$  ( $\text{CDCl}_3$ , 100 MHz) de BOET3





Figure 54: Spectre COSY de BOET3

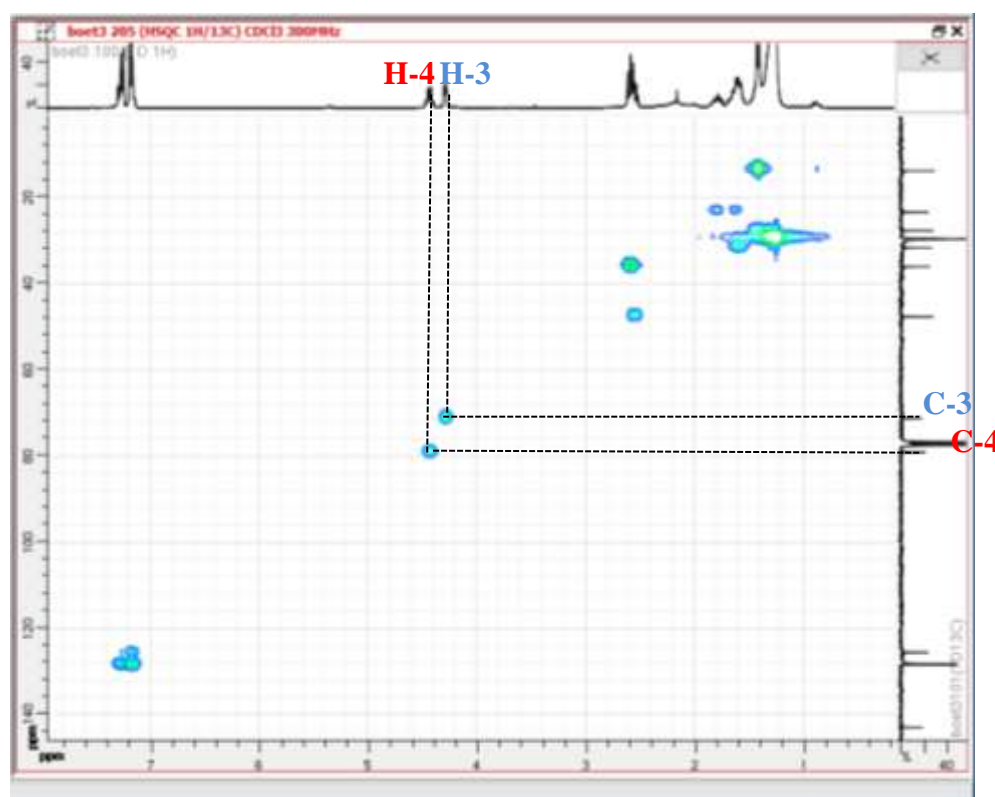


Figure 55: Spectre HSQC de BOET3

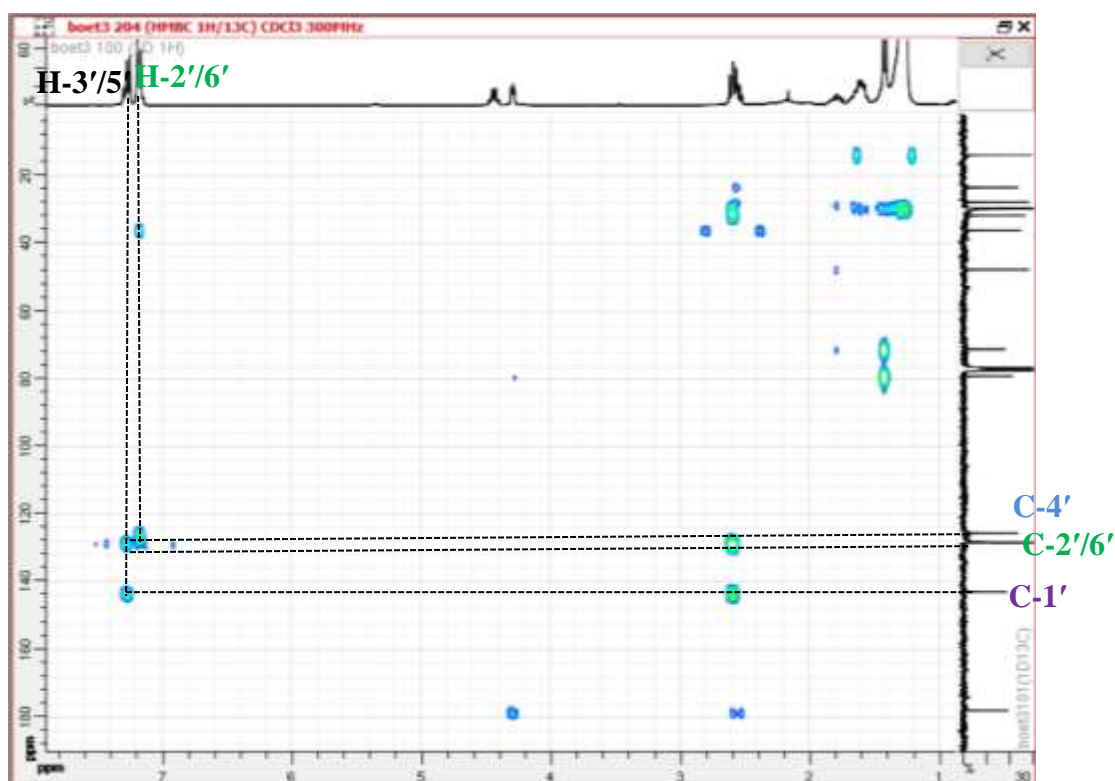
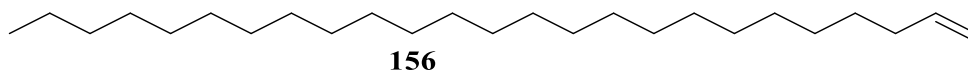


Figure 56 : Spectre HMBC de BOET3

### II.3.4- Détermination de la structure de l'alcène BOET4

Le composé BOET4 a été obtenu sous forme d'huile dans un mélange Hex- AE (9:1). Son spectre de masse ESI<sup>+</sup> à haute résolution montre le pic de l'ion pseudo moléculaire  $[M-H]^+$  à  $m/z$  349,1892 (Figure 57). Ce qui correspond à la formule moléculaire  $C_{25}H_{49}$ , renfermant une insaturation.

L'ensemble de ces données combinées à celles des spectres RMN 1D et 2D nous a permis d'attribuer à BOET4 la structure **156**.



En effet, le spectre de RMN  $^{13}C$  (Figure 59) de BOET4 montre les signaux de carbones caractéristiques d'un composé aliphatique répartis en un méthyle terminal à  $\delta_C$  14,1 (C-25), deux carbones oléfiniques d'une double liaison terminale à  $\delta_C$  114,1 (C-2) et 139,3 (C-1) et vingt-deux carbones méthylènes entre  $\delta_C$  22,7-31,9.

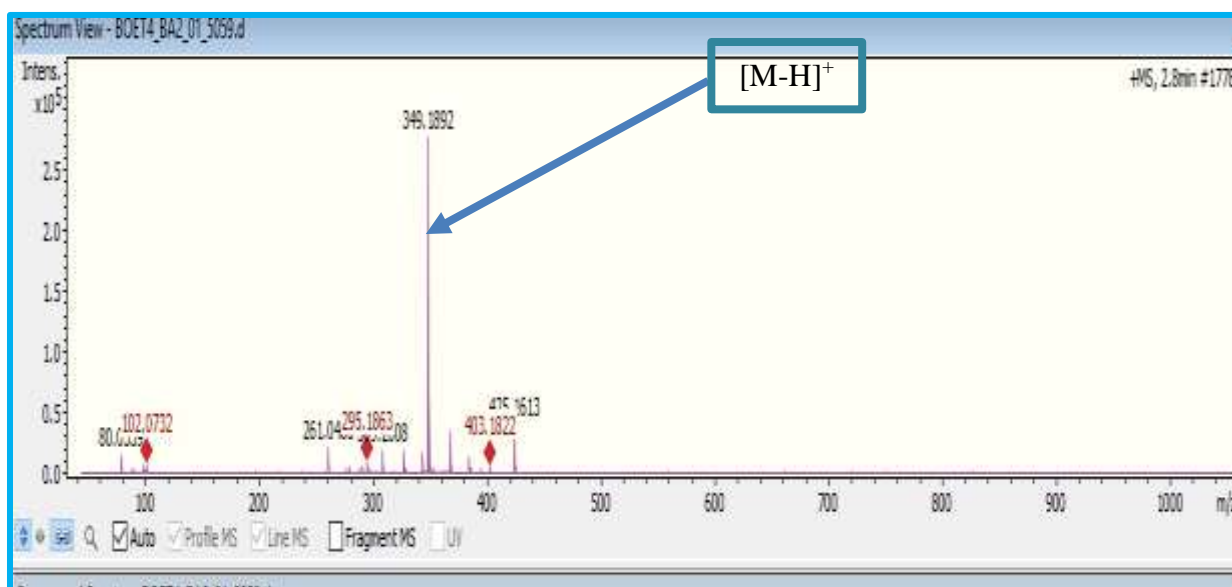
Son spectre de RMN  $^1H$  (Figure 58) montre des signaux d'un alcène aliphatique terminal à  $\delta_H$  4,96 (1H, brd,  $J = 10,2$  Hz, H-1a), 5,02 (1H, brd,  $J = 17,4$  Hz, H-1b) et 5,84 (1H, m, H-2).

Ce spectre présentait également des signaux d'un carbone à longue chaîne entre 1,29 et 2,07 ppm et d'un groupe méthyle à  $\delta_H$  0,91 (3H, t,  $J = 7,2$  Hz, H-25). Toutes ces données spectrales montrent que BOET4 est un hydrocarbure insaturé avec une double liaison en début de chaîne. La longueur de la chaîne a été déduite de son spectre de masse.

L'ensemble de ces données nous a permis d'attribuer à BOET4 la structure **156** qui est celle du pentacosan-1-ène identifié par GC-MS dans les extraits de fleurs de *Chrysanthemum coronarium* L (Wesołowska et al., 2015) et qui est isolé ici pour la première fois et ses données de RMN reportées.

**Tableau 13: Données spectrales de RMN  $^1H$  ( $CDCl_3$ , 400 MHz) et  $^{13}C$  ( $CDCl_3$ , 100 MHz) de BOET4**

Position du carbone	$\delta_C$	$\delta_H$ (m, J Hz)
1	114,1	4.94 (brd, 10,2 Hz) 5.02 (brd, 17,4 Hz)
2	139,3	5.84 (m)
3	31,9	2.07 (m)
4-23	29,4-29,7	1.29 (brs)
24	22,7	1.39 (m)
25	14,1	0.91 (t, 7,2)



**Figure 57 : Spectre de masse ESI de BOET4**

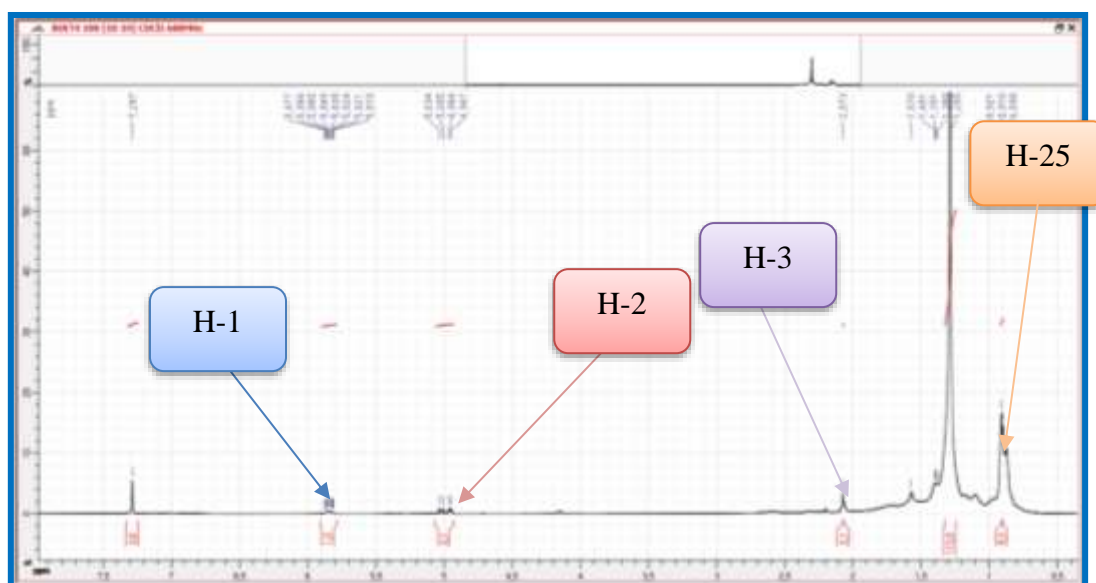


Figure 58: Spectre de RMN  $^1\text{H}$  ( $\text{CDCl}_3$ , 400 MHz) de BOET4

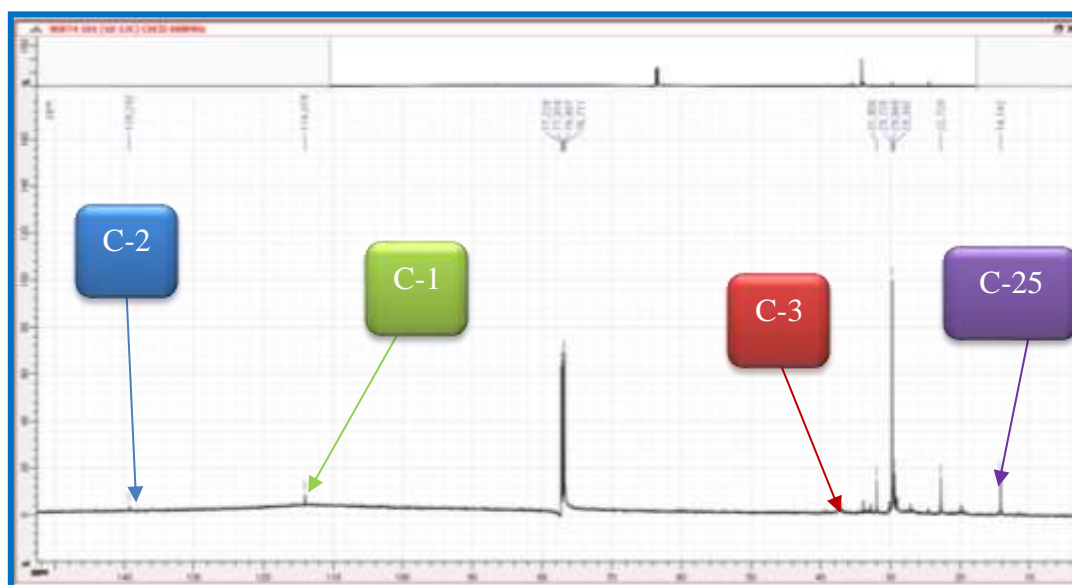
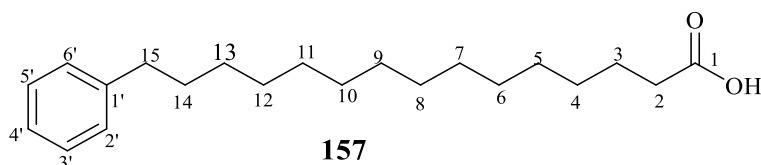


Figure 59: Spectre de RMN  $^{13}\text{C}$  ( $\text{CDCl}_3$ , 100 MHz) de BOET4

### II.3.5- Identification de l'acide gras BOET5

Le composé **BOET5** a été obtenu sous forme d'huile dans un mélange Hex- AE (17:3). Son spectre de masse ESI à haute résolution montre le pic de l'ion quasi-moléculaire  $[\text{M}-\text{H}]^+$  à  $m/z$  317,2527 (Figure 62) qui correspond à la formule moléculaire  $\text{C}_{21}\text{H}_{33}\text{O}_2$  renfermant 5 insaturations.

L'ensemble de ces données combinées à celles des données RMN 1D et 2D nous a permis d'attribuer à BOET5 la structure **157**.

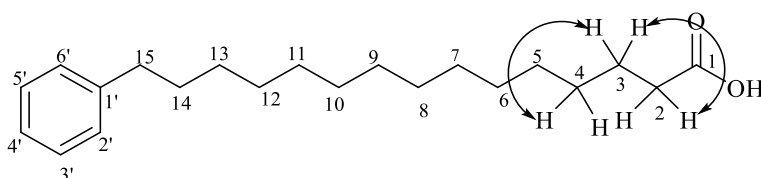


En effet, sur son spectre de RMN  $^{13}\text{C}$  (Figure 64), on observe :

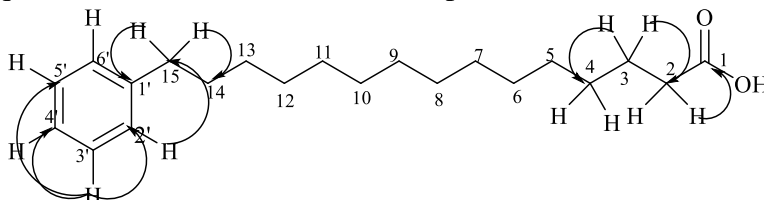
- Des signaux d'un groupement d'un noyau benzénique à  $\delta_{\text{C}}$  125,7 (C-4'), 128,4 x 2 (C-5',3'), 128,6 x 2(C-6',2') et 143,2 (C-1') ;
- Un signal de carbonyle d'acide carboxylique à  $\delta_{\text{C}}$  179,9 (C-1);
- Les signaux de quatorze carbones de groupements méthylènes entre  $\delta_{\text{C}}$  24,9 - 36,2.

La présence du groupement benzène est confirmée sur le spectre de RMN  $^1\text{H}$  (Figure 63) par les signaux de cinq protons aromatiques à  $\delta_{\text{H}}$  7,06 et 7,20. Ce même spectre présente également deux triplets de deux protons chacun à  $\delta_{\text{H}}$  2,51 ( $J = 7,6$  Hz, H-15) et 2,26 ( $J = 7,2$  Hz, H-2), un multiplet de quatre protons de deux groupements méthylènes à  $\delta_{\text{H}}$  1,53 (H-3 et H-14) et deux singulets larges à  $\delta_{\text{H}}$  1,22 et 1,17 attribuables à une chaîne de méthylènes alkyle. Le nombre de carbone a été déduit à 14 à partir de la masse moléculaire.

Les couplages observés sur le spectre COSY (figure 65) entre H-2/H-3 et H-4/H-3 et les corrélations observées sur le spectre HMBC (Figure 68) entre H-2/C-1, H-15/C-1', H-15/C-2', H-15/C-6', H-3/C-4, H-3/C-2, H-3'/C-4', H-3'/C-5' nous ont permis de positionner le phényle en C-15 de l'acide pentadécanoïque.



**Figure 60:** Quelques corrélations observées sur le spectre COSY de BOET5.



**Figure 61:** Quelques corrélations observées sur le spectre HMBC de BOET5.

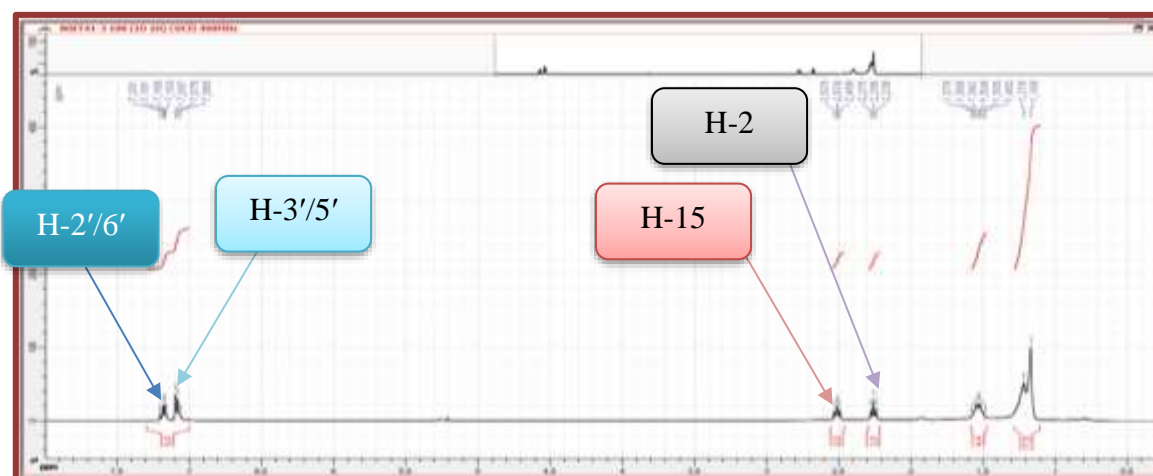
L'ensemble de ces données comparées à celles de la littérature nous a permis d'attribuer à BOET5 (**157**) la structure d'acide 15-phénylpentadécanoïque déjà isolé en mélange sur les feuilles de *Trichilia clausenii* par Monica et al., 1996

**Tableau 14: Données spectrales de RMN <sup>1</sup>H (400 MHz) et <sup>13</sup>C (100 MHz) dans CDCl<sub>3</sub> de BOET5**

Position du carbone	BOET5 δ <sub>C</sub>	BOET5 δ <sub>H</sub> (m, J in Hz)
1	179,9	-
2	34,2	2,26 (t, 7,2)
3	24,9	1,53 (m)
4	29,3-29,9	1,17 (brs) et 1,22 (brs)
14	31,7	1,53 (m)
15	36,2	2,51 (t, 7,6)
1'	143,2	-
2'	128,6	7,06-7,20 (m)
3'	128,4	
4'	125,7	
5'	128,4	
6'	128,6	



**Figure 62: Spectre de masse ESI de BOET5**



**Figure 63: Spectre de RMN <sup>1</sup>H (CDCl<sub>3</sub>, 400 MHz) de BOET5**

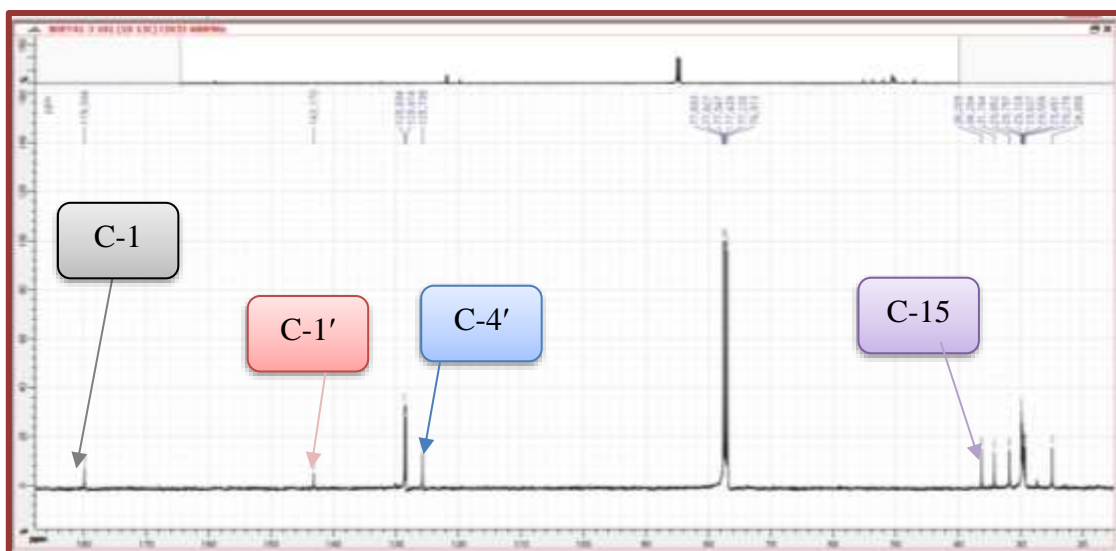


Figure 64: Spectre de RMN  $^{13}\text{C}$  ( $\text{CDCl}_3$ , 100 MHz) de BOET5



Figure 65: Spectre COSY de BOET5

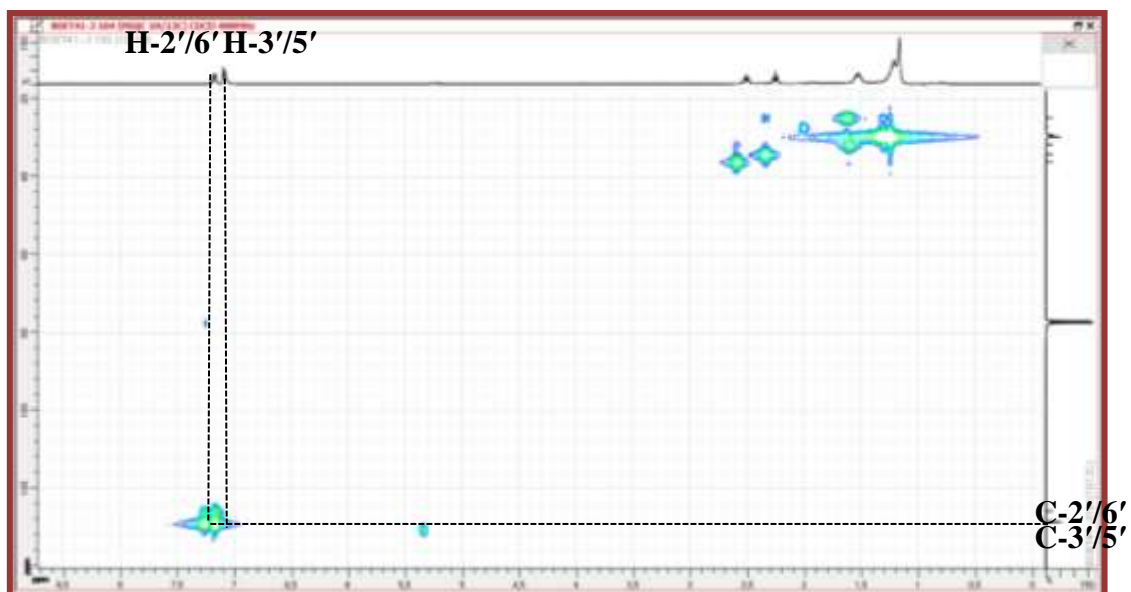


Figure 66: Spectre HSQC de BOET5

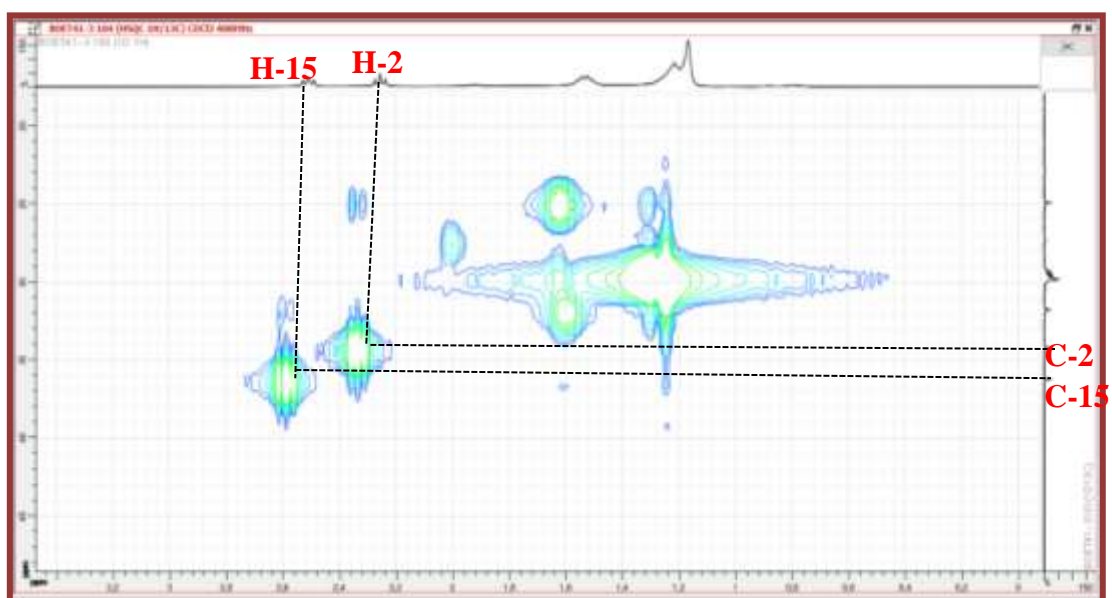


Figure 67: Spectre HSQC élargi (0,82-3,2 ppm) de BOET5



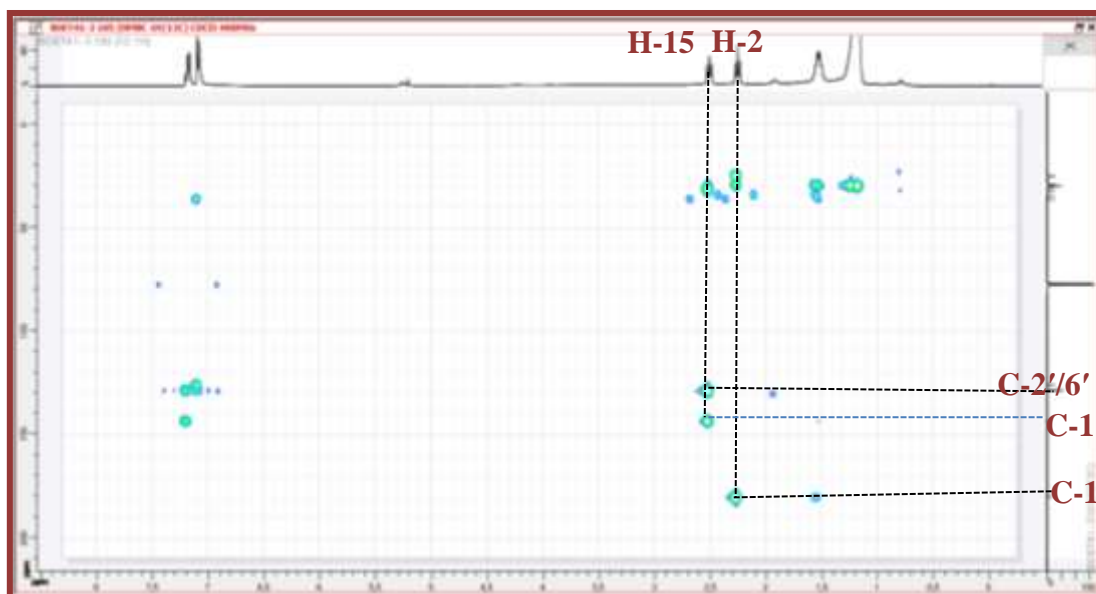
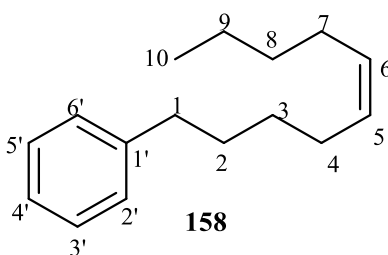


Figure 68: Spectre HMBCde BOET5

### II.3.6- Élucliation structurale du phénylalcène BOET2

Le composé BOET2 a été obtenu sous forme d'huile dans un mélange Hex-AE (7:3). Son spectre de masse ESI à haute résolution (Figure 70) montre le pic de l'adduit Sodique  $[M+Na]^+$  à  $m/z$  239,1540 de formule moléculaire  $C_{16}H_{24}Na$ , renfermant 5 insaturations.

L'ensemble de ces données combinées à celles des spectres RMN 1D et 2D nous a permis d'attribuer à BOET2 la structure **158**.



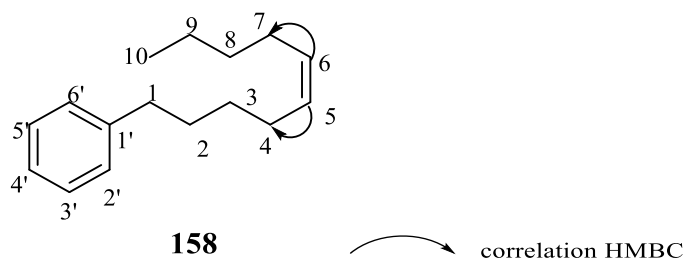
En effet, son spectre de RMN  $^{13}C$  (Figure 74 présente des signaux de 16 atomes de carbone qui ont été distingués grâce au spectre DEPT (Figure 75) et HSQC (Figure 77) en :

- Un carbone quaternaire à  $\delta_C$  142,9 (C-1'),
- Sept groupes méthines oléfiniques à  $\delta_C$  125,6 (C-4'), 128,4. (C-2' / 6'), 128,2 (C-3' / 5'), 130,1 (C-5) et 130,2 (C-6),
- Sept groupes méthylènes entre  $\delta_C$  22,6 et 36,0 et un groupe méthyle en  $\delta_C$  14,1 (C -10).

Sur son spectre de RMN  $^1H$  (Figure 72) on observe :

- Les signaux d'un groupement méthyle à  $\delta_H$  0,80 (3H, t,  $J = 6,4$  Hz, H-1) ;
- Les signaux de groupements méthylène compris entre  $\delta_H$  1,19 et 2,70 ;
- Deux signaux des protons oléfiniques à  $\delta_H$  5,28 (2H, t, H-5,6) ;
- Les signaux d'un noyau aromatique monosubstitué entre  $\delta_H$  7,10 et 7,20 ;

À partir de ces informations, on peut déduire que le composé BOET2 est un *n*-alcène portant un groupe phényle. La longueur de la chaîne et la position  $\Delta^{5,6}$  de la double liaison a été déduite de son spectre de masse ESI<sup>+</sup> qui a montré un pic intense à  $m/z$  173,0524 correspondant à la perte d'un fragment C<sub>3</sub>H<sub>7</sub> (Figure 71). La géométrie (*Z*) de la double liaison a été déduite des déplacements chimiques des carbones allyliques C-4 (27,3) et C-7 (25,7). En effet, les signaux des atomes de carbone allyliques d'une double liaison *trans* apparaissent à  $\delta \approx 32$ , tandis que ceux d'une double liaison *cis* apparaissent à  $\delta \approx 27$  (Bankeu *et al.*, 2017). Les données de ce composé sont proches de celles du benzène-5*E*-décén-1-yle obtenu précédemment par synthèse (Thomas *et al.*, 2015), mais avec une nette différence au niveau des déplacements chimiques des carbones allyliques qui apparaissaient à 35,5 et 32,1 et avait par conséquent la configuration *E* (Thomas *et al.*, 2015). Sur la base des données ci-dessus, la structure **158** a été attribuée au composé BOET2 nommé (5*Z*) 1-phényldec-5-ène, décrit ici pour la première fois et auquel nous le nom trivial obscurène a été attribué.



**Figure 69:** Quelques corrélations observées sur le spectre HMBC de BOET2.

**Tableau 15 :** Données spectrales de RMN <sup>1</sup>H (400 MHz) et <sup>13</sup>C (100 MHz) de BOET2 dans CDCl<sub>3</sub>.

Position	(5 <i>Z</i> ) 1-phényldec-5-ène	
	$\delta_C$	$\delta_H$
1	36,0	2,52 (m)
2	31,6	1,53 (m)
3	29,7	1,23 (brs)
4	27,3	1,98 (m)
5	130,1	5,29 (m)

6	130,2	5,29 (m)
7	25,7	2,69 (m)
8	29,4	1,18 (brs)
9	22,6	1,21 (brs)
10	14,1	0,80 (t, 3,6)
1'	142,9	-
2'	128,4	7,09-7,20 (m)
3'	128,2	7,09-7,20 (m)
4'	125,6	7,09-7,20 (m)
5'	128,2	7,09-7,20 (m)
6'	128,4	7,09-7,20 (m)

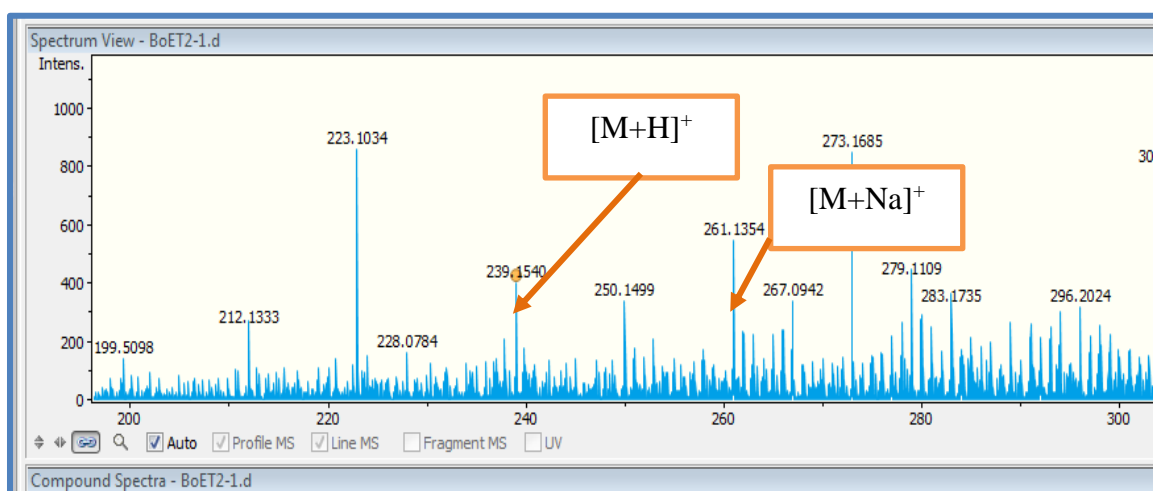


Figure 70 : Spectre de masse ESI de BOET2

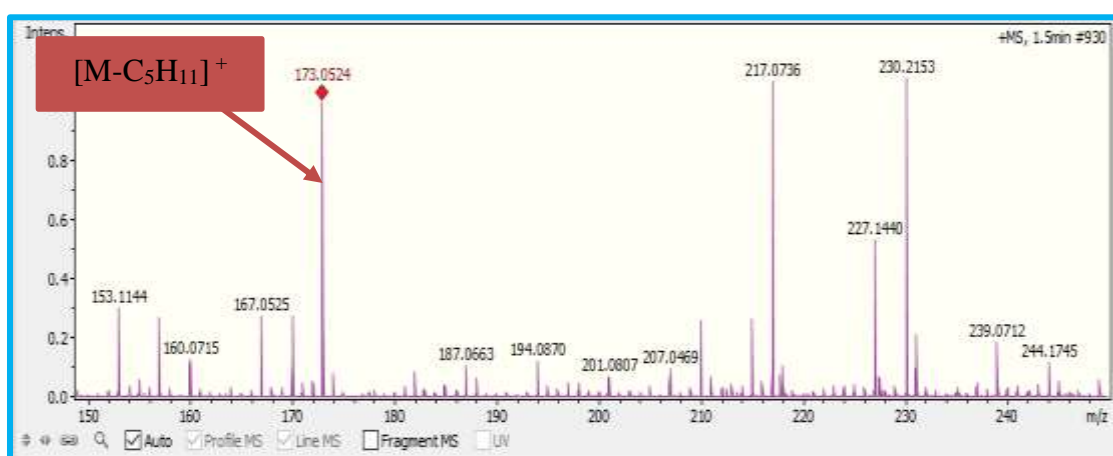


Figure 71 : Spectre de masse ESI de BOET2

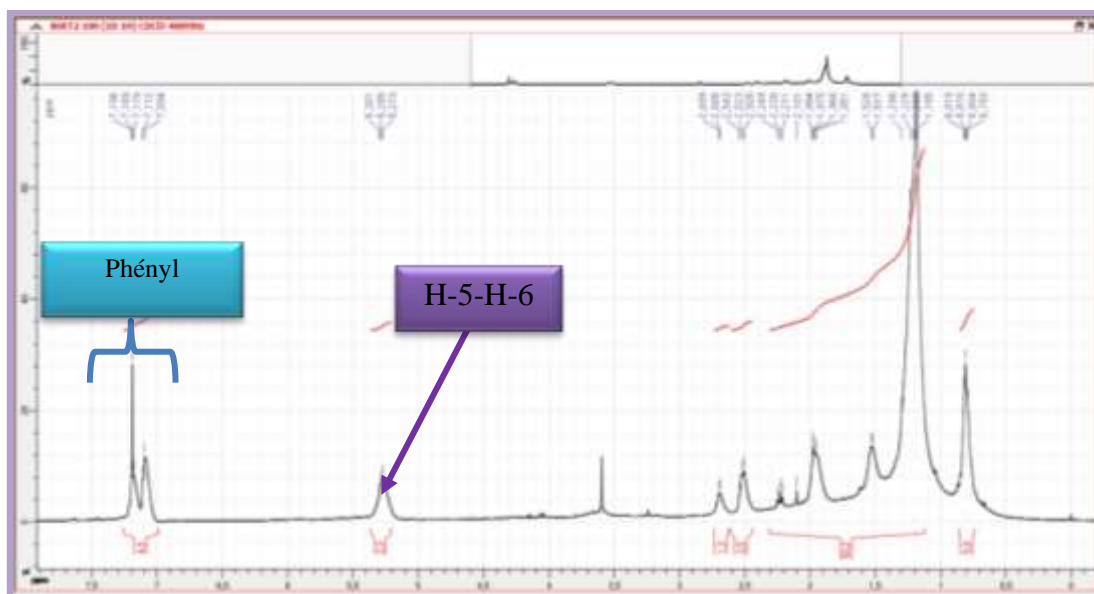


Figure 72: Spectre de RMN  $^1\text{H}$  ( $\text{CDCl}_3$ , 400 MHz) de BOET2

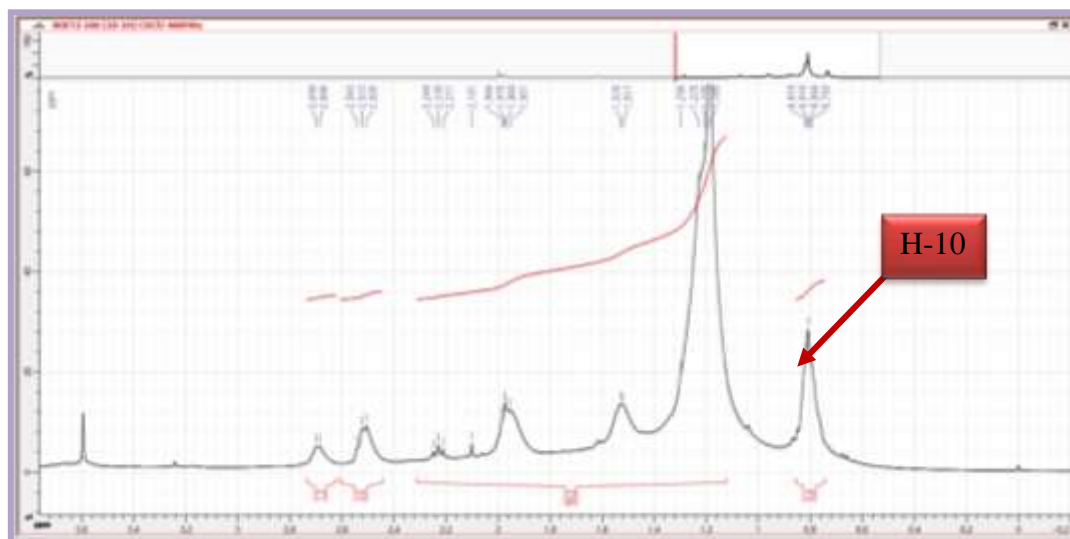


Figure 73 : Spectre de RMN  $^1\text{H}$  élargi (0,4-3,6 ppm) ( $\text{CDCl}_3$ , 400 MHz) de BOET2

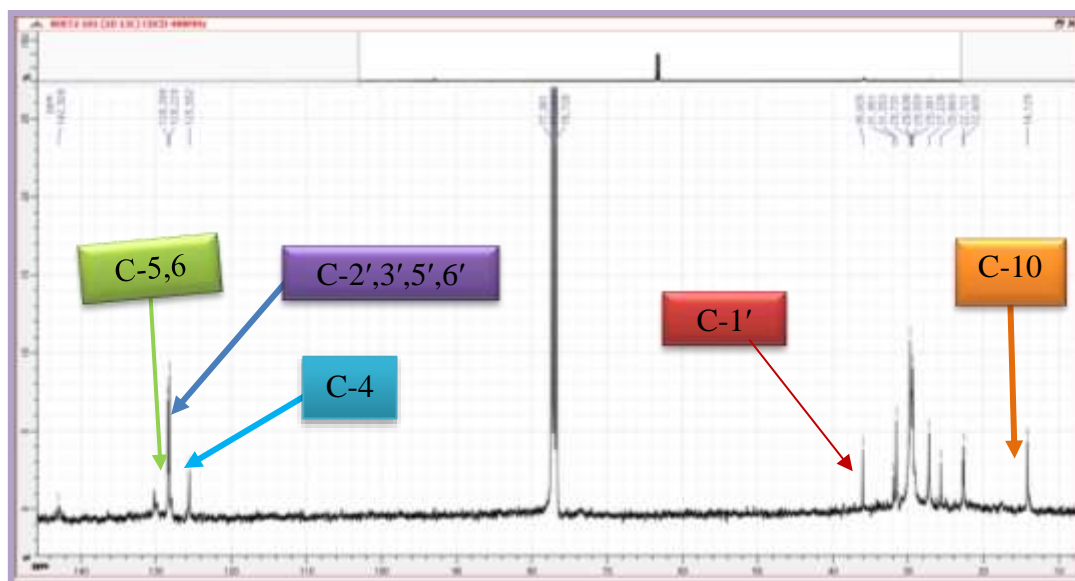


Figure 74: Spectre de RMN  $^{13}\text{C}$  ( $\text{CDCl}_3$ , 100 MHz) de BOET2

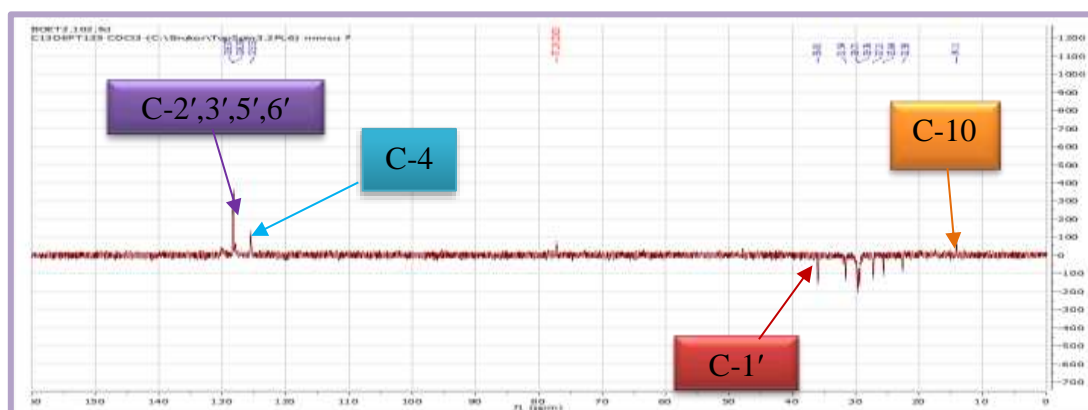


Figure 75 : Spectre de DEPT 135 de BOET2

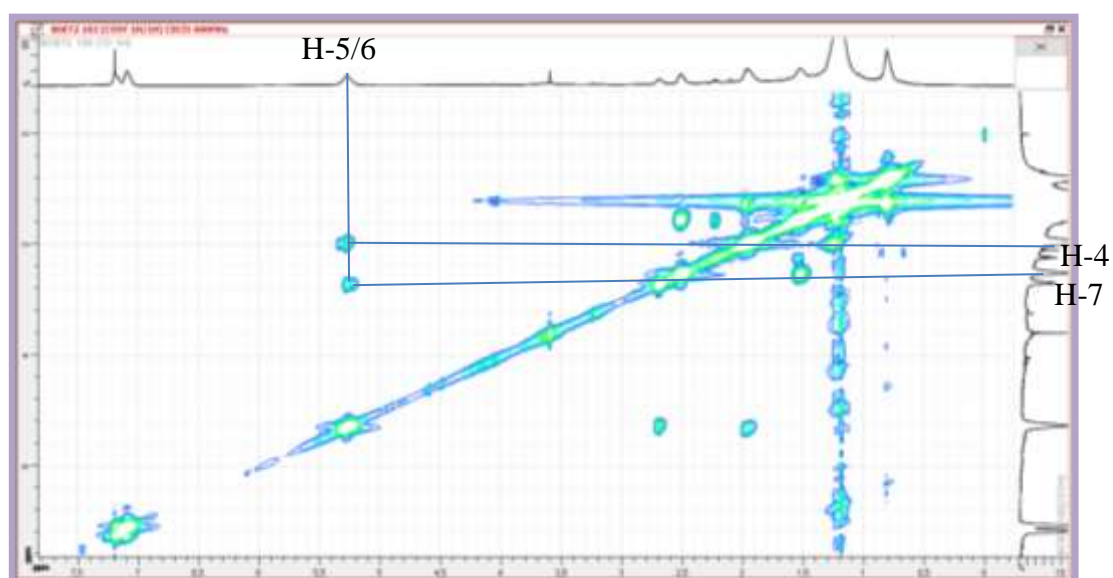


Figure 76: Spectre COSY de BOET2

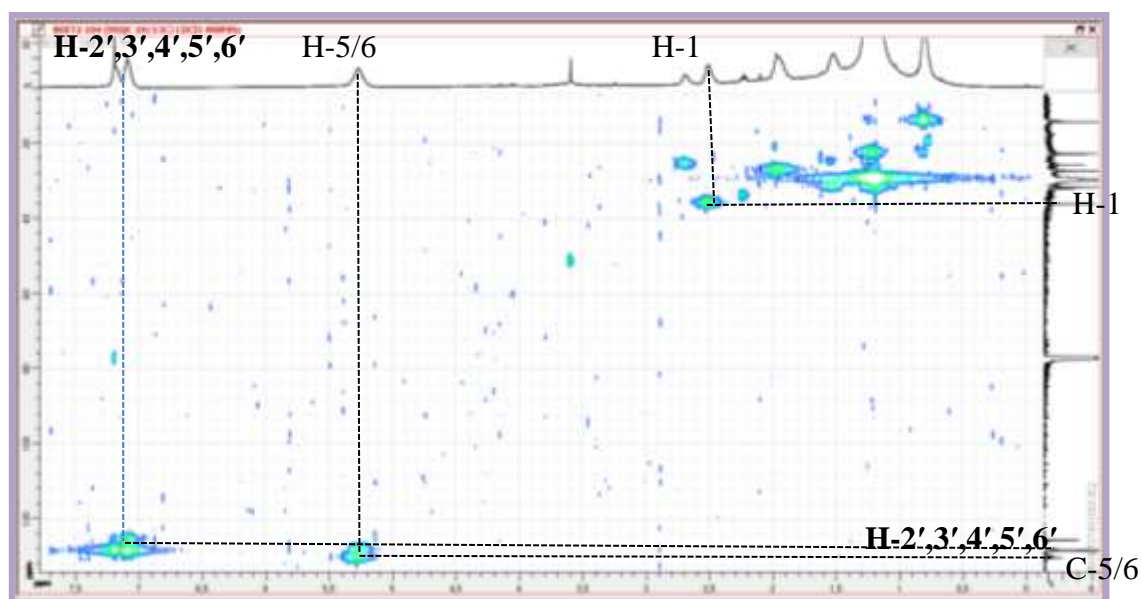


Figure 77: Spectre HSQC de BOET2

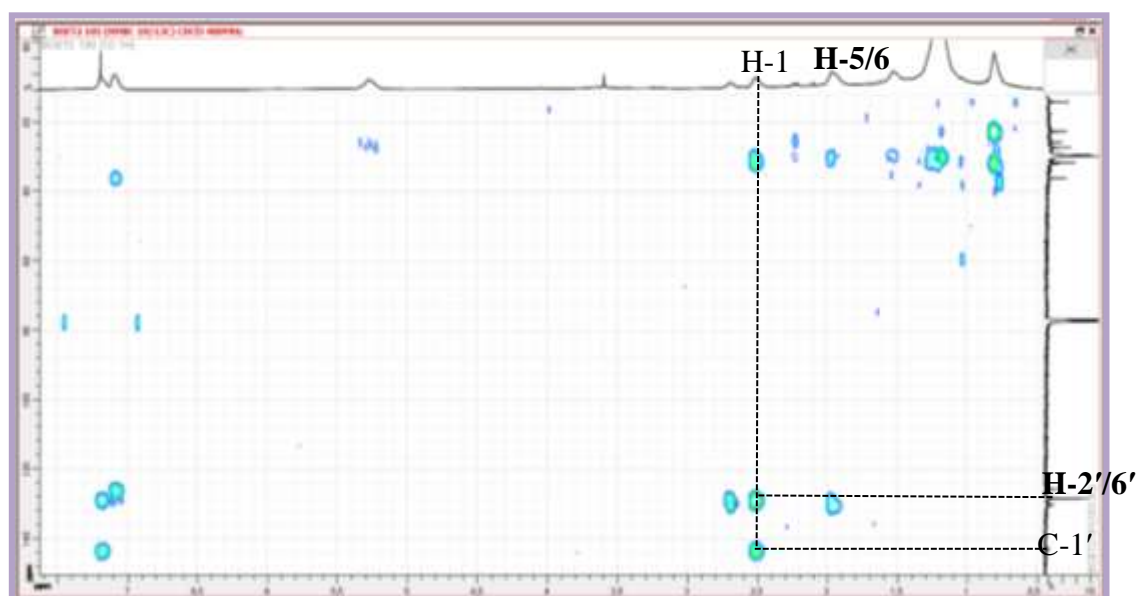
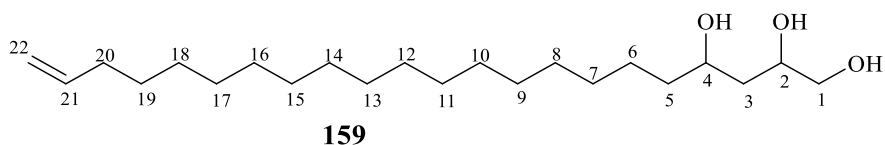


Figure 78: Spectre HMBC de BOET2

### II.3.7- Identification de l'alcool PAF3.

Le composé PAF3 se présente sous forme de paillettes blanches dans le mélange EP-AE (60:40). Il est soluble dans le chloroforme. Son spectre de masse ESI (Figure 80) à haute résolution montre le pic de l'ion quasi-moléculaire  $[M+H]^+$  à  $m/z$  357,2422 correspondant à la formule brute  $C_{22}H_{45}O_3$ , renfermant une insaturation. Toutes ces informations combinées à la RMN 1D et 2D nous permettent d'attribuer à PAF3 la structure 159.

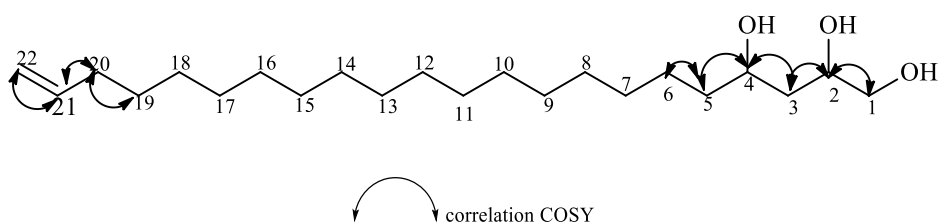


En effet, son spectre de RMN  $^{13}\text{C}$  (Figure **84**) fait ressortir les signaux de 22 atomes de carbone répartis grâce aux spectres DEPT 135 (Figure **85**) et HSQC (Figure **87**) en :

- Deux carbones oléfiniques à  $\delta_{\text{C}}$  139,3 (C-21) et 114,1 (C-22) suggérant la présence d'une double liaison terminale.
- Trois carbones oxygénés dont deux oxyméthines à  $\delta_{\text{C}}$  72,7 (C-4) et 72,3 (C-2) et un oxyméthylène à  $\delta_{\text{C}}$  66,8 (C-1).
- Dix-sept méthylènes entre  $\delta_{\text{C}}$  25,4 et 38,9

La présence de la double liaison terminale est confirmée sur le spectre de RMN  $^1\text{H}$  (Figure **81**) par les signaux de proton d'un méthine à  $\delta_{\text{H}}$  5,81 (m, H-21) et d'un méthylène à  $\delta_{\text{H}}$  4,99 (1H, dd,  $J = 17,2$  et 1,6 Hz, H-22a) et 4,93 (1H, dd,  $J = 10,0$  et 1,6 Hz, H-22b). On observe également les signaux des protons des deux oxyméthines à  $\delta_{\text{H}}$  3,93 (m, H-2) et 3,81 (m, H-4), de l'oxyméthylène à  $\delta_{\text{H}}$  3,60 (1H, dd,  $J = 11,6$  et 2,8 Hz, H-1a) et 3,44 (1H, dd,  $J = 11,6$  et 7,2 Hz, H-1b) et deux autres méthylènes à  $\delta_{\text{H}}$  2,04 (q,  $J = 6,8$  Hz, H-20) et  $\delta_{\text{H}}$  1,55 (m, H-3). On observe aussi entre  $\delta_{\text{H}}$  1,27-1,56, des signaux attribuables à une chaîne de méthylènes.

Sur son spectre COSY (Figure **86**), on observe des couplages entre les protons de l'oxyméthines à  $\delta_{\text{H}}$  3,93 (m) et les protons à  $\delta_{\text{H}}$  3,61 (m) et 1,55 de l'oxyméthylène et d'un méthylène. Ce dernier couplant aussi avec un autre oxyméthine à  $\delta_{\text{H}}$  3,81. Ces informations permettent de déduire une unité 1,2,4-triol.



**Figure 79:** Quelques corrélations observées sur le spectre COSY de PAF3.

Le nombre de méthylène intermédiaire a été déduit des données du spectre de masse où  $[\text{M}+\text{H}]^+$  à  $m/z$  357. D'où la structure (**159**) ci-dessous assignée au composé PAF3. Il s'agit du 1,2,4-trihydroxy-*n*-decadec-20-ène, dérivé nouveau auquel nous attribuons le nom trivial de perseatriol.

Tableau 16 : Données spectrales de RMN  $^{13}\text{C}$  (100 MHz) et  $^1\text{H}$  (400 MHz) dans  $\text{CDCl}_3$  de PAF3

Position de carbone	PAF3	
	$\delta_{\text{C}}$ (ppm)	$\delta_{\text{H}}$ (ppm)
1	66,8	3,60 (dd, $J = 11,6$ et $2,8$ Hz, 1H) ; 3,44 (dd, $J = 11,6$ et $7,2$ Hz, 1H)
2	72,3	3,93 (m, 1H)
3	38,9	1,55 (m, 2H)
4	72,7	3,81 (m, 1H)
5	38,3	1,37 (m, 2H)
6	25,4	1,28 (sl, 2H)
7-19	28,9-29,6	1,28 (sl, 26H)
20	33,8	2,04 (q, $J = 6,8$ Hz, 2)
21	139,3	5,81 (m, 1H)
22	114,1	4,99 (dd, $J = 17,2$ et $1,6$ Hz, 1H) ; 4,93 (dl, $J = 10$ Hz, 1H)

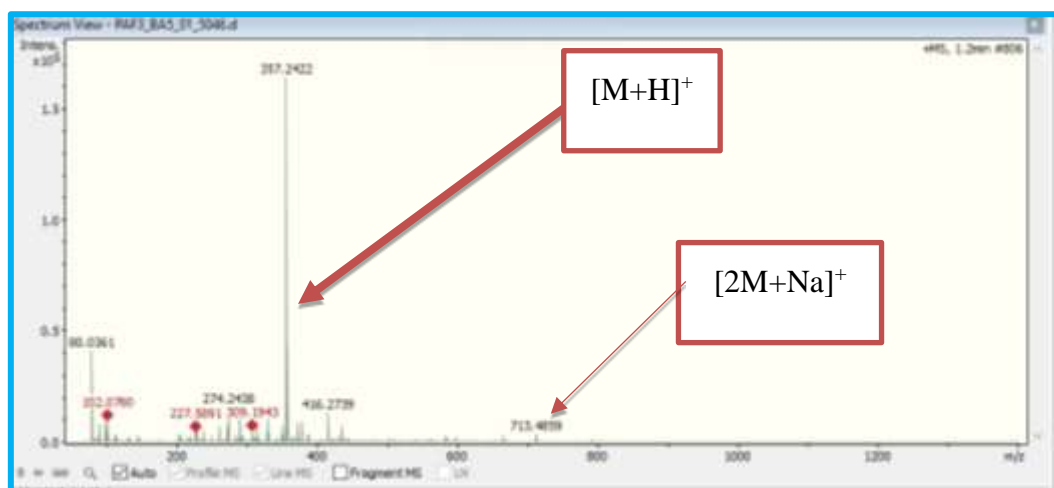


Figure 80 : Spectre de masse ESI de PAF3



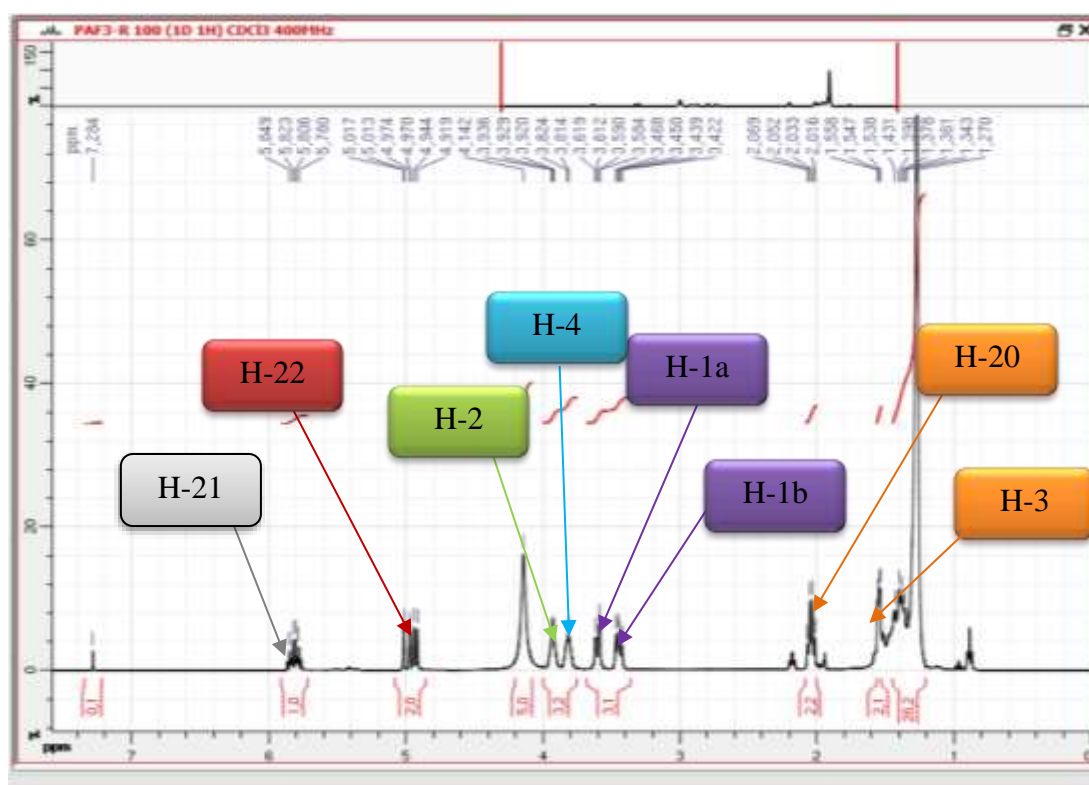


Figure 81 : Spectre de RMN  $^1\text{H}$  ( $\text{CDCl}_3$ , 400 MHz) de PAF3

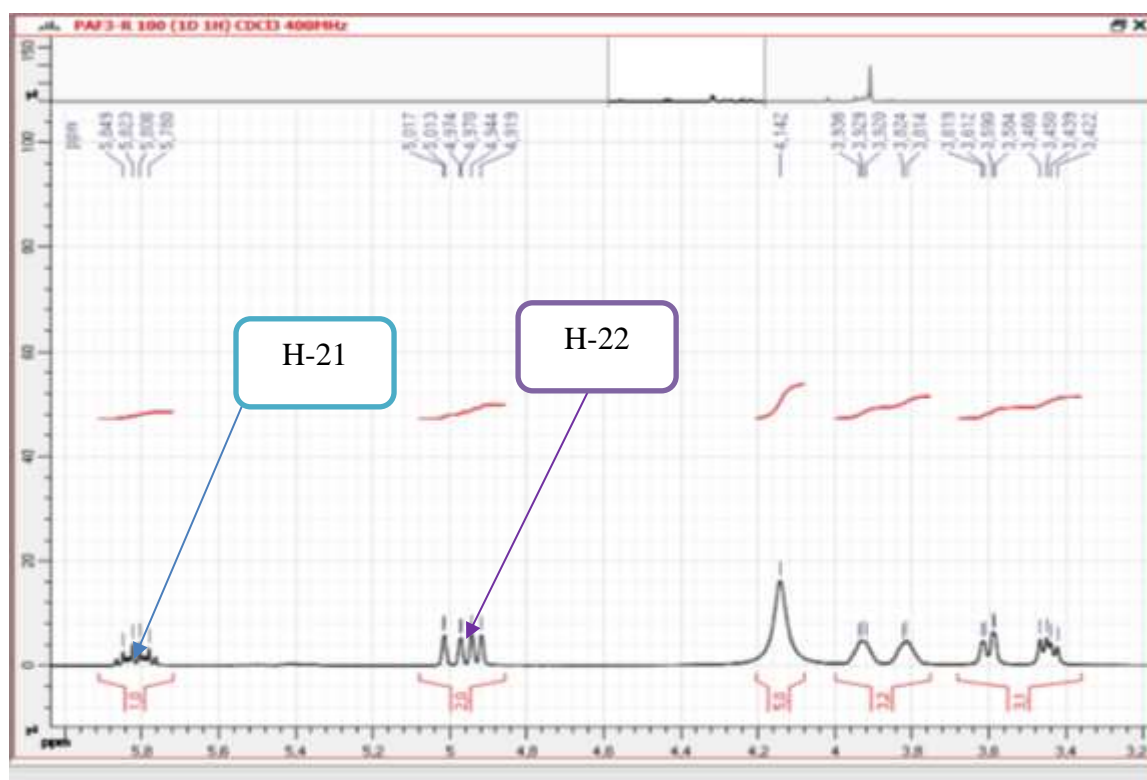


Figure 82 : Spectre de RMN  $^1\text{H}$  élargi (3,2-6 ppm) ( $\text{CDCl}_3$ , 400 MHz) de PAF3

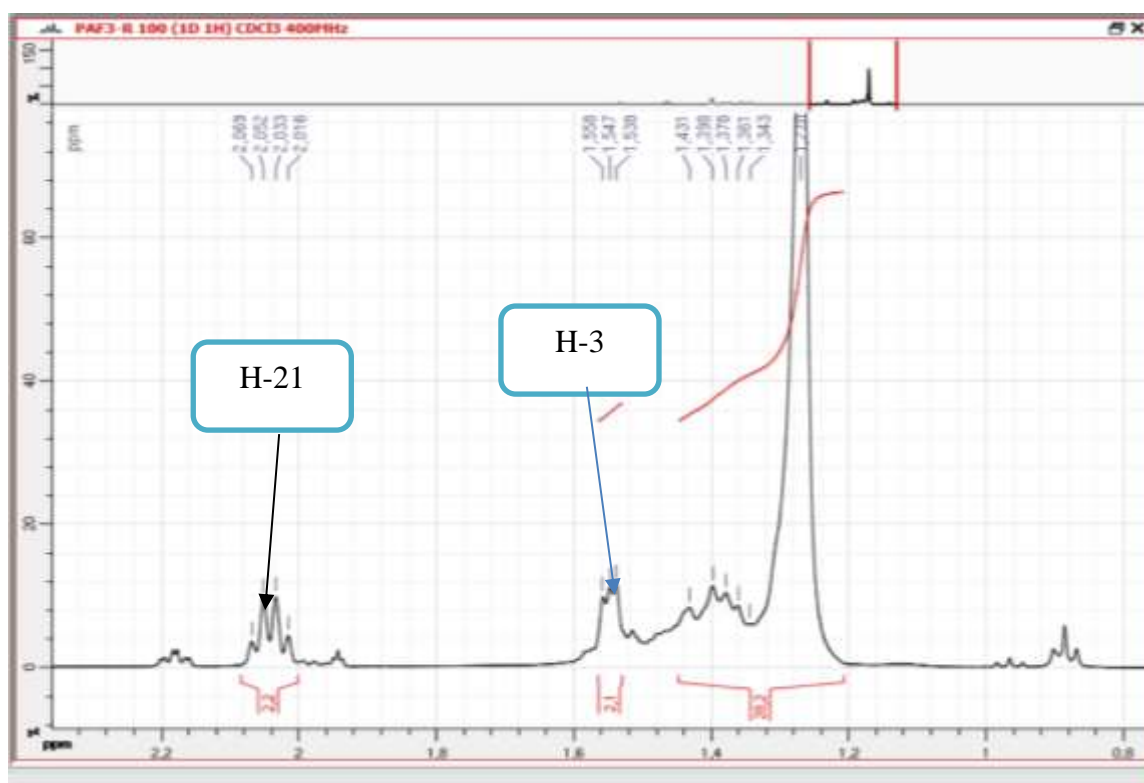


Figure 83: Spectre de RMN  $^1\text{H}$  élargi (0,8-2,5 ppm) ( $\text{CDCl}_3$ , 400 MHz) de PAF3

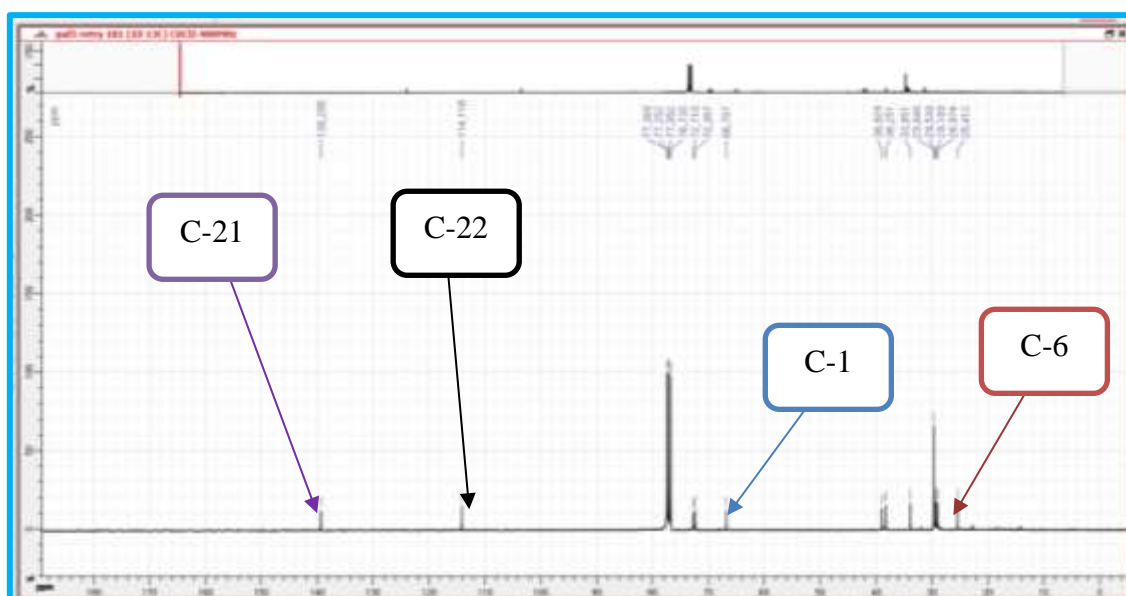


Figure 84: Spectre de RMN  $^{13}\text{C}$  ( $\text{CDCl}_3$ , 100 MHz) de PAF3

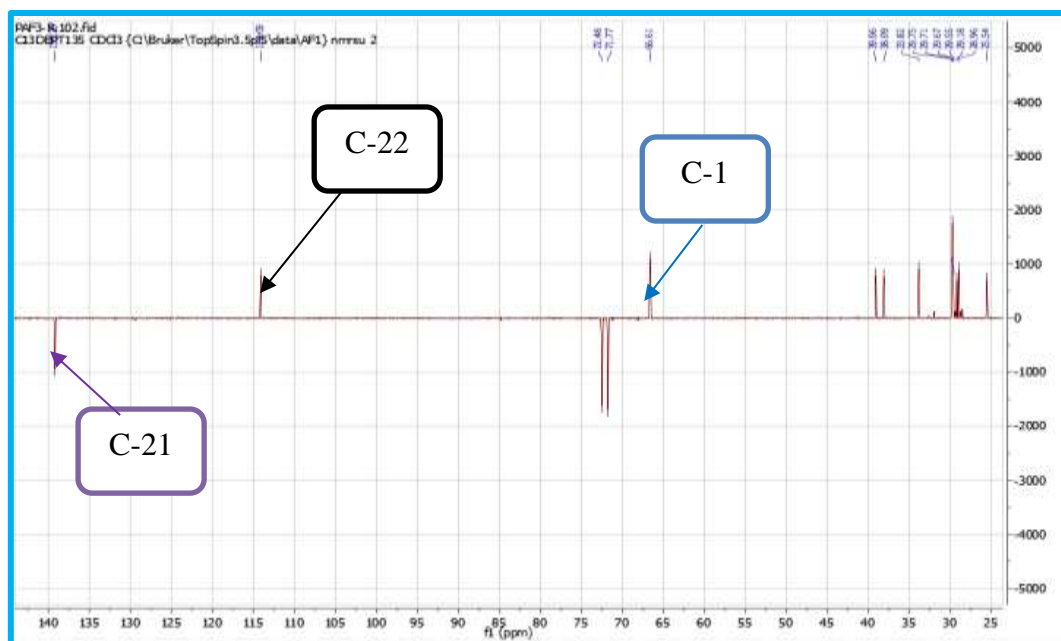


Figure 85: Spectre de DEPT 135 (CDCl<sub>3</sub>, 100 MHz) de PAF3

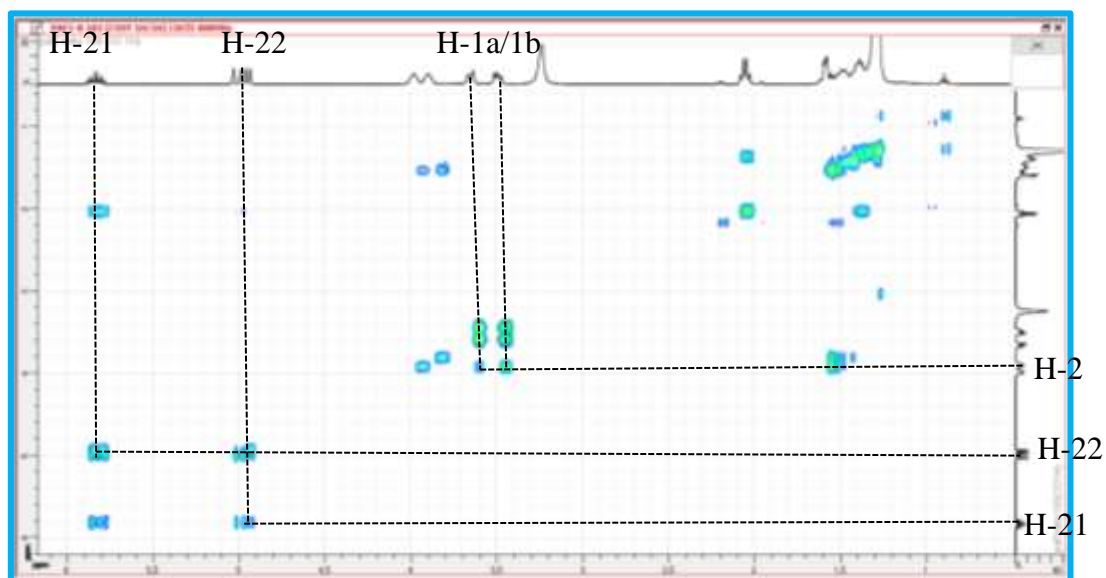


Figure 86: Spectre COSY de PAF3

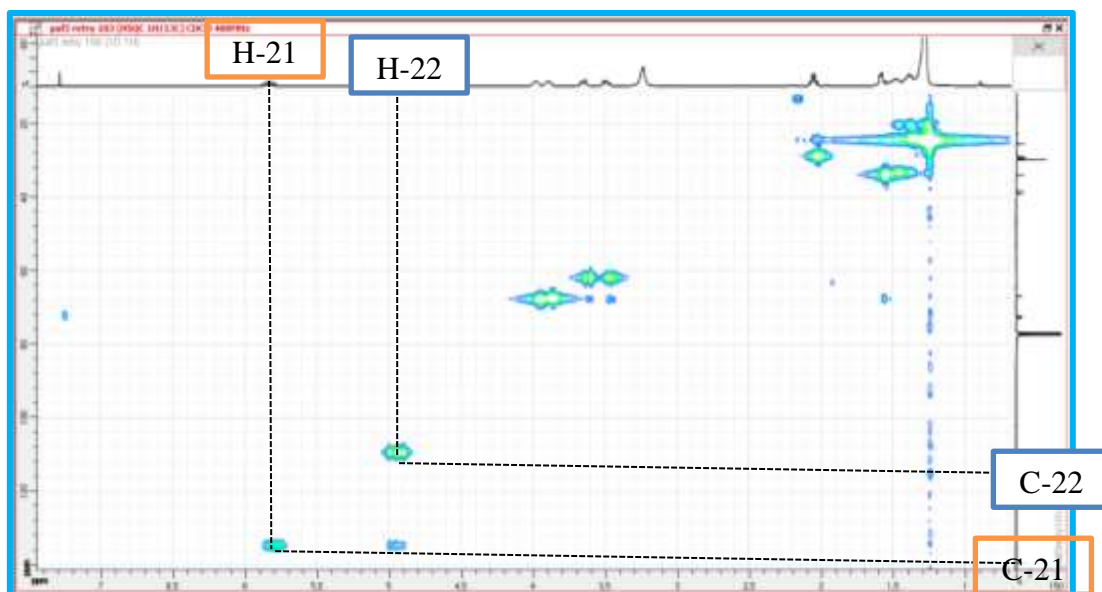


Figure 87: Spectre HSQC de PAF3

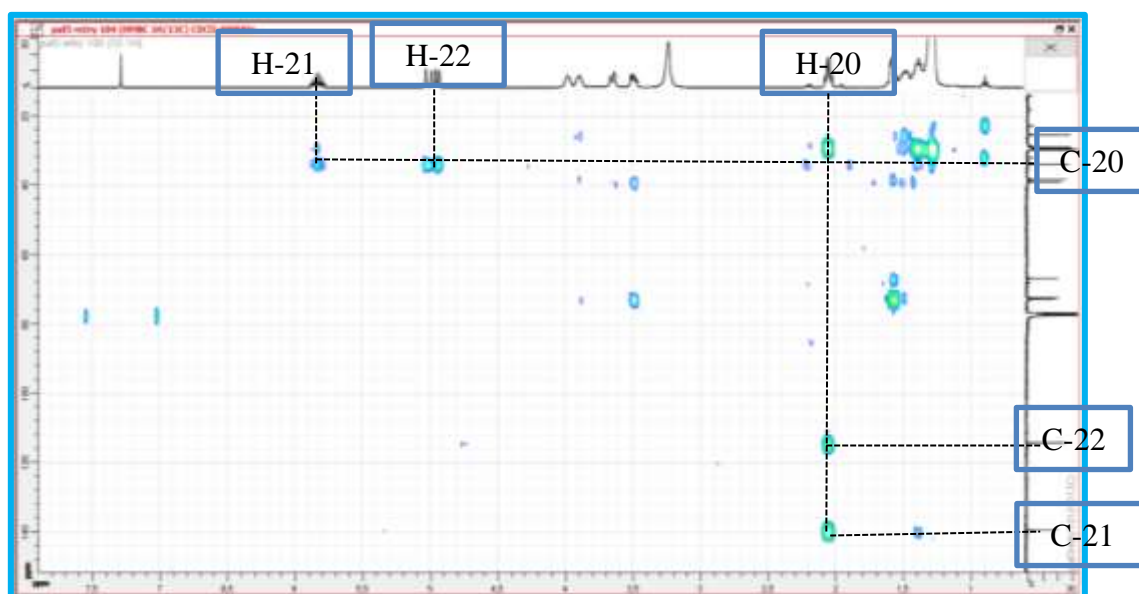


Figure 88: Spectre HMBC de PAF3

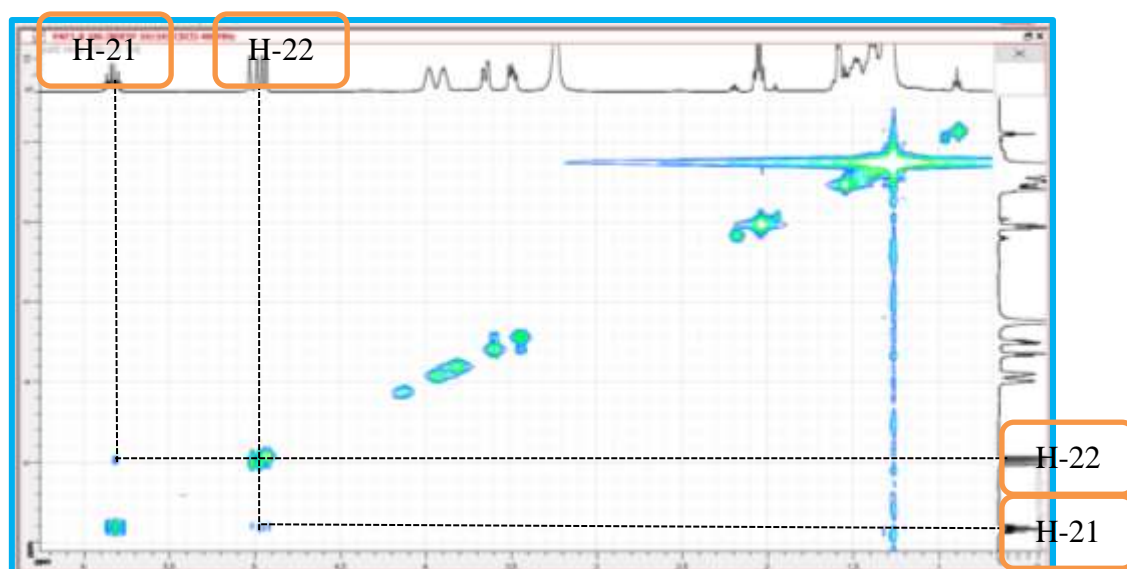
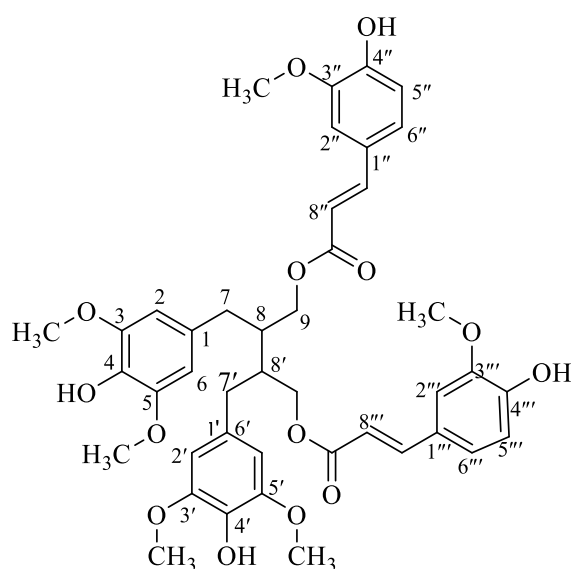


Figure 89: Spectre NOESY de PAF3

### II.3.8- Identification de la bilignane PAR3

Le composé PAR3 se présente sous forme de poudre blanche dans mélange EP-AE (55:45). Il est soluble dans la pyridine. Son spectre de masse ESI (Figure 92) montre le pic de l'ion pseudo moléculaire  $[M+H]^+$  à  $m/z$  775,2173 de formule brute  $C_{42}H_{47}O_{14}$ , renfermant dix-huit insaturations. L'ensemble de ces données, combinées à celles des spectres de RMN 1D et 2D, nous a permis d'attribuer à PAR3 la structure 160.

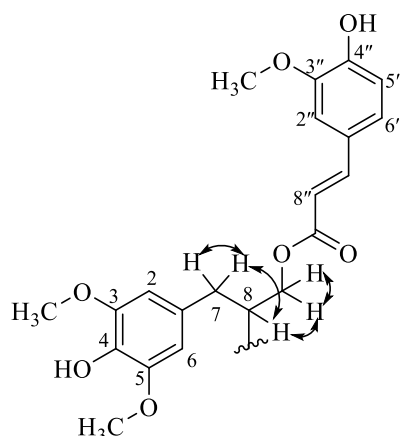


160

En effet, l'analyse des spectres de RMN  $^1H$  (Figure 93) et COSY (Figure 97) de PAR3 fait ressortir des champs faibles vers les champs forts :

- Deux doublets de deux protons oléfiniques *trans* couplés à  $\delta_H$  8,08 ( $J = 16,0$  Hz, H-7'') et 6,83 (H-8'',  $J = 16,0$  Hz) ;
- Trois protons d'un système ABX à  $\delta_H$  7,41 (1H, d,  $J = 1,6$  Hz, H-2''), 7,32 (1H, dd,  $J = 8,4$  et 1,6 Hz, H-5'') et 7,21 (1H, d,  $J = 8,4$  Hz, H-6'') attribuables à un noyau aromatique 1,3,4-trisubstitué ;
- Un singulet de deux protons à  $\delta_H$  6,76 (H-2, 6) attribuables du noyau aromatique tétra substitué et comportant un élément de symétrie ;
- Quatre signaux de deux méthylènes, l'un  $\delta_H$  4,90 (1H, dd,  $J = 11,2$  et 5,6 Hz, H-9a) et 4,59 (1H, dd,  $J = 11,2$  et 5,2 Hz, H-9b) et l'autre  $\delta_H$  3,08 (1H, dd,  $J = 13,6$  et 7,6 Hz, H-7a) et 3,00 (1H, dd,  $J = 13,6$  et 7,2 Hz, H-7b) ;
- Deux singulets de trois groupements méthoxyyles à  $\delta_H$  3,81 (H-5/3-OMe) et 3,79 (H-3''/OMe) ;
- Un multiplet d'un proton à  $\delta_H$  2,70 (H-8) ;

Sur son spectre COSY, on observe les couplages entre les protons H-7a, H-7b, H-9a H-9b et le proton H-8. Ce qui confirme la présence du groupement  $-\text{CH}_2\text{CHCH}_2-$



**Figure 90:** Quelques corrélations observées sur le spectre COSY de PAR3.

Sur son spectre de RMN  $^{13}\text{C}$  (Figure 96), on observe les signaux de vingt et un atomes de carbone distingués grâce aux spectres DEPT 135 (Figure 97) et HSQC (Figure 99), en :

- Deux carbones de groupements méthylènes à  $\delta_C$  35,1 (C-7) et 64,5 (C-9) ;
- Un carbone de groupement méthine aliphatique à  $\delta_C$  40,5 (C-8) ;
- Trois carbones de groupements méthoxyyles à  $\delta_C$  55,6 (C-3''-OMe) et 56,0 x 2 (C-2/6-OMe) ;
- Huit carbones quaternaires dont un carbonyle de cétone  $\alpha, \beta$ -insaturé à  $\delta_C$  167,4 (C-9), cinq oxygénés [ $\delta_C$  135,3 (C-4); 148,8 (C-3''); 148,9 (C-3,5); 151,0 (C-4'')] et les deux autres à  $\delta_C$  126,2 (C-1'') et 130,4 (C-1) ;

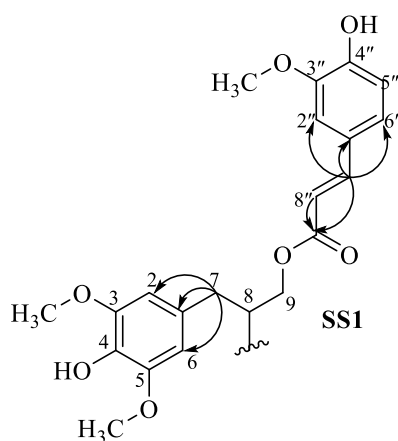
- sept méthines aromatiques [ $\delta_C$  106,9 (C-2,6), 111,3 (C-2''); 115,0 (C-8''); 116,2 (C-5''); 126,2 (C-6'') et 145,7 (C-7'')];

L'ensemble de ces données indiquent que PAR3 possède dans sa structure un groupement feruloyl et un groupement phénylpropyle. Ceci a été confirmé par les corrélations observées sur son spectre HMBC (Figure 100). En effet sur ce spectre on observe des corrélations entre :

- Les protons du méthylène à  $\delta_H$  4,90 (H-9a) et 4,59 (H-9b)] et le carbonyle C-9''
- Les protons du groupement méthylène H-7 ( $\delta_H$  3.08) et les carbones C-1, C-2, et C-8.
- Le proton *trans* couplé H-7'' ( $\delta_H$  8,08) et les carbones C-1'' et C-2'' et C-9''
- Le proton H-8'' (6,83) et les carbones C-9'' et C-7''

Sur ce spectre on observe aussi les corrélations entre les protons des groupements oxyméthyles et les carbones C-3, C-5 et C-3''.

Toutes ces corrélations ainsi que les données carbones corroborent le fragment SS1 suivant qui a une masse de 387 uma ou g/mol.



**Figure 91:** Quelques corrélations observées sur le spectre HMBC de PAR3.

La masse de l'ion pseudo-moléculaire  $[M+H]^+$  étant  $m/z$  775,2173. Ce qui indique que PAR2 est le dimère de SS1. La jonction C-8/C-8 est justifiée par le non-dédoublé de spectre dû à l'existence d'une symétrie.

L'ensemble de ces données, comparées à celles de la littérature, nous a permis d'attribuer à PAR2 la structure (160), qui est celle de la 9,9'-Di-*O*-feruloyl-5,5'-diméthoxysecoisolariciresinol déjà déjà isolé des écorces et racines de *Cinnamomum osmophloeum* par Tai-Hung et al., 2009).

**Tableau 17 : Données de RMN  $^1\text{H}$  (400 MHz) et  $^{13}\text{C}$  (100 MHz) de PAR3 comparée à celles de 9,9'-di-*O*-feruloyl-5,5'-diméthoxysecoisolariciresinol (DDS),  $^1\text{H}$  (600 MHz) et  $^{13}\text{C}$  (150 MHz) dans le DMSO- $d_6$ .**

Position	DDS		PAR3	
	$\delta_c$ (ppm)	$\delta_H$ (ppm)	$\delta_c$ (ppm)	$\delta_H$ (ppm)
1	130,0	-	130,3	-
2	106,1	6,37 (1H, s)	106,9	6,75 (1H, s)
3	147,8	-	149,3	-
4	133,6	-	135,1	-
5	147,8	-	149,3	-
6	106,1	6,37 (1H, s)	106,9	6,75 (1H, s)
7	34,4	2,58 (1H, dd, $J = 13,8$ et $7,8$ Hz), 2,74 (1H, dd, $J = 13,8$ et $6,0$ )	36,1	3,00 (1H, dd, $J = 13,8$ et $7,8$ Hz) 3,08 (1H, dd, $J = 13,8$ et $6$ Hz)
8	40,0	2,20 (1H, m)	40,5	2,69 (1H, m)
9	63,8	4,09 (1H, dd, $J = 11,4$ et $5,4$ Hz), 4,32 (1H, dd, $J = 11,4$ et $6,6$ Hz)	64,5	4,58 (1H, dd, $J = 11,4$ et $5,4$ Hz), 4,88 (1H, dd, $J = 11,4$ et $6,6$ Hz)
1'	130,0	-	130,3	-
2'	106,1	6,37 (1H, s)	106,9	6,75 (1H, s)
3'	147,8	-	149,3	-
4'	133,6	-	135,1	-
5'	147,8	-	149,3	-
6'	106,1	6,37 (1H, s)	106,9	6,75 (1H, s)
7'	34,4	2,58 (1H, dd, $J = 13,8$ et $7,8$ Hz), 2,74 (1H, dd, $J = 13,8$ et $6$ Hz)	36,1	2,58 (1H, dd, $J = 13,8$ et $7,8$ Hz), 2,74 (1H, dd, $J = 13,8$ et $6$ Hz)
8'	40,0	2,20 (1H, m)	40,5	2,69 (1H, m)
9'	63,8	4,09 (1H, dd, $J = 11,4$ et $5,4$ Hz), 4,32 (1H, dd, $J = 11,4$ et $6,6$ Hz)	64,5	4,61 (1H, dd, $J = 11,4$ et $5,4$ Hz), 4,92 (1H, dd, $J = 11,4$ et $6,6$ Hz)
1''	125,5	-	126,2	-
2''	111,1	7,29(1H, d, $J = 1,2$ Hz)	111,3	7,44(sl)
3''	147,9	-	149,3	-
4''	149,4	-	149,3	-
5''	115,5	6,78 (1H, d, $J = 7,8$ Hz)	116,9	7,21 (sl)
6''	123,2	7,09(1H, dd, $J = 7,8$ et $1,2$ Hz)	123,3	-
7''	145	6,78 (1H, d, $J = 17,6$ Hz)	145,6	8,08 (1H, d, $J = 17,6$ Hz)
8''	114,4	6,78 (1H, d, $J = 15,6$ Hz)	115,0	6,81(sl)
9''	166,7	-	167,4	-
1'''	125,5	-	126,2	-
2'''	111,1	7,29 (1H, d, (1H, d, $J = 1,2$ Hz)	111,3	7,44(sl)
3'''	147,9	-	148,7	-
4'''	149,4	-	150,5	-
5'''	115,5	6,78 (1H, d, $J = 7,8$ Hz)	116,6	7,21(sl)
6'''	123,2	7,09 (1H, dd, $J = 7,8$ et $1,2$ Hz)	123,3	-
7'''	145,0	6,78 (1H, d, $J = 17,6$ Hz)	145,7	8,08 (1H, d, $J = 17,6$ Hz)
8'''	114,4	6,78 (1H, d, $J = 15,6$ Hz)	115,0	6,85(sl)
9'''	166,7	-	167,4	-
3-OMe	55,7	3,66	55,6	3,80



5-OMe	55,7	3,66	56,0
3'-OMe	55,7	3,80	55,6
5'-OMe	55,7	3,66	56,0
3''-OMe	55,7	3,66	55,6
5''-OMe	55,7	3,80	56,0

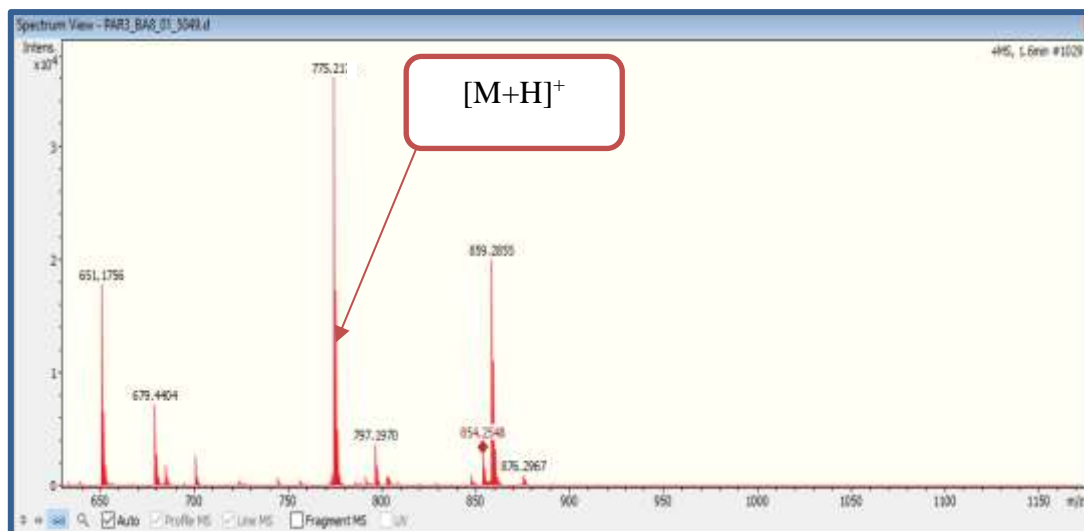


Figure 92: Spectre de masse ESI de PAR3

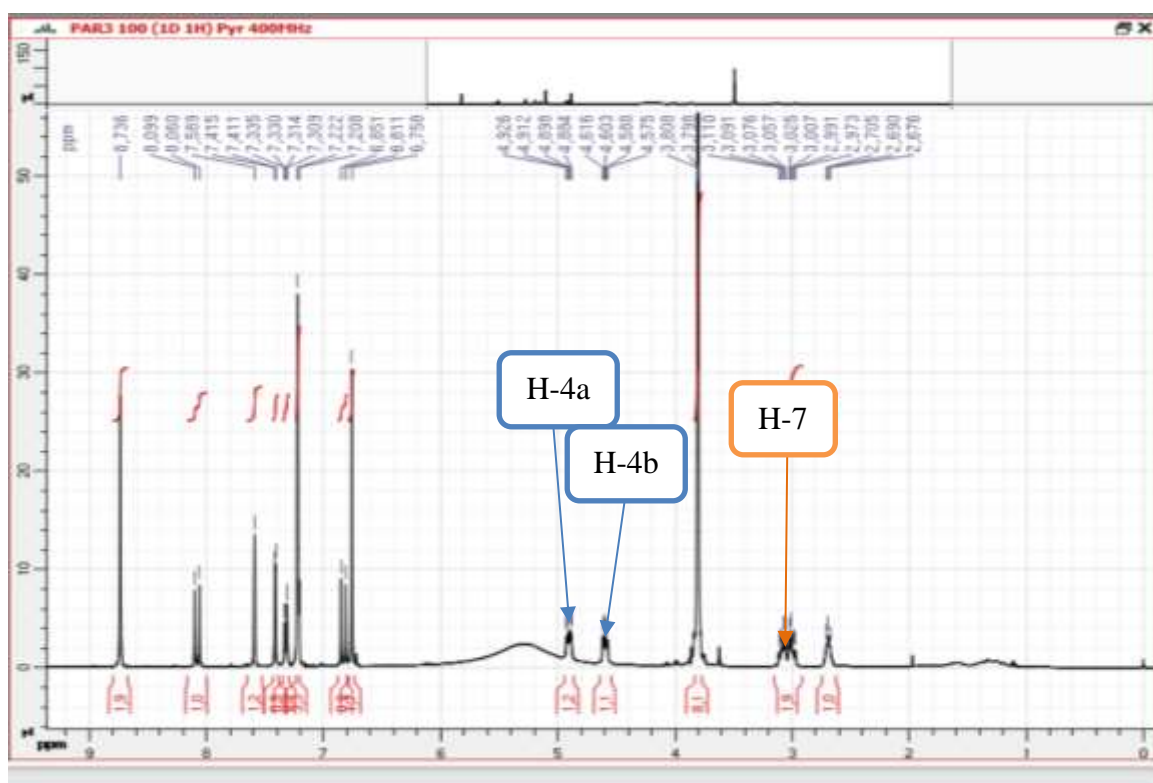


Figure 93: Spectre de RMN  $^1\text{H}$  (pyridine- $d_6$ , 400 MHz) de PAR3

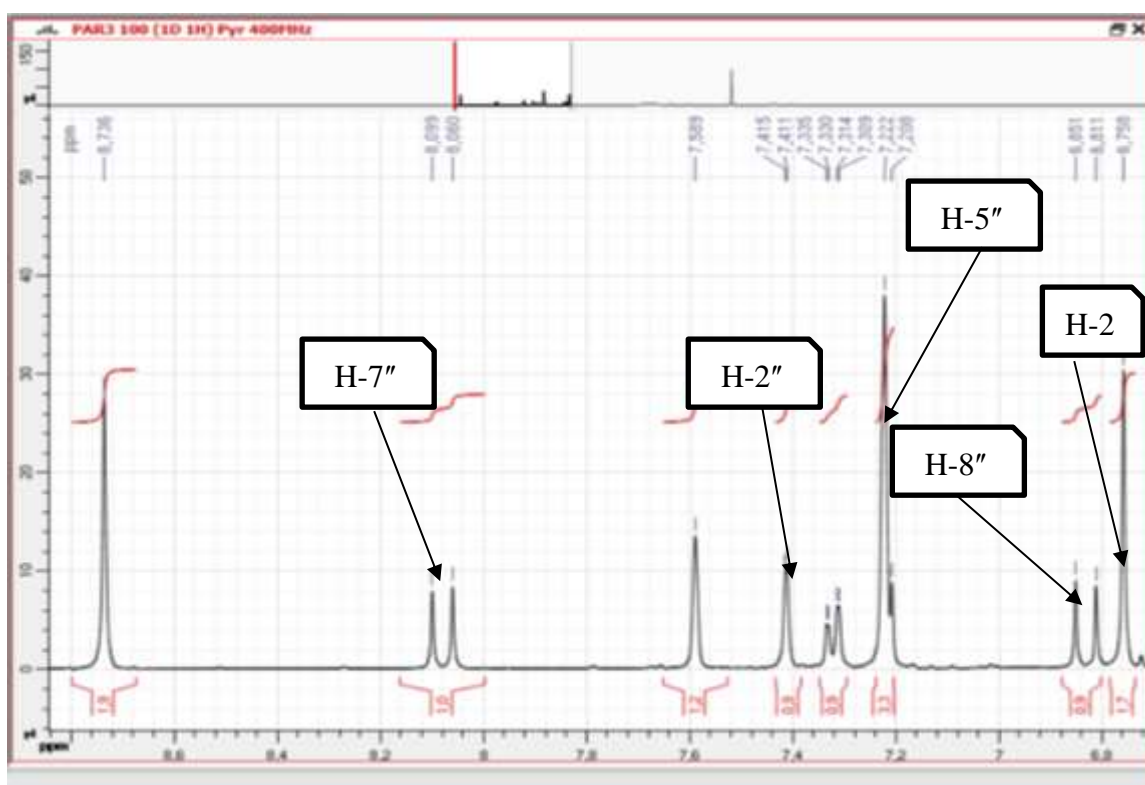


Figure 94: Spectre de RMN  $^1\text{H}$  élargi (6,2-9,2 ppm) ( $\text{pyridine-}d_6$ , 400 MHz) de PAR3

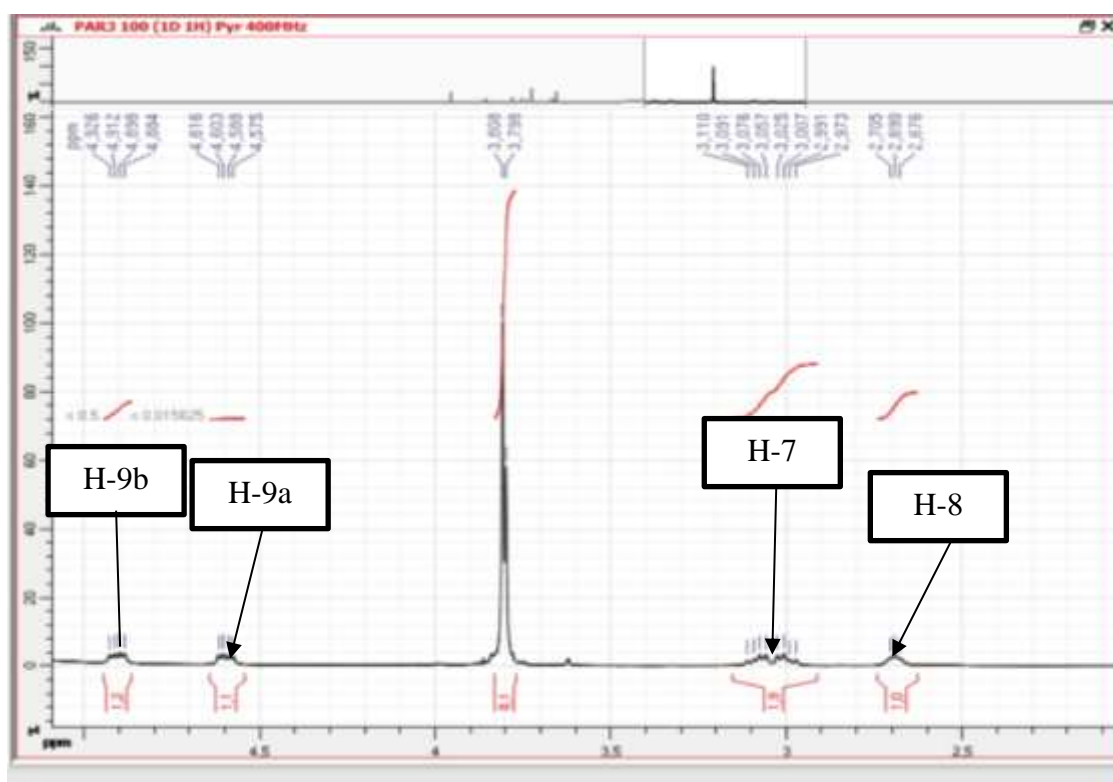


Figure 95: Spectre de RMN  $^1\text{H}$  élargi (2,1-5 ppm) ( $\text{pyridine-}d_6$ , 400 MHz) de PAR3

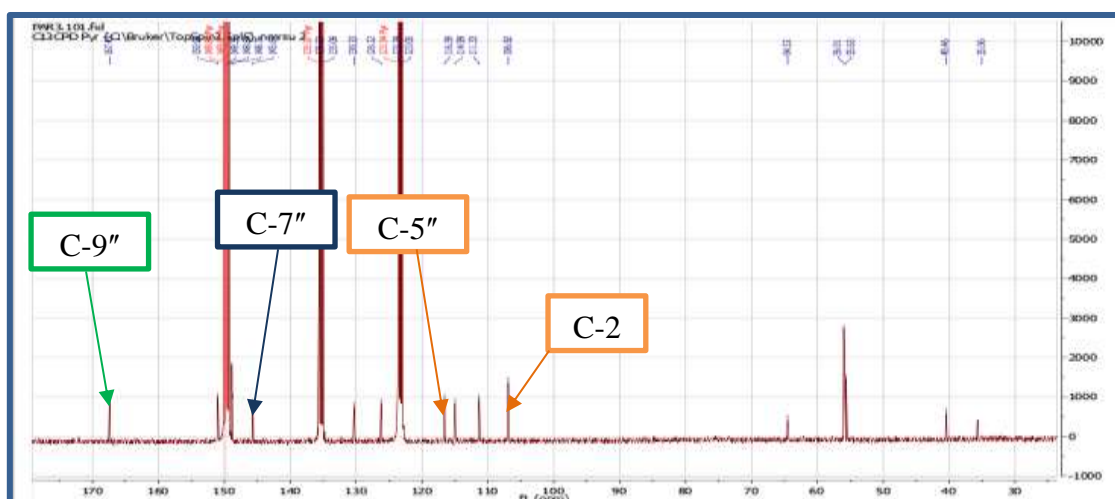


Figure 96: Spectre de RMN  $^{13}\text{C}$  (pyridine- $d_6$ , 100 MHz) de PAR3

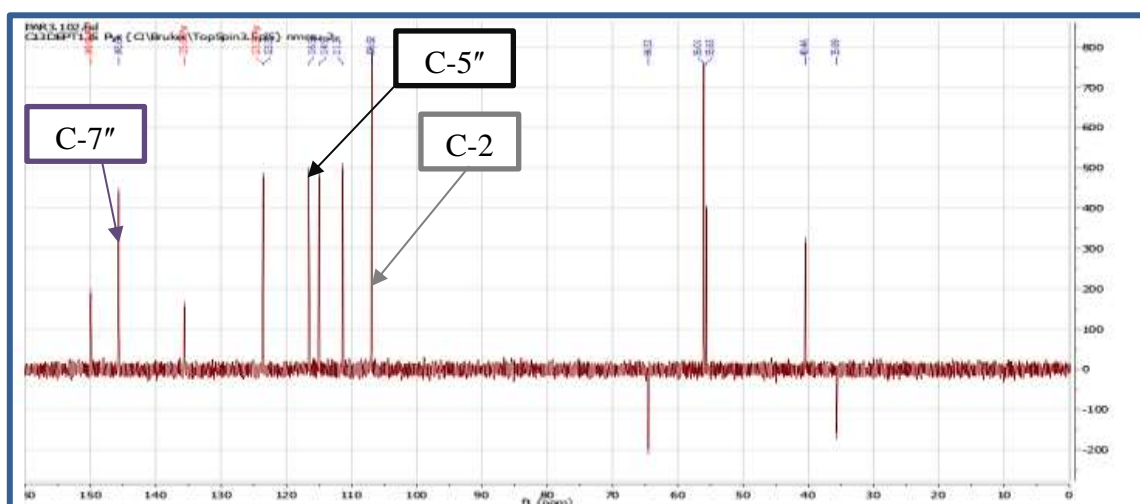


Figure 97: Spectre DEPT 135 de PAR3

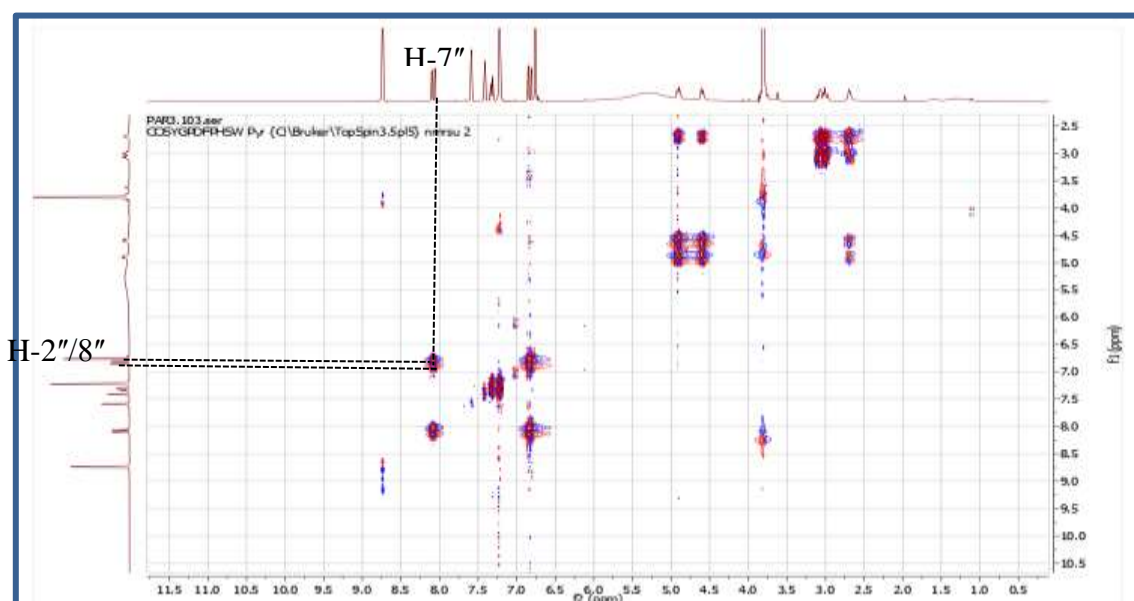


Figure 98: Spectre COSY de PAR3

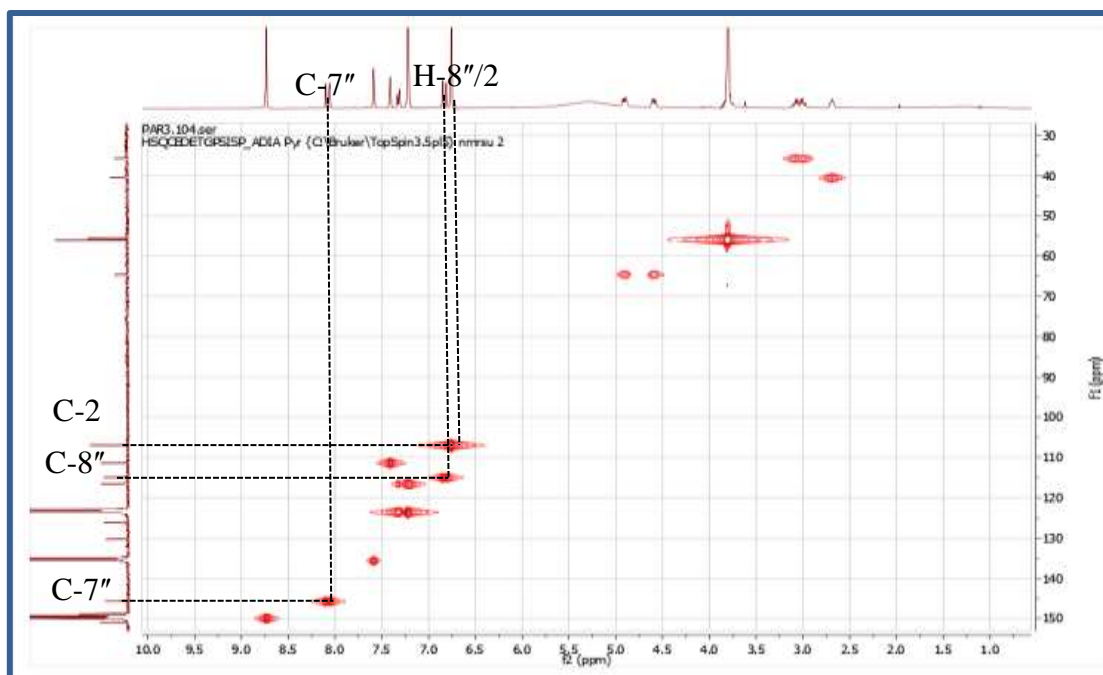


Figure 99: Spectre HSQC de PAR3

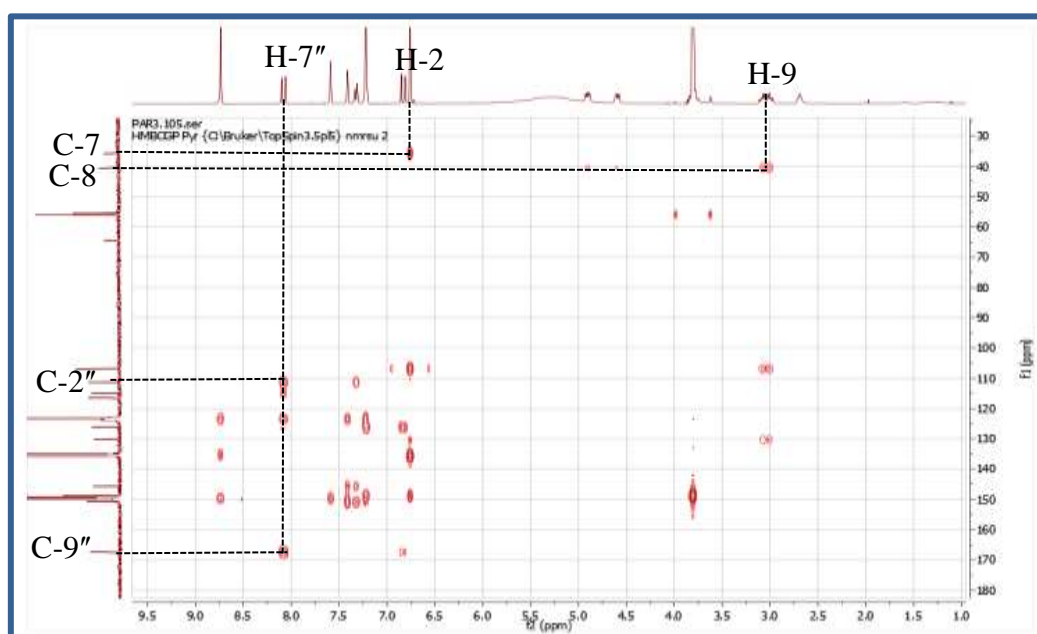
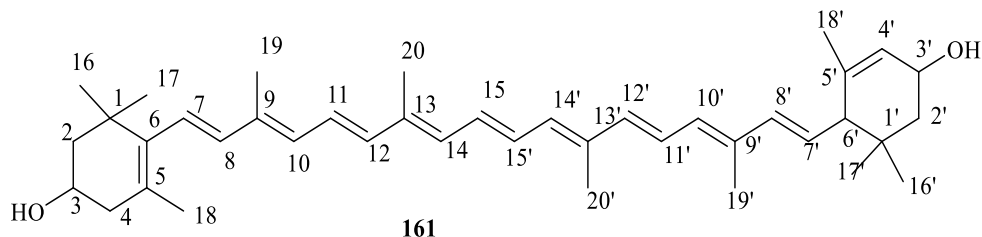


Figure 100: Spectre HMBC de PAR3

### II.3.9- Identification de PAF4 à la carotène

Le composé PAF4 se présente sous forme de poudre orange dans le mélange EP-AE (7:3). Il est soluble dans la pyridine. Son spectre de masse ESI<sup>+</sup> (Figure 103) montre le pic de l'ion quasi-moléculaire [M+HCOOH-H]<sup>+</sup> à  $m/z$  615,7418 de formule brute C<sub>41</sub>H<sub>59</sub>O<sub>4</sub>,

renfermant treize insaturations. L'ensemble de ces données comparées combinées à celles des données de RMN 1D et 2D nous a permis d'attribuer à PAF4 la structure **161**.



En effet, l'analyse du spectre de RMN  $^{13}\text{C}$  de PAF4 (Figure **107**) fait ressortir des signaux de 44 atomes de carbone repartis grâce aux techniques DEPT 135 et HSQC (Figure **112**) en:

- Dix carbones quaternaires avec six carbones oléfiniques à  $\delta_{\text{C}}$  127,4 (C-5); 125,6 (C-5'); 130,6 (C-6); 137,8 (C-6'); 135,9 (C-9); 135,1 (C-9') et 136,7 (C-13, C-13').
- Trois carbones de groupements méthylènes à  $\delta_{\text{C}}$  43,5 (C-2'); 49,3 (C-2) et 43,5 (C-4).
- Dix groupements méthyles à  $\delta_{\text{C}}$  29,7 (C-16); 29,6 (C-16'); 30,4 (C-17) ; 24,0 (C-17'); 21,7 (C-18) ; 22,6 (C-18') ; 13,0 (C-19) ; 13,0 (C-19') et 13,0 (C-20 ; C-20').
- Deux oxyméthines à  $\delta_{\text{C}}$  63,7 (C-3) et 64,7 (C-3').
- Quinze méthines oléfiniques à  $\delta_{\text{C}}$  125,4 (C-7), 129,7 (C-7'), 138,6 (C-8), 137,8 C-8'), 131,9 (C-10), 131,4 (C-10'), 125,4 (C-11), 125,3 (C-11'), 138,0 (C-12), 137,7 (C-12'), 133,1 (C-14), 133,2 (C-14'), 131,4 (C-15), 125,4 (C-4') et 130,6 (C-15').

Son spectre de RMN  $^1\text{H}$  (Figure**104**) montre les signaux de :

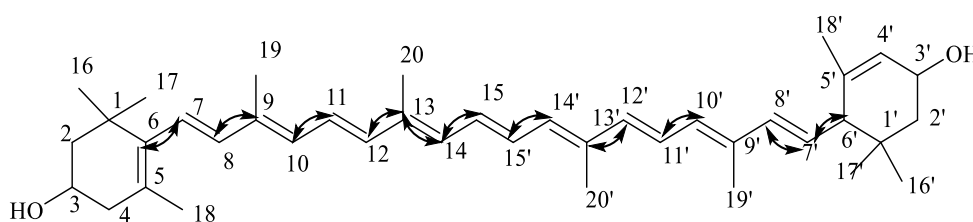
- Les signaux de quatre protons diastérotiques de groupements méthylènes à  $\delta_{\text{H}}$  [1,74 (dd,  $J = 3,4; 2,0$  et  $3,4$  Hz, H-2a) et 1,47 (t,  $J = 11,9$ , H-2b)] et à  $\delta_{\text{H}}$  [2,38 (dd,  $J = 5,6$  Hz, H-4a) et 2,03 (dd,  $J=16,9$  et  $9,5$  Hz, H-4b).
- Les signaux d'un proton diastérotiques de groupements méthine à  $\delta_{\text{H}}$  2,38 (d,  $J = 9,3$  Hz, H-6')
- Les signaux de deux autres protons diastérotiques sont observés à  $\delta_{\text{H}}$  1,62 (dd,  $J = 12,6$  et  $9,6$  Hz, H-2')
- Deux multiplets deux groupements oxyméthines à  $\delta_{\text{H}}$  3,99 (H-3) et 4,22(H-3')
- Des doublets de protons oléfiniques à  $\delta_{\text{H}}$  6,09 (d,  $J = 16,3$  Hz, H-7), 6,14 (d,  $J = 11$  Hz, H-10), 6,35 (d,  $J = 14,9$  Hz, H-12). En plus les multiplets intégrant chacun pour un carbone ont été observés à  $\delta_{\text{H}}$  6,12 (H-8), 6,64 (H-11),  $\delta_{\text{H}}$  6,25 (H-14),  $\delta_{\text{H}}$  6,26 (H-15)

- Des singulets à  $\delta_H$  1,06; 1,73; 1,95 et 1,96 attribuable aux protons H-16, H-17, H-18, H-19 et H-20 respectivement.
- Deux multiplets d'un proton chacun à  $\delta_H$  1,62 et 1,38 (dd,  $J = 12,6$  et  $9,6$  Hz) attribuable aux protons diastéréotopiques H-2'
- Un singulet de deux protons à  $\delta_H$  5,47 (sl) attribuable au proton H4'
- Un doublet d'un proton à  $\delta_H$  2,15 (d,  $J = 9,3$  Hz) attribuable au proton H6'
- Un multiplet d'un proton à  $\delta_H$  5,52 (dd,  $J = 15,3$  Hz) attribuable au proton H-7'
- Les multiplets d'un proton chacun  $\delta_H$  6,12 et 1,57 attribuable aux protons H-8', H-10' et H-11' respectivement.
- Un doublet d'un proton à  $\delta_H$  6,34 (d,  $J = 14,9$  Hz) attribuable au proton H-12'.
- Un multiplet d'un proton chacun à  $\delta_H$  6,23 et 6,62 attribuable au proton H-14' et H-15' respectivement.
- Les signaux de 10 groupements méthyles entre  $\delta_H$  0,84 et 1,95 attribuables aux méthyles H-16, H-17, H-18, H-19, H-20, H-16', H-17', H-18', H-19', H-20'

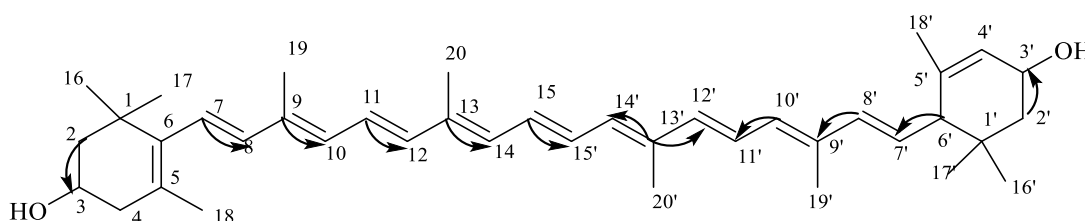
L'ensemble de ces données indiquent que PAF4 est un caroténoïde ayant 11 doubles liaisons. La disposition de ces doubles liaisons a été déduite des corrélations observées sur les spectres COSY (Figure 111) et HMBC (Figure 113)

En effet, sur son spectre COSY on observe entre autres les couplages entre les protons oléfiniques entre H-7/H-8, H-10/H-11, H-15/H-15', H-15'/H-14', H-12'/H-11', H-7'/H-8'.

Sur son spectre HMBC On observe également les corrélations entre H-7/C-6, C-8; H-9/C-10; H-11/C-10, C-12; H-13/C-14; H-15/C-14, C-15', H-14'/C-13'; H-12'/C-13', C-11; H-10'/C-11', C9; H-8'/C-9', C-7'; H-7'/C-6'.



**Figure 101:** Quelques corrélations observées sur le spectre COSY de PAF4.



**Figure 102:** Quelques corrélations observées sur le spectre HMBC de PAF4.

L'ensemble de ces données comparées à celles de la littérature nous a permis d'attribuer à PAF4 la structure **161** qui est celle de la luteïne décrite dans la littérature par Péter et *al.* en 2004.

**Tableau 18 :** Données RMN  $^{13}\text{C}$  (100 MHz) dans la pyridine- $d_6$ , de PAF4 comparées à celles de la lutéine  $^{13}\text{C}$  (100 MHz) dans le  $\text{CDCl}_3$ .

Positions	Luteine $\delta_c$ (ppm)	PAF4 $\delta_c$ (ppm)
1	37,1	37,0
2	48,4	49,3
3	65,9	64,7
4	42,5	43,5
5	126,2	127,4
6	130,0	130,6
7	124,9	125,4
8	138,5	138,6
9	135,7	135,9
10	131,3	131,9
11	124,8	125,5
12	137,5	138,0
13	136,5	136,7
14	132,6	133,1
15	130,1	131,4
16	28,7	29,7
17	30,2	30,4
18	21,6	21,7
19	12,7	13,0
20	12,8	13,0
1'	34,0	34,3
2'	44,6	43,5
3'	65,1	63,7
4'	124,4	125,4
5'	125,6	125,6
6'	137,7	137,8
7'	128,7	129,7
8'	137,7	137,8
9'	135,1	135,1
10'	130,8	131,4
11'	124,5	125,4
12'	137,5	137,7
13'	136,4	136,7
14'	132,6	133,2
15'	130,0	130,6
16'	29,5	29,6
17'	24,3	24,0
18'	22,6	22,8

19'	13,1	13,0
20'	12,8	13,0

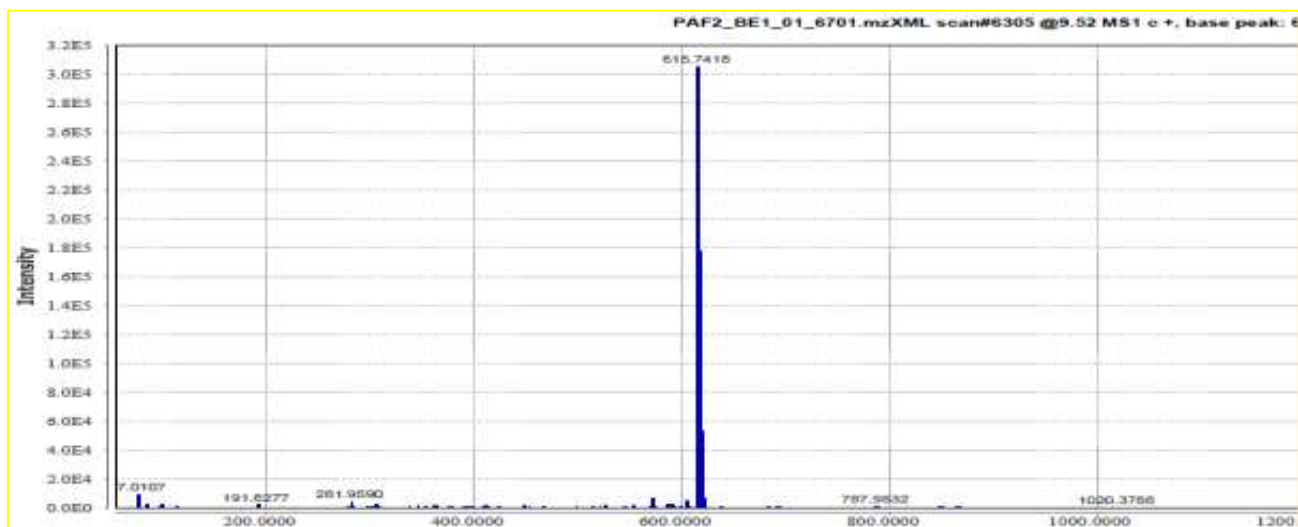


Figure 103 : spectre de masse ESI de PAF4

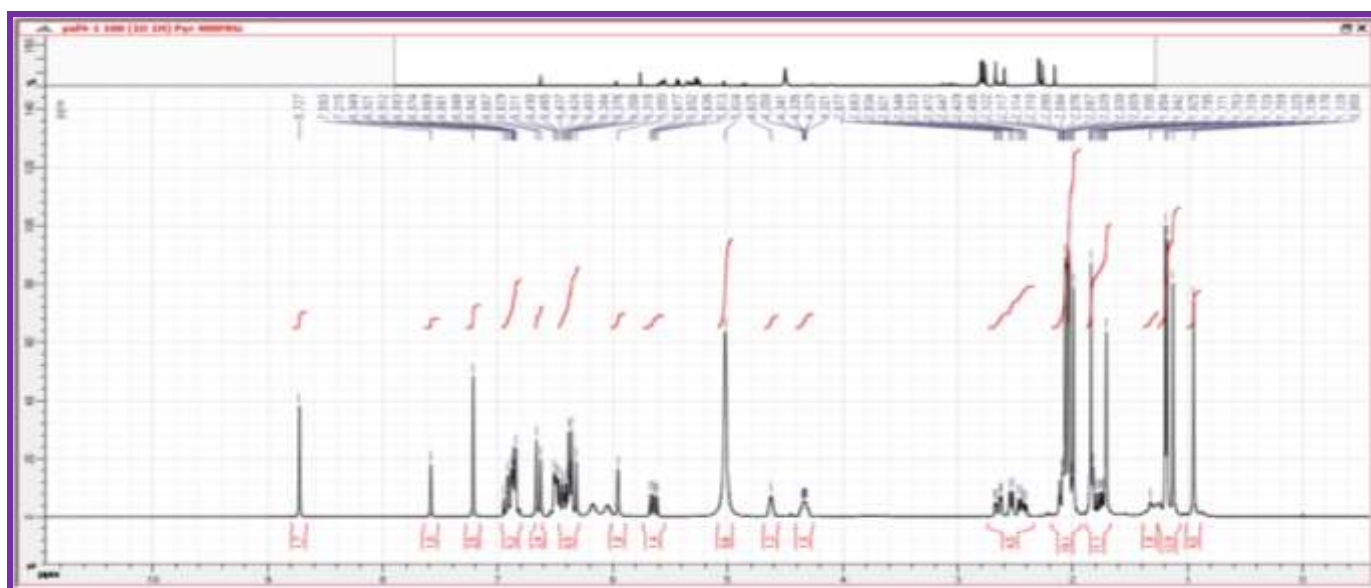


Figure 104 : Spectre de RMN  $^1\text{H}$  (pyridine- $d_6$ , 400 MHz) de PAF4



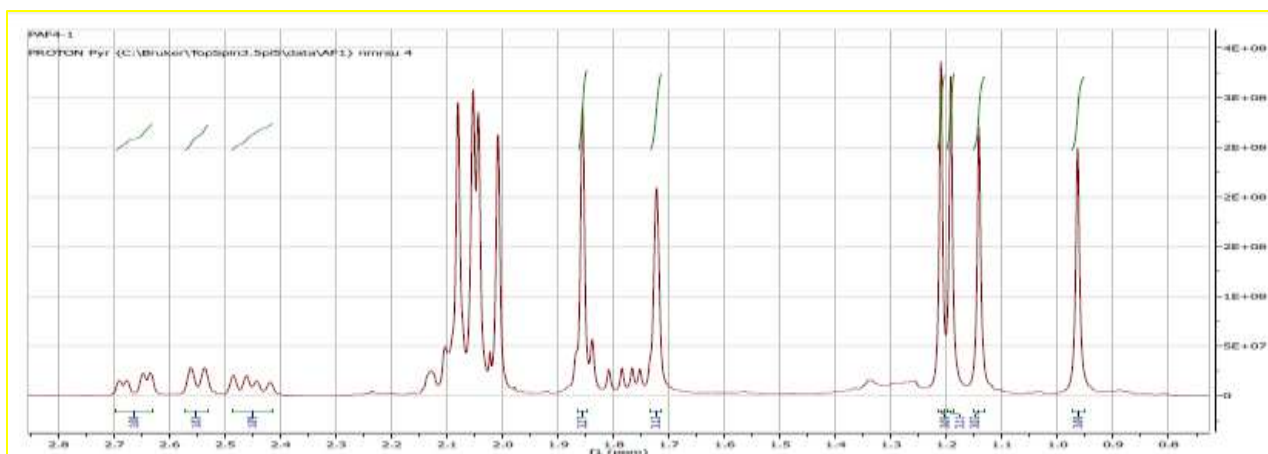


Figure 105 : Spectre de RMN  $^1\text{H}$  élargi (0,9-2,8 ppm) (pyridine- $d_6$ , 400 MHz) de PAF4

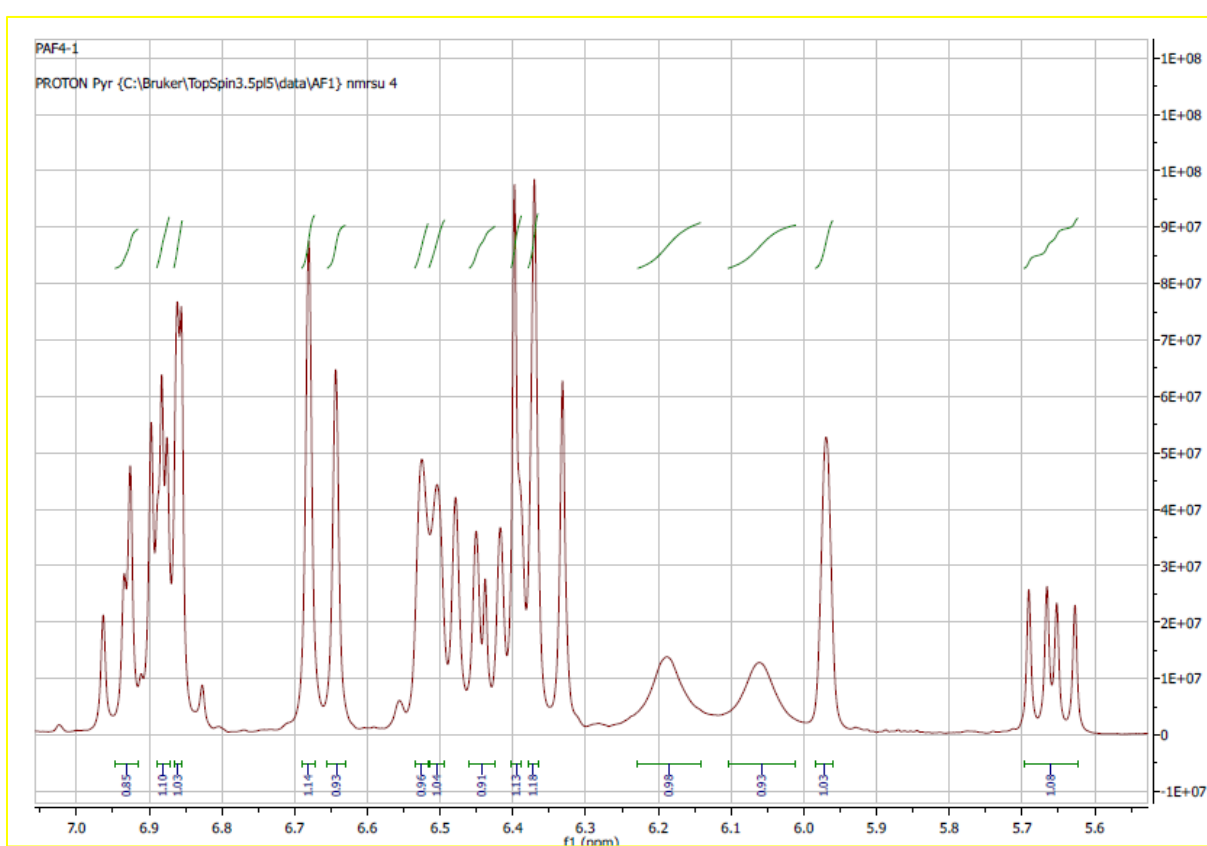


Figure 106 : Spectre de RMN  $^1\text{H}$  élargi (5-7 ppm) (pyridine- $d_6$ , 400 MHz) de PAF4

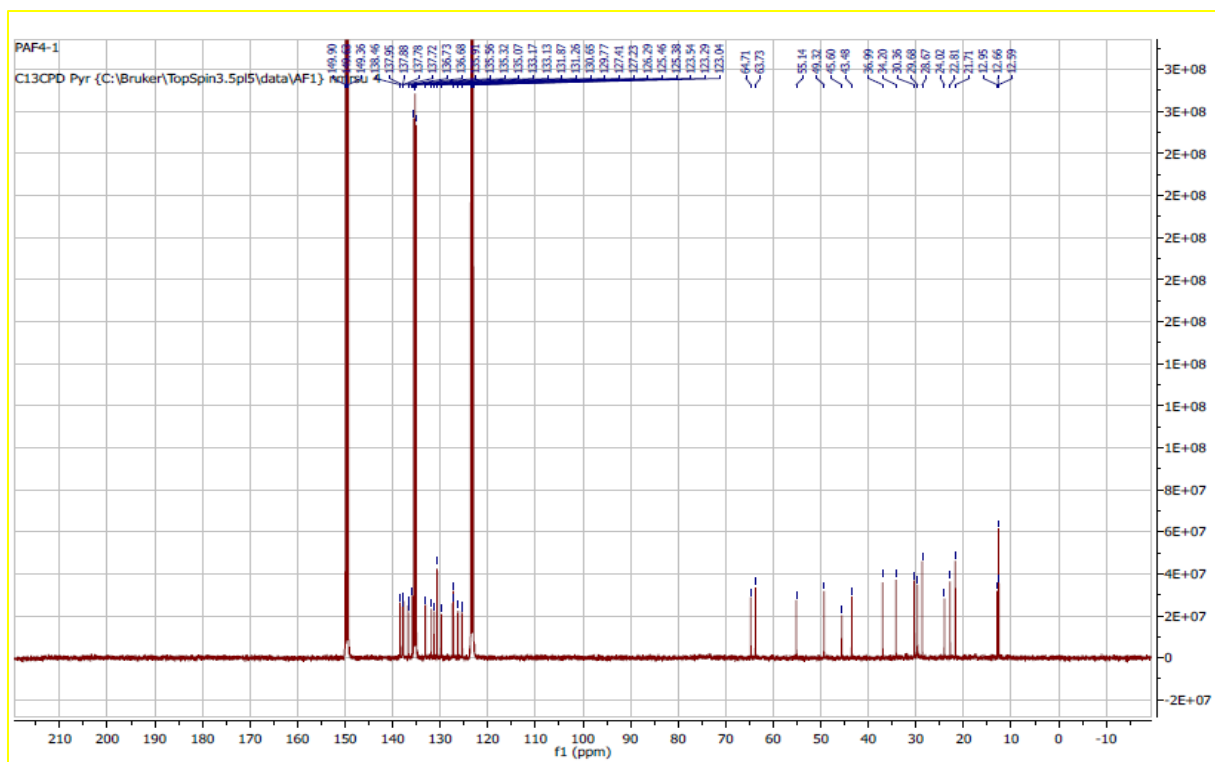


Figure 107: Spectre de RMN  $^{13}\text{C}$  (pyridine- $d_6$ , 100 MHz) de PAF4

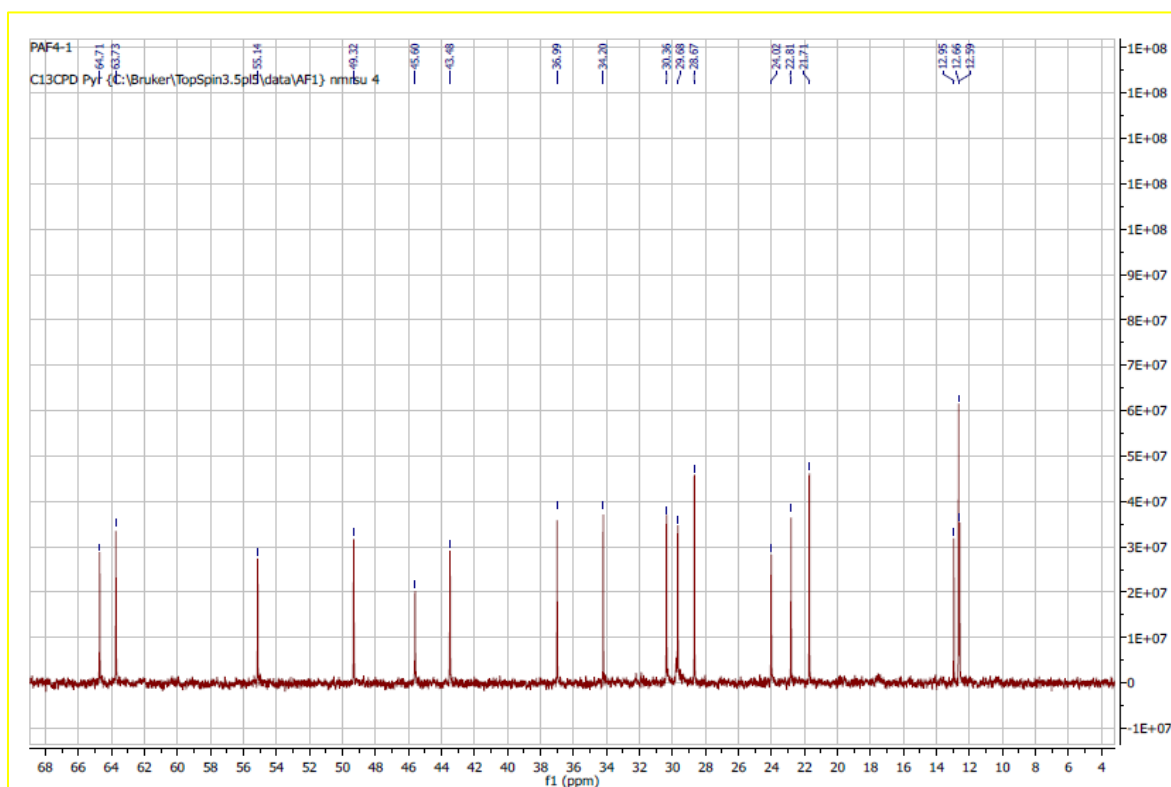


Figure 108 : Spectre de RMN  $^{13}\text{C}$  élargi (12-66 ppm) (pyridine- $d_6$ , 400 MHz) de PAF4

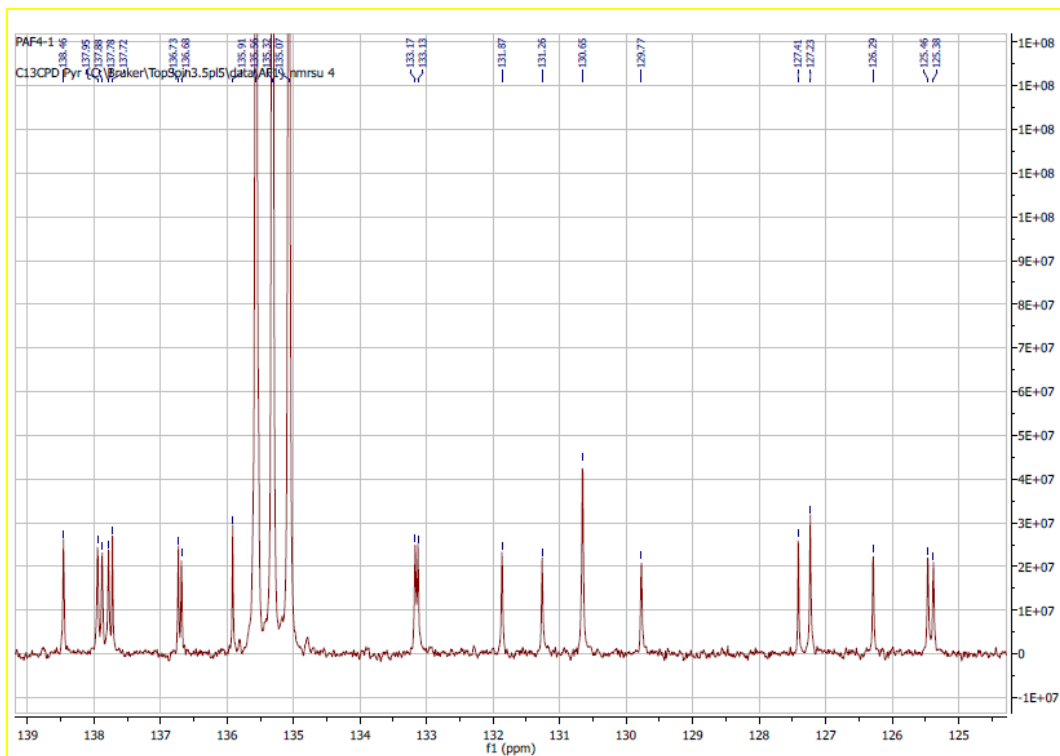


Figure 109 : Spectre de RMN  $^{13}\text{C}$  élargi (125-139 ppm) (pyridine- $d_6$ , 400 MHz) de PAF4

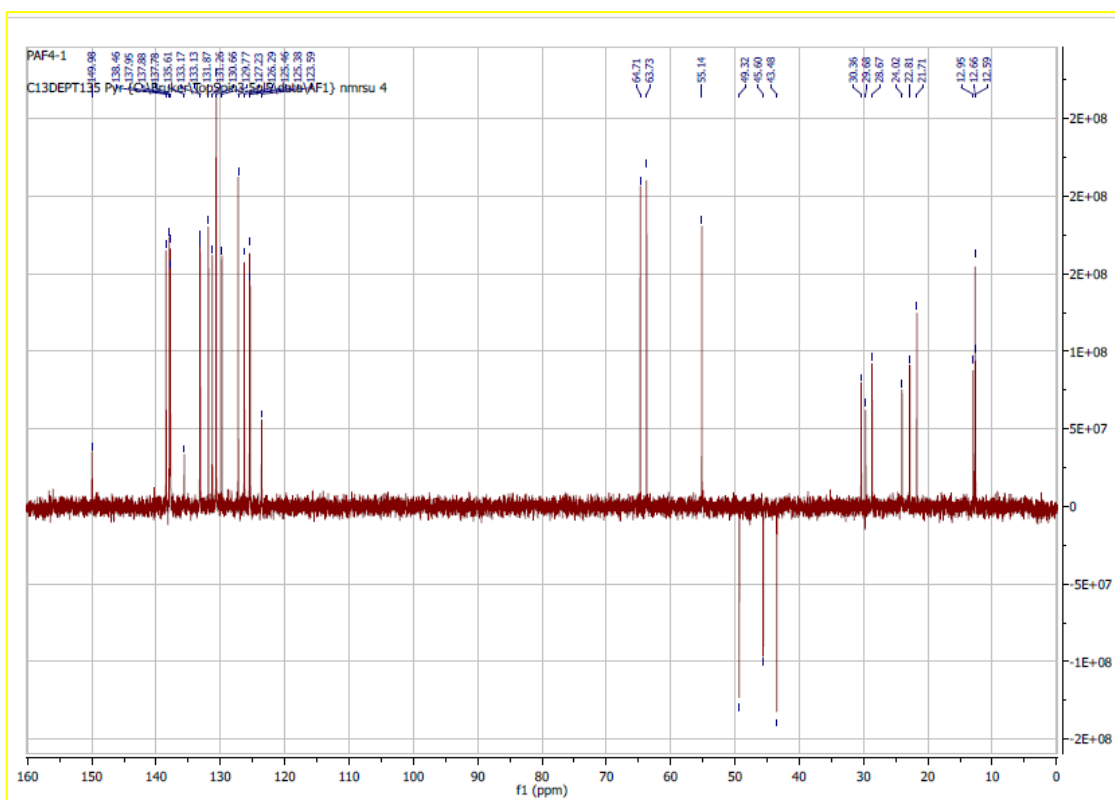


Figure 110: Spectre DEPT 135 de PAF4

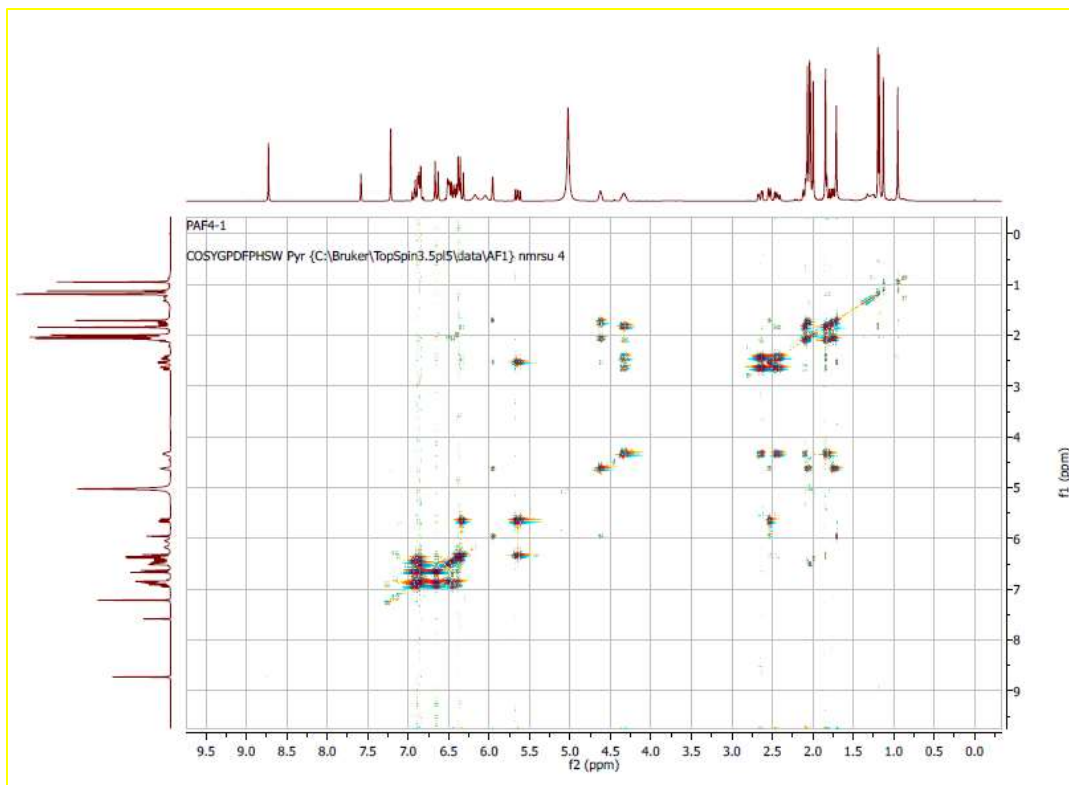


Figure 111 : Spectre COSY de PAF4

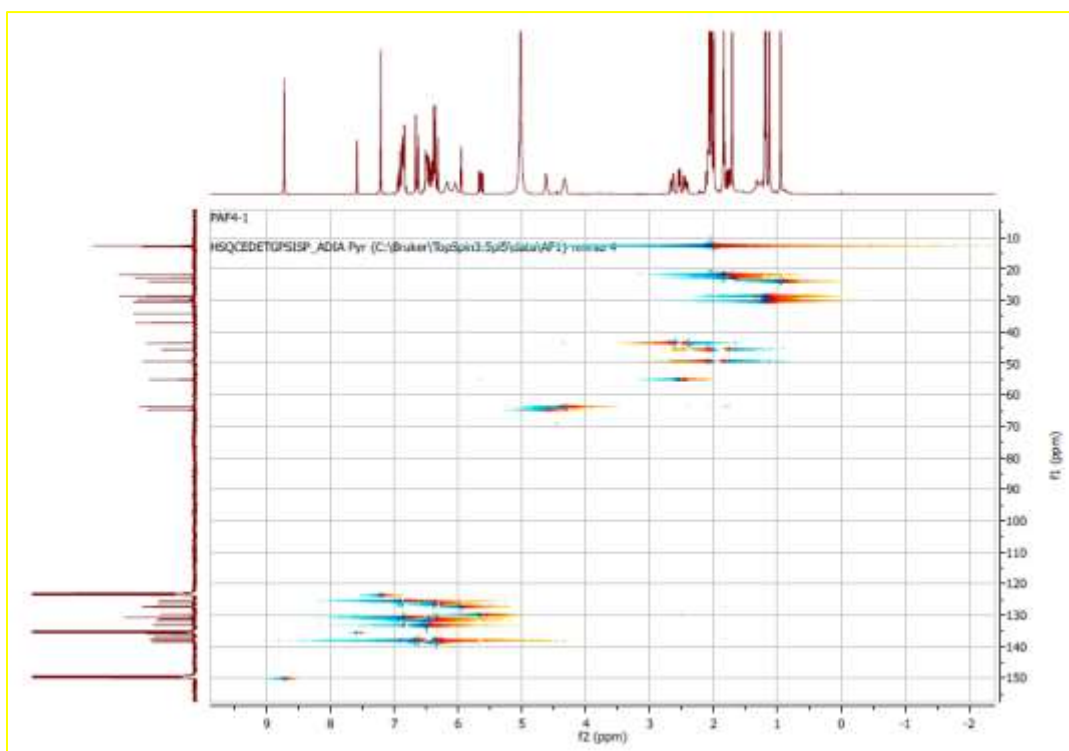


Figure 112 : Spectre HSQC de PAF4

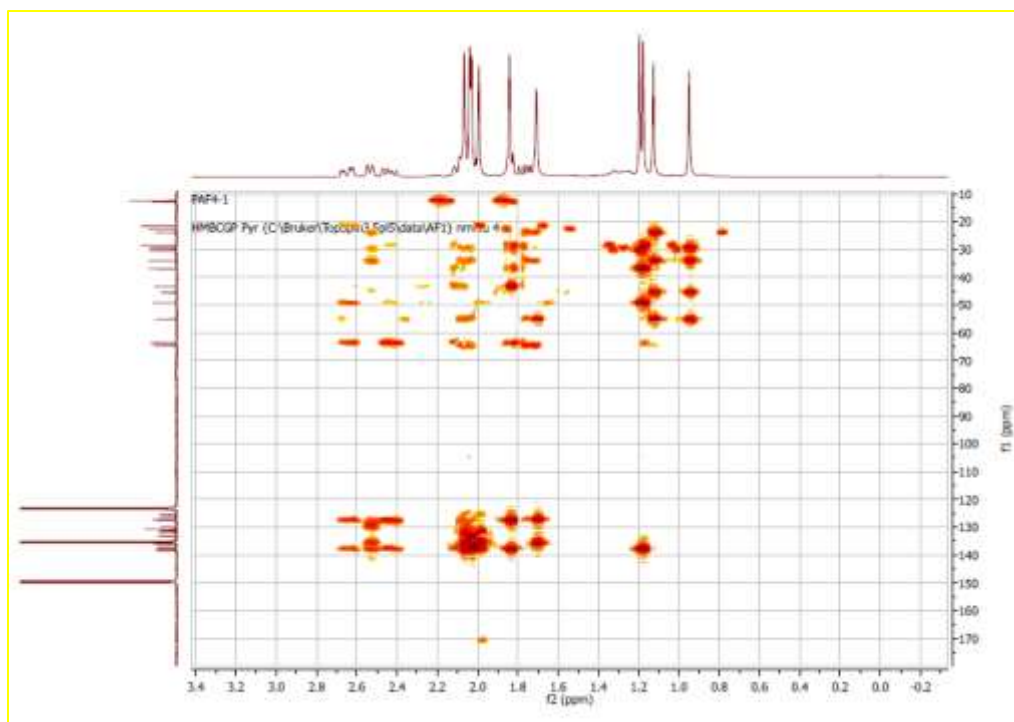


Figure 113 : Spectre HMBC de PAF4

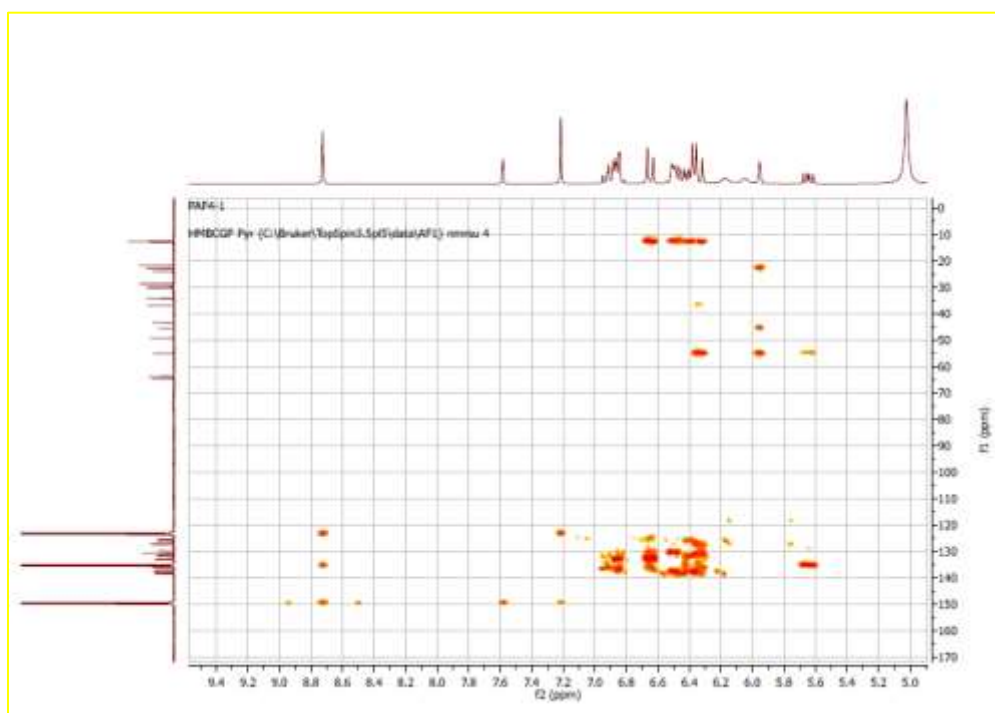
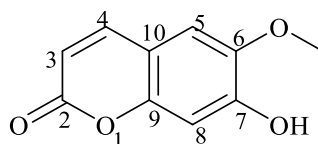


Figure 114 : Spectre HMBC élargi de PAF4

### II.3.10- Identification de la coumarine PAF1

Le composé PAF1 se présente sous forme de palette blanche dans le mélange EP- AE (85:15). Il est soluble dans le chloroforme. Son spectre de masse ESI+ à HR (Figure 116) montre le pic de l'ion quasi-moléculaire  $[M+H]^+$  à  $m/z$  193,0212 de formule brute  $C_{10}H_9O_4$ , renfermant sept insaturations. L'ensemble de ces données combinées à celles des données RMN 1D et 2D nous a permis d'attribuer à PAF1 la structure 162.



162

Son spectre de RMN  $^1H$  (Figure 117) montre la présence d'un singulet de trois protons à  $\delta_H$  3,96 attribuable à un groupement oxyméthyles et deux doublets d'un proton chacun à  $\delta_H$  7,60 (1H, d,  $J = 9,4$  Hz, H-4) et 6,28 (1H, d,  $J = 9,4$  Hz, H-3). Ce spectre met également en exergue deux singulets protons aromatiques à  $\delta_H$  6,92 (H-8) et 6,85 (H-5). Ces données suggèrent un squelette de coumarine disubstituée en position 6 et 7 (Cardona *et al.*, 1992).

En plus on observe le singulet d'un groupement hydroxyle à  $\delta_H$  6,16.

L'analyse de son spectre de RMN  $^{13}C$  (Figure 118) associé à celui de DEPT 135 (Figure 119) permet de révéler l'existence de cinq carbones quaternaires incluant un carbonyle de lactone de coumarine à  $\delta_C$  161,8 et un oxyméthyle  $\delta_C$  56,8. En se basant ces informations, PAF1 est donc une coumarine portant un groupement hydroxyle et un groupement méthoxyle.

Les positions de ces groupements ont été déduites des corrélations observées sur le spectre HMBC (Figure 122) entre :

- Les protons du méthoxyle à  $\delta_H$  3,96 et le carbone C-6 ( $\delta_C$  144,0) ;
- Les protons du groupement hydroxyle à  $\delta_H$  6,16 et le carbone C-6 ( $\delta_C$  144,0), C-7( $\delta_C$  150), C-8( $\delta_C$  103,6) ;
- Le proton H-5 et les carbones C-6 ( $\delta_C$  144,0), C-10 ( $\delta_C$  111,9) ;
- Le proton H-8 et les carbones C-7 ( $\delta_C$  150), C-9 ( $\delta_C$  150,6) ;
- Le proton H-4 et les carbones C-3 ( $\delta_C$  113,8), C-10 ( $\delta_C$  111,9) ;

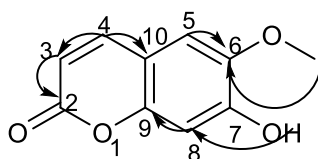
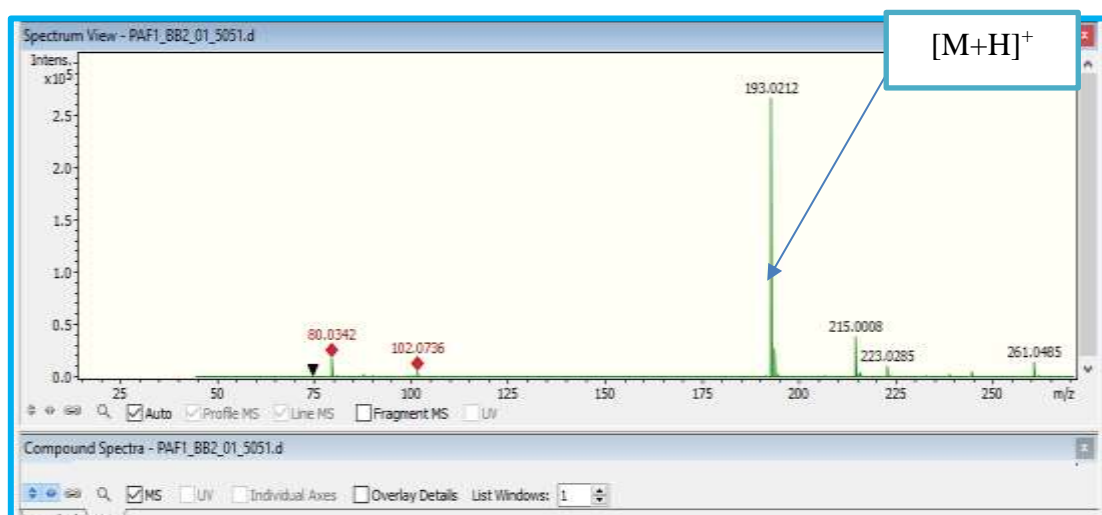


Figure 115: Quelques corrélations observées sur le spectre HMBC de PAF1.

L'ensemble de ces données comparées à celles de la littérature nous a permis d'attribuer à PAF1 la structure **162** qui est celle de la scopoletine, encore appelé 7-hydroxy-6-methoxy-2H-1-benzopyran-2-one précédemment isolée du genre *conyza* (João et al., 1998)

**Tableau 19 : Données de RMN  $^{13}\text{C}$  (150 MHz) et  $^1\text{H}$  (600 MHz) dans le  $\text{CDCl}_3$  de PAF1 comparées à celles de la scopoletine RMN  $^{13}\text{C}$  (75 MHz) et  $^1\text{H}$  (300 MHz) dans la  $\text{CDCl}_3$ .**

Position du carbone	PAF1 $\delta_{\text{C}}$ (ppm)	PAF1 $\delta_{\text{H}}$ (ppm)	Scopoletine $\delta_{\text{C}}$ (ppm)	Scopoletine $\delta_{\text{H}}$ (ppm)
1	-	-	-	-
2	161,8	-	161,5	-
3	113,8	6,27 (d, $J = 9,5\text{Hz}$ , 1H)	113,4	6,28 (d, $J = 9,5\text{Hz}$ , 1H)
4	143,6	7,59 (d, $J = 9,5\text{Hz}$ , H)	143,3	7,60 (d, $J = 9,5\text{Hz}$ , 1H)
5	107,8	6,84 (s, 1H)	107,4	6,85 (s, 1H)
6	144,6	-	144,0	-
7	150,0	-	150,2	-
8	103,6	6,92 (s, 1H)	103,2	6,92 (s, 1H)
9	150,6	-	150,2	-
10	111,9	-	111,5	-
7-OH	-	6,16 (s, 1H)	-	6,17 (s, 1H)
6-OCH <sub>3</sub>	56,8	3,95 (s, 3H)	56,4	3,96 (s, 3H)



**Figure 116:** Spectre de masse ESI de PAF1

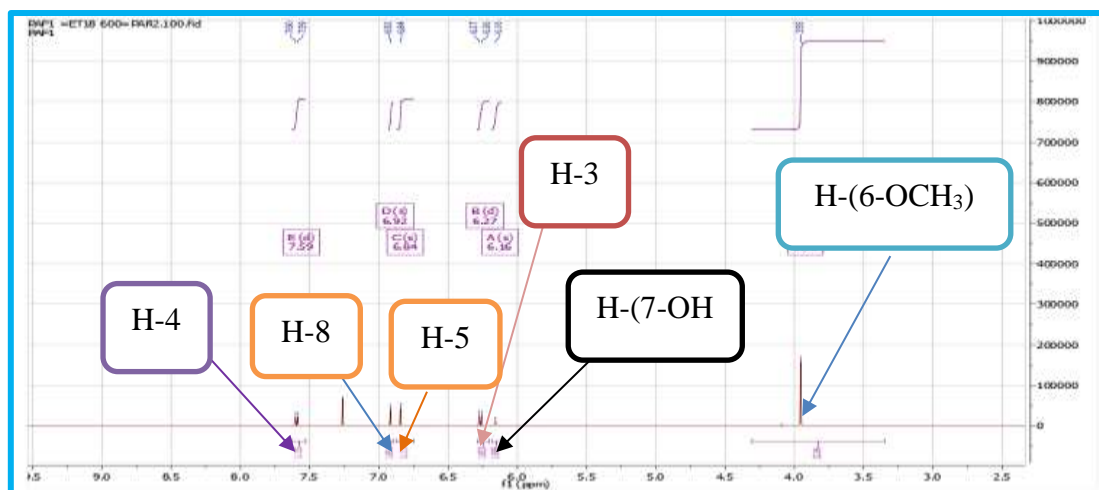


Figure 117 : Spectre de RMN  $^1\text{H}$  ( $\text{CDCl}_3$ , 600 MHz) de PAF1

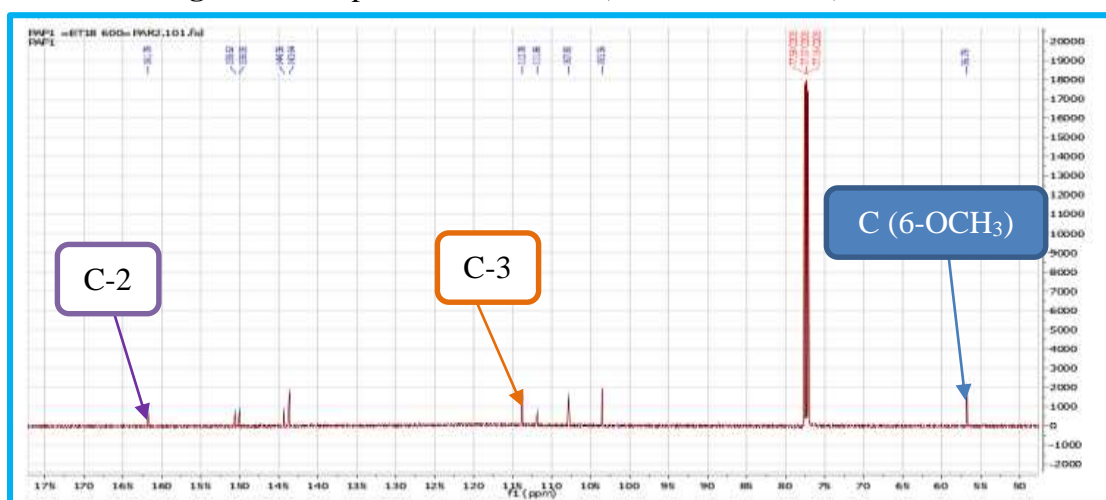


Figure 118: Spectre de RMN  $^{13}\text{C}$  ( $\text{CDCl}_3$ , 150 MHz) de PAF1

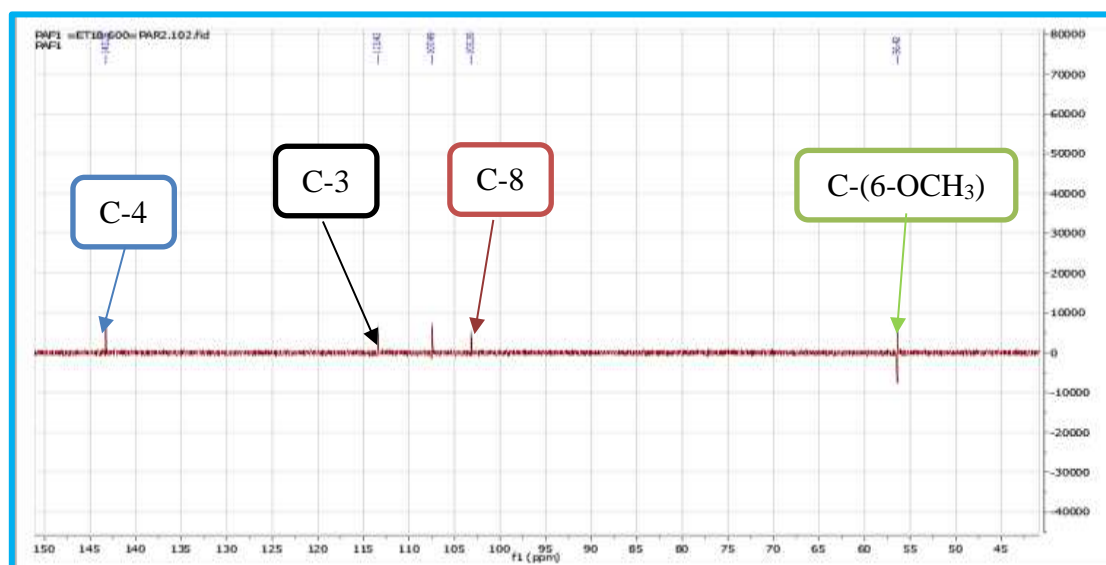


Figure 119 : Spectre DEPT 135 de PAF1



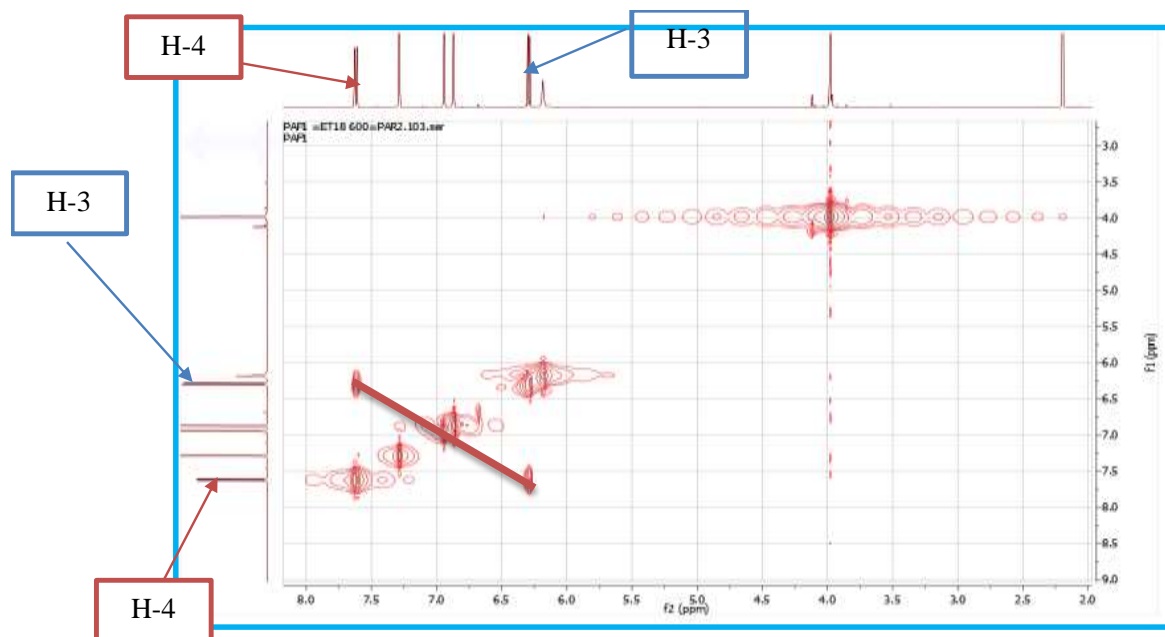


Figure 120: Spectre COSY de PAF1

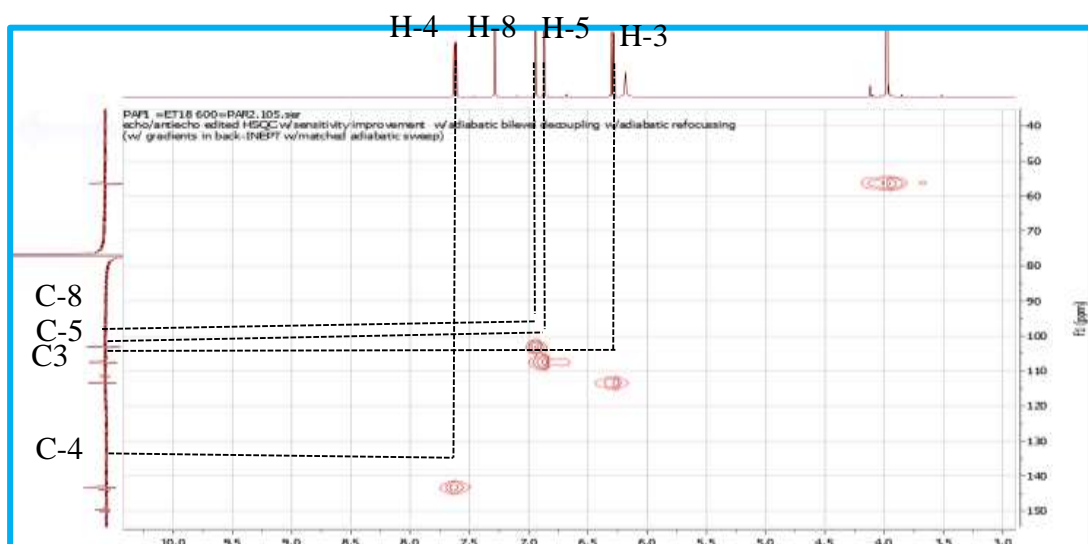


Figure 121: Spectre HSQC de PAF1

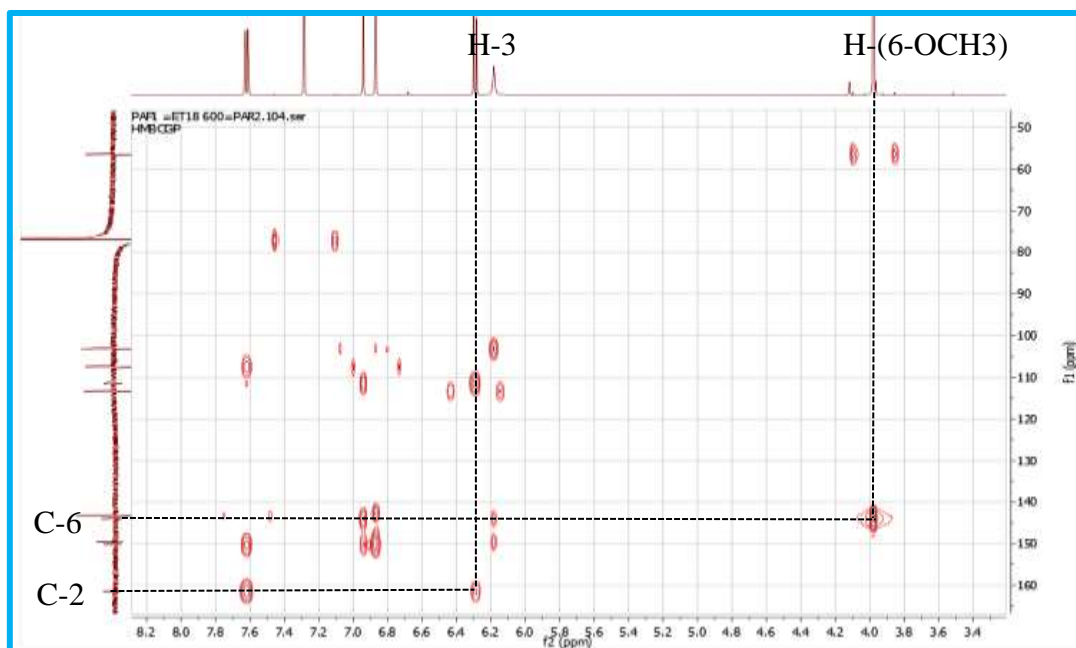
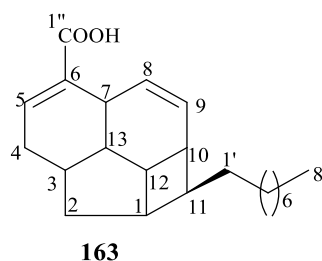


Figure 122: Spectre HMBC de PAF1

### II.3.11-Les acides endiandriques.

#### II.3.11.1- Identification du composé BLR6

Le composé BLR6 a été obtenu sous forme de cristaux blancs dans l'hexane. Il répond positivement au test des acides carboxyliques, en se dissolvant complètement dans une solution de bicarbonate de sodium avec effervescence et dégagement d'un gaz qui trouble l'eau de chaux. La composition moléculaire s'est révélée être  $C_{22}H_{32}O_2$  par analyse du spectre de masse à haute résolution HREIMS ( $[M]^+$ ,  $m/z$  328,2394, ce qui correspond à 7 degrés d'insaturations. L'ensemble de ces données combinées à celles des données RMN 1D et 2D nous a permis d'attribuer à BLR6 la structure **163**.



En effet, son spectre de RMN  $^{13}C$  (figure **126**) combiné à celui de DEPT 135 (figure **127**) et HSQC (figure **129**) a permis d'observer :

- Les résonances des groupes méthines à  $\delta_C$  41,2 (C-1), 42,7 (C-3), 33,2 (C-7), 34,5 (C-10), 45,7 (C-11), 33,4 (C-12) et 35,6 (C-13) et deux groupes méthylènes à  $\delta_C$  37,1 (C-

2), 32,7 (C-4) caractéristiques du squelette d'acide endiandrique tétracyclique de type  $\Delta^{5,6}$  et  $\Delta^{8,9}$  (Bandaranayake et al., 1980 ; Bandaranayake et Banfield, 1981; Banfield et al., 1994 ; Chouna et al., 2009),

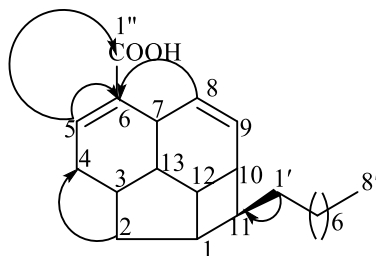
- Des signaux d'un groupe carbonyle conjugué à  $\delta_C$  172,9 (C-1").
- Des groupes méthines oléfiniques à  $\delta_C$  133,9 (C-5), 126,8 (C-8) et 127,5 (C-9) et un Carbone quaternaire oléfinique à  $\delta_C$  145,0 (C-6)

Sur le spectre de RMN  $^1H$  (figure 125) on observe :

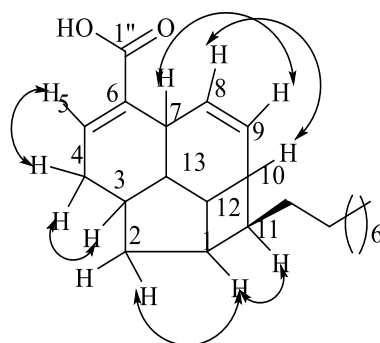
- Des signaux de trois protons oléfiniques à  $\delta_H$  7,28 (1H, dt,  $J = 7,5, 3,7$  Hz, H-5) et 5,61 (2H, sl, H-8, H-9)
- Des signaux d'un méthyle terminal à  $\delta_H$  0,89 (t,  $J = 6,9$  Hz) et de groupes méthylène à  $\delta_H$  entre 1,27-1,46 (14H, sl, H-1'-H-7'), ce qui suggère la présence d'un fragment de *n*-octyle. La présence de ce groupement a été confirmée par le spectre de RMN  $^{13}C$ , qui présentait des signaux caractéristiques de la chaîne alkyle compris entre  $\delta_C$  14,1 et 37,2.

Sur le spectre HMBC (figure 130) on observe les corrélations entre :

- Les protons H-2 ( $\delta_H$  1,23-1,61) et H-13 ( $\delta_C$  2,09) et le carbone C-4 ( $\delta_C$  32,7). La fixation du groupement *n*-octyle sur le carbone C-11 a été confirmée par la corrélation HMBC entre le proton à  $\delta_H$  1,27-1,46 (2H, m, H-1') et le carbone C-11 ( $\delta_C$  45,7).
- Le proton H-5 ( $\delta_H$  7,28) à C-6 ( $\delta_C$  133,9) et C-1'' ( $\delta_C$  172,3) et de H-8 ( $\delta_C$  5,61) à C-6 ( $\delta_C$  133,9) ce qui a permis de fixer le groupe carboxyle en C-6.



**Figure 123:** Quelques corrélations observées sur le spectre HMBC de BLR6.



**Figure124:** Quelques corrélations observées sur le spectre COSY de PAF3.

L'ensemble de ces données de RMN comparées à celles de la littérature nous a permis d'attribuer à BLR6 la structure **163** qui est celle de l'acide beilschmiedique D précédemment isolée des écorces de *B. anarcadoides* par Chouna *et al.* en 2009.

**Tableau 20:** Données spectrales de RMN  $^{13}\text{C}$  (125 MHz) de BLR6 dans  $\text{CDCl}_3$  Comparées à celles de l'acide beilschmiedique D  $^{13}\text{C}$  (125 MHz) dans  $\text{CDCl}_3$  (Chouna *et al.*, 2009).

Position du carbone	Acide beilschmiedique D	BLR6
1	41,2	41,2
2	37,0	37,1
3	42,3	42,3
4	32,7	32,7
5	145,0	144,9
6	133,8	133,9
7	33,2	33,2
8	127,3	126,8
9	130,3	127,5
10	34,4	34,5
11	45,7	45,7
12	33,4	33,5
13	35,6	35,6
1'	37,2	37,2
2'	27,1	27,1
3'	29,3	29,7
4'	29,0	29,6
5'	29,1	29,7
6'	31,9	31,9
7'	22,6	22,7
8'	14,1	14,1
1''	172,3	172,9

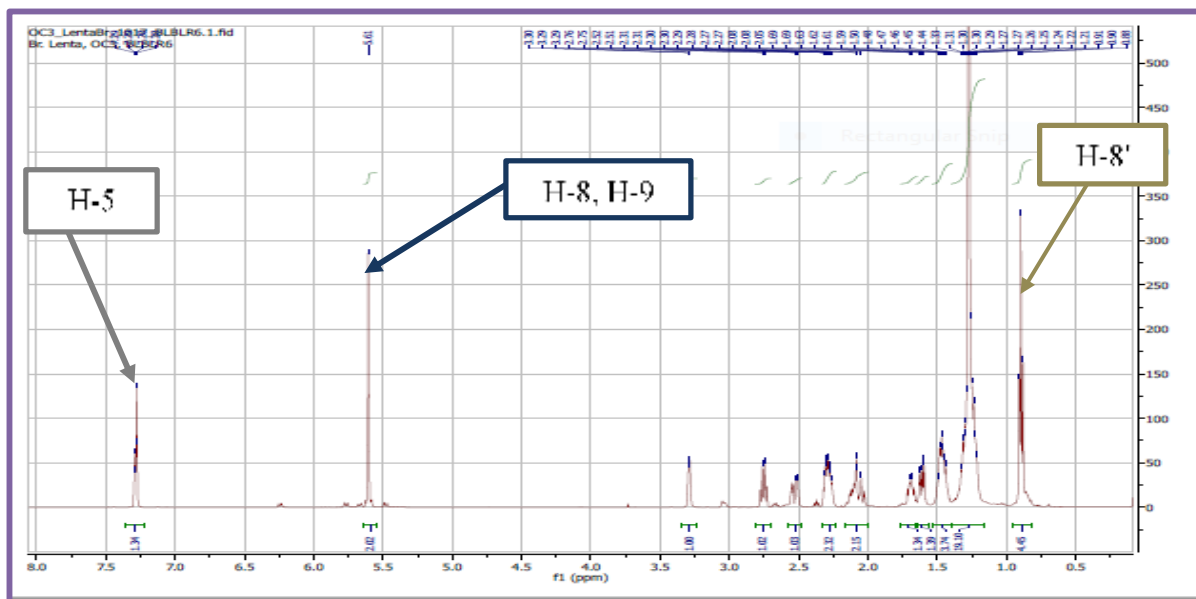


Figure 125 : Spectre de RMN  $^1\text{H}$  ( $\text{CDCl}_3$ , 500MHz) de BLR6

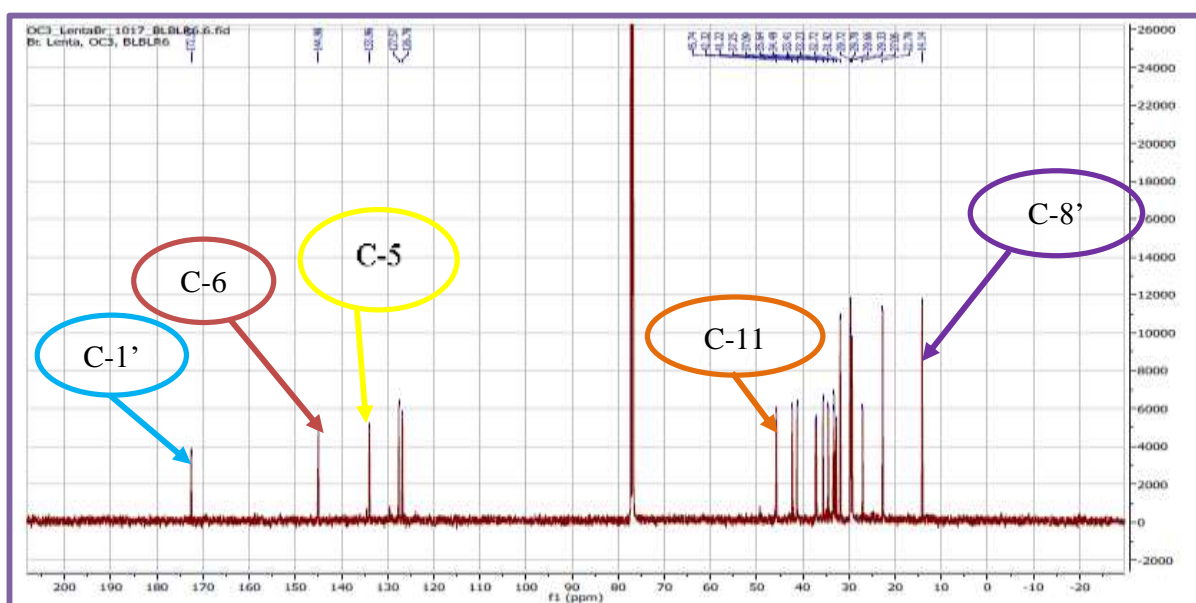


Figure 126 : Spectre de RMN  $^{13}\text{C}$  ( $\text{CDCl}_3$ , 125MHz) de BLR6

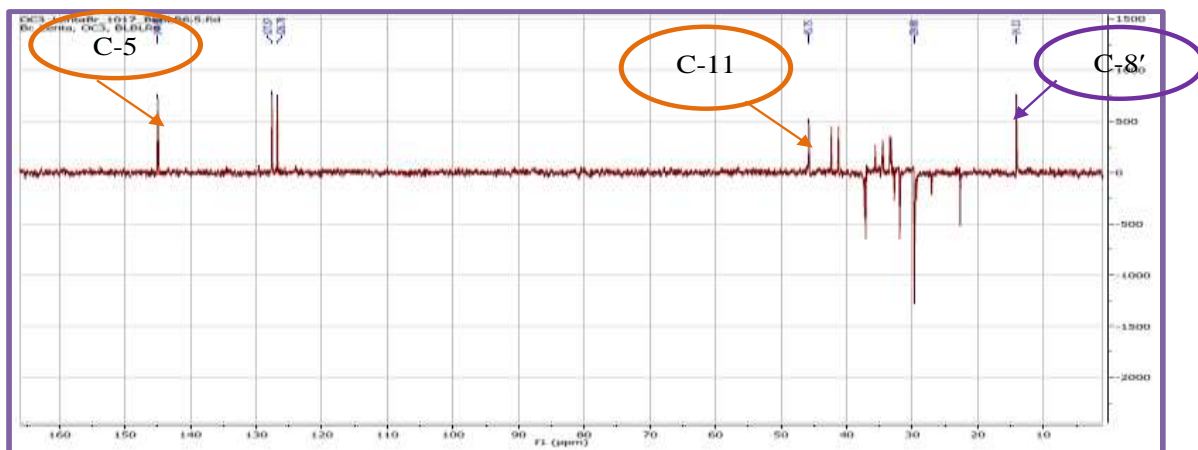


Figure 127 : Spectre DEPT135 de BLR6

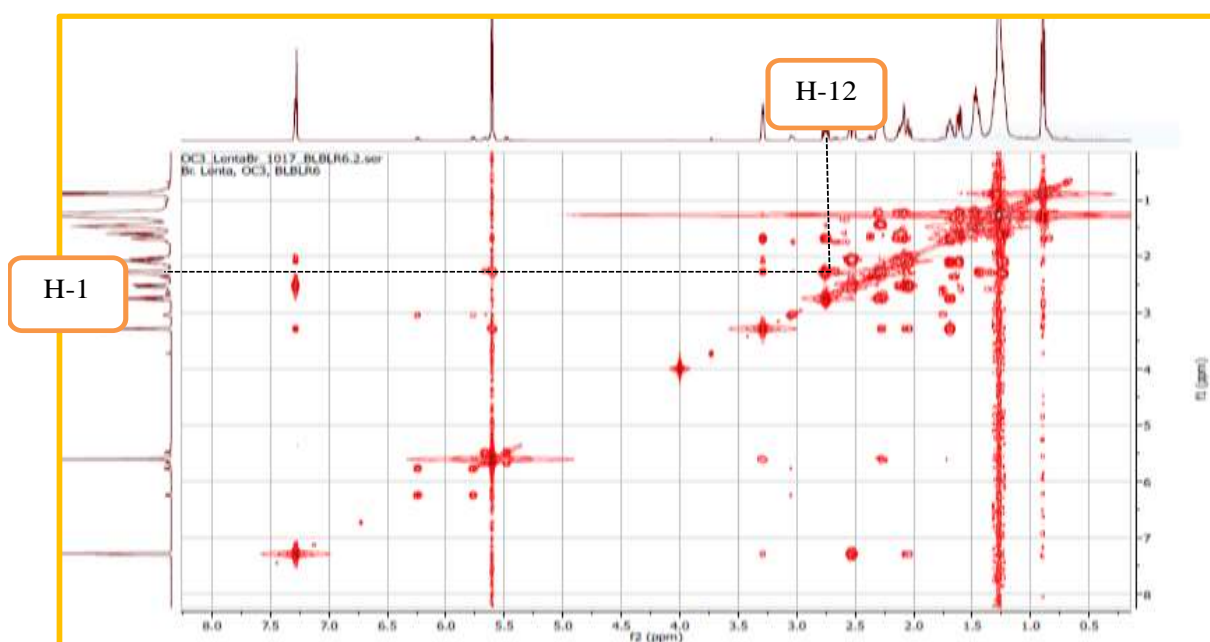


Figure 128 : Spectre COSY de BLR6

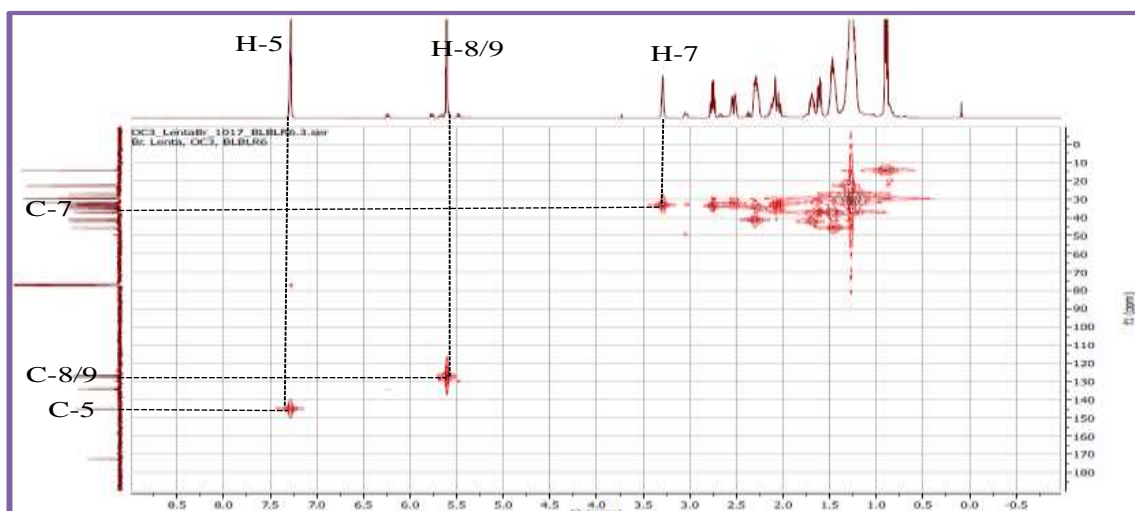


Figure 129: Spectre HSQC de BLR6

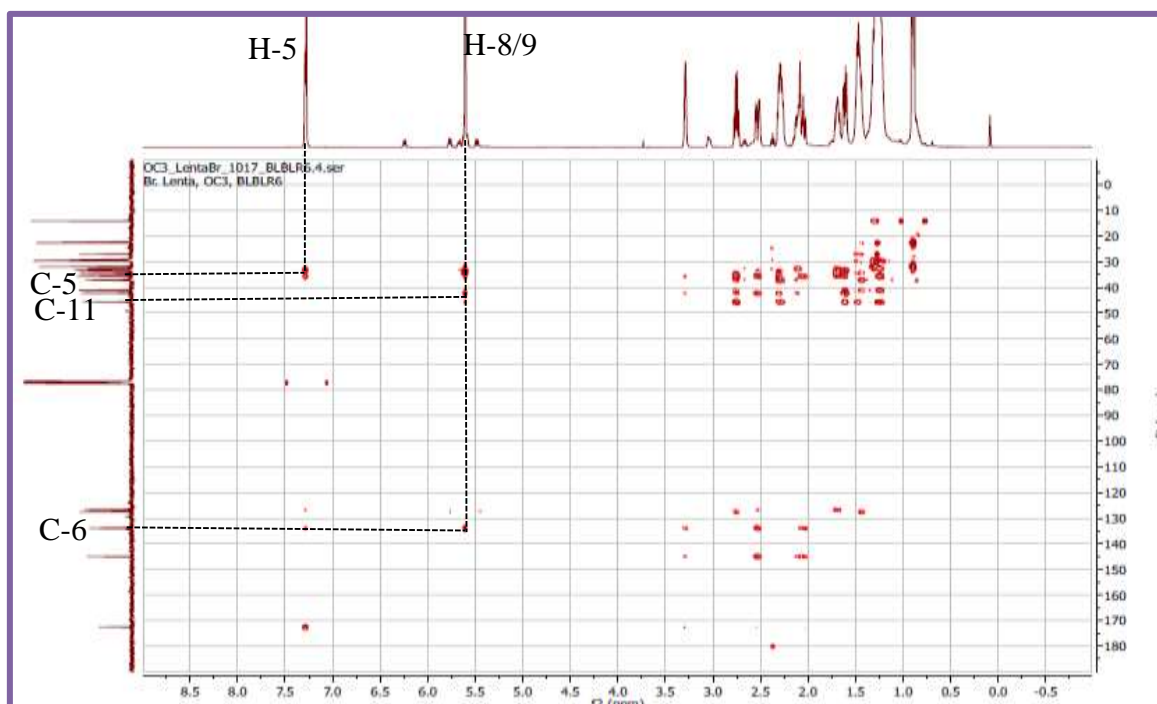
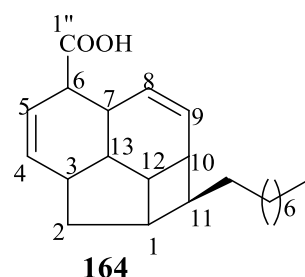


Figure 130 : Spectre HMBCde BLR6

### II.3.11.2- Identification du composé BLR5

BLR5 a été obtenu sous forme de cristaux blancs dans l'hexane. Il répond positivement au test des acides carboxyliques, en se dissolvant complètement dans une solution de bicarbonate de sodium avec effervescence et dégagement d'un gaz qui trouble l'eau de chaux. Son spectre HREIMS présente un pic d'ion moléculaire  $[M]^+$  à  $m/z$  328,2394, ce qui correspond à la formule moléculaire  $C_{22}H_{32}O_2$  renfermant 7 degrés d'insaturations. L'ensemble de ces données combinées à celles de données RMN 1D et 2D nous a permis d'attribuer à BLR5 la structure **164**.



En effet, son spectre de RMN  $^{13}C$  (figure **133**) combiné à celui de DEPT 135 (figure **134**) a permis d'observer :

- Les résonances des groupes méthines à  $\delta_C$  41,2 (C-1), 36,9 (C-3), 49,3 (C-6), 32,8 (C-7), 34,9 (C-10), 46,0 (C-11), 33,1 (C-12) et 42,1 (C-13) et un groupe méthylène à  $\delta_C$  34,7 (C-2) caractéristiques du squelette d'acide endiandrique tétracyclique de type  $\Delta^{4,5}$  et  $\Delta^{8,9}$

(Bandaranayake *et al.*, 1980 ; Bandaranayake et Banfield, 1981 ; Banfield *et al.*, 1994 ; Chouna *et al.*, 2009),

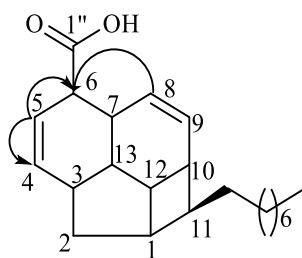
- Des signaux d'un groupe carbonyle conjugué à  $\delta_C$  180,9 (C-1'').
- Des groupes méthines oléfiniques à  $\delta_C$  134,6 (C-4), 123,8 (C-5), 129,5 (C-8) et 129,5 (C-9)

Sur son spectre de RMN  $^1H$  (Figure 132), on observe des :

- Signaux de quatre protons *cis* oléfiniques à  $\delta_H$  6,24 (1H, d,  $J = 9,4$  Hz, H-4), 5,76 (1H, dt,  $J = 9,9 ; 2,5$  Hz, H -5), 5,49 (1H, d,  $J = 10,0$  Hz, H-8), 5,64 (1H, dt,  $J = 10,0 ; 3,1$  Hz, H-9) ;
- Des signaux de groupes méthylène à  $\delta_H$  1,21-1,46 (14H, sl, H-1', H-7') et un groupe méthyle à  $\delta_H$  0,88 (t,  $J = 6,9$  Hz) ;

Les données de RMN  $^1H$  et  $^{13}C$  de BLR5 sont similaires à celles de BLR6. En effet, on note sur ce spectre l'absence de carbone quaternaire oléfinique et la présence d'un groupe carboxylique non conjugué à  $\delta_C$  180,9. La présence du signal du groupe carboxylique non conjugué à  $\delta_C$  180,9 (C-1'') et d'un groupe méthine à  $\delta$  49,3 (C-6), suggère le déplacement de la double liaison de C5-C6 en C4-C5. Ce changement explique le déblindage du carbone C-13 ( $\delta_C$  42,1) et le blindage du carbone C-3 ( $\delta_C$  36,9) par rapport à ceux du composé BLR6, apparus à  $\delta_C$  35,6 (C-13) et 42,7 (C-3) respectivement.

Sur son spectre HMBC on observe les corrélations entre le méthine à  $\delta_H$  3,04 (1H, d,  $J = 2,0$  Hz, H-6) et C-4 ( $\delta_C$  134,6), C-5 ( $\delta_C$  123,8), C-7 ( $\delta_C$  32,8) et C-1'' ( $\delta_C$  180,8); entre le proton H-5 ( $\delta_C$  5,73) et C-4 ( $\delta_C$  134,6) , C-6 ( $\delta_C$  49,3), C-7 et C-1'' ( $\delta_C$  180,9) et entre le proton H-8 ( $\delta_C$  5,47) et C-6 ( $\delta_C$  49,3). La valeur de la masse identique à celle de BLR6 montre que les deux composés sont des isomères de position l'un de type  $\Delta^{4,5}$  et  $\Delta^{8,9}$  et l'autre de type  $\Delta^{5,6}$  et  $\Delta^{8,9}$ . Le groupe carboxyle a été situé en C-6 grâce aux corrélations observées sur le spectre HMBC (Figure 135) entre le proton H-5 ( $\delta_H$  5,73) et les carbones à  $\delta_C$  49,3 (C-6) et 180,9 (C-1''). Ainsi BLR5 a alors été identifié à l'acide beilschmidique E (164) précédemment isolé des écorces de *B. anarcadoides* par Chouna et collaborateurs en 2009.

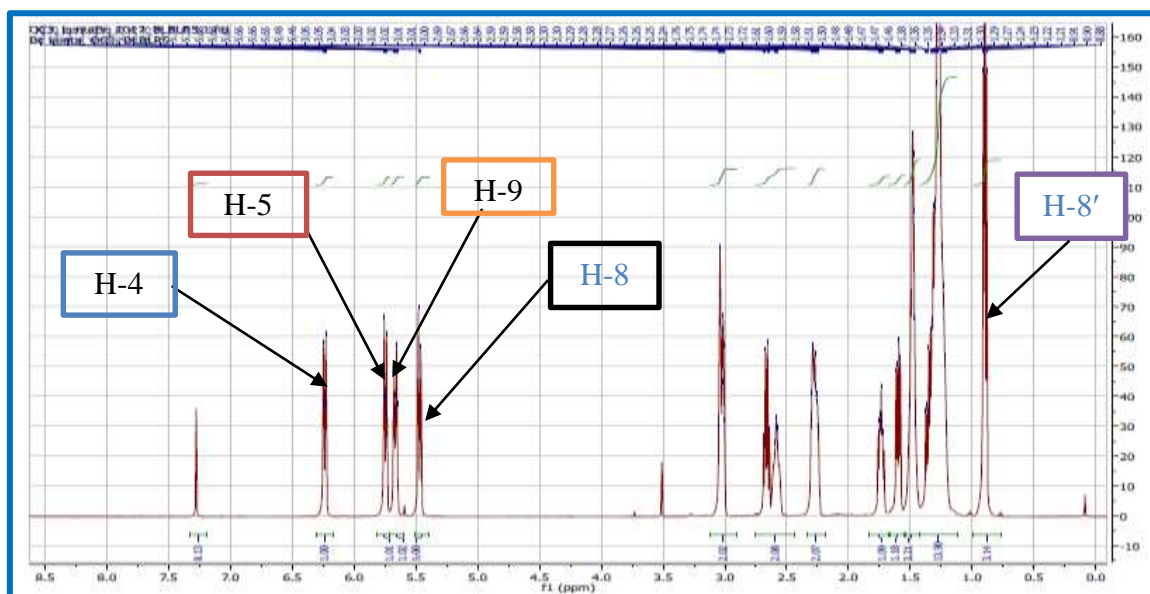


**Figure 131:** Quelques corrélations observées sur le spectre HMBC de BLR5.



**Tableau 21: Données spectrales de RMN  $^{13}\text{C}$  (125 MHz) de BLR5 dans  $\text{CDCl}_3$  Comparées à celles de l'acide beilschmidique E  $^{13}\text{C}$  (125 MHz) dans  $\text{CDCl}_3$ .**

Position du carbone	Acide beilschmidique E	BLR6
1	41,2	41,2
2	34,7	34,7
3	36,9	36,9
4	134,6	134,6
5	123,8	123,8
6	49,2	49,3
7	32,0	32,8
8	129,5	129,5
9	129,5	129,5
10	34,9	34,9
11	46,0	46,0
12	33,0	33,1
13	42,0	42,1
1'	37,2	37,2
2'	27,0	27,0
3'	29,6	29,7
4'	29,3	29,3
5'	29,6	29,7
6'	31,9	31,9
7'	22,6	22,7
8'	14,1	14,1
1''	180,8	180,9



**Figure 132 : Spectre de RMN  $^1\text{H}$  ( $\text{CDCl}_3$ , 500 MHz) de BLR5**

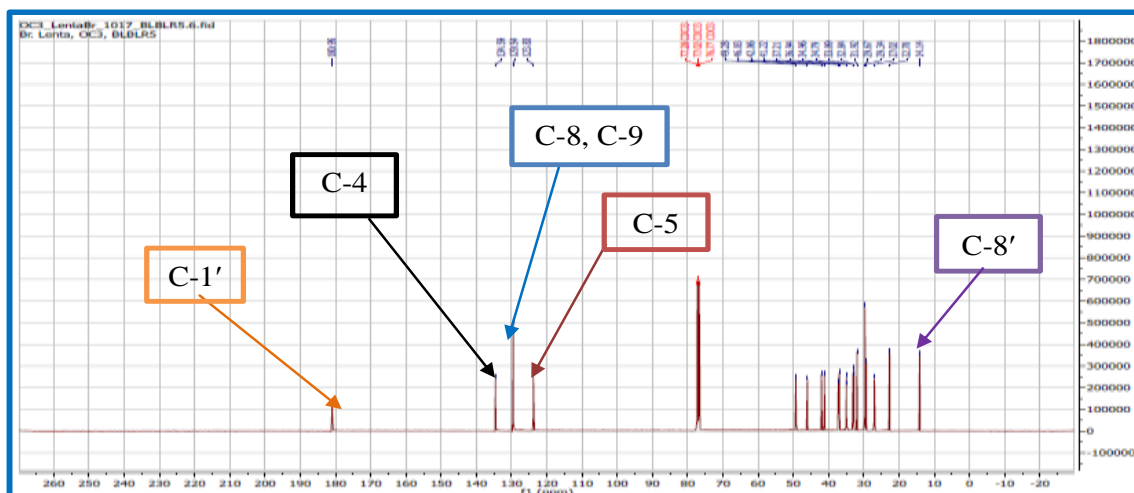


Figure 133: Spectre de RMN  $^{13}\text{C}$  ( $\text{CDCl}_3$ , 125 MHz) de BLR5

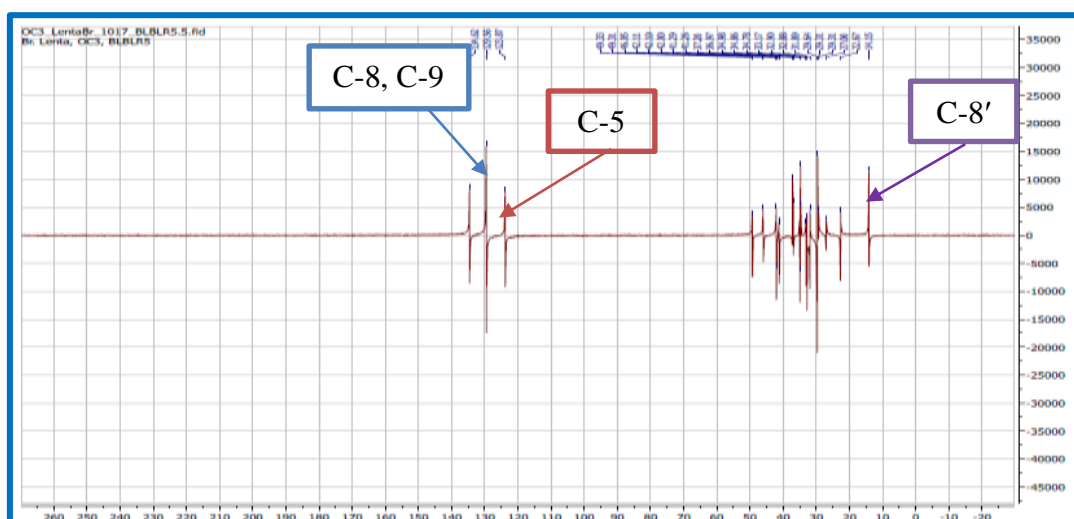


Figure 134 : Spectre DEPT 135 de BLR5

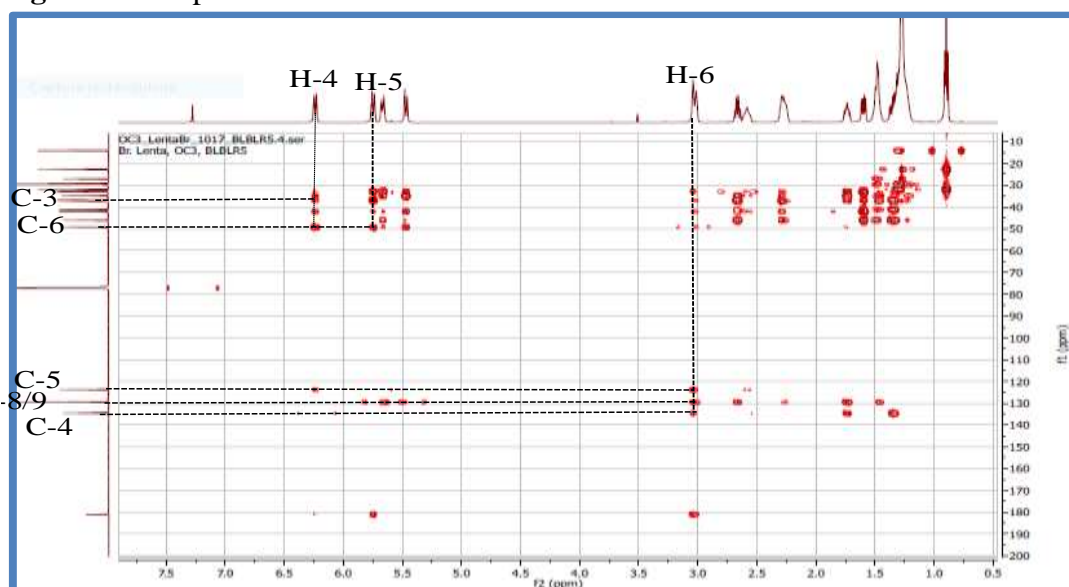
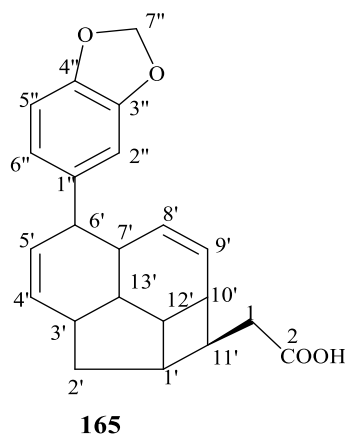


Figure 135 : Spectre HMBC de BLR5

### II.3.11.3- Identification de BLR4

Le composé BLR4 a été obtenu sous forme de poudre blanche dans le mélange Hex-AE (7 :3) et est soluble dans l'acétone- $d_6$ . Il répond positivement au test des acides carboxyliques, en se dissolvant complètement dans une solution de bicarbonate de sodium avec effervescence et dégagement d'un gaz qui trouble l'eau de chaux. Son spectre de masse ESI à haute résolution montre le pic de l'adduit sodique  $[M+Na]^+$  à  $m/z$  373,1416 de formule brute  $C_{22}H_{22}O_4Na$ , renfermant 12 degrés d'insaturation. L'ensemble de ces données combinées à celles de données de RMN 1D et 2D nous a permis d'attribuer BLR4 la structure **165**.



En effet, l'analyse du spectre de RMN  $^1H$  et  $^{13}C$  de BLR4 présente quelques similitudes avec ceux de BLR5. En effet, on observe sur son spectre de RMN  $^1H$  en plus du squelette de base de l'acide endiandrique tétracyclique, les signaux d'un noyau aromatique 1,3,4-trisubstitué à  $\delta_H$  6,76 (1H, sl, H-2''); 6,74 (1H, dd,  $J=7,9$  et 1,7 Hz, H-6'') et 6,78 (1H, d,  $J=7,9$  Hz, H-5''), un singulet d'un groupement méthylène dioxy à  $\delta_H$  5,95 (2H, s, H-7'').

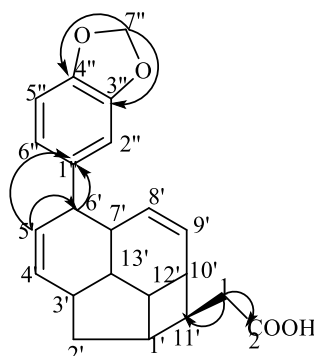
On observe aussi sur le spectre de RMN  $^1H$  les signaux des protons méthylènes d'un groupement éthanoïque à  $\delta_H$  2,53 (dd, H-1).

Les présences du noyau aromatique méthylènedioxy ont été confirmées par les signaux observés sur le spectre de RMN  $^{13}C$  (Figure **139**) à  $\delta_C$  [147,7 (C-3''); 145,9 (C-4''); 141,7 (C-1''), 120,1 (C-6''); 107,9 (C-2'') et 107,7 (C-5'')] et à 100,8 (C-7''), respectivement.

Les corrélations observées sur le spectre HMBC (Figure **141**) entre les protons du méthylènedioxy à  $\delta_H$  5,95 (H-7'') et les carbones C-3'' et C-4'' indiquent qu'il est attaché au cycle benzénique. BLR4 est donc un acide endiandrique portant un groupement méthylène dioxiphényle. Ce dernier groupement a été fixé en C-6' grâce aux corrélations observées sur le spectre HMBC entre le proton à  $\delta_H$  5,58 (H-5') et les carbones à  $\delta_C$  49,9 (C-6') et 141,7 (C-1'') d'une part et entre le proton à  $\delta_H$  3,26 (H-6') et le carbone à  $\delta_C$  141,7 (C-1'').

Sur le même spectre, d'autres corrélations ont été observées entre le méthylène à  $\delta_H$  2,53 (H-1) et les carbones à  $\delta_C$  41,2 (C-11') et le carbone du groupe carboxyle en C-2 ( $\delta_C$  172,8).

On observe également sur ce même spectre un méthylène à  $\delta_C$  40,2 (C-1) et un signal de carbone d'acide carboxylique à  $\delta_C$  172,8 (C-1) qui indique que le groupement *n*-octyle de BLR5 a été remplacé par le groupe acide éthanoïque.



**Figure 136:** Quelques corrélations observées sur le spectre HMBC de BLR4.

Ces données combinées à celles de la littérature nous a permis d'assigner à BLR4 la structure **165** qui est celle de l'acide 3'',4''-méthylènedioxyendiandrique A, précédemment isolé des feuilles de *B. oligandra* et des écorces de *B. manii* (Banfield *et al* ; 1994).

**Tableau 22:** Données spectrales de RMN  $^{13}C$  (125 MHz) de BLR4 dans Acétone- $d_6$  comparées à celles de l'acide 3'',4''-méthylènedioxyendiandrique A (SiMe4)

Position du carbone	BLR4	Acide 3'',4''-méthylènedioxyendiandrique A
1	172,8	178,8
2	40,2	40,9
1'	34,7	34,8
2'	34,5	34,7
3'	36,5	36,6
4'	130,6	130,6
5'	130,9	131,5
6'	49,9	50,0
7'	41,9	41,4
8'	131,4	131,7
9'	128,1	127,7
10'	39,5	39,4
11'	41,2	41,3
12'	33,2	33,9
13'	41,2	41,1
1''	141,7	141,7
2''	107,9	108,1
3''	147,7	147,7
4''	145,9	145,7
5''	107,7	108,1
6''	120,1	120,2
7''	100,8	100,8

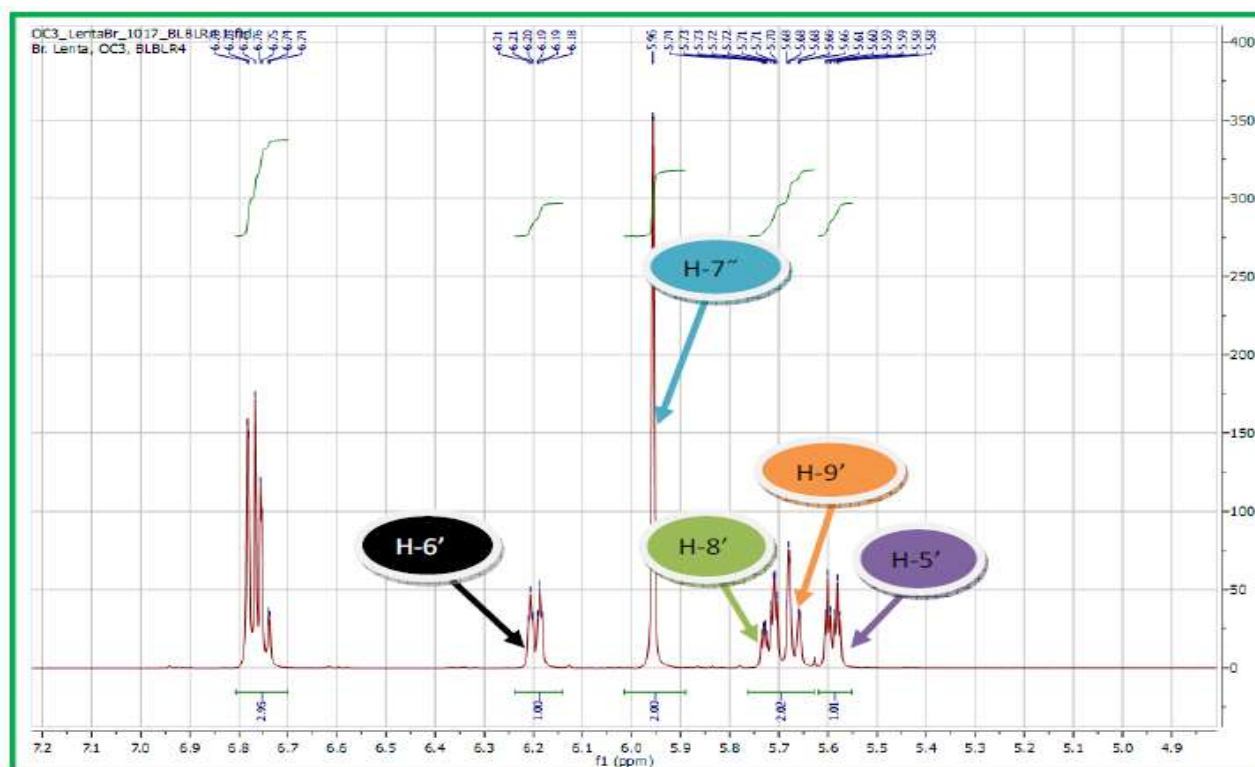


Figure 137 : Spectre de RMN  $^1\text{H}$  (acetone- $d_6$ , 500 MHz) de BLR4

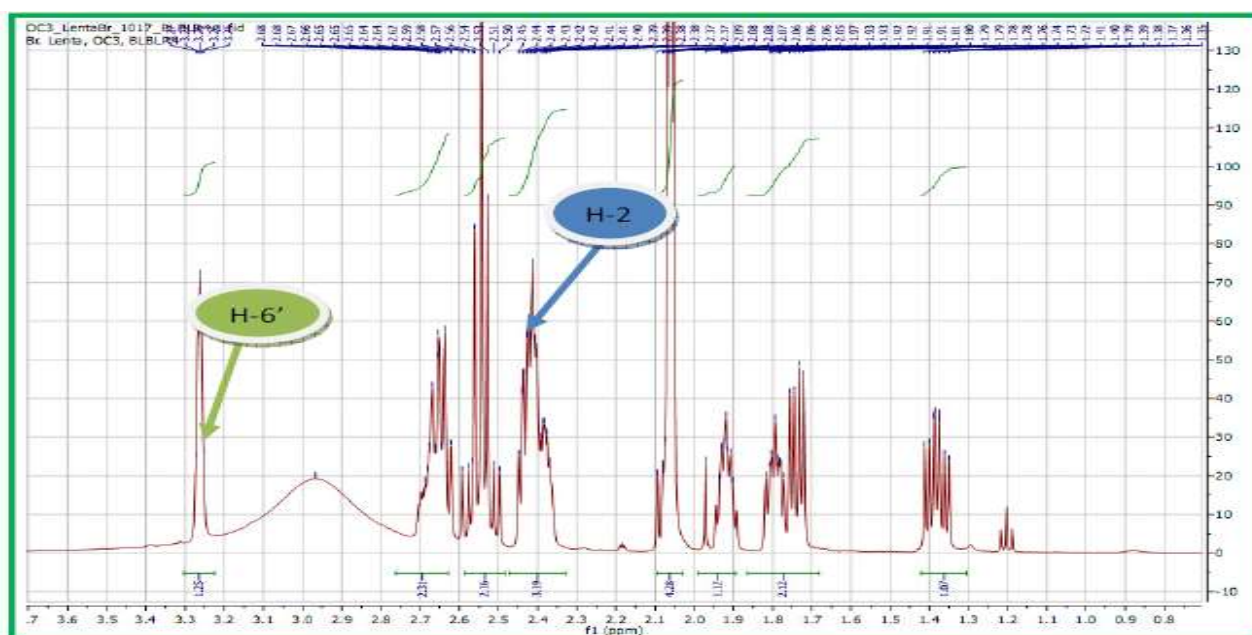


Figure 138: Spectre de RMN  $^1\text{H}$  élargi (1,2-3,4 ppm) (acetone- $d_6$ , 500 MHz) de BLR4

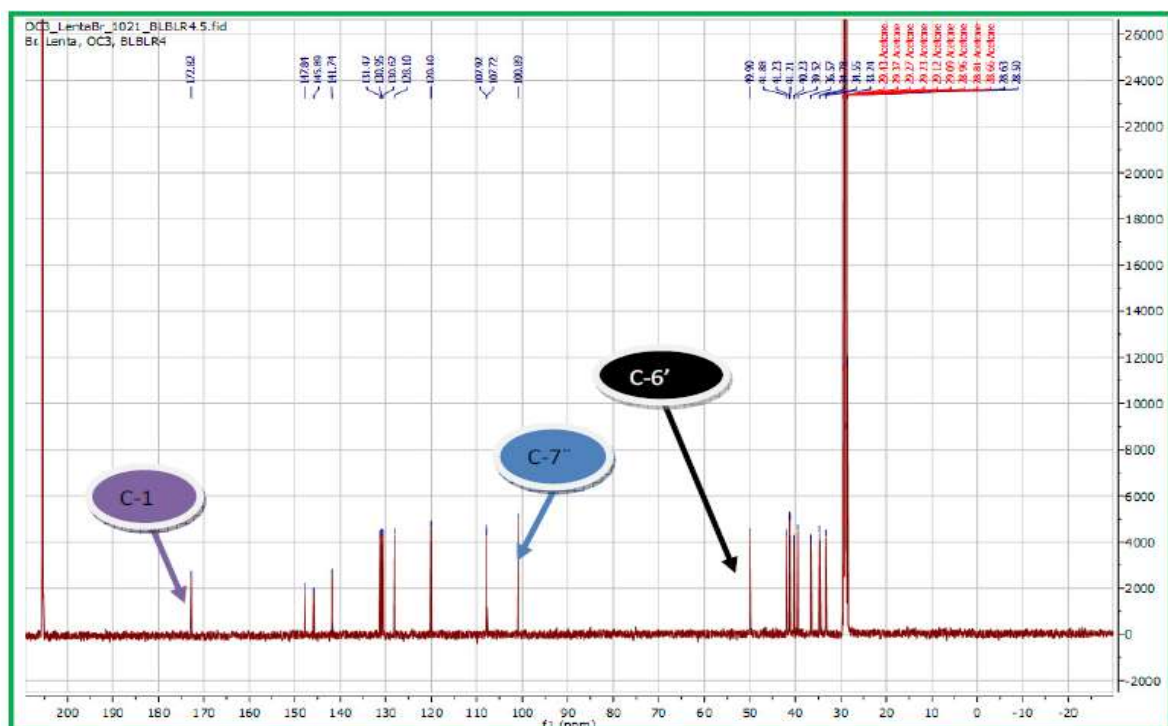


Figure 139 : Spectre de RMN  $^{13}\text{C}$  (acetone- $d_6$ , 125 MHz) de BLR4

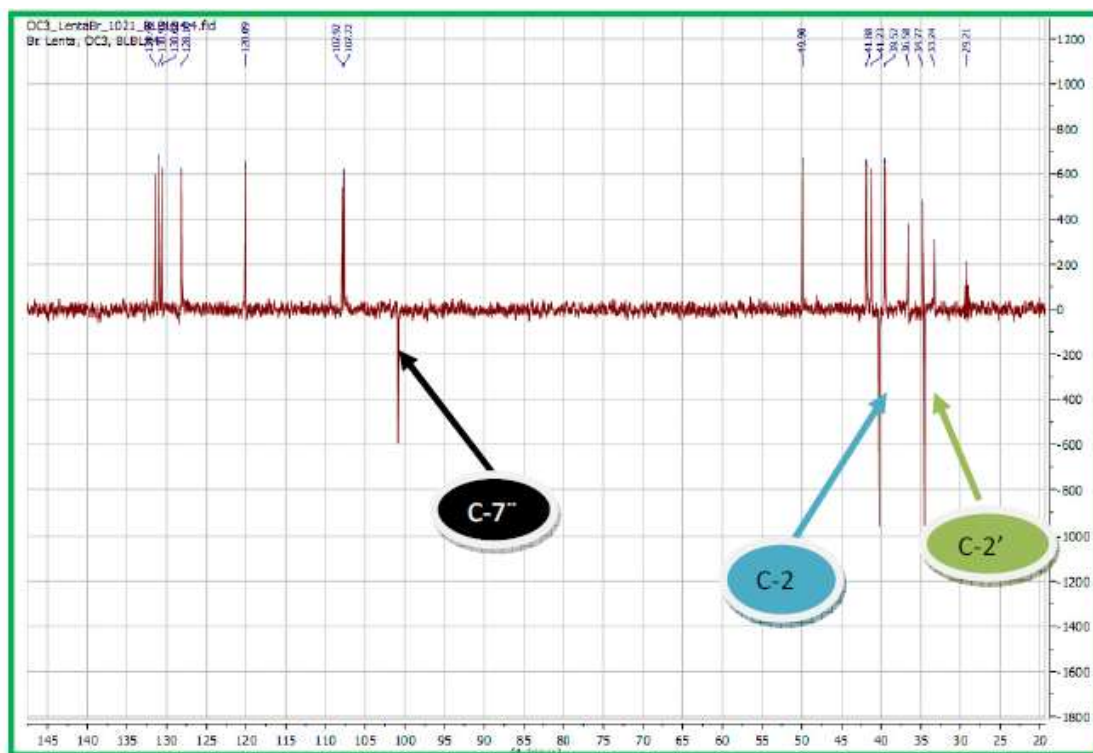


Figure 140 : Spectre DEPT135 de BLR4

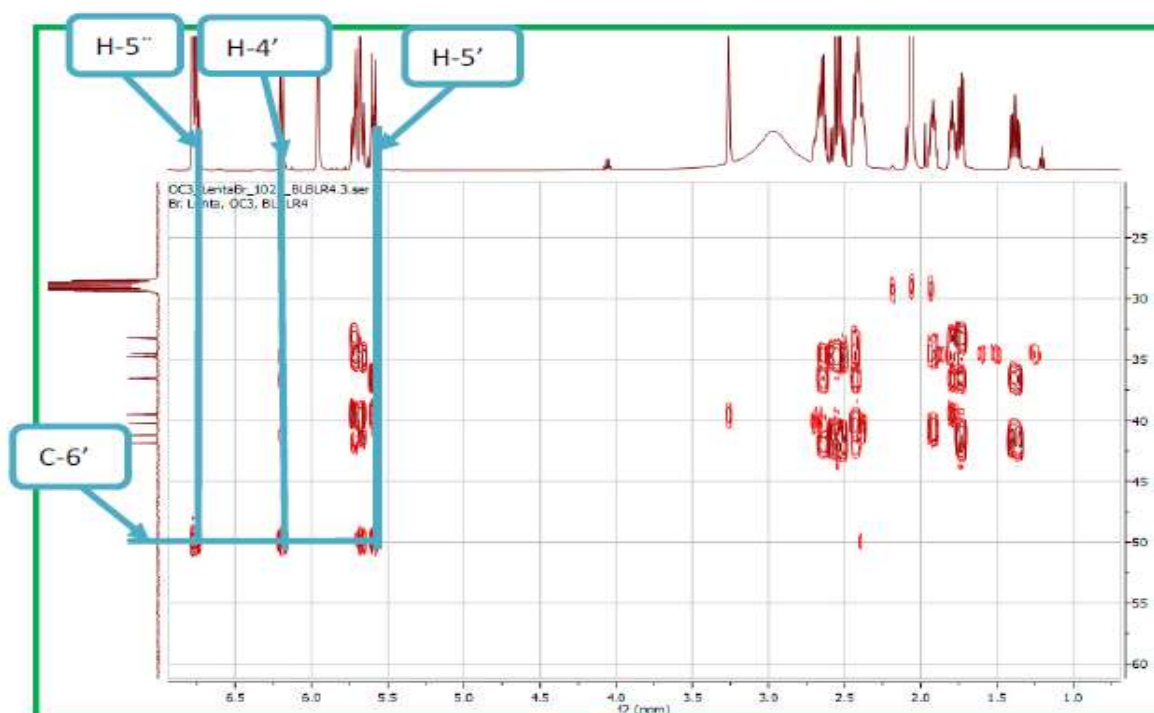
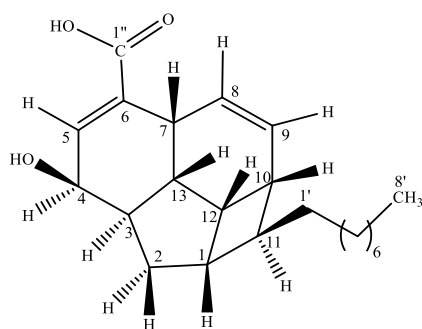


Figure 141: Spectre HMBC de BLR4

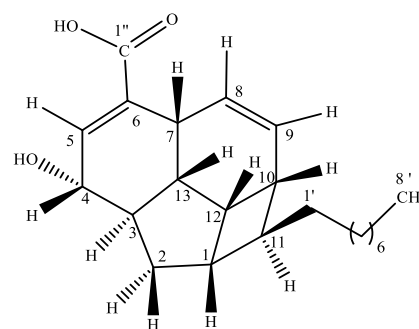
#### II.3.11.4- Identification du composé BLR3

BLR3 a été obtenu sous forme de poudre blanche dans le mélange hexane-acétate d'éthyle (85 :15) et est soluble dans le diméthylsulfoxyde. Il répond positivement au test des acides carboxyliques, en se dissolvant complètement dans une solution de bicarbonate de sodium avec effervescence et dégagement d'un gaz qui trouble l'eau de chaux.

Son spectre de masse ESI à haute résolution montre les pics des ions pseudo-moléculaires  $[M-H]^+$  à  $m/z$  343,22789, correspondant à la formule brute  $C_{22}H_{31}O_3$ , renfermant sept degrés d'insaturation. L'ensemble de ces données combinées à celles de données de RMN 1D et 2D nous a permis d'attribuer à BLR3 les structures **166** et **167**.



Acide beilschmiedique A (**166**)



Acide beilschmiedique C (**167**)

Sur son spectre de RMN  $^1\text{H}$  (Figure 144) on observe :

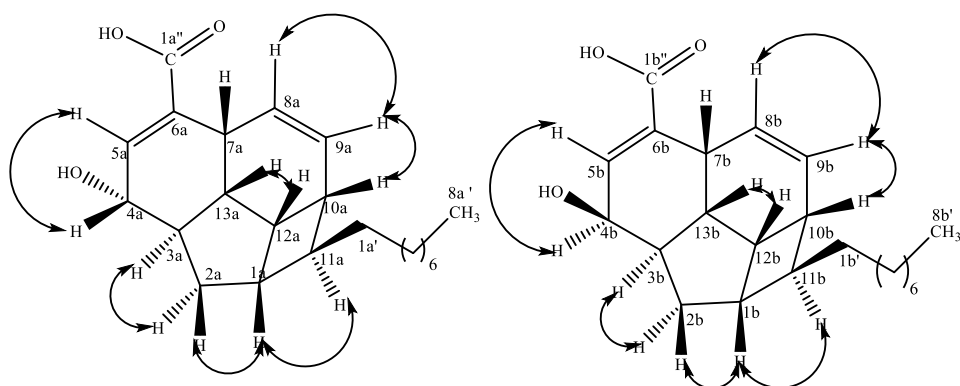
- Les signaux des protons oléfiniques à  $\delta_{\text{H}}$  6,93 (1H, d,  $J = 5,1$  Hz, H-5a); 6,76 (1H, sl, H-5b); 5,42 (1H, dd,  $J = 10,3$  Hz et 4,0 Hz, H-8a); 5,48 (1H, dd,  $J = 10,3$  Hz et 4,0 Hz, H-8b); 5,60 (1H, dd,  $J = 10,3$  Hz et 3,4 Hz, H-9a et H-9b).
- Un singulet large entre  $\delta_{\text{H}}$  1,20- 1,30 intégrant pour 24 protons et attribuable aux protons de 12 groupements méthylènes de chaînes alkyles.
- Les signaux des groupements méthines, dont deux oxyméthines apparaissant à  $\delta_{\text{H}}$  4,20 (H-4a) ; 4,03 (1H, d,  $J = 10,3$  Hz, H-4b) et deux méthines à  $\delta_{\text{H}}$  1,40 (1H, m, H-11a) ; 1,38 (1H, m, H-11b).
- Le signal de deux groupements méthyles terminaux de chaînes alkyles à  $\delta_{\text{H}}$  0,87 (6H, t,  $J = 7,0$  Hz, H-8'a et H-8' b). Toutes ces données font penser à deux squelettes d'acides endiandriques de type  $\Delta^{5,6}$ ,  $\Delta^{8,9}$  (Lenta et al., 2015)

Son spectre de RMN  $^{13}\text{C}$  (Figure 145) découplé large bande, combiné aux spectres DEPT 135 (Figure 146), HSQC (Figure 148), montre 39 signaux de carbone repartis-en:

- 01 signal de carbones correspondant à deux groupements méthyles à  $\delta_{\text{C}}$  14,3 (C-8').
- 12 signaux correspondant à 16 groupements méthylènes à  $\delta_{\text{C}}$  32,1 (C-2a); 36,9 (C-2b); 37,1 (C-1'a); 35,0 (C-1'b); 27,0 (C-2'a); 26,9 (C-2'b); 29,4 (C-3'a); 29,1 (C-3'b); 29,5 (C-4'a); 29,3 (C-4'b); 29,1 (C-5'a et b); 31,7 (C-6'a et b); 22,5 (C-7'a et b).
- 22 groupements méthines, dont deux oxyméthines à  $\delta_{\text{C}}$  63,9 (C-4a) et 72,2 (C-4b).
- 04 carbones quaternaires, dont deux groupes carboxyles à  $\delta_{\text{C}}$  168,6 (C-1''a) et 168,1 (C-1''b).
- Les résonances des groupes CH à  $\delta_{\text{C}}$  41,2 (C-1a); 40,7 (C-1b); 42,2 (C-3a); 42,2 (C-3b); 35,6 (C-10a); 33,8 (C-10b); 46,5 (C-11a); 45,7 (C-11b); 34,3 (C-12a); 33,5 (C-12b); 34,6 (C-13a) et 40,6 (C-13b) et deux groupes de  $\text{CH}_2$  à  $\delta_{\text{C}}$  32,1 (C-2a) et 36,9 (C-2b) dans le DEPT, sont ceux de deux squelettes d'acides endiandriques de type  $\Delta^{5,6}$ ,  $\Delta^{8,9}$  portant un hydroxyle en C-4 (Lenta et al., 2015; Chouna et al., 2009; Banfield et al., 1994; Bandaranayake et al., 1981 ; Bandaranayake et al., 1980). BLR3 est donc un mélange d'acides endiandriques portant des chaînes alkyles identiques.



En effet la présence des deux groupements *n*-octyle, leurs rattachements aux squelettes de base ainsi que les positions des doubles liaisons ont été confirmés par les couplages observés sur les spectres COSY (Figure 147), ainsi que les corrélations du spectre HMBC (Figure 149).

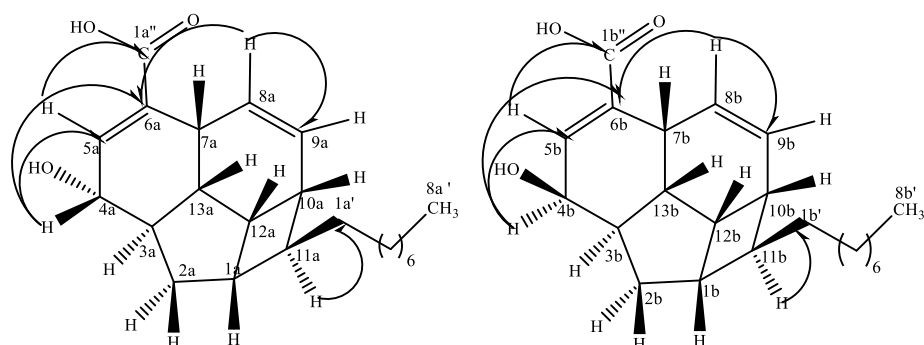


**Figure 142:** Quelques corrélations observées sur le spectre COSY de BLR3.

Sur le spectre HMBC de BLR3 on observe des corrélations entre :

- Le proton à  $\delta_H$  1,40 (H-11a) et les carbones C-1a (41,2) ; C-1'a (37,1) ; C-2'a (27,0) et C-10a (35,6), ce qui permet de relier les sous structures SS<sub>1</sub> et SS<sub>2</sub>.
- Le proton à  $\delta_H$  1,38 (H-11b) et les carbones C-1b (40,7) ; C-1'b (34,6) ; C-2'b (26,9) et C-10b (33,8), ce qui permet de relier les sous structures SS<sub>3</sub> et SS<sub>4</sub>.
- Le proton à  $\delta_H$  0,87 (H-8'a et b) et les carbones à  $\delta_C$  22,5 (C-7'a et b) et 31,7 (C-6'a et b).
- Le proton à  $\delta_H$  6,93 (H-5a) et les carbones à  $\delta_C$  168,6 (C-1''a) ; 63,9 (C-4a) et 136,3 (C-6a).
- Le proton à  $\delta_H$  6,76 (H-5b) et les carbones à  $\delta_C$  168,1 (C-1''b) ; 72,2 (C-4b) et 134,9 (C-6b).
- Le proton à  $\delta_H$  4,20 (H-4a) et les carbones à  $\delta_C$  42,2 (C-3a) ; 141,5 (C-5a) et 136,3 (C-6a).
- Le proton à  $\delta_H$  4,03 (H-4b) et les carbones à  $\delta_C$  145,5 (C-5b) et 134,9 (C-6b).
- Le proton à  $\delta_H$  5,40 (H-8a) et les carbones à  $\delta_C$  136,3 (C-6a) ; 128,4 (C-9a).
- Le proton à  $\delta_H$  5,48 (H-8b) et les carbones à  $\delta_C$  134,9 (C-6b) ; 127,7 (C-9b).

Ces données permettent d'une part de confirmer la présence des deux groupements alkyles et leur rattachement aux carbones C-11a et C-11b et d'autre part, de fixer les groupements carboxyles en C-6a et C-6b ainsi que les groupements hydroxyles en C-4a et C-4b.



**Figure 143:** Quelques corrélations observées sur le spectre HMBC de BLR3.

Ces données indiquent que BLR3 est un mélange de deux stéréo-isomères d'acide endiandrique. La différence entre ces stéréo-isomères se situe au niveau de la configuration du carbone C-4, apparaît à  $\delta_C$  63,9 dans l'un et dans l'autre à  $\delta_C$  72,2 (Chouna et *al.*, 2009).

**Tableau 23:** Données du spectre de RMN  $^{13}C$  (125 MHz) de BLR3 dans le DMSO-*d*<sub>6</sub>, comparées avec celles de l'acide beilschmiedique A  $^{13}C$  (125 MHz) dans le CD<sub>3</sub>OD et de l'acide beilschmiedique C  $^{13}C$  (125 MHz) dans le DMSO-*d*<sub>6</sub>, (Chouna et *al.*, 2009).

Position du carbone	BLR3a	Acide beilschmiedique A	Position du carbone	BLR3b	Acide beilschmiedique C
	$\delta_C$ (ppm)	$\delta_C$ (ppm)		$\delta_C$ (ppm)	$\delta_C$ (ppm)
<b>1a</b>	41,2	41,9	<b>1b</b>	40,7	40,7
<b>2a</b>	32,1	32,8	<b>2b</b>	36,9	36,5
<b>3a</b>	42,2	43,2	<b>3b</b>	42,2	43,7
<b>4a</b>	63,9	65,7	<b>4b</b>	72,2	71,5
<b>5a</b>	141,5	141,5	<b>5b</b>	145,5	145,1
<b>6a</b>	136,3	138,0	<b>6b</b>	134,9	133,8
<b>7a</b>	34,4	34,9	<b>7b</b>	32,8	32,8
<b>8a</b>	125,5	125,8	<b>8b</b>	127,4	127,2
<b>9a</b>	128,4	129,3	<b>9b</b>	127,7	126,9
<b>10a</b>	35,6	35,6	<b>10b</b>	33,8	33,8
<b>11a</b>	46,5	47,9	<b>11b</b>	45,7	45,1
<b>12a</b>	34,3	34,1	<b>12b</b>	33,5	33,3
<b>13a</b>	34,6	35,9	<b>13b</b>	40,6	40,1
<b>1'a</b>	37,1	38,4	<b>1'b</b>	35,0	35,1
<b>2'a</b>	27,0	28,2	<b>2'b</b>	26,9	26,5
<b>3'a</b>	29,4	30,8	<b>3'b</b>	29,1	29,1
<b>4'a</b>	29,5	30,8	<b>4'b</b>	29,3	28,7
<b>5'a</b>	29,1	30,5	<b>5'b</b>	29,1	29,1
<b>6'a</b>	31,7	32,9	<b>6'b</b>	31,7	31,3
<b>7'a</b>	22,5	23,7	<b>7'b</b>	22,5	22,1
<b>8'a</b>	14,3	14,5	<b>8'b</b>	14,3	13,9
<b>1''a</b>	168,6	170,5	<b>1''b</b>	168,1	167,3

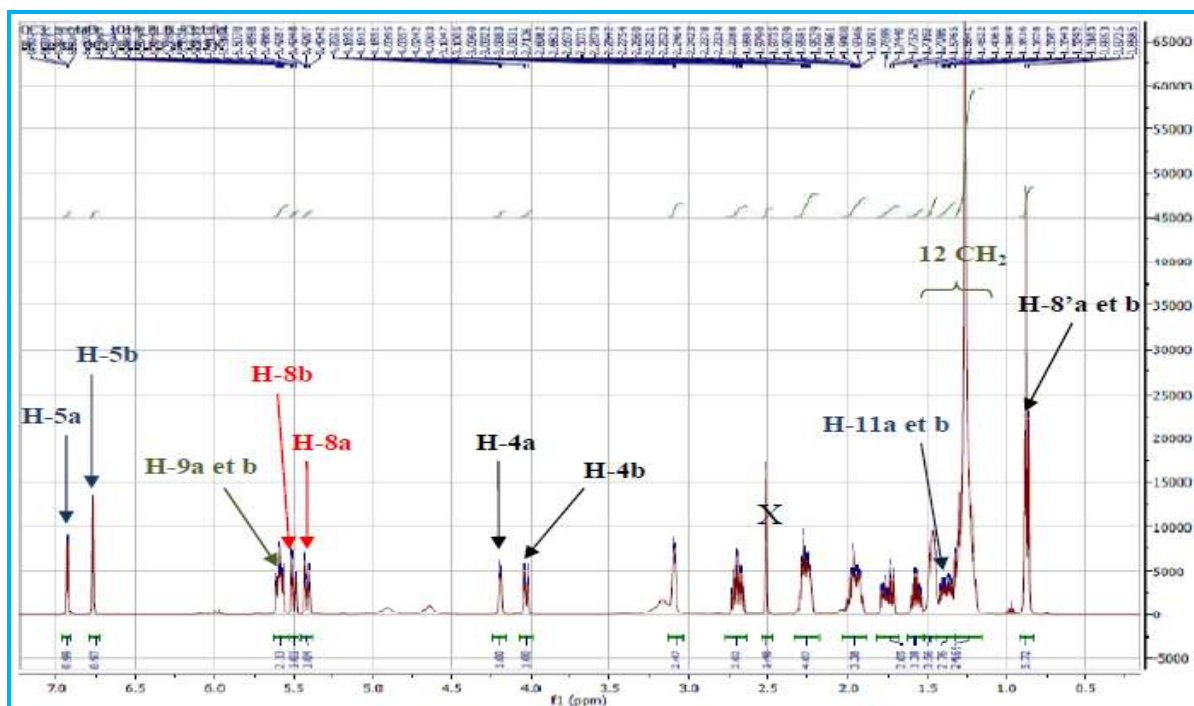


Figure 144: Spectre de RMN  $^1\text{H}$  (DMSO- $d_6$ , 500 MHz) de BLR3.

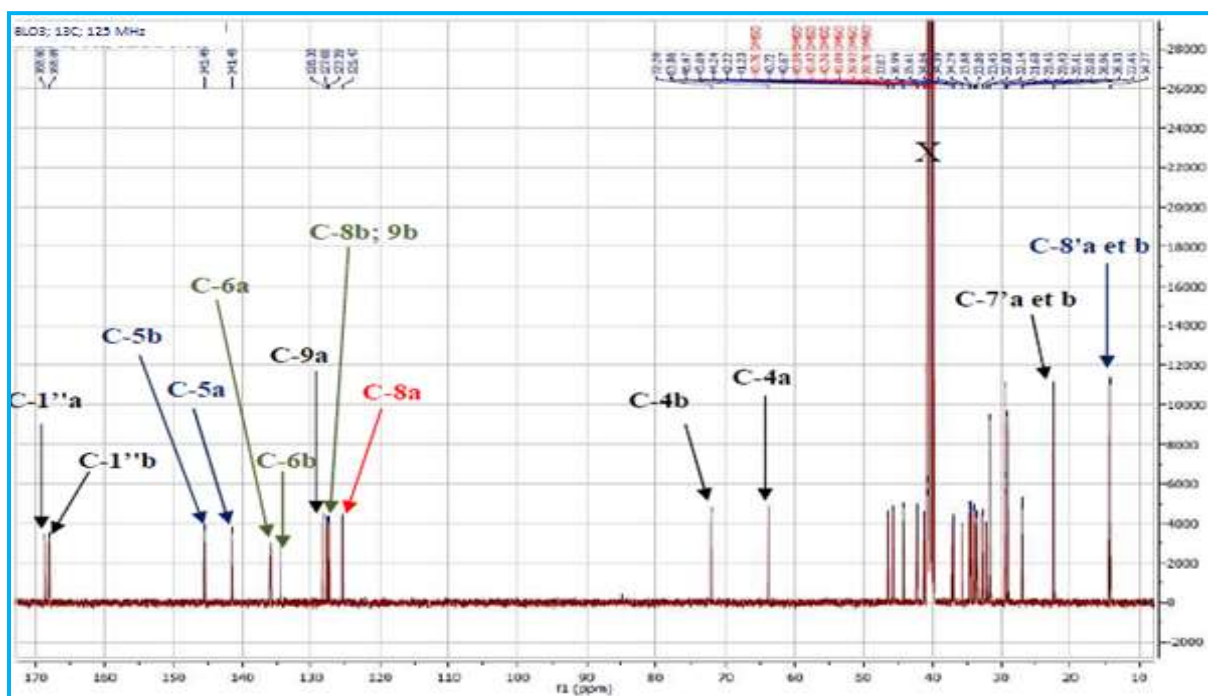


Figure 145 : Spectre de RMN  $^{13}\text{C}$  (DMSO- $d_6$ , 125 MHz) de BLR3.

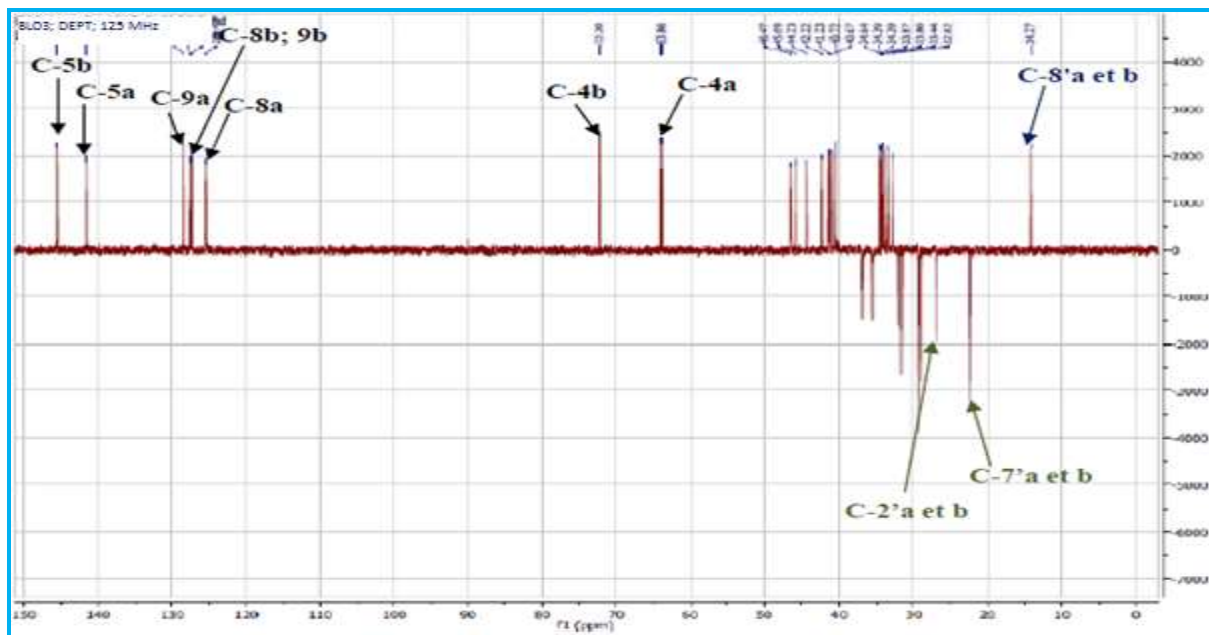


Figure 146 : Spectre DEPT135 de BLR3.

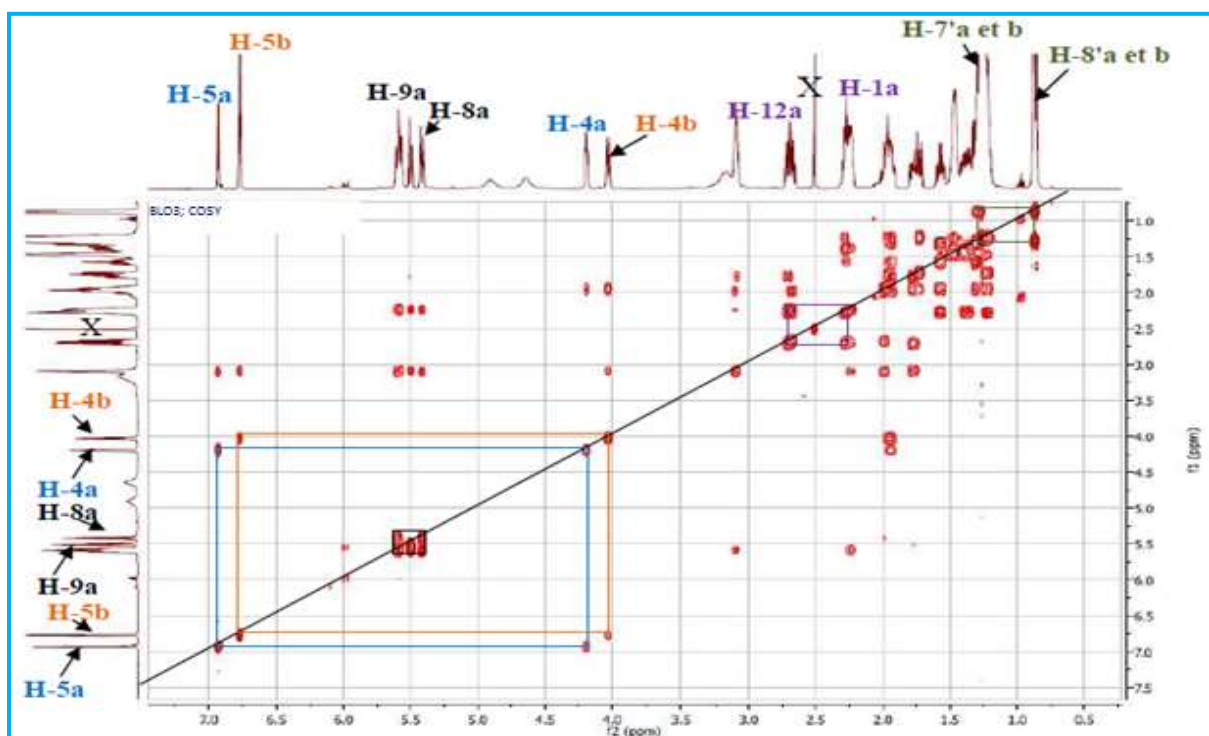


Figure 147: Spectre COSY de BLR3.

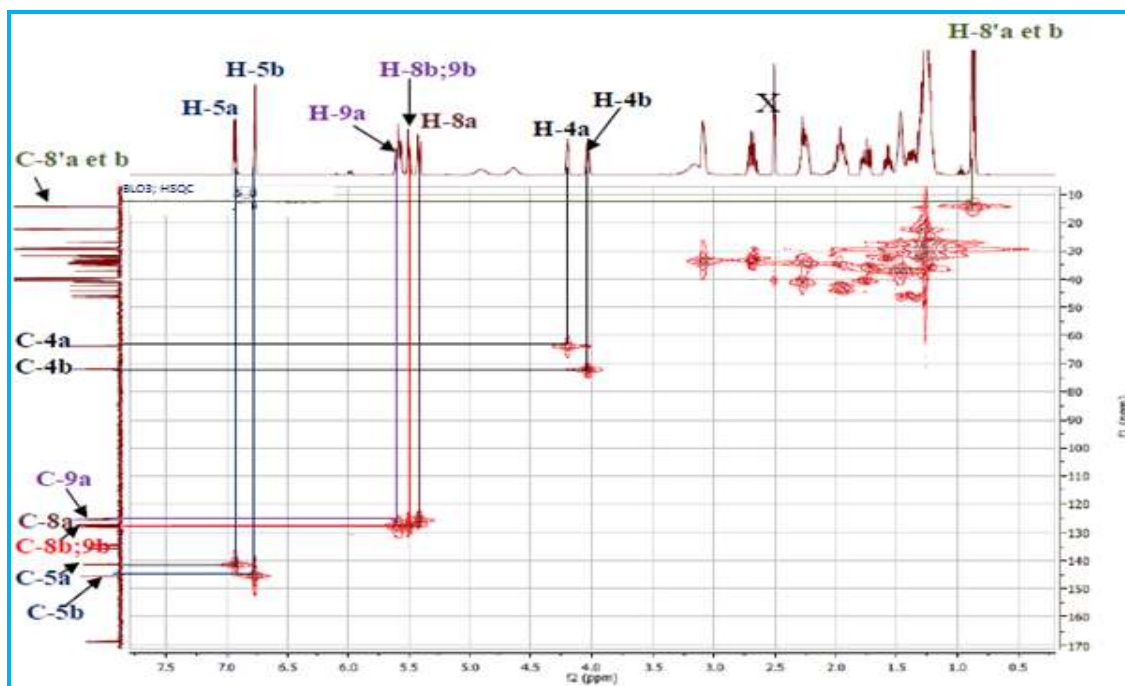


Figure 148 : Spectre de HSQC de BLR3

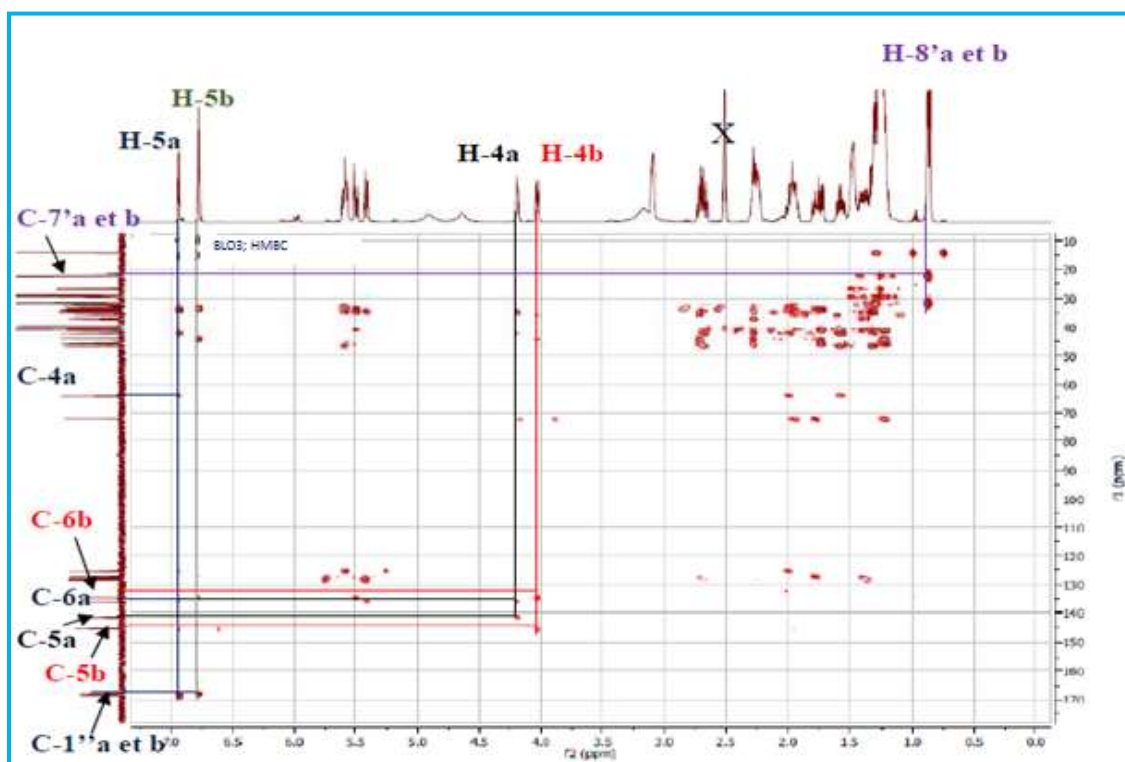
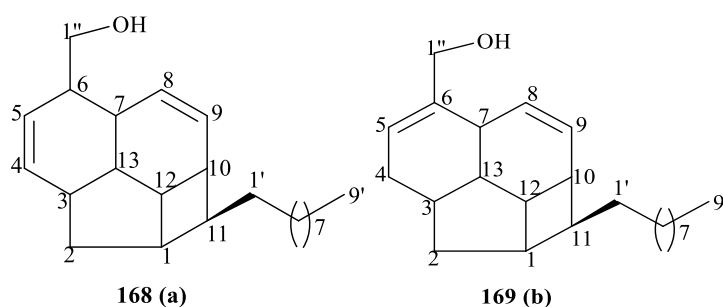


Figure 149: spectre HMBC de BLR3.

### II.3. 11.5-Élucidation de la structure du mélange d'alcools d'acides endiandriques BOET3'

BOET3' a été obtenu sous forme d'huile dans le mélange Hex-AE (90 :10) et est soluble dans le chloroforme. Son spectre de masse ESI à haute résolution (Figure 152), montre le pic de adduit potassique  $[M+K]^+$  at  $m/z$  367.2303, correspondants à la formule brute  $C_{23}H_{36}KO$  et renfermant six degrés d'insaturation. L'analyse de ces données en combinaison avec celles des données de spectres de RMN 1D et 2D nous a permis d'attribuer à BOET3' les structures 168 et 169.



En effet, son spectre de RMN  $^{13}C$  (Figure 156) fait ressortir 34 signaux correspondant à 46 carbones qui ont été répartis grâce aux données des spectres DEPT 135 (Figure 158) et HSQC (Figure 161) en :

- Un carbone quaternaire à  $\delta_C$  141,6 (C-6b).
- Vingt-deux méthines dont sept carbones oléfiniques à  $\delta_C$  126,0 (C-5b); 128,1(C-8b); 127,9 (C-5a); 128,2(C-9b); 128,8(C-9a); 131,4(C-8a) et 133,9(C-4a).
- Vingt-un méthylène donc deux oxyméthylènes à  $\delta_C$  65,5 (C-1''b) et 67,3(C-1''a).
- Deux groupes méthyles à  $\delta_C$  14,3 (C-8a, 8b).

Sur ce même on observe les signaux caractéristiques d'une longue chaîne alkyle à  $\delta_C$  entre 29,5-29,9. Au regard de tous ces signaux BOET3' serait un mélange de deux alcools de squelettes d'acides endiandriques ; l'un de type  $\Delta^{4,5}$ ,  $\Delta^{8,9}$  et l'autre de type  $\Delta^{5,6}$ ,  $\Delta^{8,9}$  ; tous deux dérivés de BLR5 (acide Beilsmiedique E) et BLR6 (acide beilmiedique D) respectivement (Lenta et al., 2015 ; Chouna et al., 2009 ; Banfield et al., 1994 ; Bandaranayake et al, 1981 ; Bandaranayake et al., 1980).

Ces observations ont été confirmées par le fait que les résonances de carbones de l'un des constituants du mélange de BOET3' sont presque similaires à celles du composé de synthèse BLR5-AL. La principale différence entre ces composés se situe au niveau de leurs masses, qui diffèrent de 14 amu.

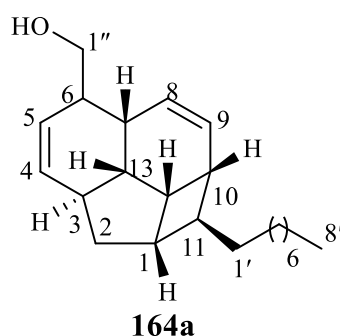
En plus, le spectre de RMN  $^1\text{H}$  (Figure 153) confirme la présence des signaux :

- De sept protons oléfiniques de doubles liaisons  $\Delta^{4,5}$ ,  $\Delta^{8,9}$  et  $\Delta^{5,6}$ ,  $\Delta^{8,9}$  à  $\delta_{\text{H}}$  5,42 (1H, d, 8 Hz, H8a) ; 5,54 (1H, d, 8 Hz, H5a); 5,60 (2H, s, H9a, H5b); 5,80 (2H, s, H8b, H9b) et 6,17 (1H, d, 4 Hz, H4a) (Chouna et al., 2009; Lenta et al., 2015);
- De deux méthyles terminaux à  $\delta_{\text{H}}$  0,88 (3H, t, 6,9 Hz, H-9') et de groupes méthylènes entre  $\delta_{\text{H}}$  1,22-1,88 confirmant l'existence des longues chaînes alkyles ;
- des protons de deux oxyméthylènes à  $\delta_{\text{H}}$  3,63 (2H, m, H1a'') et 4,18 (2H, m, H1b'') ce qui confirmerait la présence de deux fonctions alcools primaires.

Les différences fondamentales entre BOET3', BLR5 et RLR6 se situeraient au niveau de du carbone C-1''. En effet les fonctions acides carboxyliques à  $\delta_{\text{C}}$  180,9 et 172,9 ont été remplacées par deux oxyméthylènes à  $\delta_{\text{C}}$  65,5 et 67,3.

À cause de la complexité de certaines zones des spectres de RMN, les structures des constituants du mélange ont été établies grâce aux données spectrales, de la littérature et d'hémisynthèse. En effet, les données de RMN  $^{13}\text{C}$  de l'un des isomères de BOT3' sont très proches de ceux du produit BLR5AL (**164a**) préparé par hémisynthèse à partir de l'acide beislmedique E par réduction avec  $\text{LiAlH}_4$ .

BLR5-AL se présente sous forme d'une huile jaunâtre soluble dans le chloroforme. Sa formule moléculaire  $\text{C}_{22}\text{H}_{34}\text{O}$  a été déduite par ses données de RMN et de son spectre de masse HRESIMS (Figure 168), qui montre le pic d'un adduit potassique  $[\text{M}+\text{K}]^+$  à  $m/z$  353,2486 correspondants à la formule brute  $\text{C}_{22}\text{H}_{34}\text{KO}$  et renfermant six degrés d'insaturation. Ces données RMN  $^1\text{H}$  et  $^{13}\text{C}$  combinées à celles de la littérature nous a permis d'attribuer à BLR5-AL le nom trivial beilschmiedol A qui est un dérivé nouveau d'acide endiandrique E.



Son spectre de RMN  $^{13}\text{C}$  (Figure 170) montre les signaux de 20 atomes carbones répartis grâce aux techniques DEPT et HSQC en :

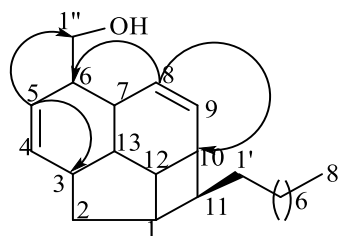
- Douze méthines dont quatre oléfiniques à  $\delta_{\text{C}}$  127,9 (C-5), 128,8 (C-9), 131,4 (C- 8), 133,9 (C-4);

- Neuf méthylènes dont un oxyméthylène à  $\delta_C$  67,3 (C-1'')

Sur son spectre de RMN  $^1H$  (Figure 169) on observe :

- Des signaux de quatre protons oléfiniques à  $\delta_H$  6,10 (1H, dt,  $J = 2,4$  et 10 Hz, H-4), 5,50 (1H, dt,  $J = 10$  et 2,8 Hz, H-5); 5,39 (1H, ldd,  $J = 10$  et 0,8 Hz, H-8), 5,56 (1H, dt,  $J = 10$  et 3,2 Hz, H-9)
- Un multiplet d'un oxyméthylène à  $\delta_H$  3,56 (2H, m, H-1'').
- Un méthyle à  $\delta_H$  0,85 (t,  $J = 6,8$  Hz, H-8') et de sept groupes méthylène à  $\delta_H$  2,55-1,23 (14H, ls, H-1' à H-7'), caractéristique du fragment *n*-octyle.

Les positions des doubles liaisons et de l'oxyméthylène a été confirmée grâce aux corrélations observées sur le spectre HMBC (Figure 174) entre H-4 / C-3, C-6 et C-13, H-5 / C-3, C-6, C-7, et C-1'' et H-8 / C-6, C-7 et C-10.

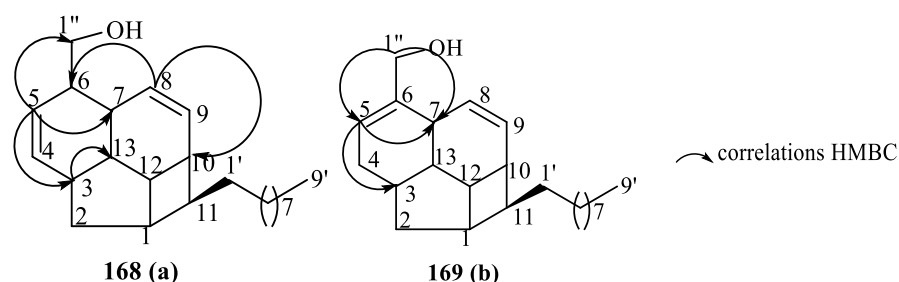


**Figure 150:** Quelques corrélations observées sur le spectre HMBC de BLR5-AL.

En procédant par élimination des données carbone de **164a** du spectre de RMN  $^{13}C$  de BOET3', on déduit que **164b** est un dérivé alcoolique du squelette d'acide endiandrique de type  $\Delta^{5,6}, \Delta^{8,9}$  avec un oxyméthylène en C-6. Les données RMN de BLR5-AL sont presque similaires à celles de BLR5. Cependant nous observons quelques différences, en effet le spectre RMN  $^{13}C$  de BLR5-AL montre un oxyméthylène à  $\delta_C$  67,3 en remplacement de la fonction acide à  $\delta_C$  180,8 et le reste des signaux du mélange sont ceux de la structure l'acide beilschmiedique D (**167**). Ceci est confirmé sur le spectre RMN $^1H$  par la présence d'un oxyméthylène à  $\delta_H$  3,56 (2H, m, H-1'').

Les principales corrélations HMBC observées entre le proton de l'oxyméthylène à  $\delta_H$  3,56 et les carbones à  $\delta_C$  34,4 (C-7), 126,0 (C-5) et 141,6 (C-6) et également entre le proton oléfinique à  $\delta_H$  5,73 (H-5) et les carbones à  $\delta_C$  34,4 (C-7), 36,8 (C-3) et 65,5 (C-1'') permettent une attribution partielle des données carbones de ce composé. L'attribution d'autres carbones a été faite par comparaison de BOET3'b avec BLR5-AL (**164a**) et l'acide beilschmiedique D (**164**). Ainsi BOET3'b est un dérivé nouveau du squelette d'acide endiandrique auquel le nom trivial beilschmiedol C (**169**) a été attribué.




**Figure 151** : corrélations HMBC observées des figures beilschmiedol B et beilschmiedol C

**Tableau 24** : Données spectrales de RMN  $^{13}\text{C}$  de BLR5-AL (100 MHz), BOET3'a et b (600 MHz) dans le  $\text{CDCl}_3$ 

Position	BOET3'a		BLR5-AL		BOET3'b	
	$\delta_{\text{C}}$	$\delta_{\text{H}}$ (m, J in Hz)	$\delta_{\text{C}}$	$\delta_{\text{H}}$ (m, J in Hz)	$\delta_{\text{C}}$	$\delta_{\text{H}}$ (m, J in Hz)
1	41,6	2,19 (m, 1H)	41,6	2,21 (m, 1H)	41,4	2,18 (m, 1H)
2	35,1	1,22 (m, 1H), 1,50 (m, 1H)	35,1	1,22 (m, 1H) 1,52 (m, 1H)	37,4	1,40 (m, 1H) 2,54 (m, 1H)
3	37,4	1,40 (m, 1H),	37,4	1,43 (m, 1H),	36,8	1,62 (m, 1H)
4	134,2	6,10 (d, 8,0Hz, 1H)	133,9	6,10 (dt, 10 Hz et 2,4Hz, 1H)	32,0	1,82 (m, 1H) 2,22 (m, 1H)
5	127,3	5,53 (d, 8,0 Hz, 1H)	127,9	5,50 (dt, 10,0 Hz et 2,8 Hz, 1H)	126,0	5,74 (sl, 1H)
6	47,2	2,12 (m, 1H)	47,2	2,14 (m, 1H)	141,6	-
7	35,4	2,48 (m, 1H)	35,4	2,18(m, 1H)	34,4	2,67(sl, 1H)
8	131,3	5,42 (d, 8,0Hz, 1H)	131,4	5,39 (ldd, 10,0 Hz, 0,8 Hz, 1H)	126,1	5,53 (m, 1H)
9	128,9	5,48 (sl, 9,6 Hz et 1,8 Hz, 1H)	128,8	5,56 (dt, 10,0 Hz et 3,2Hz, 1H)	128,2	5,53 (m, 1H)
10	33,3	2,53 (m, 1H)	33,3	2,55 (m, 1H)	33,7	2,54 (s, 1H)
11	46,3	1,40 (m, 1H)	46,2	1,43 (m, 1H)	45,9	1,40 (m, 1H)
12	33,1	2,42 (m, 1H)	32,9	2,43 (m, 1H)	34,9	2,82 (m, 1H)
13	42,7	1,50 (m, 1H)	42,6	1,53 (m, 1H)	42,9	2,54 (m, 1H)
1'	37,4	1,40 (m, 1H) 2,54 (m, 1H)	37,4	1,43 (m, 1H) 2,55 (m, 1H)	37,4	1,40 (m, 1H) 2,54 (m, 1H)
2'	27,2	1,21 (m, 2H)	27,2	1,23 (m, 2H)	27,2	1,21 (m, 2H)
3'	29,8	1,15 (m, 2H)	29,8	1,23 (m, 2H)	29,8	1,15 (m, 2H)
4'	29,9	1,15 (m, 2H)	29,8	1,23 (m, 2H)	29,9	1,15 (m, 2H)
5'	29,8	1,15 (m, 2H)	29,5	1,23 (m, 2H)	29,8	1,15 (m, 2H)
6'	29,5	1,15 (m, 2H)	32,1	1,23 (m, 2H)	29,5	1,15 (m, 2H)
7'	32,1	1,19 (m, 2H)	22,8	1,25 (m, 2H)	32,1	1,15 (m, 2H)
8'	22,8	1,20 (m, 2H)	14,3	0,85 (t, 6,8Hz, 3H)	22,8	1,20 (m, 2H)
9'	14,3	0,81 (t, 6,9 Hz, 3H)	-	-	14,3	0,81 (t, 6,9 Hz, 3H)
1''	67,6	3,63 (m, 2H)	67,3	3,56 (m, 2H)	65,5	4,12 (m, 2H)

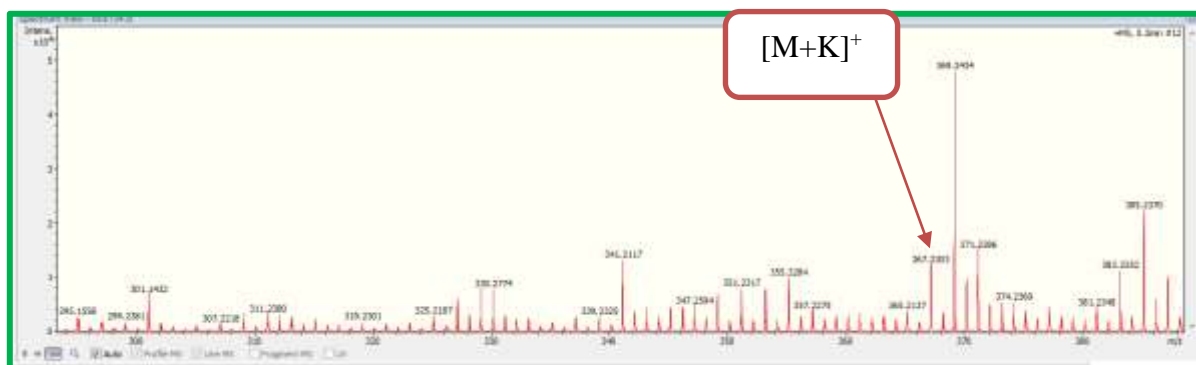


Figure 152 : Spectre de masse ESI de BOET3'

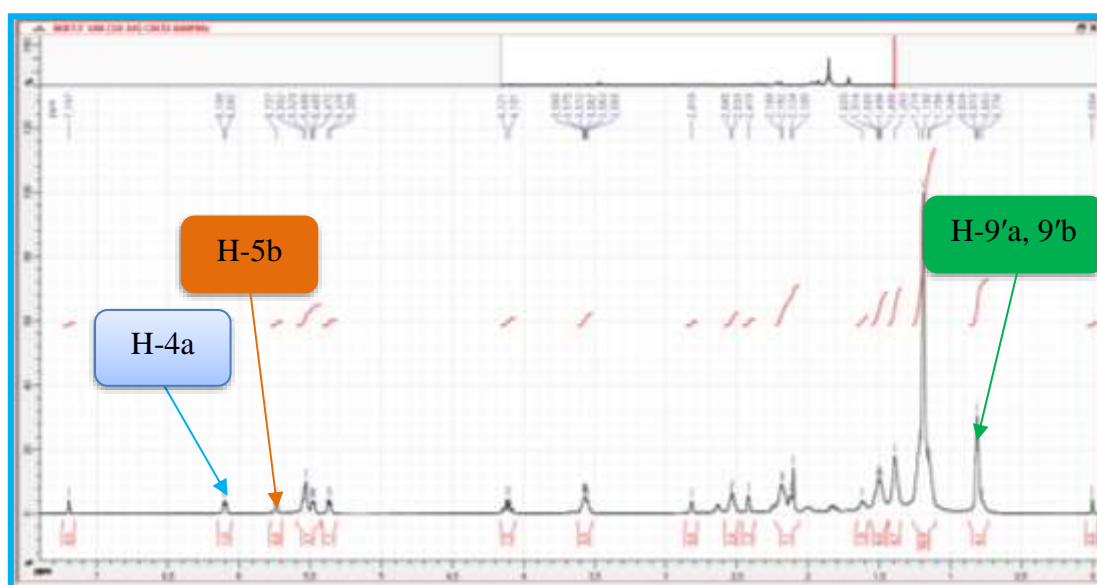


Figure 153 : Spectre de RMN<sup>1</sup>H (CDCl<sub>3</sub>, 600 MHz) de BOET3'

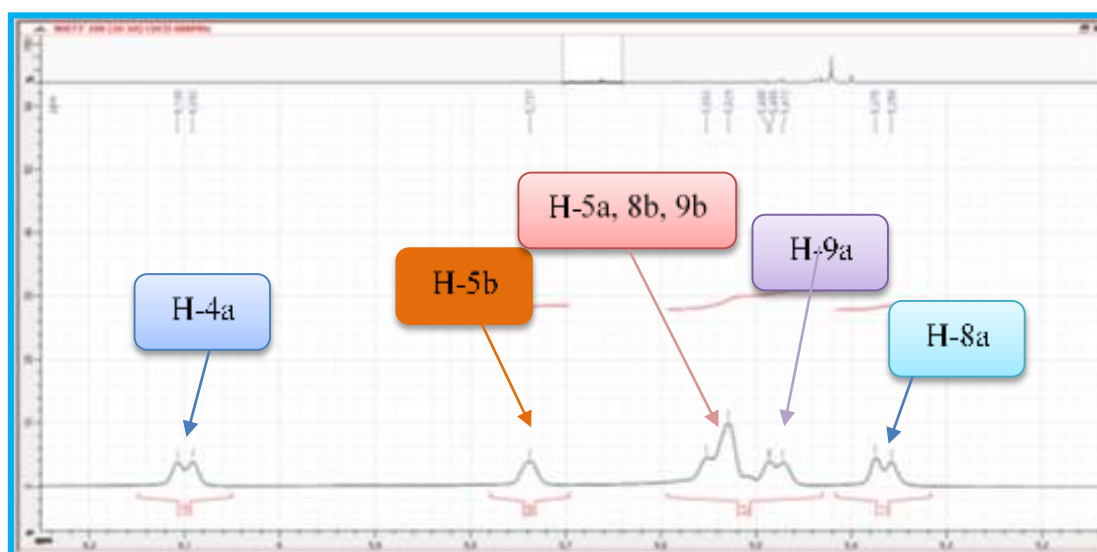


Figure 154 : Spectre de RMN <sup>1</sup>H élargi (5,3-6,2 ppm) (CDCl<sub>3</sub>,600 MHz) de BOET3'

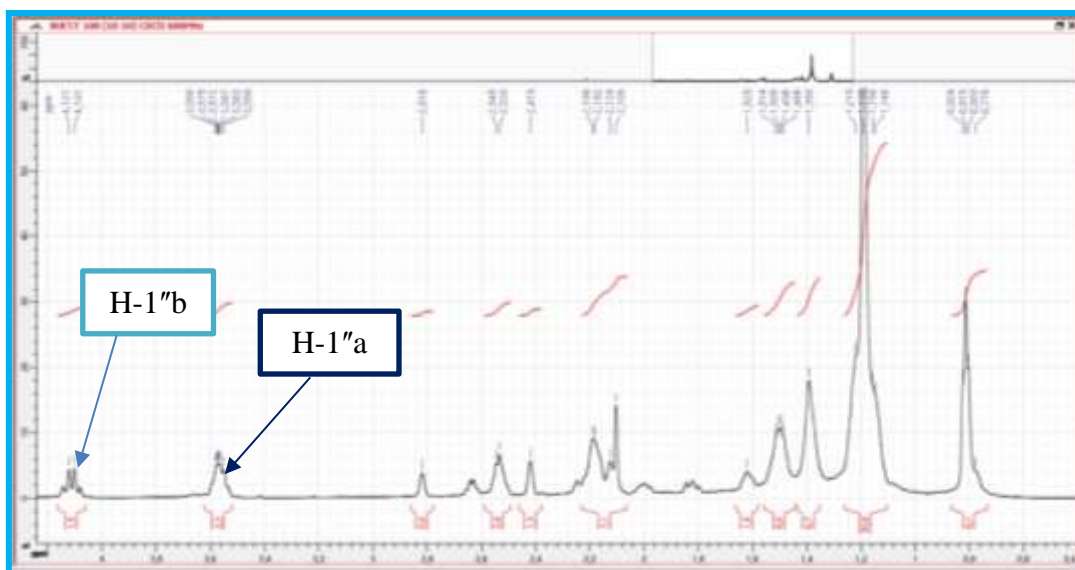


Figure 155: Spectre de RMN  $^1\text{H}$  élargi (0,80-4,5 ppm) ( $\text{CDCl}_3$ , 600 MHz) de BOET3'

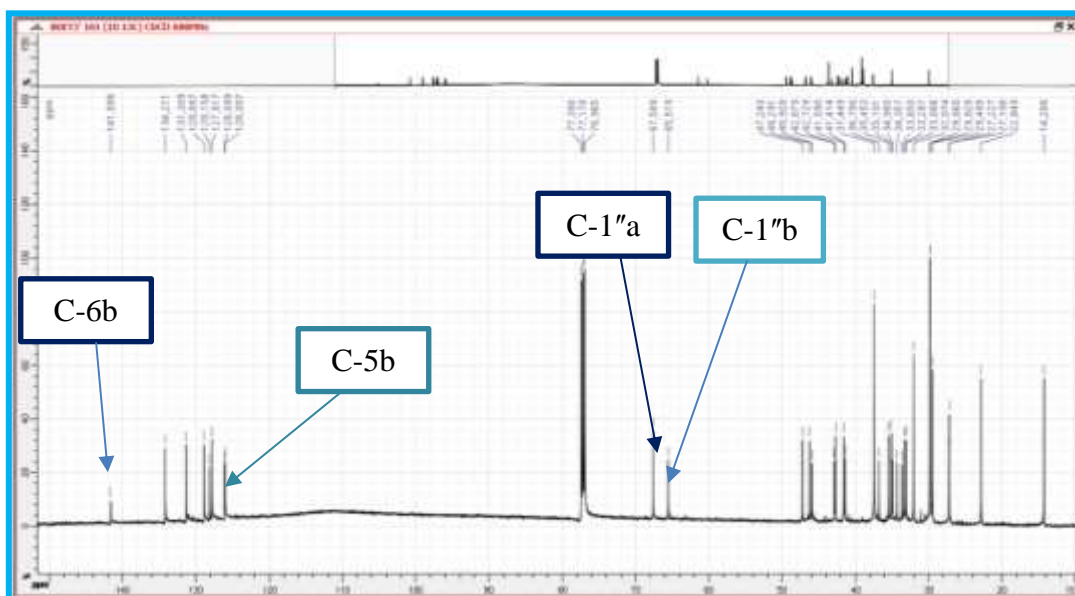


Figure 156: Spectre de RMN  $^{13}\text{C}$  ( $\text{CDCl}_3$ , 150 MHz) de BOET3'

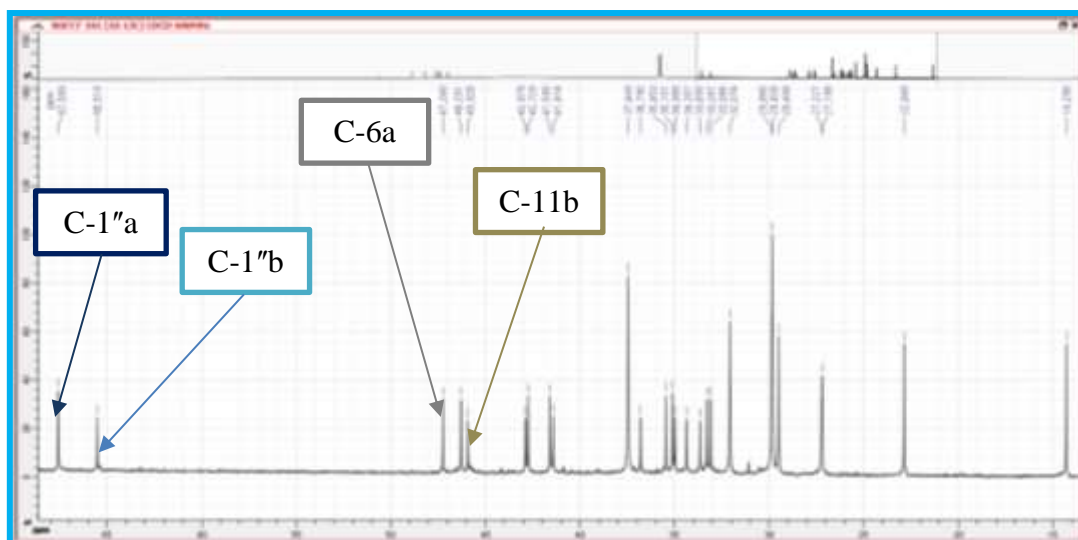


Figure 157: Spectre de RMN  $^{13}\text{C}$  élargi (14-70 ppm) ( $\text{CDCl}_3$ , 150 MHz) de BOET3'

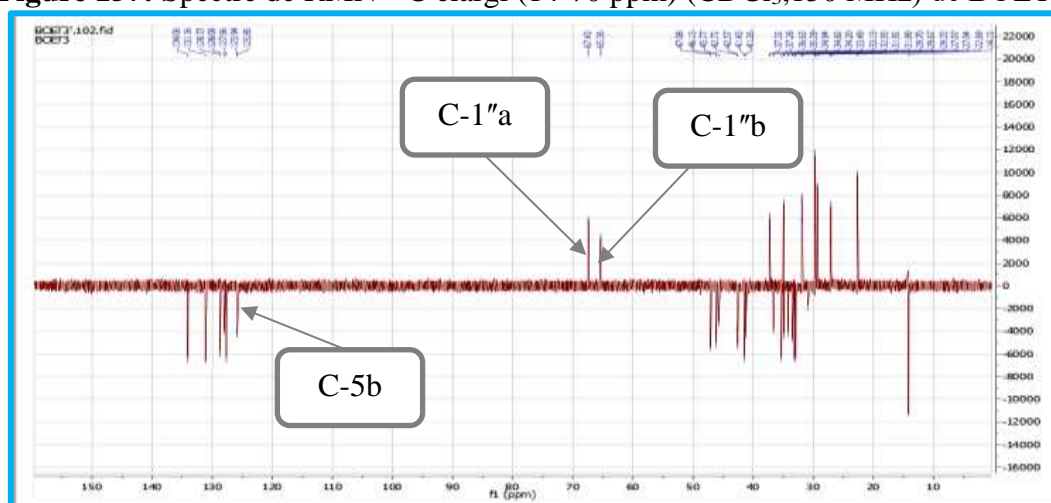


Figure 158 : Spectre DEPT 135 de BOET3'

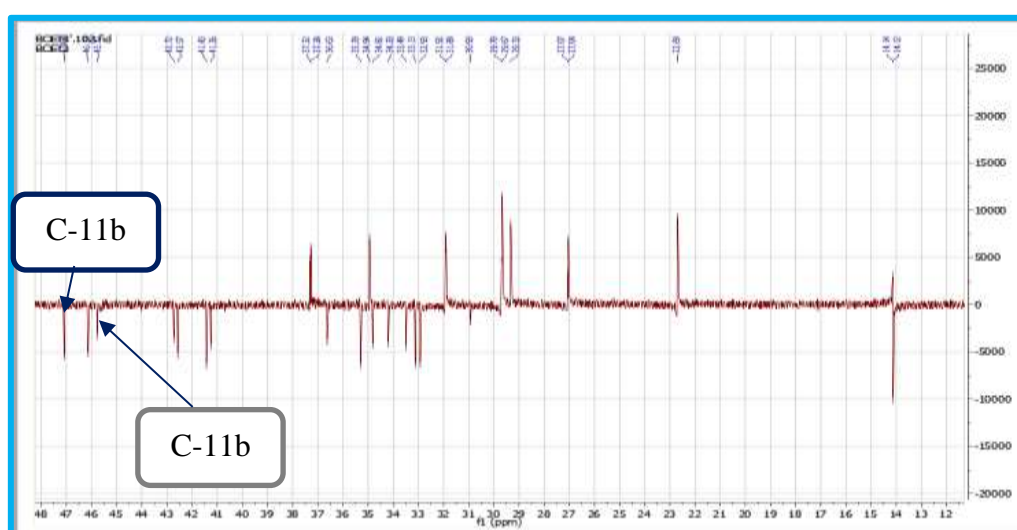


Figure 159 : Spectre DEPT 135 élargi (14-48 ppm) de BOET3'

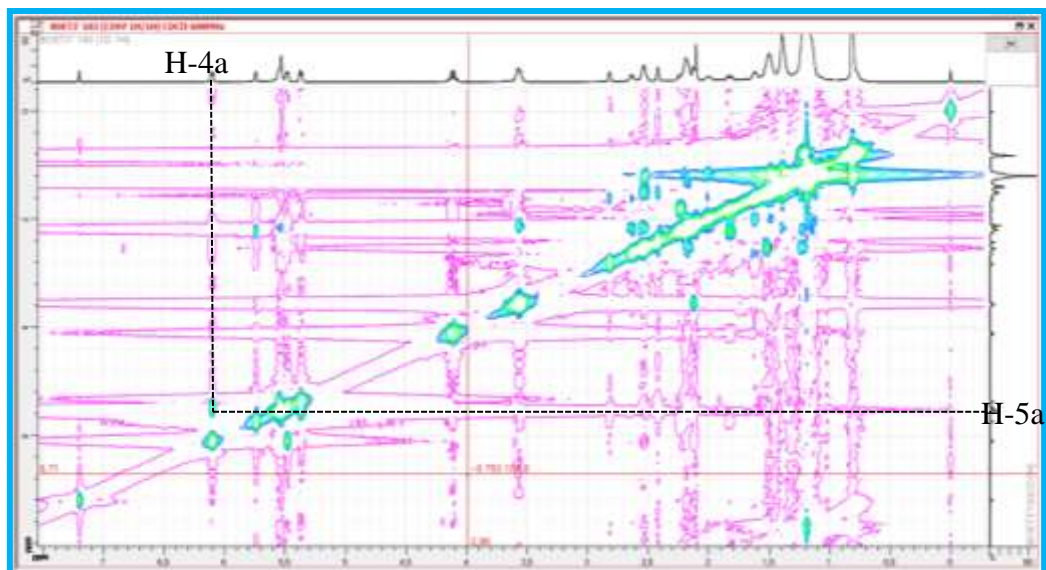


Figure 160 : Spectre COSY de BOET3'

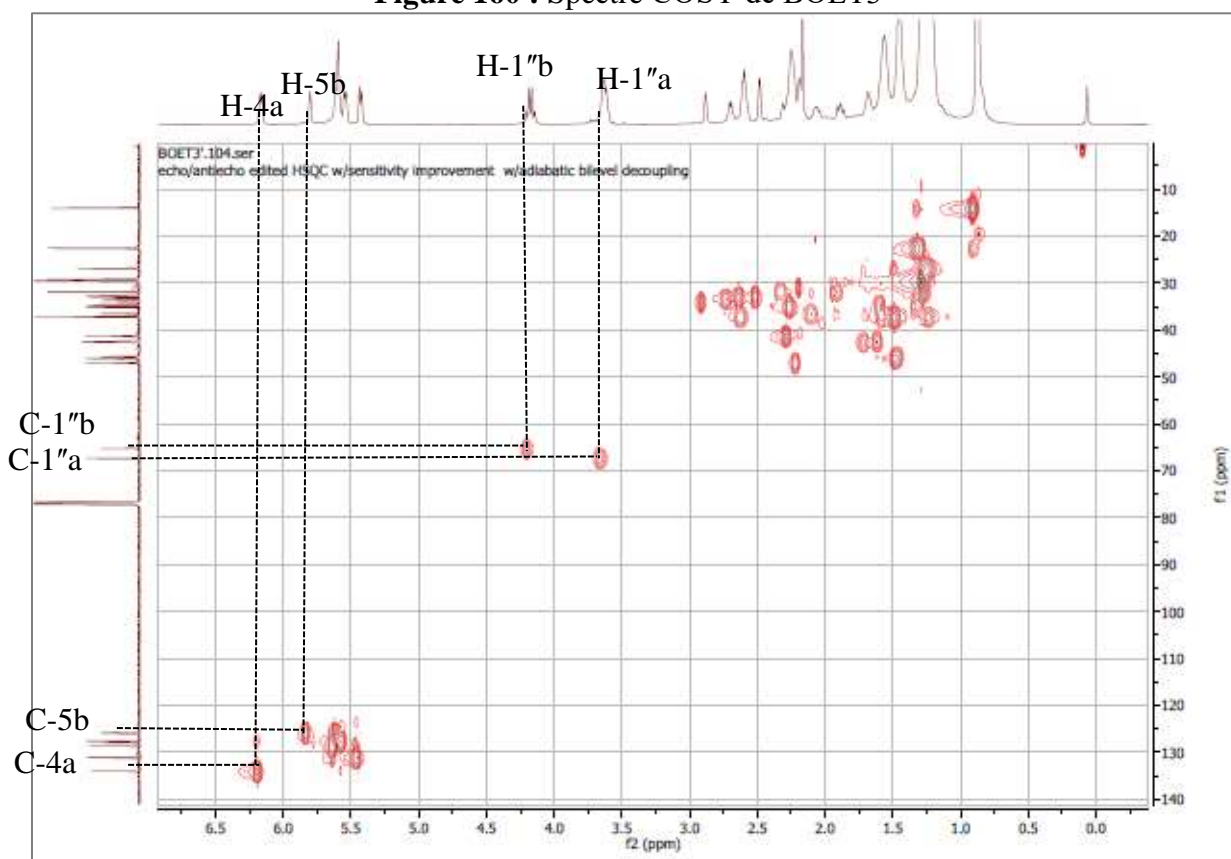
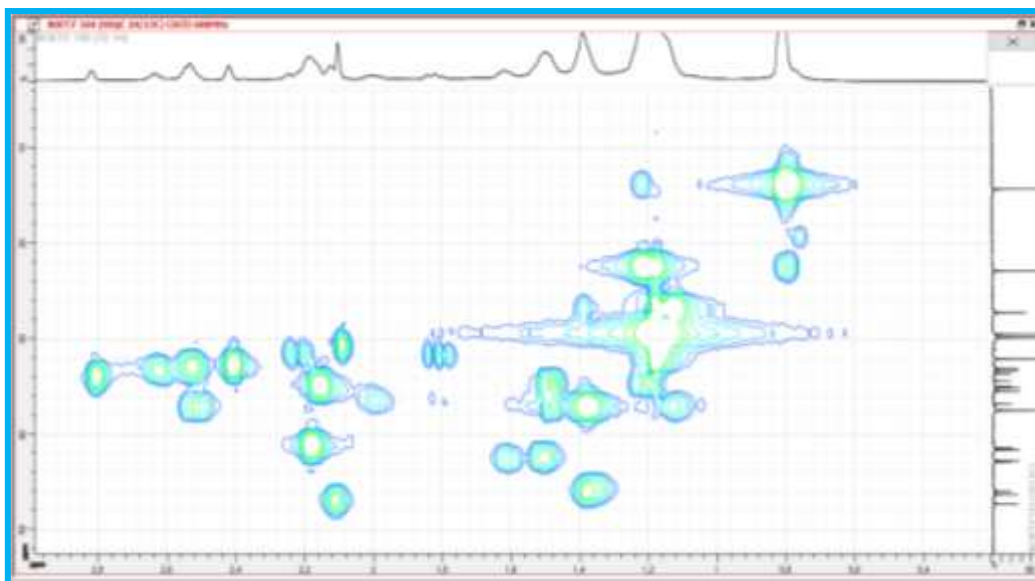
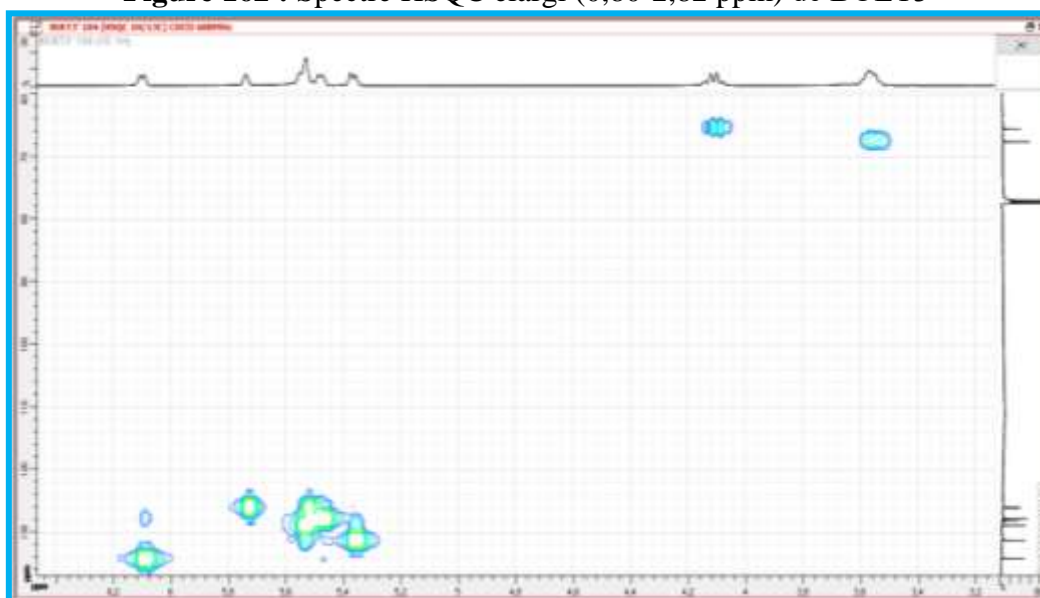


Figure 161 : Spectre HSQC de BOET3'



**Figure 162** : Spectre HSQC élargi (0,80-2,82 ppm) de BOET3'



**Figure 163** : Spectre HSQC de BOET3'

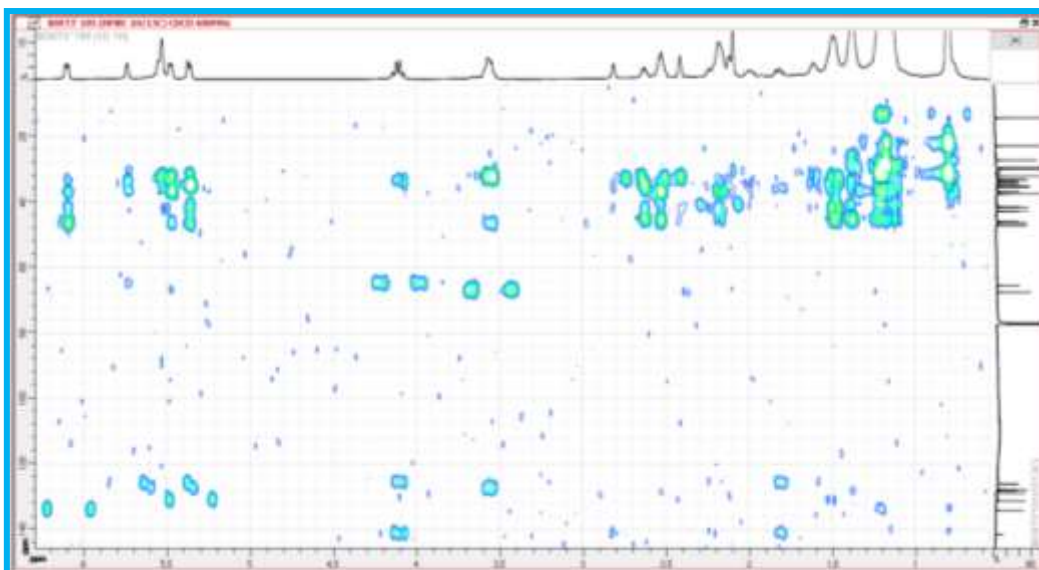


Figure 164: Spectre HMBC de BOET3'

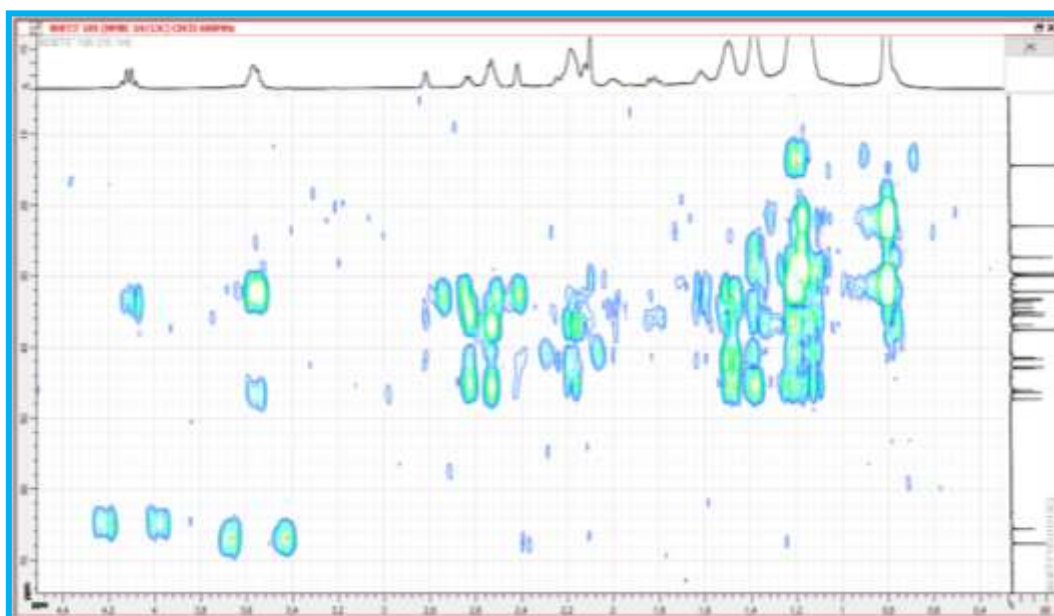


Figure 165 : Spectre HMBC élargi (0,80-4,4 ppm) de BOET3'

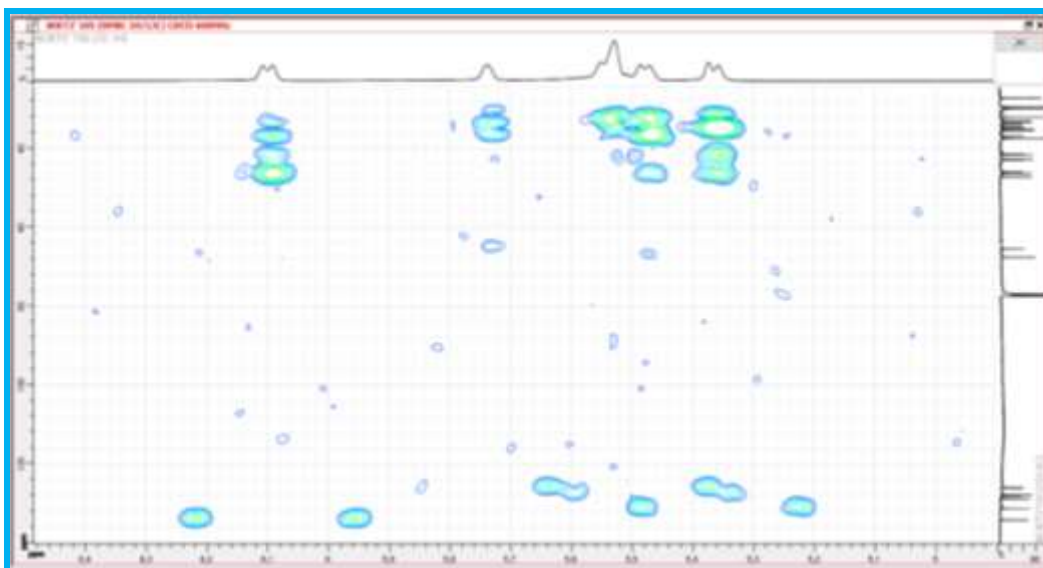


Figure 166 : Spectre HMBC élargi (5,1-5,3 ppm) de BOET3'

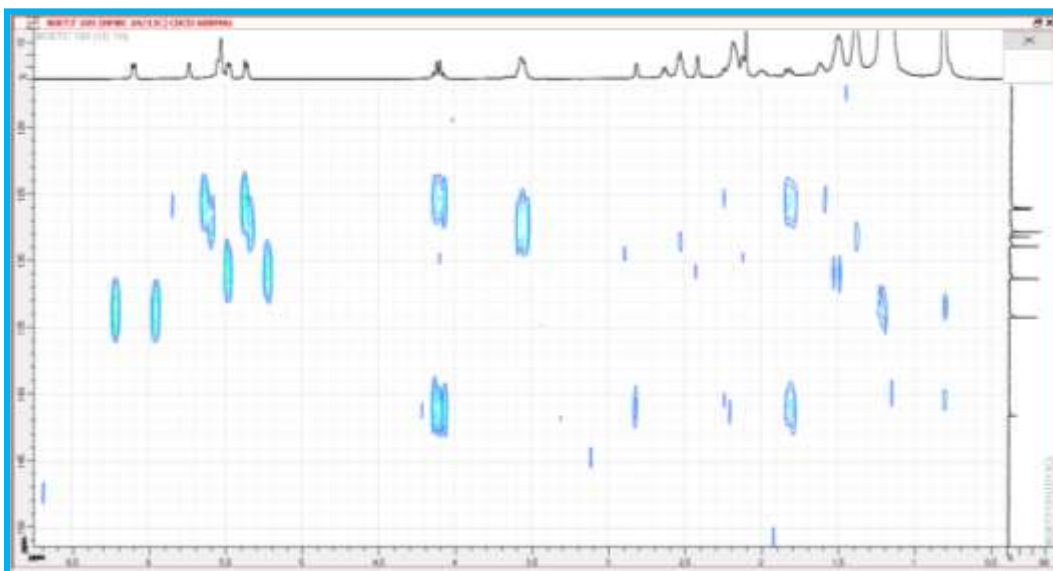


Figure 167 : Spectre HMBC élargi (0,5-6,5 ppm) de BOET3'

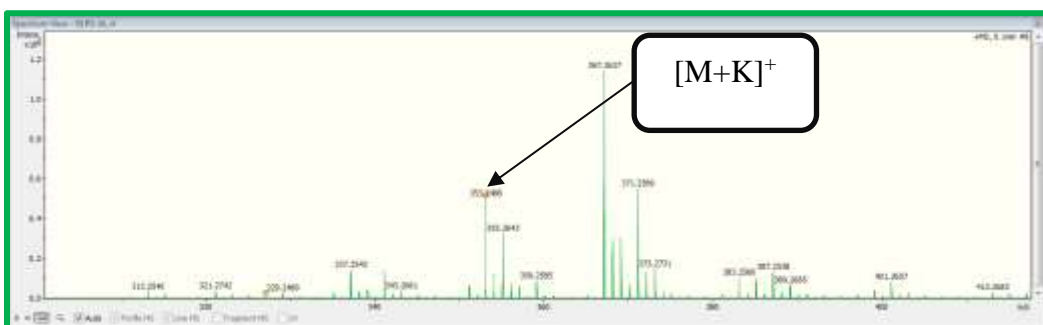


Figure 168: Spectre de masse ESI de BLR5-AL



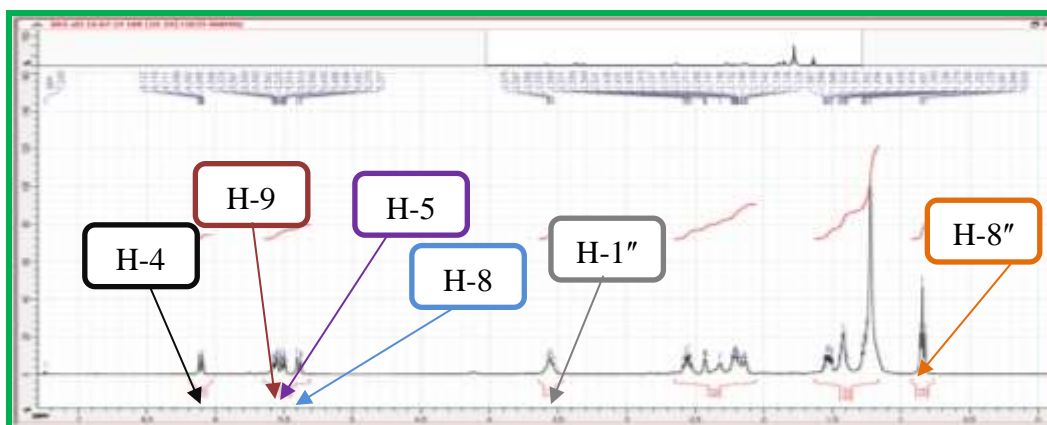


Figure 169: Spectre de RMN  $^1\text{H}$  ( $\text{CDCl}_3$ , 400 MHz) de BLR5-AL

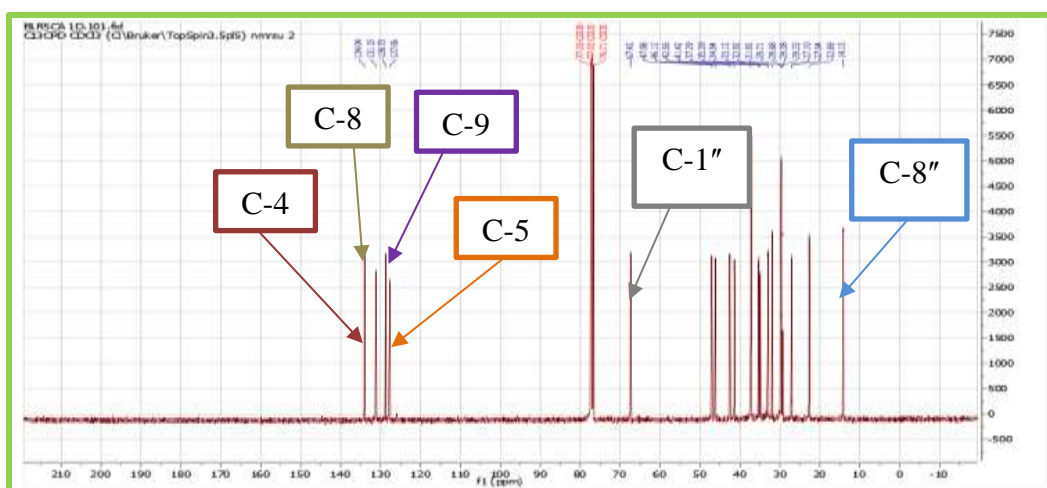


Figure 170: Spectre de RMN  $^{13}\text{C}$  ( $\text{CDCl}_3$ , 100 MHz) de BLR5-AL

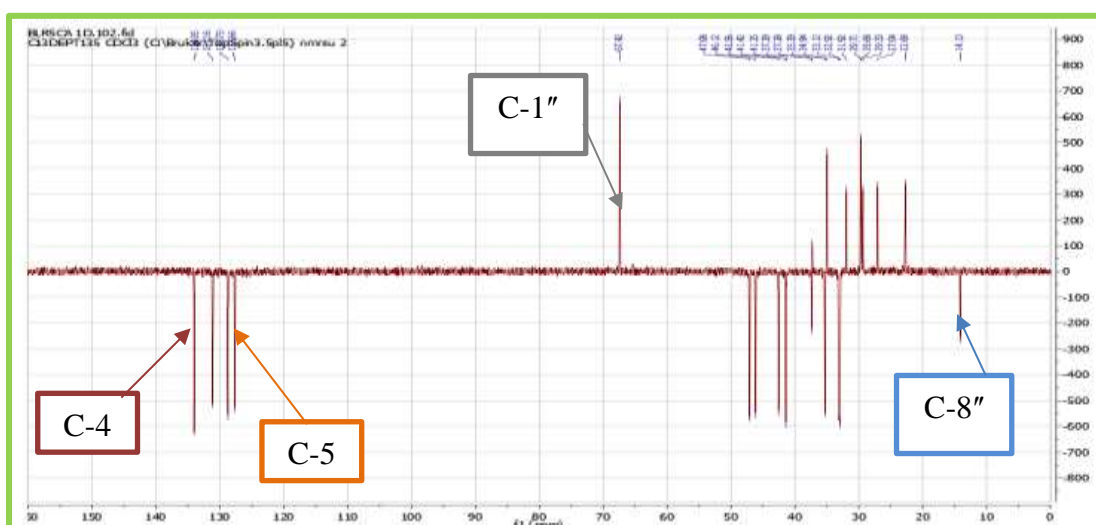


Figure 171: Spectre DEPT 135 de BLR5-AL

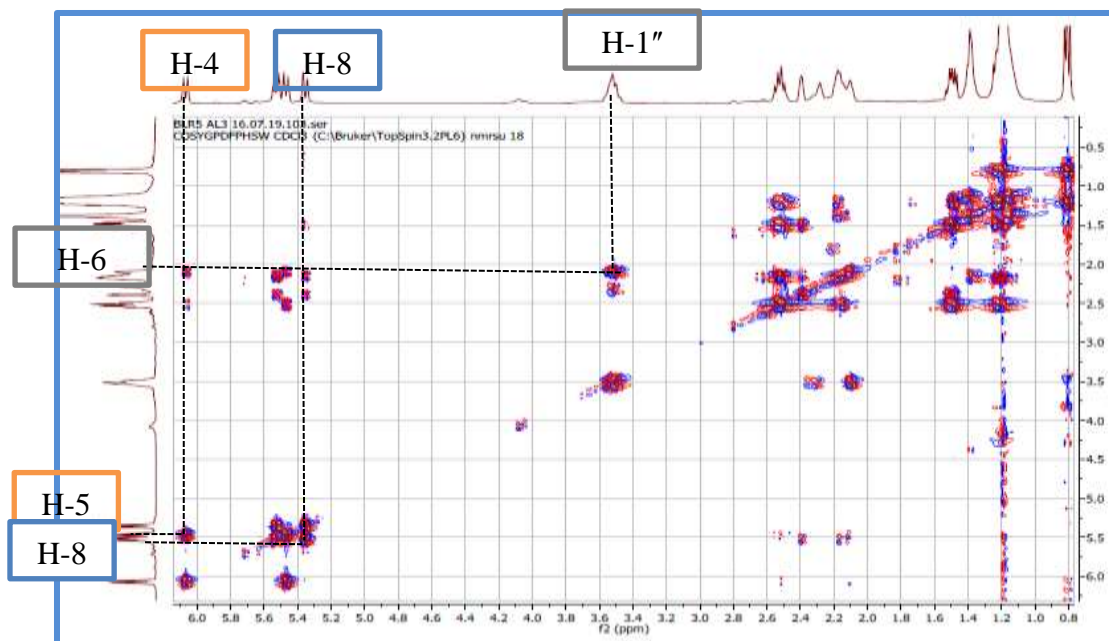


Figure 172 : Spectre COSY de BLR5-AL

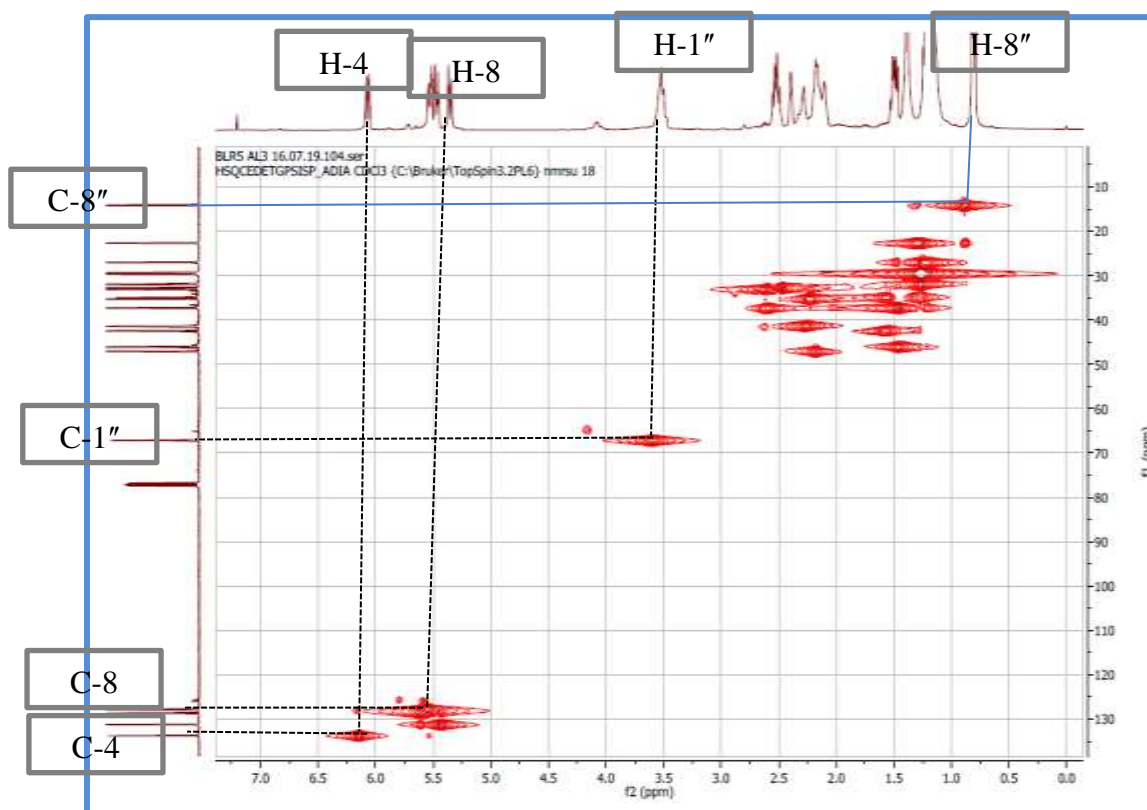
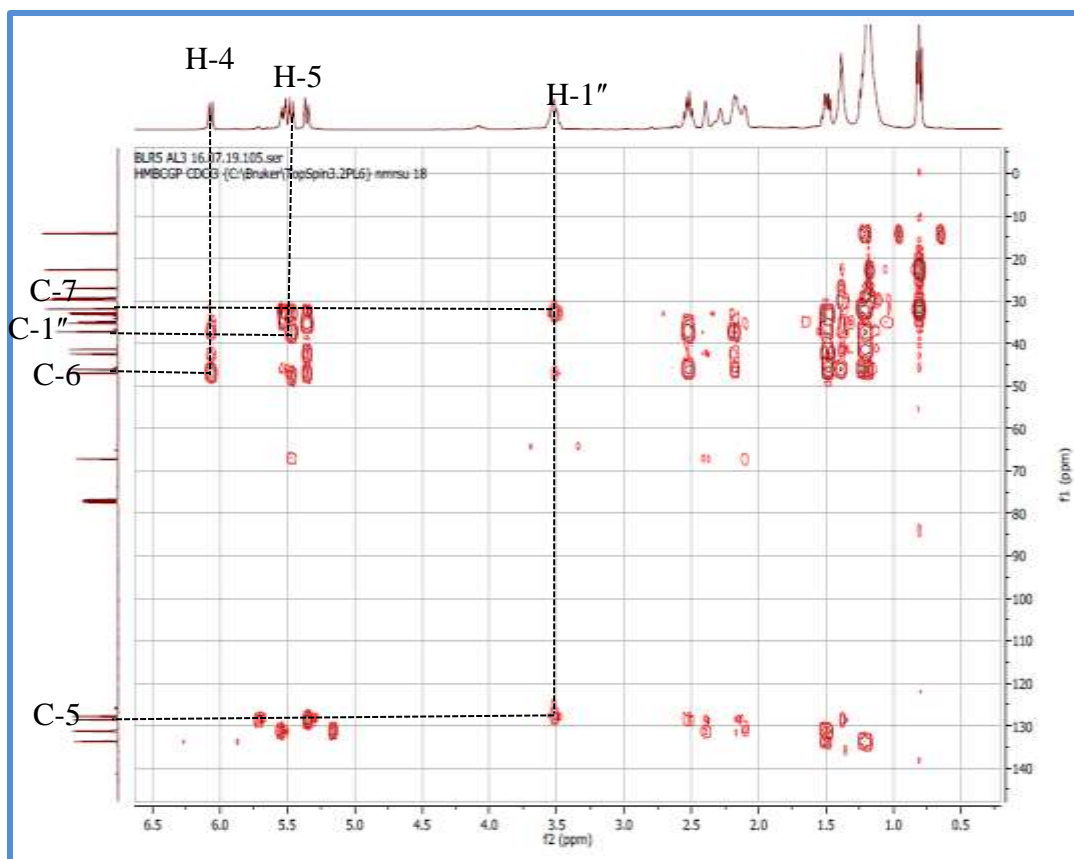


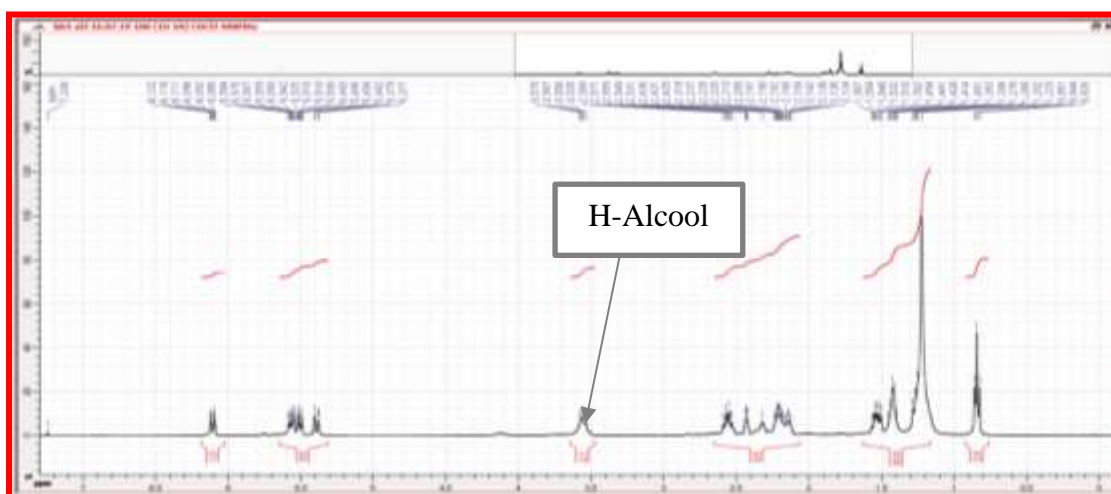
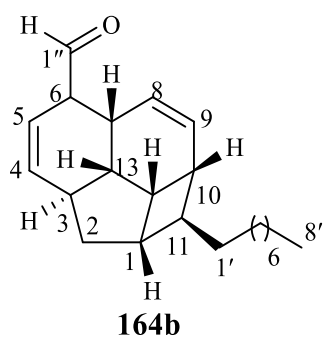
Figure 173 : Spectre HSQC de BLR5-AL



**Figure 174** : Spectre HMBC de BLR5-AL

#### II.4-Determination de structures des autres dérivés d'hémisynthèse

BLR5-ald (**164b**) a été obtenu sous forme d'une huile jaunâtre à partir de l'oxydation BLR5-AL. En effet la fonction alcool a été oxydée en une fonction aldéhyde en utilisant le Dess Martin périodine comme réactif oxydant. En plus des données observées sur le spectre RMN  $^{13}\text{C}$  de BLR5-AL (**Tableau 3**), on observe un signal de carbonyl d'aldéhyde à  $\delta_{\text{C}}$  193,9 dans le spectre de BLR5-ald, remplaçant ainsi hydroxyle, confortant ainsi l'objectif fixé. Cependant, quelques différences notables sont observées: son spectre RMN  $^1\text{H}$  ne présente plus que des résonances de trois protons oléfiniques à  $\delta_{\text{H}}$  5,40 (1H, m, H-8), 5,49 (1H, m, H-9) et 6,81 (1H, t,  $J = 5,2$  Hz, H-5) suggérant qu'un réarrangement s'est produit au cours de la réaction. Ces différences sur le spectre proton sont confirmées sur le spectre de RMN  $^{13}\text{C}$  par l'apparition des résonances de carbones oléfiniques à  $\delta_{\text{C}}$  à 154,0 (C-6), 145,9 (C-5), 127,8 (C-8) et 126,1 (C-9), proches de celles des carbones oléfiniques de l'acide beilschmidique D, ce qui confirme qu'un réarrangement a eu lieu au cours de la réaction. Sur la base de ces données, BLR5-ald (**164b**) est un dérivé nouveau de l'acide beilschmidique D auquel le nom trivial beilschmiedal a été attribué.



**Figure 175:** Spectre de RMN  $^1\text{H}$  ( $\text{CDCl}_3$ , 400 MHz) de BLR5-AL



**Figure 176 :** Spectre de RMN  $^1\text{H}$  élargi ( $\text{CDCl}_3$ , 400 MHz) de BLR5-ald

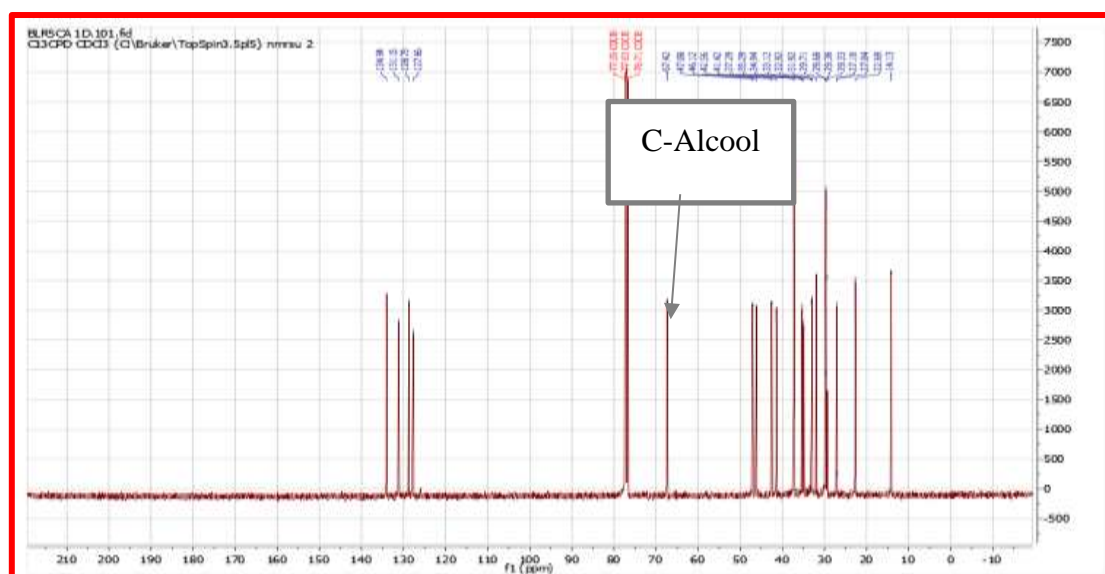


Figure 177 : Spectre de RMN  $^{13}\text{C}$  ( $\text{CDCl}_3$ , 100 MHz) de BLR5-AL

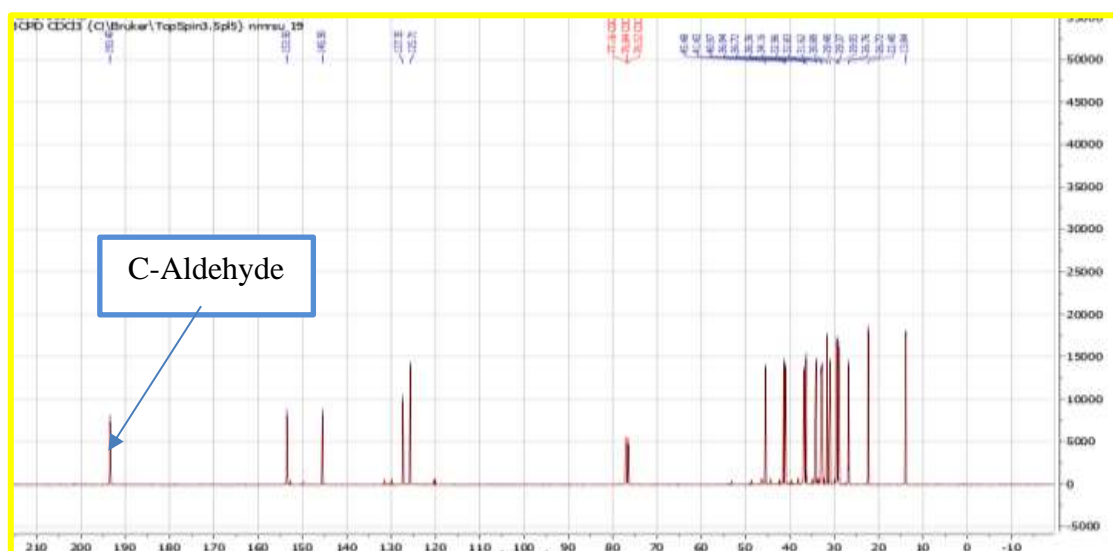


Figure 178: Spectre de RMN  $^{13}\text{C}$  ( $\text{CDCl}_3$ , 100 MHz) de BLR5-ald

Le composé BLR5-TH (**164c**) a été obtenu sous forme de poudre amorphe blanche par addition du thiosemicarbazide sur BLR5-ald (**164b**). La formule moléculaire  $\text{C}_{23}\text{H}_{36}\text{N}_3\text{S}$ , avec huit degrés d'insaturations montre le pic de l'ion pseudo-moléculaire  $[\text{M}+\text{H}]^+$  à  $m/z$  386,2658 qui est en accord avec la masse attendue. Les données de RMN  $^1\text{H}$  et  $^{13}\text{C}$  des deux composés BLR5-TH et BLR5-ad (**tableau 3**) sont presque similaires, à l'exception de quelques différences remarquables. Sur le spectre de RMN  $^{13}\text{C}$  de BLR5-TH, on peut noter la disparition du signal d'aldéhyde à  $\delta_{\text{C}}$  193,9 et l'apparition d'un signal de l'imine conjugué à  $\delta_{\text{C}}$  145,5. On observe également le signal d'un groupement de thiocarbonyle à  $\delta_{\text{C}}$  180,4 (C-2"). Ces informations sont confirmées sur le spectre RMN  $^1\text{H}$  par l'absence du proton d'aldéhyde à  $\delta_{\text{H}}$  9,46 et l'apparition de quatre autres signaux de l'unité thiosemicarbazide à  $\delta_{\text{H}}$  12,43 (1H, s, NH-1), 9,63 (2H, s,

NH<sub>2</sub>-1), 8,39 (1H, s, H-1'') et 8,01 (1H, s, NH<sub>2</sub>-2). Sur la base des données ci-dessus, le composé BLR5-TH (**164c**) est un dérivé nouveau d'acide beilschmidique D auquel le nom trivial beilschmicarbazone a été donné.

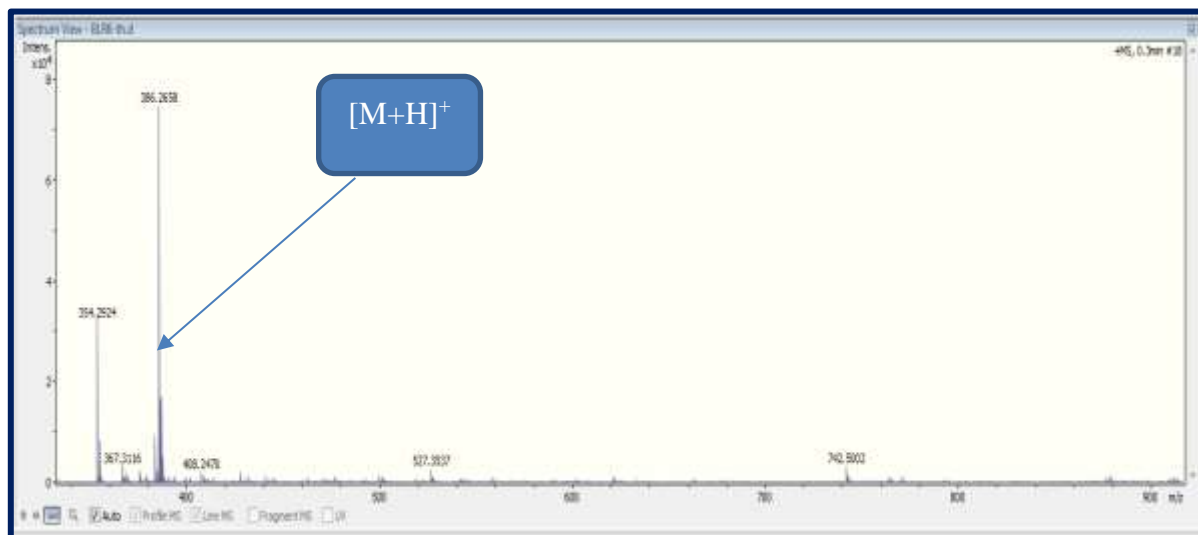
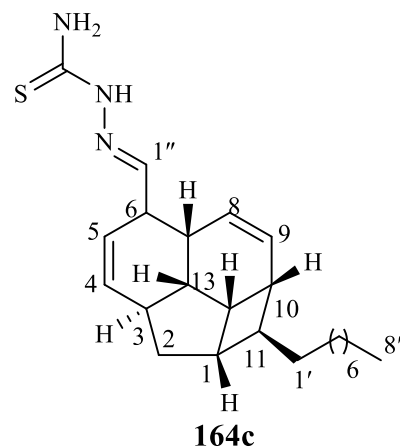


Figure 179 : Spectre de masse ESI de BLR5-TH

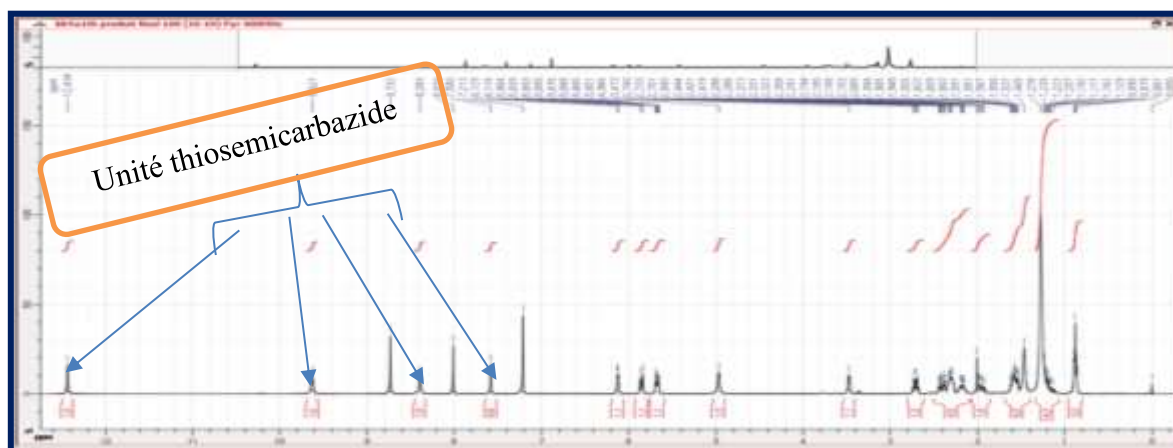
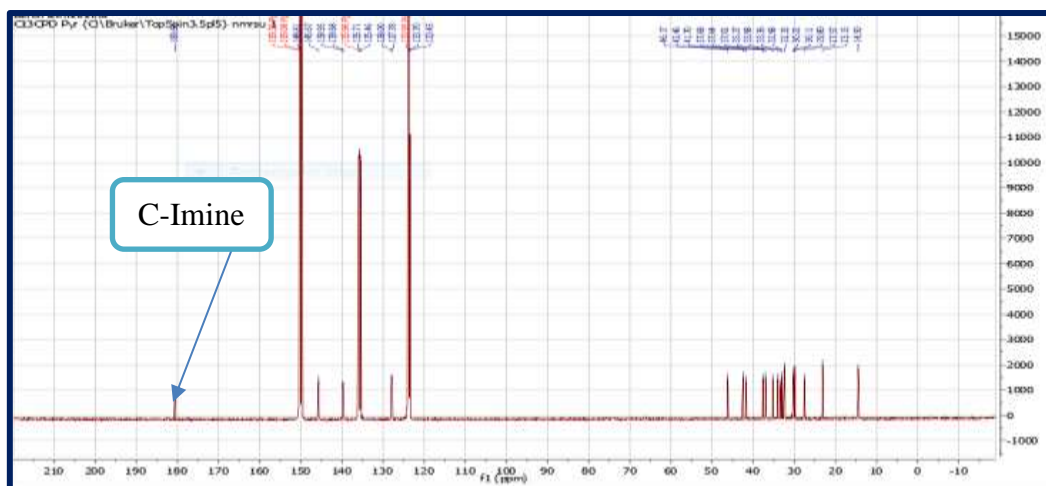
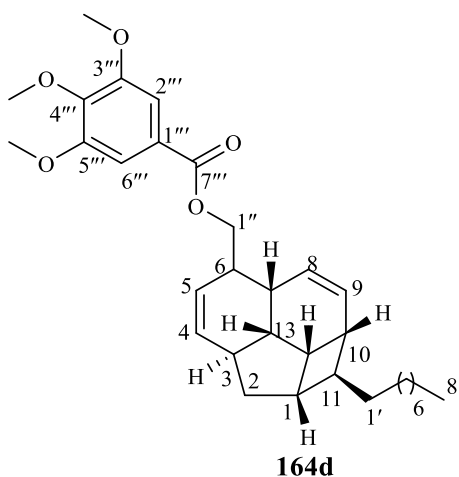


Figure 180 : Spectre de RMN <sup>1</sup>H (CDCl<sub>3</sub>, 400 MHz) de BLR5-TH



**Figure 181:** Spectre de RMN  $^{13}\text{C}$  ( $\text{CDCl}_3$ , 100 MHz) de BLR5-TH

Le composé BLR5-Bz a été obtenu sous la forme d'une poudre amorphe blanche à partir de la réaction d'addition du composé BLR5-AL avec l'acide 3,4,5-triméthoxybenzoïque. La formule moléculaire  $\text{C}_{32}\text{H}_{44}\text{KO}_5$ , avec huit degrés d'insaturations, a été déduite de l'analyse de ses spectres de RMN et de son spectre de masse ESI à haute résolution, qui exhibe un pic d'adduit potassique  $[\text{M}+\text{K}]^+$  à  $m/z$  547,3057, qui est en accord avec la masse attendue. Le spectre de RMN  $^{13}\text{C}$  de BLR5-Bz (figure 185) présentent en plus des signaux de BLR5-AL, des signaux supplémentaires attribuables au fragment triméthoxygalloyloxy à savoir : un signal d'un groupement carboxyle à  $\delta_{\text{C}}$  166,3 (C-1'''), des signaux d'un noyau benzénique 3,4,5-trisubstitué à  $\delta_{\text{C}}$  125,3 (C-2), 106,8 (C-3/7), 152,9 (C-4/6), 142,2 (C-5) et des signaux de trois groupes oxyméthyle à  $\delta_{\text{C}}$  60,9 (4'''-OMe) et 56,2 x 2 (3'''/5'''-OMe). La présence du fragment triméthoxygalloyloxy est confirmée sur le spectre RMN  $^1\text{H}$  par un singulet de deux protons du noyau benzénique 3,4,5-trisubstitué à  $\delta_{\text{H}}$  7.23 (2H, s, H-3'''/7''') et deux singulets de trois groupes méthoxy à  $\delta_{\text{H}}$  3,83 (6H) et 3,85 (3H). Ainsi BLR5-Bz (**164d**) est un dérivé nouveau de l'acide beilschmidique E, trivialement nommé beilschmiegallate.



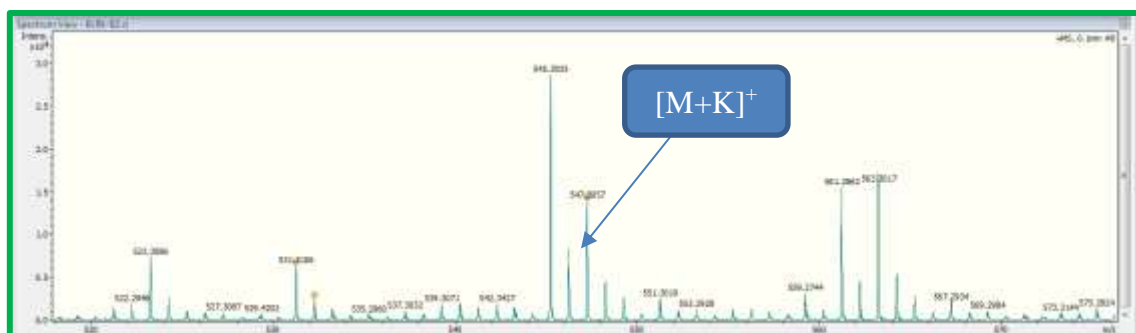


Figure 182: Spectre de masse ESI de BLR5-BZ

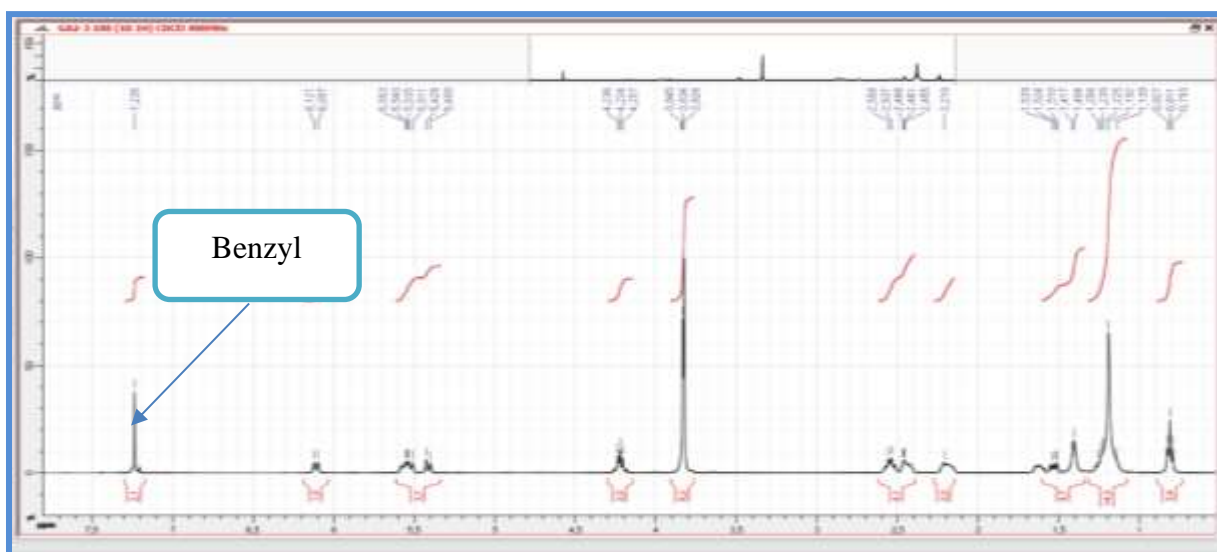


Figure 183 : Spectre de RMN  $^1\text{H}$  ( $\text{CDCl}_3$ , 400 MHz) de BLR5-BZ

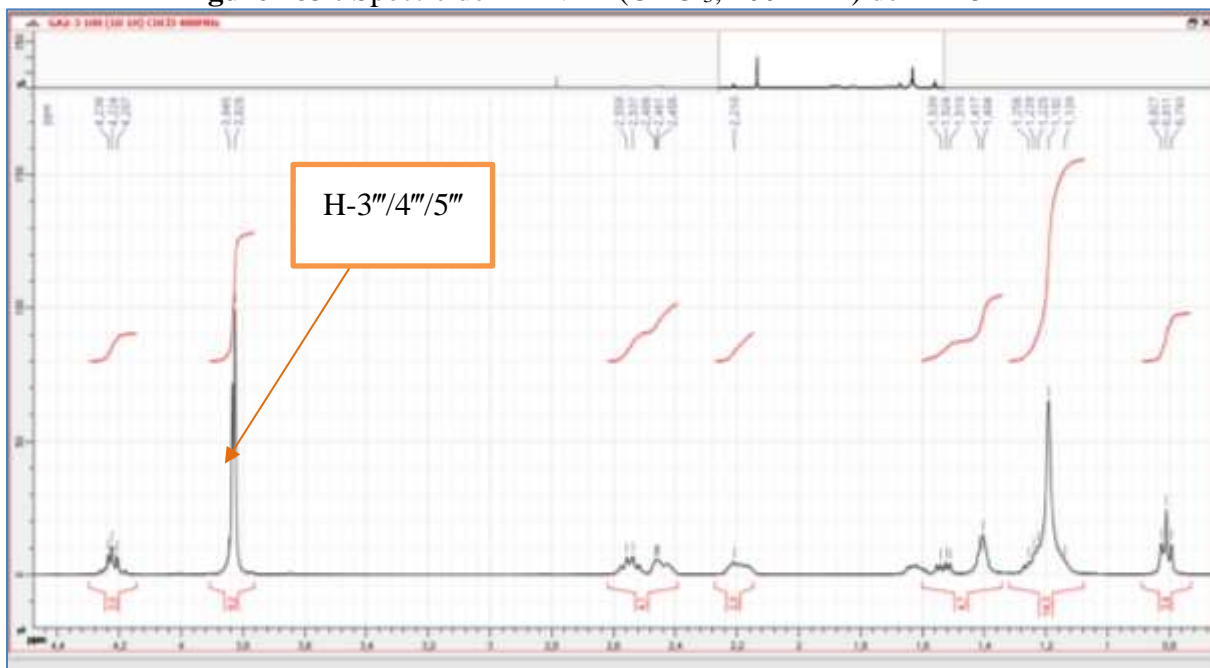


Figure 184 : Spectre de RMN  $^1\text{H}$  ( $\text{CDCl}_3$ , 400 MHz) de BLR5-BZ



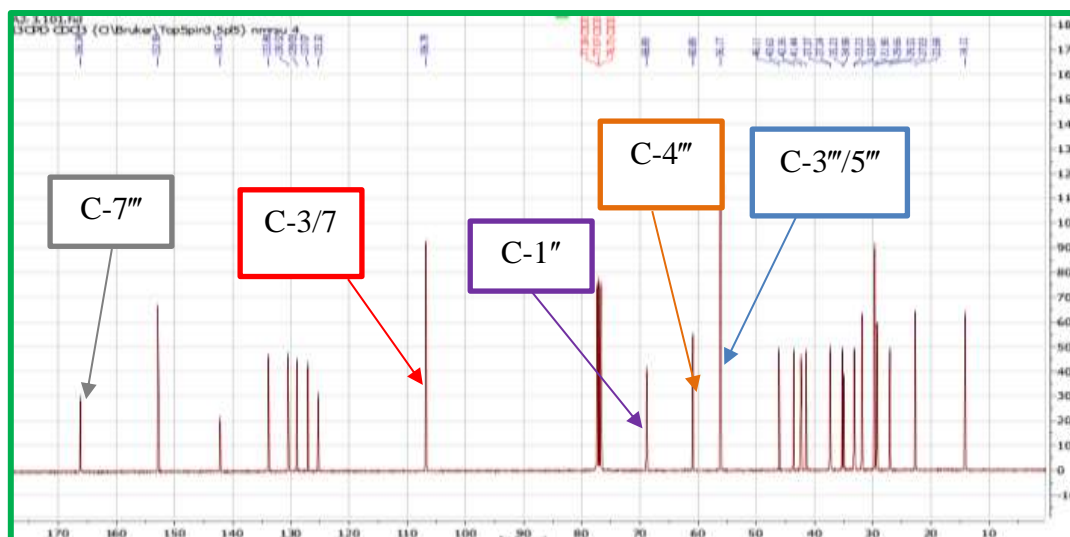


Figure 185 : Spectre de RMN  $^{13}\text{C}$  ( $\text{CDCl}_3$ , 100 MHz) BLR5-Bz

Tableau 25: Données de RMN  $^{13}\text{C}$  (100 MHz) de BLR5-AL, BLR5-ald, BLR5-Bz dans le  $\text{CDCl}_3$  et BLR5-TH dans la pyridine- $d_6$

Position	BLR5-AL	BLR5-ald	BLR5-TH	BLR5-BZ
1	41,6	41,4	42,2	41,4
2	35,1	37,2	36,8	35,0
3	37,4	41,9	41,5	37,4
4	133,9	32,1	32,8	133,9
5	127,9	153,7	139,5	127,1
6	47,2	125,7	139,7	46,1
7	35,4	33,3	33,1	35,2
8	131,4	145,5	127,8	129,0
9	128,8	127,3	127,6	130,5
10	33,3	34,6	35,0	33,2
11	46,2	45,9	45,9	43,6
12	32,9	33,4	33,8	33,2
13	42,6	36,8	36,8	42,4
1'	37,4	37,4	37,4	37,4
2'	27,2	27,2	27,4	27,0
3'	29,8	29,8	29,9	29,7
4'	29,8	29,5	29,6	29,3
5'	29,5	29,8	29,9	29,7
6'	32,1	31,3	32,1	31,9
7'	22,8	22,8	22,9	22,7
8'	14,3	14,3	14,3	14,3
1''	67,3	193,9	145,5	68,9
1'''			180,4	166,3
2'''				125,3
3'''				106,8
4'''				152,9
5'''				142,2
6'''				152,9
7'''				106,8
4'''/6'''-OMe				56,2
5'''-OMe				60,9

## II.5- Activités biologiques des extraits et des composés isolés

Un criblage antiparasitaire préliminaire a été réalisé sur les extraits des racines et feuilles de *B. louisii*, écorces de *B. obscura* et racines, écorces et feuilles de *P. americana* ainsi que les composés isolés et semi-synthétiques pour évaluer leurs propriétés antiplasmodiales et antitrypanosomales *in vitro* sur la souche chloroquino-résistante Pf3D7 de *P. falciparum* et sur *T.b. brucei* et pour leur cytotoxicité *in vitro* (Tableau 26-28).

**Tableau 26: Activités antipaludiques, antitrypanosomales et cytotoxicité des extraits et composés.**

espèces	parties	échantillons	<i>Trypanosoma brucei</i> ( <i>T.b.</i> ) $\pm$ sd CI <sub>50</sub> (ug/ml)	<i>P. falciparum</i> (souche 3D7) $\pm$ sd CI <sub>50</sub> (ug/ml)	Viabilité des cellules cytotoxiques (%) $\pm$ sd	Cytotoxicité (souche HeLa) $\pm$ sd CI <sub>50</sub> (ug/ml)	SI ( <i>P. falciparum</i> )
<i>Beilschmiedia louisii</i>	racines	BLR	4,619	-	100 $\pm$ 14,1	-	-
		BLRA	20,94	-	100 $\pm$ 1,3	-	-
	Bois	BLBn	11,51	-	100 $\pm$ 4,1	-	-
	feuilles	BLF	13,82	-	100 $\pm$ 2,3	-	-
<i>Persea americana</i>	écorces	PAETP	nd	0,96 $\pm$ 0,11	5,63 $\pm$ 0,13	3,46 $\pm$ 0,22	3,60
		PAETnb	nd	10,45 $\pm$ 0,91	26,42 $\pm$ 4,56	22,82 $\pm$ 1,13	2,18
		PAETt	nd	2,73 $\pm$ 0,14	5,06 $\pm$ 0,33	4,67 $\pm$ 0,49	1,71
		PAETc	nd	9,67 $\pm$ 0,76	27,50 $\pm$ 2,21	25,44 $\pm$ 1,33	2,6
	feuilles	PAFP	nd	7,22 $\pm$ 0,21	88,20 $\pm$ 0,18	-	-
		PAFC	nd	3,8 $\pm$ 0,63	83,48 $\pm$ 2,71	-	-
		PAFt	nd	5,7 $\pm$ 0,14	90,64 $\pm$ 2,30	-	-
		PAFnb	nd	-	94,91 $\pm$ 0,90	-	-
	racines	PARC	nd	0,76 $\pm$ 0,10	5,71 $\pm$ 1,40	10,90 $\pm$ 0,3	14,34
		PARH	nd	0,95 $\pm$ 0,03	28,48 $\pm$ 2,26	22,02 $\pm$ 1,18	23,17
PARt		nd	3,66 $\pm$ 0,02	3,22 $\pm$ 0,32	5,32 $\pm$ 0,34	1,45	
PARnb		nd	-	99,58 $\pm$ 6,27	-	-	
<i>Beilschmiedia Obscura</i>	écorces	BOET	21,59	-	100 $\pm$ 5,5	-	-
		BOETA	16,88	-	100 $\pm$ 1,7	-	-
Pentamidine	-	-	0,003	-	-	-	-
Chloroquine	-	-	-	0,04	-	-	-
Emetine	-	-	-	0,014	-	-	-

BLR : extrait total racines de *B. louisii*, BLRA : fraction alcaloïdique des racines de *B. louisii*, BLETA : Extrait alcaloïdique des écorces de *B. louisii*, BLBn : fraction neutre du bois de *B. louisii*, BLF : extrait total des feuilles de *B. louisii*, PAETP : extrait à l'éther de pétrole des écorces du tronc de *P. americana*, PAETnb : extrait au butanol écorces du tronc de *Persea americana*, PAETt : extrait total écorces du tronc de *P. americana*, PAETc : extrait au chloroforme écorces du tronc de *P. americana*, PAFt : extrait total des feuilles de *P. americana*, PAFc : extrait au chloroforme des feuilles de *P. americana*, PAFP : extrait à l'éther de pétrole des feuilles de *P. americana*, PAFnb : extrait au butanol des feuilles de *P. americana*, PARC : extrait au chlorure de méthylène des racines de *P. americana*, PARH : extrait à l'hexane des racines de *P. americana*, PARt : extrait total racines de *P. americana*, PARnb : extrait au butanol des racines de *P. americana*, BOET : extrait total des écorces du tronc de *B. obscura*, BOETA : fraction alcaloïdique des écorces du tronc de *B. obscura*,

**Tableau 27: Activités antipaludiques, antitrypanosomales et cytotoxicité des composés**

Espèces	Échantillons	<i>Trypanosoma brucei</i> (T.b.) $\pm$ sd CI <sub>50</sub> ( $\mu$ g /ml)	<i>P. falciparum</i> (souches 3D7) $\pm$ sd CI <sub>50</sub> ( $\mu$ g /ml)	Viabilité des cellules cytotoxiques (%) $\pm$ sd	Cytotoxicité (souche HeLa) $\pm$ sd	IS (P. <i>falciparum</i> )
	<b>152</b>	2,98	-	100 $\pm$ 11,3	-	-
<i>B. Obscura</i>	<b>154+155</b>	5,24		100 $\pm$ 6,6	-	-
	<b>157</b>	26,17	-	76,6 $\pm$ 4,1	-	-
	<b>168+169</b>	1,61		100 $\pm$ 14,0	-	-
<i>B. americana</i>	<b>151</b>		0,63 $\pm$ 0,04	22,57 $\pm$ 4,62	14.51 $\pm$ 0,79	23,03
	<b>161</b>		2,8 $\pm$ 0,28	62,63 $\pm$ 3,90	-	-
	<b>159</b>		9,48 $\pm$ 0,83	0,53 $\pm$ 0,07	3.3 $\pm$ 0,03	0,34
	<b>160</b>		0,04 $\pm$ 0,01	62,83 $\pm$ 0,82	-	-
<i>Composes de synthese</i>	<b>164a</b>	20,38	-	52,6 $\pm$ 1,8	-	-
	<b>164b</b>	8,291	9,82	79,6 $\pm$ 17,1	-	-
Pentamidine	-	0,03	-	-	-	-
Chloroquine	-	-	0,011	-	-	-
Emetine	-	-	-	0,014	-	-

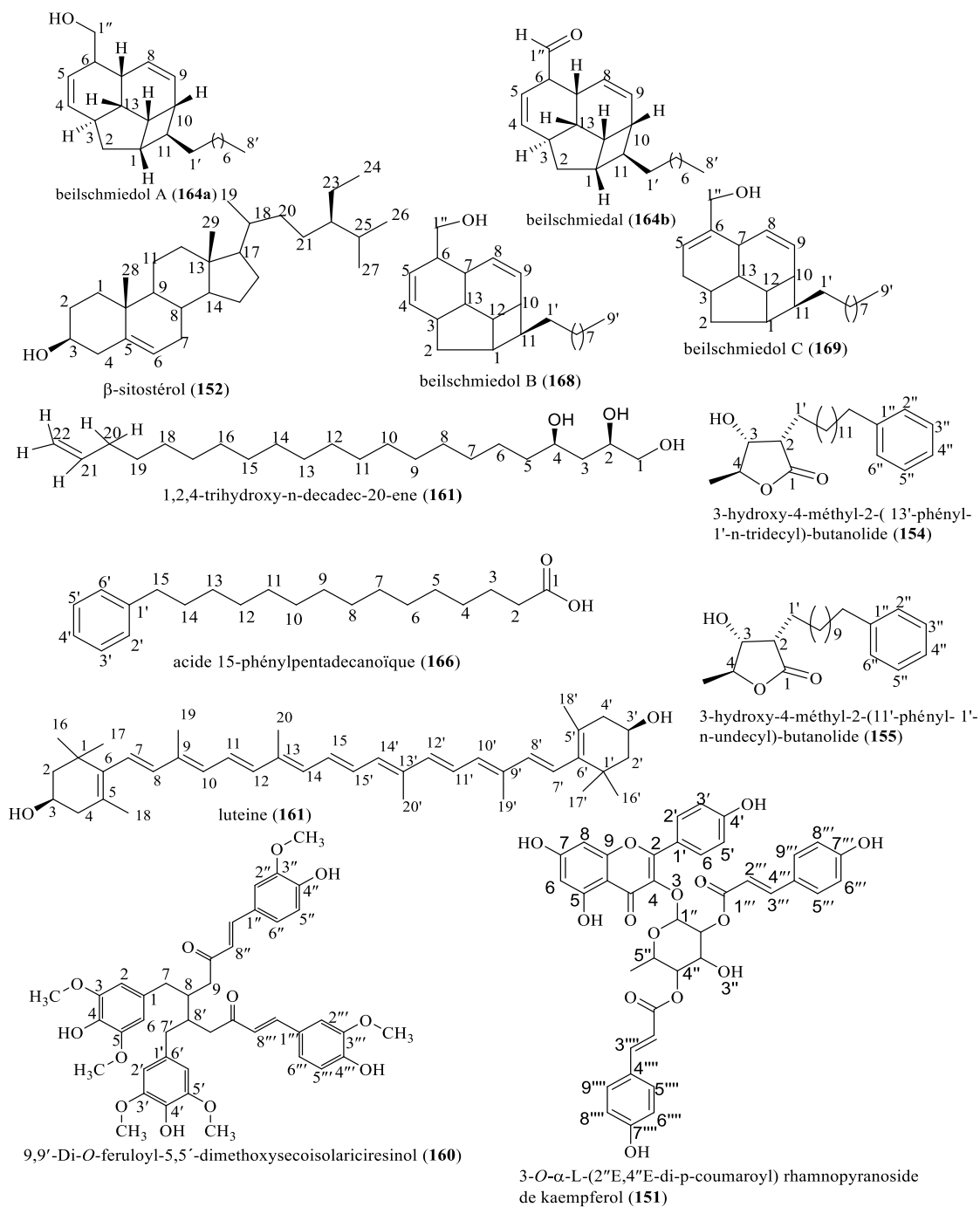


Figure 186: structures des composés ayant présentés une activité biologique.

**Tableau 28 : Activités antipaludiques, antitrypanosomales et cytotoxicité des Combinaisons des composés.**

Composés dans le mélange (ratio, v/v)	Cytotoxicity cell viability (%) $\pm$ sd	Antimalarial cell viability (%) $\pm$ sd	Antitrypanosome cell viability (%) $\pm$ sd	<i>Trypanosoma brucei</i> (T.b.) CI <sub>50</sub> (ug/ml)
	164-165 (1:1)	73.6 $\pm$ 1.2	100 $\pm$ 4.8	20.1 $\pm$ 3.4
164-166 (1:1)	80.0 $\pm$ 2.0	100 $\pm$ 7.6	18.7 $\pm$ 11.2	66.00
164-152 (1:1)	82.9 $\pm$ 3.1	100 $\pm$ 1.0	19.6 $\pm$ 5.2	79.96
164-(166+167) (1:1)	85.0 $\pm$ 0.1	100 $\pm$ 4.3	25.8 $\pm$ 1.3	67.38
166-152 (1:1)	79.1 $\pm$ 2.2	100 $\pm$ 9.5	6.0 $\pm$ 3.8	27.31
165-(166+167) (1:1)	83.0 $\pm$ 7.4	100 $\pm$ 6.2	21.4 $\pm$ 1.8	42.01
165-(166+167) (1:2)	61.9 $\pm$ 11.0	100 $\pm$ 6.5	2.7 $\pm$ 0.6	28.05
165-166 :152 (1:1:1)	61.6 $\pm$ 4.9	95.3 $\pm$ 9.5	18.3 $\pm$ 9.5	26.97
165-166-164 (1:1:1)	61.8 $\pm$ 2.0	90.4 $\pm$ 5.5	4.6 $\pm$ 0.2	27.70
164-152 (1:2)	90.3 $\pm$ 3.3	92.6 $\pm$ 2.1	16.4 $\pm$ 9.8	89.53
164-152 (1:2)	74.3 $\pm$ 12.6	84.5 $\pm$ 3.4	20.7 $\pm$ 12.1	23.74
152-166 (1:2)	71.9 $\pm$ 7.1	76.4 $\pm$ 1.7	14.0 $\pm$ 8.8	17.44
163-164-165-166 (1:1:1:1)	67.7 $\pm$ 12.1	68.5 $\pm$ 8.1	2.8 $\pm$ 0.2	20.87
163-164-165-166 (2:2:1:1)	70.4 $\pm$ 11.7	86.3 $\pm$ 13.0	2.6 $\pm$ 0.0	22.26
163-164-165-166 (2:1:2:1)	64.9 $\pm$ 8.6	74.4 $\pm$ 1.1	2.8 $\pm$ 0.1	26.83
163-164-165-166 (2:1:1:2)	73.6 $\pm$ 6.00	83.2 $\pm$ 7.6	2.9 $\pm$ 0.3	19.25
163-164-165-166 (1:1:2:2)	73.8 $\pm$ 7.3	63.6 $\pm$ 13.6	5.3 $\pm$ 3.9	33.5
163-164-165-166 (1:2:3:3)	80.3 $\pm$ 5.7	62.1 $\pm$ 1.6	2.5 $\pm$ 0.6	37.46

Beilschmiedique D (**163**), beilschmiedique E(**164**), acide 3",4"-méthylènedioxyendiandrique A (**165**), beilschmiedique A (**166**),  $\beta$ -sitostérol (**152**), acide beilschmiedique C(**167**).

### II.5.1- Activite antitrypanosomiale.

Tous les extraits testés ont montré une activité sur *T.b. brucei in vitro*. L'extrait au CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>-MeOH (1:1) des racines de *B. louisii* a montré une très bonne activité antitrypanosomale avec une valeur de CI<sub>50</sub> de 4,6  $\mu$ g/mL alors que celle des écorces du tronc de *B. obscura*, et des feuilles de *B. louisii* ont eu des activités modérées contre *Trypanosoma brucei* avec les valeurs de CI<sub>50</sub> 21,6 et 13,8  $\mu$ g/mL, respectivement.

Les extraits au CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>-MeOH (1:1) des racines et de bois de *B. louisii* et des écorces de *B. obscura* ont été partitionnés en fractions alcaloïdes et neutres. Les fractions obtenues ont également été évaluées pour leurs activités antitrypanosomales sur la même souche. Toutes les fractions obtenues ont eu des activités modérées avec 8  $\mu$ g/mL  $\leq$  CI<sub>50</sub>  $\leq$  22  $\mu$ g/mL.

Les composés isolés et semi-synthétisés ont également été testés pour leurs activités antitrypanosomales. Parmi les composés isolés, le  $\beta$ -sitostérol (**152**), les mélanges de [beilschmiedol B (**168**) et C et **169**] et [3-hydroxy-4-méthyl-2-(13'-phényl-1'-*n*-tridecyl)butanolide (**154**) et (3-hydroxy-4-méthyl-2-(11'-phényl-1'-*n*-undecyl)butanolide et (**155**)] ont

montré les meilleures activités avec des  $CI_{50}$ s de 2,98, 1,61, 5,24  $\mu\text{g/mL}$ , respectivement. En comparant l'activité des composés isolés à celui de l'extrait, on peut conclure que les composés isolés sont plus actifs que les extraits respectifs dont la synergie entre les constituants diminue le potentiel antitrypanosomal des extraits.

Concernant les dérivés de synthèses, le beilschmiedol A (**164a**) a montré une faible activité antitrypanosomale avec une valeur de  $CI_{50}$  20,4  $\mu\text{g/mL}$  par rapport au beilschmiedol (**164b**) qui a montré une activité modérée avec une valeur  $CI_{50}$  de 8,3  $\mu\text{g/mL}$ . Les autres dérivés étant inactifs. D'après les résultats obtenus, il apparaît que les composés les plus actifs sont les alcools. La présence de ce groupe fonctionnel serait importante pour l'activité. De plus, l'activité des mélanges **154-155** et **168-169** peut être due à l'action synergique de leurs constituants. Le potentiel antitrypanosomal des dérivés d'acide endiandrique est rapporté ici pour la première fois. Quant au mélange [**154+155**] appartenant à la classe de métabolites secondaires appelés butanolide sont connus pour avoir de bonnes propriétés antitrypanosomales (Oleivera et al en 2019)

Compte tenu du fait que l'extrait des *B. louisii* a été actif sur *T.b. brucei* et la plupart de ses constituants isolés ont été inactifs, une évaluation du potentiel d'inhibition de la croissance de *T.b. brucei* et la viabilité de la combinaison des composés isolés à différentes concentrations ont été évalués (Tableau **28**). Il ressort de ces tests que l'activité de l'extrait des racines de *B. louisii* contre *T. brucei* serait due à l'action synergétique des constituants.

### II.5.2- Activité antiplasmodiale

Des sept extraits testés, sur la souche 3D7 de *P. falciparum in vitro* seuls les extraits au  $\text{CH}_2\text{Cl}_2$ -MeOH (1:1) des racines, des écorces du tronc et des feuilles de *P. americana* se sont révélés actifs. Ils ont tous montré de très bonnes activités avec des  $CI_{50}$ s < 5.8  $\mu\text{g/ml}$ . L'extrait des écorces du tronc a montré le meilleur potentiel antiplasmodial avec une  $CI_{50}$  de 2.73  $\mu\text{g/ml}$ .

L'extrait au  $\text{CH}_2\text{Cl}_2$ -MeOH (1:1) des feuilles a subi une solubilisation différentielle dans l'éther de pétrole, le chloroforme et le butanol, et les fractions obtenues ont été testées sur la même souche de *P. falciparum*. La fraction au chloroforme a montré une bonne activité antiplasmodiale avec une valeur de  $CI_{50}$  de 3,8  $\mu\text{g} / \text{mL}$  tandis que la fraction l'éther de pétrole a montré une activité modérée avec une valeur de  $CI_{50}$  de 7,2  $\mu\text{g/mL}$ .

De même, l'extrait au  $\text{CH}_2\text{Cl}_2$ -MeOH (1:1) des racines a subi une solubilisation différentielle avec l'hexane, le chlorure de méthylène et le butanol. Les fractions à l'hexane et au chlorure de méthylène ont montré de très bonnes activités antiplasmodiales avec les valeurs de  $CI_{50}$  de 0,96 et 0,76  $\mu\text{g/mL}$  respectivement.

L'extrait au CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>-MeOH (1 :1) des écorces du tronc a été également partitionné en utilisant l'éther de pétrole, le chloroforme et le butanol comme solvants. Les fractions au chlorure de méthylène et au butanol ont montré des activités modérées avec les valeurs de CI<sub>50</sub> 9,7 et 10,4 µg/mL, respectivement et celle de la fraction à l'éther de pétrole a montré une très bonne activité antiplasmodiale avec la valeur de CI<sub>50</sub> de 0,96 µg/mL.

Concernant les composés isolés, le 9,9'-di-*O*-feruloyl-5,5'-dimethoxysecoisolariciresinol (**160**), kaempferol-3-*O*- $\alpha$ -L-(3''E,4''E-di-*p*-coumaroyl)-rhamnoside (**151**), la lutéine (**161**) ont montré de très bonnes activités avec des valeurs de CI<sub>50</sub> de 0,04, 0,63 et 2.80 µg/mL respectivement. Quant au persatriol (**159**) son activité a été modérée sur la même souche avec la valeur de CI<sub>50</sub> 9,48 µg/mL. Tous les autres composés isolés ont été inactifs. Parmi les composés de synthèse, seul le beilschmedal 173b a été modérément actif avec une CI<sub>50</sub> de 9,82 µg/mL. En comparant l'activité des composés isolés à celui de l'extrait, on peut conclure que les composés isolés sont plus actifs que l'extrait dont l'action de synergie entre les constituants diminue le potentiel antiplasmodial.

Les composés les plus intéressants, le 9,9'-di-*O*-feruloyl-5,5'-dimethoxysecoisolariciresinol (bilignane CI<sub>50</sub> = 0,04 µg / mL) et kaempferol-3-*O*- $\alpha$ -L-(3''E,4''E-di-*p*-coumaroyl)-rhamnoside flavonoïde (CI<sub>50</sub> = 0,63 µg / mL) étaient aussi actifs que le médicament de référence, la chloroquine et non cytotoxique. Un grand nombre de composés antipaludiques présentant une grande variété de structures ont été isolés à partir de plantes et peuvent jouer un rôle dans le développement de nouveaux médicaments antipaludiques. Les flavonoïdes, les lignanes et certains dérivés d'esters cinnamique sont connus pour être une classe de molécules ayant une puissante activité antiplasmodiale (Bero et al., 2009 ; De et al., 2021). Par conséquent, la forte activité de ces composés peut être due à la condensation de deux molécules de lignanes et à la présence de groupes acétate cinnamique. Ces composés pourraient être le point de départ pour la formulation des nouveaux médicaments contre le paludisme.

### II.5.3- Cytotoxicité sur les cellules HeLa

Les extraits, fractions et composés isolés ont été évalués pour leur cytotoxicité sur les cellules HeLa. Les extraits de *Beilschmiedia* et leurs constituants se sont révélés non cytotoxiques.

Quant à *P. americana* l'extrait total au CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>-MeOH (1:1) des écorces du tronc, les fractions solubles au chloroforme, à l'éther de pétrole et au butanol et l'extrait total au CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>-MeOH (1:1) des racines tous actifs sur *P. falciparum* ont été cytotoxiques sur les cellules HeLa

avec de très faibles IS (index de sélectivité). Concernant les composés isolés et les dérivés d'hémisynthèse, seul le persatriol a été non sélectif avec un IS de 0.34. Tous les autres échantillons testés ont été faiblement ou non toxique sur les cellules HeLa.



## CONCLUSIONS ET PERSPECTIVES

Le présent travail a porté sur l'évaluation des activités antiplasmodiales, antitrypanosomales et cytotoxiques des extraits et composés de *B. louisii*, *B. obscura* et *Persea americana* trois plantes du Cameroun de la famille des Lauraceae. L'objectif global était de rechercher de ces trois plantes, les extraits, fractions ou molécules bioactives et non-toxique pouvant servir de matières premières dans la synthèse de nouveaux phytomédicaments et / ou médicaments pour le traitement du paludisme et la trypanosomiase. Le choix porté sur ces plantes a été motivé par leur usage en médecine traditionnelle dans le traitement de quelques maladies parasitaires, et de plus, les travaux sur les espèces des mêmes genres (*Beilschmiedia* et *Persea*) ont révélé des molécules présentant des activités intéressantes. Les objectifs visés étaient d'évaluer les différents extraits pour leurs activités antiplasmodiales, antytrypanosomales et cytotoxiques, d'isoler les métabolites secondaires des extraits et fractions actifs, de les caractériser, de préparer quelques dérivés de synthèses et enfin d'évaluer les composés obtenus pour leurs activités antiplasmodiales, antytrypanosomales et cytotoxiques.

Au terme de ce travail, nous avons obtenu vingt-six composés parmi lesquels vingt-et-deux ont été entièrement caractérisés. Quatre de ces composés sont nouveaux et isolés pour la première fois d'une source naturelle [deux dérivés d'acide endiandrique (beilschmiedol B et beilschmiedol C), un alcène (obscurène A) et un alcool (perseatriol)]. Les dix-huit autres composés caractérisés appartiennent à huit classes de substances naturelles, à savoir: quatre flavonoïdes (épicatechine, kaempferol-3-*O*- $\alpha$ -L-(3''*E*,4''*E*-di-*p*-coumaroyl)-rhamnoside, isoquercitrine, astragaline), deux stéroïdes ( $\beta$ -sitostérol, 3-*O*- $\beta$ -D-glucoopyranoside de  $\beta$ -sitostérol), une coumarine (scopoletine), une lignane (9,9'-di-*O*-feruloyl-5,5'-dimethoxysecoisolariciresinol), un alcène (pentacosan-1-ène), cinq acides endiandriques (acide beilschmiedique A, acide beilschmiedique C, acide 3'',4''-méthylènedioxyendiandrique A, acide beilschmiedique D, acide beilschmidique E), un carotène (lutéine), deux  $\gamma$ -lactones (3-hydroxy-4-méthyl-2-(13'-phényl-1'-*n*-tridecyl)-butanolide et 3-hydroxy-4-méthyl-2-(11'-phényl-1'-*n*-undecyl)-butanolide) et un acide phénylalcanoïque (acide 15-phenylpentadecanoïque). Les trois derniers composés sont isolés pour la première fois du genre *Beilschmiedia*. À partir de l'acide beislmedique E, quatre dérivés semi-synthétiques ont été préparés par des réactions de

réduction, oxydation et addition nucléophile. Ces dérivés ont été identifiés à bielschmiedol A, beischmiedal, bielschmiecarbazonne et beilschmiegallate.

Un screening préliminaire *in vitro* sur les extraits bruts des dites plantes a montré des activités antitrypanosomiales, antiplasmodiales et cytotoxicité intéressante. Les composés isolés et semi-synthétiques ont également été testés pour leurs activités antitrypanosomiales et antiplasmodiales. Parmi les composés testés, le mélange de beilschmiedols B/ C et le  $\beta$ -sitostérol et le mélange de 3-hydroxy-4-méthyl-2-(13'-phényl-1'-*n*-tridecyl)-butanolide et 3-hydroxy-4-méthyl-2-(11'-phényl-1'-*n*-undecyl)-butanolide ont montré les meilleures activités antitrypanosomiales avec des  $CI_{50} < 10 \mu\text{g/mL}$  alors que les dérivés d'hémisynthèses avaient des activités modérées sur la même souche. Beilschmiedol A a quant à lui montré une faible activité sur *T.b. bucei* avec une  $CI_{50}$  de  $20,38 \mu\text{g/mL}$ .

Concernant les activités antiplasmodiales, le 9,9'-di-*O*-feruloyl-5,5'-dimethoxysecoisolariciresinol, kaempferol-3-*O*- $\alpha$ -L-(3''E,4''E-di-*p*-coumaroyl)-rhamnoside et la lutéine ont montré de très bonnes activités avec les  $CI_{50}$  de 0,04 ; 0,63 et  $2,80 \mu\text{g/mL}$ . Quant au persatriol (**159**) son activité a été modérée sur la même souche avec la valeur de  $CI_{50}$   $9,48 \mu\text{g/mL}$ .

Les composés les plus intéressants, le 9,9'-di-*O*-feruloyl-5,5'-dimethoxysecoisolariciresinol (bilignane  $IC_{50} = 0,04 \mu\text{g/mL}$ ) et kaempferol-3-*O*- $\alpha$ -L-(3''E,4''E-di-*p*-coumaroyl)-rhamnoside flavonoïde ( $IC_{50} = 0,63 \mu\text{g/mL}$ ) étaient aussi actifs que le médicament de référence, la chloroquine et non cytotoxique. Les flavonoïdes, les lignanes et certaines dérives d'esters cinnamiques sont connus pour être une classe de molécules ayant une puissante activité antipaludique. Par conséquent, la forte activité de ces composés peut être due à la condensation de deux molécules de lignanes et à la présence de groupes acétate cinnamique. Ces composés pourraient être le point de départ pour formuler des nouveaux médicaments contre le paludisme.

Les extraits et les composés ont aussi été évalués sur les cellules humain HeLa Cells et la plupart se sont révélés non cytotoxiques.

Au vu des résultats obtenus, les extraits de *Beilschmiedia* et de *Persea* pourraient être introduits en médecine traditionnelle pour le traitement de la maladie du sommeil et/ou le paludisme. Nous pouvons estimer que les objectifs ont été globalement atteints.

Pour nos travaux futurs, nous nous proposons :

- La formulation des médicaments à partir des extraits et fractions actifs.
- La synthèse du composé le plus actif.
- Élucidation structurale des composés restants.

- Trouver la meilleure combinaison qui pourrait avoir une meilleure activité.

## **CHAPITRE 3: PARTIE EXPERIMENTALE**

### III.1- Généralités.

#### III.1.1- Les techniques chromatographiques

La purification des composés a été effectuée grâce aux chromatographies flash sous vide, sur colonne ouverte, sur couches minces et d'exclusion. La phase stationnaire utilisée pour les chromatographies flash et sur colonne était le gel de silice de granulométries 70-230  $\mu\text{m}$  et 230-400  $\mu\text{m}$  (Merck) ou le gel de Séphadex (LH-20 et G-25) a été utilisé pour la chromatographie d'exclusion. Les dimensions des colonnes ont été choisies en fonction de la quantité de soluté à séparer.

Les chromatographies analytiques sur couche mince ont été réalisées sur des plaques de gel de silice 60 F<sub>254</sub> (Merck, 20 × 20 cm), sur feuilles d'aluminium de 0,2 mm d'épaisseur ou des plaques de verre (5 × 20 cm), (10 × 20 cm) et (20 × 20 cm). Les plaques CCM ont été révélées, soit en utilisant la lumière ultraviolette (254 et 366 nm) ou les vapeurs d'iode, soit en pulvérisant à l'aide d'une solution d'acide sulfurique dilué à 50 %, suivi du chauffage à l'étuve entre 85-90°C. Les différents éluants utilisés ont été adaptés aux phases stationnaires en fonction de la polarité des composés à séparer ou à analyser.

#### III.1.2- Appareillage

Les extraits et fractions recueillies ont été concentrés sur un évaporateur rotatif de type Heidophv 2000 ou de type Büchi RE-111.

Les différentes masses ont été mesurées sur une balance électronique de marque MELTER PC 2000.

Les spectres de masse en impact électronique (énergie d'ionisation : 70 eV) ont été obtenus sur des spectromètres de types AutoSpec et LCMSD pulsar mass. Les spectres de masse en « Electrospray ionisation » ont été enregistrés avec un spectromètre de type Esquire 3000 et la source d'ions utilisé est le NanoESI off-line. La haute résolution (HRESIMS) a été réalisée sur un spectromètre Bruker FT-ICR : APEX III (7.0 T).

Les spectres de résonance magnétique du proton ou du carbone ont été enregistrés à température ambiante sur des spectromètres de types Mercury 300, Inova 500 et Bruker DRX opérant à 400 ou 600 MHz pour le proton et à 75,100, 125 et 150 MHz pour le carbone en utilisant comme solvants le chloroforme deutérié (CDCl<sub>3</sub>), le méthanol deutérié (CD<sub>3</sub>OD), la pyridine deutériée (C<sub>5</sub>D<sub>5</sub>N), l'acétone deutérié (CD<sub>3</sub>COCD<sub>3</sub>) et le diméthylsulfoxidedeutérié

(CD<sub>3</sub>SOCD<sub>3</sub>). Les déplacements chimiques ( $\delta$ ) sont exprimés en ppm en prenant comme référence interne dans tous les cas le tétraméthylsilane (TMS). Les constantes de couplage ( $J$ ) sont exprimées en Hertz (Hz).

Les expériences COSY, HSQC, HMBC, DEPT et NOESY ont été effectuées avec des séquences d'impulsions usuelles.

### **III.2- Tests de caractérisation chimique**

#### **III.2.1- Test de Liebermann-Burchard (Identification des terpénoïdes et stéroïdes)**

Dissoudre quelques milligrammes de produit dans le chloroforme (1 mL). Ajouter à la solution obtenue quelques gouttes d'anhydride acétique, puis d'acide sulfurique concentré. Les terpénoïdes donnent avec ce réactif une coloration rouge brique, puis violette, puis bleue et finalement vert foncé. Les stéroïdes donnent une coloration bleue qui vire rapidement au vert foncé.

#### **III.2.2- Test au chlorure ferrique (Identification des composés phénoliques)**

À une solution méthanolique de produit, ajouter quelques gouttes d'une solution de chlorure ferrique. La présence des phénols se manifeste par un changement de coloration pour donner suite à la formation d'un ion complexe  $[\text{Fe}(\text{ArO})_6]^{3-}$  de couleur violette ou bleue.

#### **III.2.3- Test de Shinoda (Identification des flavonoïdes)**

À une solution alcoolique du composé, ajouter quelques gouttes d'acide chlorhydrique concentré, puis quelques copeaux de magnésium. La présence des flavonoïdes se manifeste par une effervescence, suivie d'un changement de coloration qui peut être violette ou rouge brique.

#### **III.2.4- Test de Dragendorff pour identifier les alcaloïdes**

Sur un morceau de plaque CCM, faire un spot de produit puis développer avec le système AE/MeOH/NH<sub>4</sub>OH 50 % (9 : 1 : 1). Après migration, les taches visibles à 365 nm sont pulvérisées avec le réactif de Dragendorff (tétraiodobismuthate de potassium). La présence des alcaloïdes est signalée par l'apparition des taches orange.

#### **III.2.5- Test de Molish pour identifier les sucres.**

Dans un tube à essai, dissoudre quelques milligrammes de produit à l'aide d'une solution d'éthanol- $\alpha$ -naphtol 1 %. Laisser ensuite couler sur les parois du tube quelques gouttes d'acide sulfurique concentré. La présence des sucres se manifeste par l'apparition d'un anneau rouge violacé à l'interphase.

#### **III.2.6 Test des acides pour identifier les acides**

Dans un tube à essai, dissoudre quelques milligrammes de produit à l'aide d'une solution NaHCO<sub>3</sub>. La présence d'acide carboxylique est caractérisée par la dissolution complète du produit avec dégagement de CO<sub>2</sub>.

### III.3- Matériel végétal

Les différentes parties (racines, bois, écorces et feuilles) de *beilschmiedia louisii* ont été récoltées en Avril 2014 à Batchenga (Yaoundé, Région du Centre Cameroun) et celles des écorces du tronc de *B. obscura* ont été récoltées au Mont Kala (Yaoundé, Région du Centre Cameroun) en Mars 2016. Les racines et feuilles de *Persea americana* ont été récoltées en Novembre 2018 à Nkolbisson (Yaoundé, Région du Centre Cameroun).

L'identification et la récolte des plantes ont été réalisées par M. Nana Victor, botaniste de l'Herbier National du Cameroun où des spécimens avaient été conservés et enregistrés sous les numéros N° 3360/SRFK (*B. louisii*), 6933/SRF/Cam (*B. obscura*) et 57756 (HNC *Persea americana*).

#### III.3.1- Extraction

##### III.3.1.1- Préparation des extraits de *B. louisii* et de *B. obscura*

Le matériel végétal récolté pour chaque plante a été découpé, séché à l'air et broyé. Les poudres résultantes ont été extraites au mélange CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>-MeOH (1 : 1) pendant 48 heures à température ambiante chacune (Tableau 28). Les filtrats obtenus ont été concentrés à sec sous vide pour donner les extraits bruts. Chaque extrait a été partitionné en fractions neutres et alcaloïdiques, comme décrit par Pratiwi et *al.* (2010). En fait, l'extrait brut a été dissous dans de l'eau distillée froide et dégraissé à l'hexane. La couche aqueuse a été acidifiée avec de l'acide chlorhydrique (HCl à 5%) à pH = 3 puis extraite avec du dichlorométhane conduisant ainsi à une fraction neutre après évaporation du solvant. La phase acide aqueuse restante a été rendue alcaline en ajoutant une solution d'hydroxyde d'ammonium (NH<sub>4</sub>OH à 25%) jusqu'à pH = 11. La solution obtenue a été extraite avec du dichlorométhane pour conduire à une fraction alcaloïdique après évaporation du solvant. Les différentes masses obtenues sont recensées dans le tableau ci-après :

**Tableau 29: masses des différents extraits**

Plantes	Parties	Masse du matériel	Masse de l'extrait	Rendement (%)	Mass de fraction alcaloïdique	Masse de la fraction neutre
<i>B. Louisii</i>	Racines	2,5 kg	350 g	14,0%	8,6 g	300 g
	Bois	1 kg	200 g	20,0%	4,0 g	60 g
	Feuilles	1 kg	130 g	13,0%	2,0 g	80 g
<i>B. obscura</i>	Écorces	2 kg	300 g	7,0%	2,0 g	200 g

##### III.3.1.3- Préparation de l'extrait de *Persea americana*.

Les racines et les feuilles ont été découpées, séchées puis broyées. Les poudres obtenues de 2 kg et 2,5 kg, respectivement, ont été extraites par macération au mélange MeOH-CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>

(1 :1) pendant 48 h à température ambiante. Après évaporation du solvant sous pression réduite 350 g et 450 g d'extraits brut ont été obtenus respectivement. L'extrait des racines a été partitionné respectivement dans l'hexane, le chlorure de méthyle et le n-butanol pour donner trois fractions. Les extraits des feuilles et des écorces ont été partitionnés respectivement dans l'éther de pétrole, le chloroforme et le n-butanol pour donner chacun 3 extraits. Les différentes masses obtenues sont recensées dans le tableau ci-après :

**Tableau 30 : Masse de différents extraits**

Parties de la plante	Racines (350g)	Feuilles (450g)
Solvant d'extraction		
Hexane	150,2 g	
CH <sub>2</sub> Cl <sub>2</sub>	12,9 g	
Butanol	100,5 g	75,6 g
Éther de pétrole	-	200,3 g
Chloroforme	-	50 g

### III.4- Isolement des composés

#### III.4.1- Isolement des composés des racines de *B. louisii*.

##### III.4.1.1- Isolement des composés de la fraction neutre des racines de *B. louisii*.

280 g de l'extrait des racines ont subi un fractionnement par chromatographie flash en utilisant des mélanges Hex/AE et AE/MeOH de polarités croissantes comme éluant. 70 fractions de 500 mL chacune ont été collectées et regroupées sur la base des CCM analytique en 5 grandes fractions A, B, C, D et E (tableau 31). L'étude séparée de certaines de ces différentes fractions a conduit à l'isolement de 9 composés.

**Tableau 31: Chromatogramme de l'extrait neutre des racines de *B. louisii*.**

Éluant	Fractions	Remarques	Regroupement
Hex	1-14	Mélange de produits huileux	A (32,0 g)
Hex-AE (90 :10)	15-20	Mélange d'au moins 4 produits dont 3 fluorescents	B (20,5 g)
Hex-AE (75 :25)	21-26	Mélange d'au moins 5 produits dont 2 fluorescents	
Hex-AE (50 :50)	27-30	Mélange d'au moins 5 produits	C (15,5 g)
	31-32	Mélange d'au moins 7 produits	
	33-40	Mélange d'au moins 8 produits	
Hex-AE (25 :75)	41-42	Mélange d'au moins 8 produits	D (10,0g)
	43-50	Mélange complexe	
AE	51-57	Mélange complexe	E (22,0 g)
MeOH	58-70	Mélange complexe	

##### III.4.1.1.1- L'obtention des composés BLR5 et BLR6.

Les composés BLR5 et BLR6 ont précipité sous forme de cristaux de couleur blanche dans les fractions (1-6). Après filtration et lavage, on a obtenu 1,08 g de BLR5 et 20,07 g de BLR6.



### III.4.1.1.2- Chromatographie de la fraction B

La fraction B a été dissoute dans un minimum de dichlorométhane et fixé sur la silice. Après évaporation complète du solvant, la poudre obtenue a été chromatographiée sur colonne de gel de silice. Les fractions de 100 mL recueillies, par élution au mélange Hex-AE de gradient de polarité, ont été concentrées et regroupées sur la base des CCM analytiques. Les résultats sont consignés dans le tableau 32.

**Tableau 32: Chromatogramme de la fraction B.**

Éluant	Fractions	Remarques
<b>Hex-AE (95 :5)</b>	1-10	Mélange de 3 produits
	11-30	Mélange d'au moins 4 produits dont 2 fluorescents
<b>Hex-AE (90 :10)</b>	31-60	Mélange d'au moins 3 produits
	61-80	Mélange d'environ 4 produits
	81-110	Mélange de 5 produits
	111-125	Mélange de 4 produits
	125-151	Mélange de 3 produits
<b>Hex-AE (85 :15)</b>	152-172	Mélange de 3 produits
	172-198	Mélange de 5 produits
<b>Hex-AE (80 :20)</b>	199-216	Mélange de 7 produits
	216-241	Mélange de 4 produits

Par filtration simple :

- Le mélange de BLR3a et BLR3b (2,04g) a été obtenu en mélange sous forme de cristaux blancs des sous fractions 152-170.
- Le composé BLR7, paillettes blancs (10,7 mg), a été filtré des sous-fractions 172-198.

### III.4.1.1.3- Chromatographie de la fraction C

La fraction C a été dissoute dans un minimum de dichlorométhane et fixé sur la silice. Après évaporation complète du solvant, la poudre obtenue a été chromatographiée sur colonne de gel de silice. Les fractions de 100 mL recueillies, par élution au mélange Hex-AE de gradient de polarité, ont été concentrées et regroupées sur la base des CCM analytiques. Les résultats sont consignés dans le tableau 33.

**Tableau 33 : Chromatogramme de la fraction C.**

Éluant	Fractions	Remarques
<b>Hex-AE (80 :20)</b>	1-10	Mélange de 3 produits + 1 traînée
	11-30	Mélange d'au moins 2 produits dont 1 fluorescent
<b>Hex-AE (70 :30)</b>	31-60	Mélange d'au moins 2 produits dont 1 fluorescent
	61-80	Mélange d'environ 3 produits
	81-110	Mélange de 4 produits
	111-125	Mélange de 3 produits
	125-151	Mélange de 3 produits
	152-172	Mélange de 3 produits

<b>Hex-AE (60 :40)</b>	172-198	Mélange de 5 produits
<b>Hex-AE (50 :50)</b>	199-216	Mélange de 4 produits
	216-241	Mélange de 6 produits

- Le composé BLR4 (1,2 g) a précipité sous forme de cristaux blanchâtres dans les sous-fractions 80-84.
- Le composé BLR7 (30 mg) a précipité sous forme de poudre blanchâtre dans les sous-fractions 4-9

#### III.4.1.1.4- Chromatographie de la fraction D

La fraction D a été dissoute dans un minimum de dichlorométhane et fixé sur la silice. Après évaporation complète du solvant, la poudre obtenue a été chromatographiée sur colonne de gel de silice. Les fractions de 100 mL recueillies, par élution à Hex-AE de gradient de polarité, ont été concentrées et regroupées sur la base des CCM analytiques. Les résultats sont consignés dans le tableau 34.

**Tableau 34 : Chromatogramme de la fraction D.**

Éluant	Fractions	Remarques
<b>Hex-AE (50:50)</b>	1-10	Mélange de 3 produits + 1 traînée
	11-30	Mélange d'au moins 2 produits dont 1 fluorescent
<b>Hex-AE (40 :60)</b>	31-60	Mélange d'au moins 2 produits dont 1 fluorescent
	61-80	Mélange d'environ 3 produits
	81-110	Mélange de 4 produits
<b>Hex-AE (30 :70)</b>	111-125	Mélange de 3 produits
	125-151	Mélange de 3 produits
<b>Hex-AE (20 :80)</b>	152-172	Mélange de 3 produits
	172-198	Mélange de 5 produits
<b>Hex-AE (90 :10)</b>	199-216	Trainées
<b>AE</b>	216-241	Trainées

- Le composé BLR2 (12 mg) a précipité sous forme de cristaux jaunes dans les sous-fractions 125-151.
- Le composé BLR8 (35 mg) a précipité sous forme de poudre dans les sous-fractions 172-198.

#### III.4.2- Isolement des composés des écorces du tronc de *B. obscura*.

##### III.4.2.1- Isolement des composés de la fraction neutre des écorces du tronc de *B. obscura*.

180 g de l'extrait des écorces du tronc ont subi un fractionnement par chromatographie flash en utilisant des mélanges Hex/AE et AE/MeOH de polarités croissantes comme éluant. 98 fractions de 500 mL chacune ont été collectées et regroupées sur la base des CCM analytique

en 5 grandes fractions A, B, C, D et E (tableau 35). L'étude séparée de ces différentes fractions a conduit à l'isolement de 7 composés.

**Tableau 35: Chromatogramme de l'extrait neutre des écorces du tronc de *B. obscura*.**

Éluant	Fractions	Remarques	Regroupement
Hex-AE (95 :5)	1-11	Mélange d'au moins 8 composés et 1 traînée	A (8,0 g)
Hex-AE (85 :15)	12-29	Mélange d'au moins 7 produits dont 1 fluorescent	B (10,5 g)
Hex-AE (75 :25)	30-41	Mélange d'au moins 6 produits	C (34,5 g)
Hex-AE (50 :50)	42-56	Mélange d'au moins 5 produits	
Hex-AE (25 :75)	57-71	Mélange d'au moins 4 produits	D (7,0 g)
AE	72-83	Mélange d'au moins 7 produits	
AE-MeOH (90 :10)	84-93	Mélange complexe	E (10,0 g)
MeOH	94-98	Mélange complexe	

#### III.4.2.1.1- Chromatographie de la fraction C

La fraction C a été dissoute dans un minimum de dichlorométhane et fixé sur la silice. Après évaporation complète du solvant, la poudre obtenue a été chromatographiée sur colonne de gel de silice. Les fractions de 100 mL recueillies, par élution à Hex-AE de gradient de polarité, ont été concentrées et regroupées sur la base des CCM analytiques. Les résultats sont consignés dans le tableau 36.

**Tableau 36: Chromatogramme de la fraction C.**

Éluant	Fractions	Remarques
Hex-AE (80 :20)	1-10	Mélange de 3 produits + 1 traînée
	11-30	Mélange d'au moins 2 produits dont 1 fluorescent
Hex-AE (70 :30)	31-60	Mélange d'au moins 2 produits dont 1 fluorescent
	61-80	Mélange d'environ 3 produits
	81-110	Mélange de 4 produits
	111-125	Mélange de 3 produits
	125-151	Mélange de 3 produits
Hex-AE (60 :40)	152-172	Mélange de 3 produits
	172-198	Mélange de 5 produits
Hex-AE (50 :50)	199-216	Mélange de 4 produits
	216-241	Mélange de 6 produits

- Le composé BOET3a et BOET3b (60,2 mg) a été obtenu en mélange sous forme d'huile dans les sous-fractions 11-28.
- Le composé BOET3'a et BOET3'b (15,2 mg) a été obtenu en mélange sous forme d'huile des sous fractions 6-10.
- Le composé BOET2, (15,1 mg), a été obtenu sous forme d'huile des sous-fractions 31-40.

- Le composé BOET4 (16,09 mg) a été obtenu sous forme d'huile des sous fractions 70-78.
- Le composé BOET5 (20,4 mg) a été obtenu sous forme d'huile des sous fractions 3-5.
- Le composé BOET6 (14,6 mg) a été obtenu sous forme de mélange d'huile des sous fractions 41-60.

Les fractions A, B et D ont été dissoutes dans du dichlorométhane et fixées sur la silice. Après évaporation complète du solvant, la poudre résultante est chromatographiée sur colonne de gel de silice. L'éluion est faite avec le mélange Hex-AE de polarité croissante. Au terme de cette éluion aucun composé pur n'a été obtenu. La fraction E n'a pas été étudiée a cause de la complexité du mélange.

### III.4.3- Isolement des composés des feuilles de *Persea americana*.

#### III.4.3.1- L'étude à l'extrait à l'éther de pétrole des feuilles de *Persea americana*.

150 g de l'extrait à l'éther de pétrole des feuilles a été dissous dans un minimum de dichlorométhane et fixé sur la silice. Après évaporation complète du solvant, la poudre obtenue a été chromatographiée sur colonne de gel de silice. Les fractions de 100 mL recueillies, par éluion à l'éther de pétrole (PE) /Acétate d'éthyle de gradient de polarité, ont été concentrées et regroupées sur la base des CCM analytiques. Les résultats sont consignés dans le tableau suivant.

**Tableau 37: Chromatogramme de l'extrait des feuilles de *Persea americana*.**

Eluant	Fractions	Remarques
PE	1-10	Mélange d'au moins 5 produits
PE-AE (90 :10)	11-15	Mélange d'au moins 3 produits
PE-AE (80 :20)	11-20	Mélange d'au moins 6 produits dont 3 fluorescents
PE-AE (70 :30)	21-25	Mélange d'au moins 4 produits dont 1 fluorescent
PE-AE (60 :40)	26-30	Mélange d'au moins 6 produits dont 2 fluorescents
PE-AE (50 :50)	31-35	Mélange d'au moins 7 produits dont 1 fluorescent
PE-AE (40 :60)	36-40	Mélange d'au moins 5 produits dont 1 fluorescent
PE-AE (30 :70)	41-45	Mélange d'au moins 6 produits dont 2 fluorescents
PE-AE (20 :80)	46-50	Mélange d'au moins 4 produits dont 3 fluorescents
PE-AE (10 :90)	51-55	Mélange d'au moins 7 produits
AE	56-60	Mélange complexe
AE-MeOH (75-25)	60-65	Mélange complexe

Par filtration simple :

- Le composé PAF1 (20,2 mg) a précipité sous forme de paillettes blanchâtres dans les sous-fractions 9-10.

- Le composé PAF3 (5,4 g) a été obtenu sous forme de paillettes blanchâtres des sous fractions 23-28.
- Le composé PAF4 (50,08 mg) a précipité sous forme de poudre orange dans les sous-fractions 17-20.

### III.4.3.2- L'étude à l'extrait au n-butanol des feuilles de *Persea americana*.

L'extrait au butanol des feuilles (17g) a été dissout dans un minimum de méthanol et a été chromatographié sur colonne de séphadex G-25 avec pour éluant le méthanol. Les fractions de 50 ml recueillies, ont été concentrées et regroupées sur la base des CCM analytiques et par filtration trois composés ont été obtenus : PAF6 (45,3mg), PAF7 (30,2mg) et PAF8 (25,1mg).

### III.4.4- Isolement des composés des racines de *Persea americana*.

#### III.4.4.1- Etude de l'extrait au chlorure de méthylène.

L'extrait au chlorure de méthylène des racines (10g) a été dissout dans un minimum de dichlorométhane et fixé sur la silice. Après évaporation complète du solvant, la poudre obtenue a été chromatographiée sur colonne de gel de silice. Les fractions de 100 mL recueillies, par élution au mélange éther de pétrole/acétate d'éthyle de gradient de polarité, ont été concentrées et regroupées sur la base des CCM analytiques. Les résultats sont consignés dans le tableau suivant.

**Tableau 38: Chromatogramme de l'extrait des racines de *Persea americana*.**

Éluant	Fractions	Remarques	Regroupement
PE	1-10	Mélange d'au moins 5 produits	A
PE-AE (90 :10)	11-15	Mélange d'au moins 3 produits	B
PE-AE (80 :20)	16-20	Mélange d'au moins 6 produits dont 3 fluorescents	C
PE-AE (70 :30)	21-25	Mélange d'au moins 4 produits dont 1 fluorescent	
PE-AE (60 :40)	26-30	Mélange d'au moins 6 produits dont 2 fluorescents	D
PE-AE (50 :50)	31-35	Mélange d'au moins 7 produits dont 1 fluorescent	
PE-AE (40 :60)	36-40	Mélange d'au moins 5 produits dont 1 fluorescent	
PE-AE (30 :70)	41-45	Mélange d'au moins 6 produits dont 2 fluorescents	
PE-AE (20 :80)	46-50	Mélange d'au moins 4 produits dont 3 fluorescents	E
PE-AE (10 :90)	51-55	Mélange d'au moins 7 produits	
AE	56-60	Mélange complexe	
AE-MeoH (75-25)	60-65	Mélange complexe	

Par filtration simple :

- Le composé PAR3 (56,4 mg) a précipité sous forme de paillettes blanchâtres dans les sous-fractions 30-40.

- Le composé PAR1=PAF4 (23mg), a précipité sous forme de paillettes blanchâtres dans les sous-fractions 40-45.
- Le composé PAR2=PAF3 (35mg), a précipité sous forme de paillettes blanchâtres dans les sous-fractions 46-50.

#### III.4.4.1.2- Chromatographie de la fraction B

La fraction B a été dissoute dans un minimum de dichlorométhane et fixée sur la silice. Après évaporation complète du solvant, la poudre obtenue a été chromatographiée sur colonne de gel de silice. Les fractions de 100 mL recueillies, par élution au mélange éther de pétrole/acétate d'éthyle de gradient de polarité, ont été concentrées et regroupées sur la base de la CCM analytique. Les résultats sont consignés dans le tableau 39.

**Tableau 39:Chromatogramme de la fraction B.**

Eluant	Fractions	Remarques
Hex-AE	1-10	Mélange de 3 produits + 1 traînée
	11-30	Mélange d'au moins 2 produits dont 1 fluorescent
Hex-AE (95 :5)	31-60	Mélange d'au moins 2 produits dont 1 fluorescent
	61-80	Mélange d'environ 3 produits
	81-110	Mélange de 4 produits
	111-125	Mélange de 3 produits
	125-151	Mélange de 3 produits
Hex-AE (90 :10)	152-172	Mélange de 3 produits
	172-198	Mélange de 5 produits
Hex-AE (80 :20)	199-216	Mélange de 4 produits
	216-241	Mélange de 6 produits

- Le composé PAR2 (35 mg) a précipité sous forme de paillettes blanchâtres dans les sous-fractions30-40.
- Le composé PAR1 (56 mg) a précipité sous forme de paillettes blanchâtres dans les sous-fractions 61-80.

#### III.4.4.2- Etude de l'extrait au *n*-butanol

12,5 g de l'extrait au butanol des racines ont été dissous dans un minimum de méthanol et chromatographiés sur colonne de sephadex LH-20 avec pour éluant le méthanol. Les fractions de 50 ml recueillies, ont été concentrées et regroupées sur la base de la CCM analytique et par filtration un composé a été obtenu : PAR4 (50mg).

### III.5. Transformations chimiques sur quelques composés isolés

#### III.5.1-Synthèse du thiosemicarbazone BLR5-TH

Cette réaction passe par 3 étapes :

➤ **Réduction de l'acide en alcool**

Dans un ballon à fond rond de 250 ml équipé d'un agitateur magnétique, la solution d'acide Beilshmidique E (3 mmol) dans THF (10 mL) a été refroidie à -5 °C en utilisant un bain de glace/ NaCl et de l'hydruure de lithium et d'aluminium à 3,5 mmol a été ajouté à la solution ci-dessus par portions tout en maintenant la température inférieure à 0 °C. On laisse le mélange revenir à la température ambiante, puis on agite pendant 72 h. Le mélange a été désactivé avec de l'éther de diéthy (50 mL) et une solution de NaOH à 10% (30 mL) a été ajoutée. Le mélange a ensuite été extrait avec de l'éther de diéthy (3 x 50 mL). Les phases organiques obtenues ont été combinées et lavées avec de l'eau saturée à NaCl et transférées dans un erlenmeyer puis séchées avec le MgSO<sub>4</sub>. Après filtration, le solvant a été éliminé sous vide pour donner le composé BLR5-AL sous forme d'huile jaunâtre (980 mg, 98%) (Chen et al., 2015).

➤ **Oxydation de l'alcool en aldéhyde**

Dans un ballon à fond rond de 100 mL équipé d'un agitateur magnétique, 3,3 mmol du réactif de Dess-Martin periodinane (DMP) a été dissous dans 10 ml du dichlomethane (DCM). Dans un bêcher, 3 mmol de BLR5-AL ont été dissous dans 10 ml de DCM, puis ajouté lentement à la solution de DMP sous agitation. Le mélange a été agité à température ambiante pendant 24 h puis dilué avec de l'éther diéthylique (50 ml) et lavé avec d'une solution saturée de bicarbonate de sodium (15 mL) et du thiosulfate de sodium (2,5 g). Après 15 min d'agitation, le mélange a été transféré dans une ampoule à décanter pour séparer la phase organique de la phase aqueuse. La phase organique a été par la suite lavée à l'eau, puis à une solution de saumure, ensuite transférée et séchée au MgSO<sub>4</sub> dans un erlenmeyer. Le déssechant a été filtré par la suite et le solvant évaporé sous vide pour conduire à un mélange de produits. Ce mélange a été purifié par chromatographie sur colonne de gel de silice avec pour éluant le système Hex-AE (90 :10). le composé BLR5-ald (350 mg, 85%) a alors été obtenu sous forme d'une huile jaune pâle (Dess et Martin., 1983).

➤ **Réaction du thiosemicarbazide sur l'aldéhyde**

Une solution de 20 mmoles de BLR5-ald dissous dans 100 ml d'éthanol a été ajoutée à une solution de 20 mmoles de thiosemicarbazide dissous dans 20 ml d'acide chlorhydrique 1N. L'ensemble a été agité à température ambiante jusqu'à la formation d'un précipité. Le précipité a été filtré, séché puis recristallisé dans de l'éthanol à 96 °C. Ce qui a conduit à BLR5-TH (245 mg, 80%) sous forme de paillettes blancs (Fatondji et al., 2011).

### III.5.2-Synthèse de BLR5-Bz

L'acide 3,4,5-trimethoxy benzoïque (1,0 eq) et la 4-(N, N-diméthylamino) pyridine (DMAP ; 0,1 eq) ont été dissous dans  $\text{CH}_2\text{Cl}_2$  (10ml) et ajouté à une solution BLR5-AL (3,0 eq) dans 15 mL de  $\text{CH}_2\text{Cl}_2$ . L'ensemble a été placé dans un ballon et agité à l'agitateur magnétique pendant 30 minutes à température ambiante. Le mélange réactionnel a été par la suite refroidi à 0°C et du N, N-cyclohexylcarbodiimide (DCC ; 1,0 eq) a été ajouté en une portion. Après une seconde agitation à température ambiante durant toute une nuit, l'urée a été filtrée à l'aide d'un tampon de kieselguhr. Le solvant organique a été éliminé sous pression réduite et le produit obtenu purifié par chromatographie sur colonne de gel de silice avec du  $\text{CH}_2\text{Cl}_2$  pour conduire à BLR5-Bz (200 mg, 70%) sous forme de poudre blanche (Uwe et *al.*, 2014).

### III.6- Évaluation des activités biologiques

#### III.6.1- Activité antiplasmodiale

Elle a été évaluée utilisant le test pLDH décrit par Makler et *al.* (1993) contre la souche 3D7 de *P. falciparum* (Pf3D7) sensible à la chloroquine. Les parasites (Pf3D7) ont été maintenus dans un milieu RPMI 1640 contenant de la L-glutamine 2 mM et de l'Hepes 25mM (Lonza), supplémenté de 5% d'Albumax II, de 20 mM de glucose, d'hypoxanthine 0,65 mM, de 60  $\mu\text{g}$  / mL de gentamycine et de 2 à 4% d'hématocrite humaine, des globules rouges. Les parasites ont été cultivés à 37 ° C sous une atmosphère de 5% de  $\text{CO}_2$ , 5% de  $\text{O}_2$ , 90% de  $\text{N}_2$  dans un ballon de culture T75 scellé.

Le criblage à concentration unique a été effectué en utilisant des solutions de 50  $\mu\text{g}$  / ml de l'extrait et de 20  $\mu\text{g}$  / ml de composés purs ou combinés. Les combinaisons ont été obtenues en mélangeant des solutions d'un seul composé correspondant volume par volume. Des échantillons ont ensuite été ajoutés à des cultures de parasites dans des plaques transparentes à 96 puits et incubés dans un incubateur à 37 ° C. Au bout de 48 heures, 20  $\mu\text{l}$  de culture ont été retirés de chaque puits et combinés avec 125  $\mu\text{l}$  d'un mélange de solutions de Malstat et de solutions de NBT / PES dans une plaque neuve à 96 puits. Ces solutions mesurent l'activité de l'enzyme parasite lactate déshydrogénase (pLDH) dans les cultures. Un produit violet formé lorsque la pLDH est activée a été quantifié par un lecteur de microplaques Spectramax M3 (Abs620). La lecture de l'Abs620 dans chaque puits reflète l'activité de la pLDH et donc le nombre de parasites présents.

Pour chaque concentration d'échantillon, le pourcentage de viabilité parasitaire - l'activité de la pLDH dans les puits traités pour l'échantillon par rapport aux témoins non traités a été calculée. Les échantillons ont été testés en double et les écarts-types (SD) ont été dérivés.



Les échantillons qui réduisaient la viabilité du parasite à  $\leq 50\%$  à partir de l'analyse à concentration unique ont été utilisés dans un essai dose-réponse pour déterminer les valeurs de la concentration inhibitrice à 50% (CI<sub>50</sub>). Pour cela, les échantillons ont été dilués en série et testés comme décrit. Les échantillons ont été testés en double et, pour chacun, un pourcentage de viabilité a été porté en fonction du logarithme (concentration) et de la valeur de CI<sub>50</sub> obtenue à partir de la courbe dose-réponse obtenue par régression non linéaire. La chloroquine a été utilisée comme médicament standard (Makler et *al.*, 1993).

### III.6.2- Test *in vitro* de la trypanosomiase.

Les parasites *Trypanosomabrucei* (T.b.) sont les agents responsables de la maladie du sommeil africaine (trypanosomiase humaine africaine) chez l'homme et de Nagana (trypanosomiase africaine animale) chez les bovins. La sous-espèce responsable de Nagana - *Trypanosoma brucei* (T.b. *brucei*) n'est pas infectueuse pour l'homme et est couramment utilisée pour le dépistage de drogues.

Pour évaluer l'activité trypanocide, des échantillons ont été ajoutés à des cultures de *T.b. brucei* dans des plaques à 96 puits à une concentration fixe de 20  $\mu\text{g}/\text{mL}$  pour les composés simples et combinés et de 50  $\mu\text{g} / \text{mL}$  pour les extraits. Après 48 heures d'incubation, les parasites ayant survécu au traitement médicamenteux ont été mesurés en ajoutant la résazurine. La résazurine est réduite en résorufine [un fluorophore (Exc560 / Em590)] dans des cellules viables et a été quantifiée à l'aide d'un lecteur de microplaques Spectramax M3.

Les résultats ont été exprimés en % de viabilité parasitaire et la fluorescence de la résorufine dans les puits traités avec l'échantillon par rapport aux témoins non traités. Les échantillons ont été testés en double et les écarts-types (SD) ont été dérivés. Les échantillons qui réduisent la viabilité du parasite à moins de 50% sont pris en compte pour la dilution afin de déterminer la valeur de la CI<sub>50</sub>. En bref, les échantillons ont été dilués en série et testés en double. Le pourcentage de viabilité a été tracé en fonction du logarithme (concentration) et de la CI<sub>50</sub> obtenue à partir de la courbe dose-réponse obtenue par régression non linéaire. La pentamidine a été utilisée comme médicament standard (Hirumi et *al.*, 1997).

### III.6.3- Test de cytotoxicité.

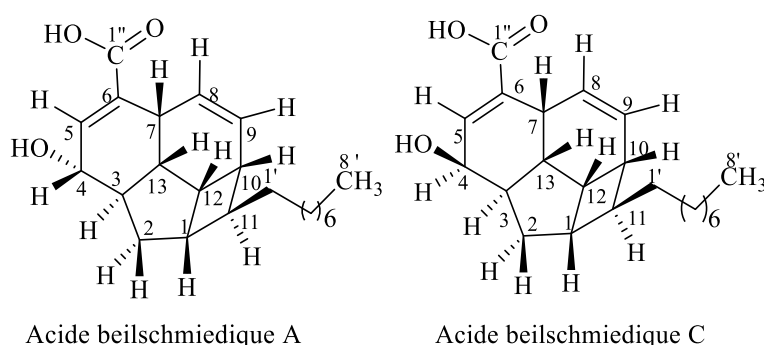
Des cellules HeLa du col utérin humain ont été utilisées pour vérifier la toxicité des extraits bruts et des composés et de leurs combinaisons, comme décrit par Keusch et *al.* (1972). Des solutions mères ont été préparées dans du DMSO à une concentration de 50  $\mu\text{g} / \text{mL}$  pour l'extrait et de 20  $\mu\text{M}$  pour les composés et les combinaisons. Pour évaluer la cytotoxicité manifeste, les échantillons ont été placés dans des plaques à 96 puits contenant des cellules

pendant 48 heures. Les nombres de cellules ayant survécu au traitement médicamenteux ont été déterminés en utilisant le réactif à base de résazurine et en lisant la fluorescence de la résorufine dans un lecteur de microplaques Spectramax M3.

Les résultats ont été exprimés en % de viabilité et la fluorescence de la résorufine dans les puits traités avec le composé par rapport aux témoins non traités. Les composés ont été testés en double et les écarts-types (SD) ont été dérivés. L'émétine (qui induit l'apoptose cellulaire) a été utilisée comme contrôle positif (Keusch et al., 1972).

### III.7- Caractéristiques physicochimiques des composés isolés

- BLR3 : Mélange de l'acide beilschmiedique A et de l'acidebeilschmiedique C.



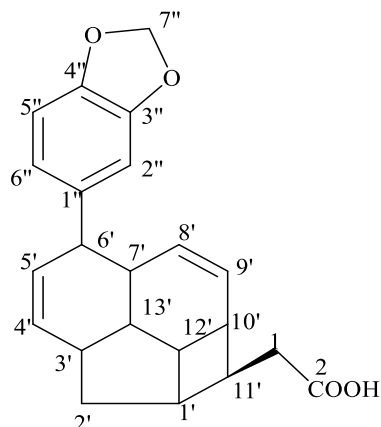
Poudre blanche

ESIHR :  $[M-H]^+$  à  $m/z$  343,22789 ;  $C_{22}H_{32}O_3$

**RMN  $^{13}C$  (DMSO- $d_6$ , 125 MHz): Tableau 23**

**RMN  $^1H$  (DMSO- $d_6$ , 500 MHz):**  $\delta_H$  6,93 (1H, d,  $J = 5,1$  Hz, H-5a); 6,76 (1H, sl, H-5b); 5,42 (1H, dd,  $J = 10,3$  Hz et 4,0 Hz, H-8a); 5,48 (1H, dd,  $J = 10,3$  Hz et 4,0 Hz, H-8b); 5,60 (1H, dd,  $J = 10,3$  Hz et 3,4 Hz, H-9a et H-9b), 4,20 (H-4a) ; 4,03 (1H, d,  $J = 10,3$  Hz, H-4b), 1,40 (1H, m, H-11a) ; 1,38 (1H, m, H-11b), ( 1,20- 1,30 intégrant pour 24 protons et attribuable aux protons de 12 groupements méthylènes de chaines alkyle), 0,87 (6H, t,  $J = 7,0$  Hz, H-8'a et H-8' b).

- BLR4 : l'acide 3'',4''-méthylènedioxyendiandrique A.



acide 3'',4''-méthylènedioxyendiandrique A.

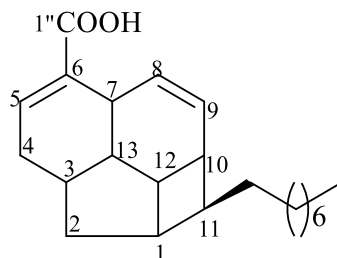
poudre blanche

ESIHR :  $[M+Na]^+$  à  $m/z$  373,1416;  $C_{22}H_{22}O_4Na$

**RMN  $^{13}C$  (DMSO- $d_6$ , 125 MHz): Tableau 22**

**RMN  $^1H$  (DMSO- $d_6$ , 500 MHz):** 6,19 (dt,  $J = 2,4$  et  $9,6$  Hz, H-4'), 5,58 (dt,  $J = 3,0$  et  $9,6$  Hz, H-5'), 5,71 (m, H-8') et 5,59 (m, H-9'), 5,95 (2H, s, H-7''), 6,76 (1H, sl, H-2''), 6,74 (1H, dd,  $J = 1,7$  et  $7,9$  Hz, H-6'') et 6,78 (1H, d,  $J = 7,9$  Hz, H-5'').

➤ BLR5 : l'acide beilschmiedique D



acide beilschmiedique D

cristaux blancs

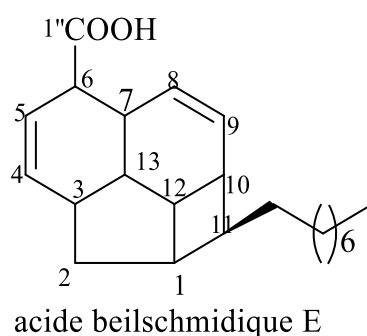
HREIMS ( $[M]^+$ ,  $m/z$  328,2394;  $C_{22}H_{32}O_2$ )

IR :  $\nu_{max}$  3418 (OH) et 1698 (C=O)  $cm^{-1}$ .

**RMN  $^1H$  (CDCl $_3$ , 500 MHz):** 7,28 (1H, dt,  $J = 7,5$  et  $3,7$  Hz, H-5) et 5,61 (2H, ls, H-8, H-9), 1,27-1,46 (14H, brs, H-1'-H-7'), 0,89 (3H, t,  $J = 6,9$  Hz).

**RMN  $^{13}C$  (CDCl $_3$ , 125 MHz): Tableau 20**

➤ BLR6 : l'acide beilschmiedique E



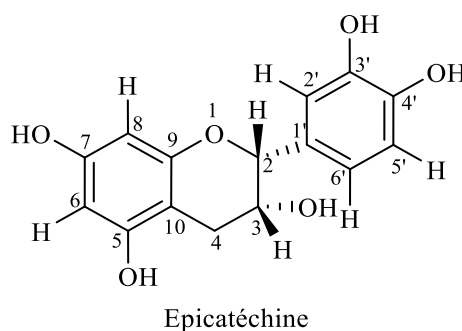
Cristaux blancs

HREIMS  $[M]^+$ ,  $m/z$  328,2394 ;  $C_{22}H_{32}O_2$

RMN  $^{13}C$  ( $CDCl_3$ , 125 MHz): Tableau 21

RMN  $^1H$  ( $CDCl_3$ , 500 MHz): 6,24 (1H, d,  $J = 9,4$  Hz, H-4), 5,76 (1H, dt,  $J = 9,9$  et 2,5 Hz, H-5), 5,49 (1H, d,  $J = 10,0$  Hz, H-8), 5,64 (1H, dt,  $J = 10,0$  et 3,1 Hz, H-9), 1,21-1,46 (14H, brs, H-1'-H-7'),  $\delta$  0,88 (t,  $J = 6,9$  Hz).

➤ BLR2 : Epicatechine



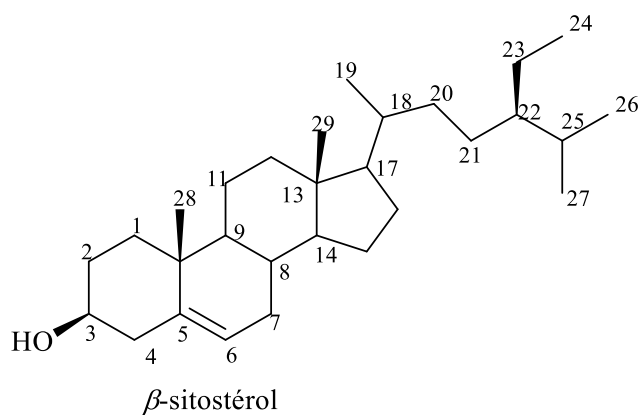
Poudre blanche

HREIMS  $[M+H]^+$  à  $m/z$  291,086;  $C_{15}H_{15}O_6$

RMN  $^{13}C$  (Acétone- $d_6$ , 125 MHz): Tableau 8

RMN  $^1H$  (Acétone- $d_6$ , 500 MHz): 6,81 (1H, dd,  $J = 8,2$  et 2,0 Hz, H-6'); 6,85 (1H, d,  $J = 8,2$  Hz, H-5'); 7,06 (1H, d,  $J = 2,1$  Hz, H-2'); 6,02 (1H, d,  $J = 2,3$  Hz, H-8); 5,93 (1H, d,  $J = 2,3$  Hz, H-6); 4,21 (1H, m, H-3) et 4,89 (1H, sl, H-2); 2,89 (1H, dd,  $J = 4,6$  et 3,3 Hz, H-4a); 2,76 (1H, dd,  $J = 4,7$  et 3,3 Hz, H-4b).

➤ BLR7 :  $\beta$ -sitostérol



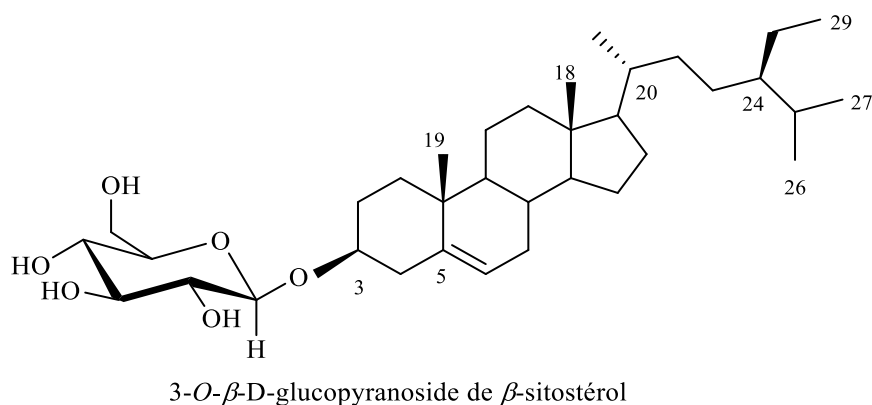
Poudre blanche

Formule brute  $C_{29}H_{50}O$

**RMN  $^1H$**  ( $CDCl_3$ , 300 MHz):  $\delta_H$  5,32 (H-6), 3,50(H-3)

**RMN  $^{13}C$**  (Acétone- $d_6$ , 125 MHz): 140,7 (C-5), 121,7 (C-6), 71,8 (C-3)

➤ BLR8 : 3-*O*- $\beta$ -D-glucopyranoside de  $\beta$ -sitostérol



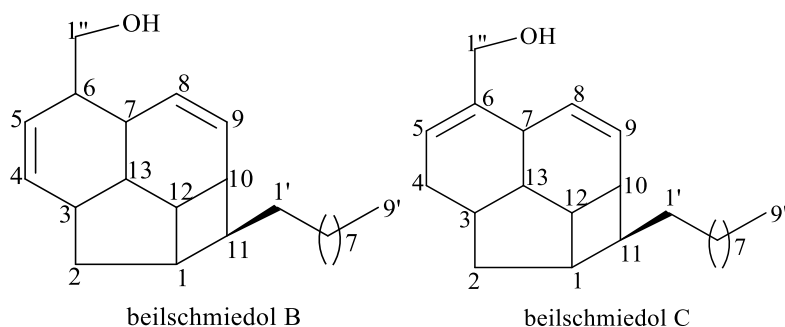
Poudre beige

HREIMS  $[M+H]^+$  à  $m/z$  576,8473 ;  $C_{36}H_{64}O_3$

**RMN  $^1H$**  ( $CDCl_3$ , 300 MHz):  $\delta_H$  5,32 (H-6) ; 3,50 (H-3) ; 3,90-5,03 (signaux caractéristiques d'un sucre) ; 5,01 (d,  $J = 7,8$  Hz) (proton anomérique).

**RMN  $^{13}C$**  (Acétone- $d_6$ , 125 MHz): 140,7 (C-5), 121,7 (C-6), 71,8 (C-3).

➤ BOET3' : Mélange de beilschmiedol B et beilschmiedol C

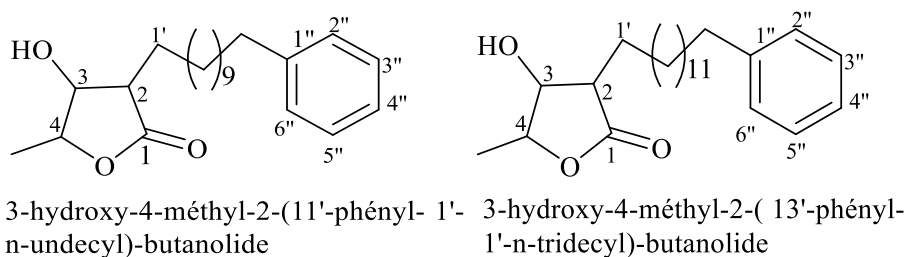


Huile jaunâtre

HREIMS  $[M+K]^+$  à  $m/z$  367,2303 ;  $C_{23}H_{36}O$

RMN  $^1H$  et  $^{13}C$  ( $CDCl_3$ , 600MHz): **Tableau 24**

- BOET3 : Mélange de 3-hydroxy-4-méthyl-2-(13'-phényl-1'-n-tridecyl)-butanolide (**161**), 3-hydroxy-4-méthyl-2-(11'-phényl-1'-n-undecyl)-butanolide



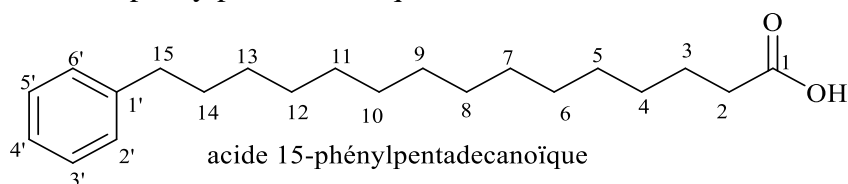
Huile blanchâtre

HREIMS  $[M+H]^+$  à  $m/z$  347,2597 et 375,2906 ;  $C_{22}H_{35}O_3$  et  $C_{24}H_{39}O_3$ , respectivement

RMN  $^1H$  et  $^{13}C$  ( $CDCl_3$ , 400 MHz):  $\delta_H$  7,14-7,29 (5H, m), 4,32 (1H, dd,  $J = 4,8$  et  $7,8$  Hz, H-3), 4,5 (1H, dq,  $J = 3,5$  et  $6,5$  Hz, H-4), 1,26-2,60 (-CH<sub>2</sub>), 1,44 (-CH<sub>3</sub>).

RMN  $^{13}C$  ( $CDCl_3$ , 125 MHz): **Tableau 12**

- BOET5: acide 15-phénylpentadecanoïque

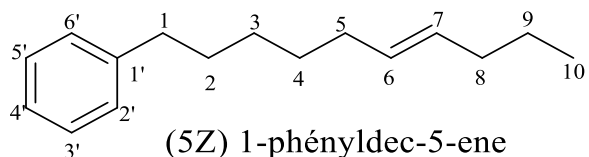


Huile blanchâtre

ESIHR :  $[M-H]^+$  à  $m/z$  317,2527 ;  $C_{21}H_{33}O_2$

RMN  $^1H$  et  $^{13}C$  ( $CDCl_3$ , 400 MHz): **Tableau 14**

- BOET2 : benzène 6-octadecene-1-yl

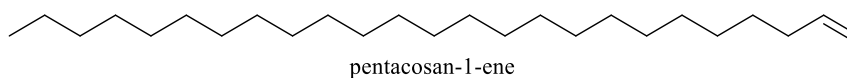


Huile blanchâtre

ESI  $[M+Na]^+$  à  $m/z$  238,1540 ;  $C_{16}H_{24}Na$ , fragments  $[M-CH_2]^+$  (230),  $[M-C_2H_4]^+$  (217),  $[M-C_5H_{11}]^+$  (173)

**RMN  $^1H$  et  $^{13}C$  ( $CDCl_3$ , 400 MHz): Tableau 15**

➤ B0ET4 : pentacosan-1-ene



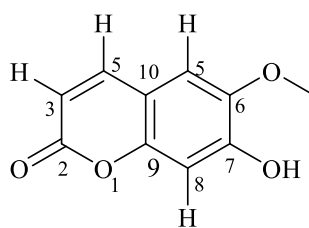
Huile blanchâtre

ESI :  $[M-H]^+$  à  $m/z$  349,1892;  $C_{25}H_{49}$

**RMN  $^1H$  ( $CDCl_3$ , 600 MHz):** 0,89 (-CH<sub>3</sub>), 1,29-2,07(-CH<sub>2</sub>), 4,99 (=CH<sub>2</sub>), 5,84 (=CH).

**RMN  $^{13}C$  ( $CDCl_3$ , 600MHz):** 14,5(-CH<sub>3</sub>), 20-37(-CH<sub>2</sub>), 114,4 (=CH), 139,6 (=CH<sub>2</sub>).

➤ PAF1 : Scopoletine



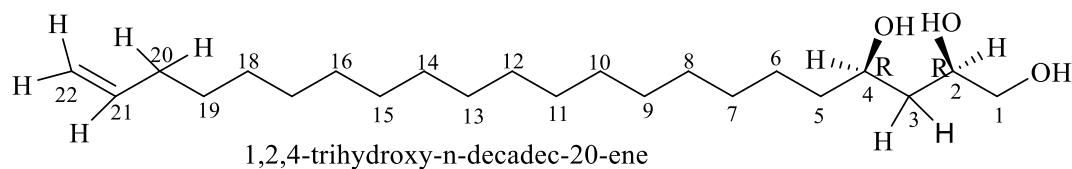
Scopoletine

Palette blanche

ESIHR :  $[M+H]^+$  à  $m/z$  193,0212,  $C_{10}H_9O_4$

RMN  $^1H$  et  $^{13}C$  ( $CDCl_3$ , 600MHz): **Tableau 19**

➤ PAF3: 1,2,4-trihydroxy-*n*-decadec-20-ene



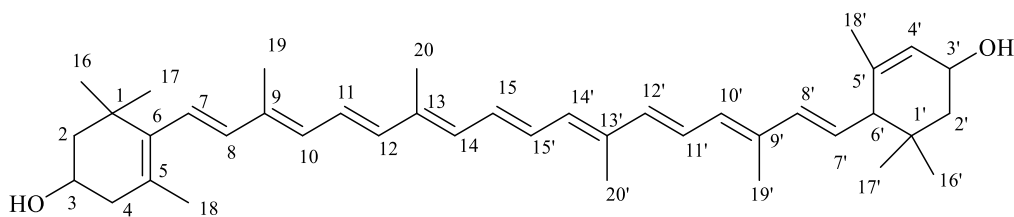
1,2,4-trihydroxy-*n*-decdec-20-ene

Palettes blanches

ESIHR :  $[M+H]^+$  à  $m/z$  357,2422 ;  $C_{22}H_{45}O_3$

RMN  $^1H$  et  $^{13}C$  ( $CDCl_3$ , 400 MHz): **Tableau 16**

➤ PAF4 : Luteine



Luteine

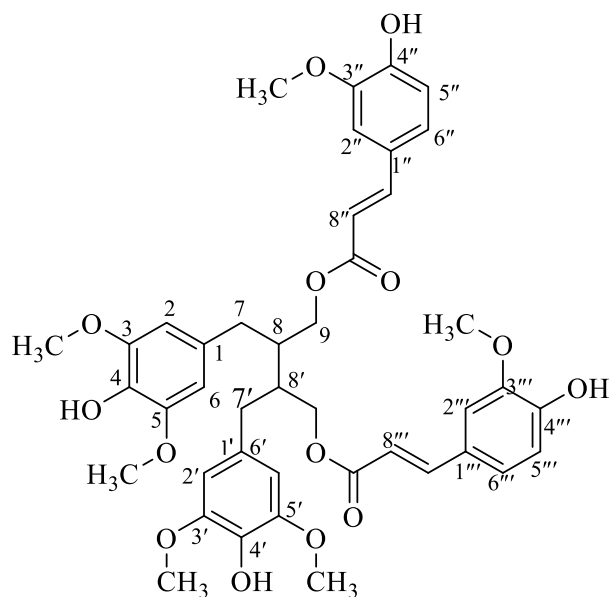
Poudre orange

ESIHR :  $[M+HCOOH-H]^+$  à  $m/z$  615,7418 ;  $C_{41}H_{59}O_4$

RMN  $^1H$  et  $^{13}C$  (pyridine- $d_6$ , 400 MHz): **Tableau 18**



- PAR3 : 9,9'-di-O-feruloyl-5,5'-diméthoxysecoisolariciresinol



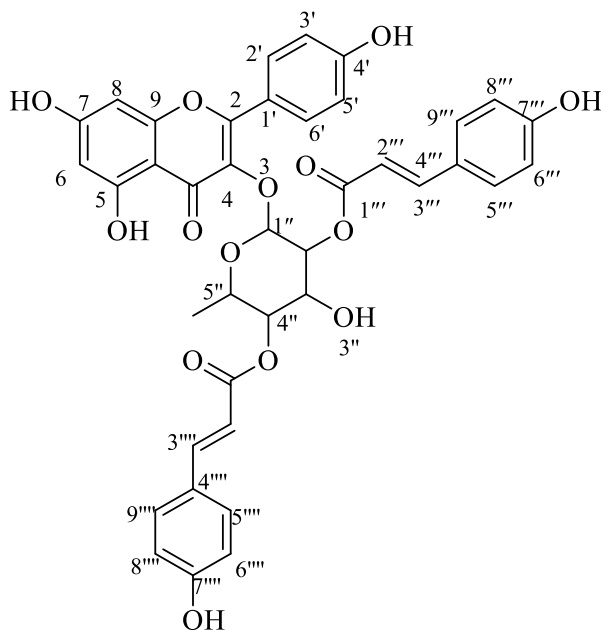
9,9'-di-O-feruloyl-5,5'-diméthoxysecoisolariciresinol

Poudre blanche

ESIHR :  $[M+H]^+$  à  $m/z$  775,2173;  $C_{42}H_{47}O_{14}$

RMN  $^1H$  et  $^{13}C$  (pyridine- $d_6$ , 400MHz): **Tableau 17**

- PAF6 : kaempferol-3-O-  $\alpha$ -L-(3''E,4''E-di-p-coumaroyl) -rhamnoside



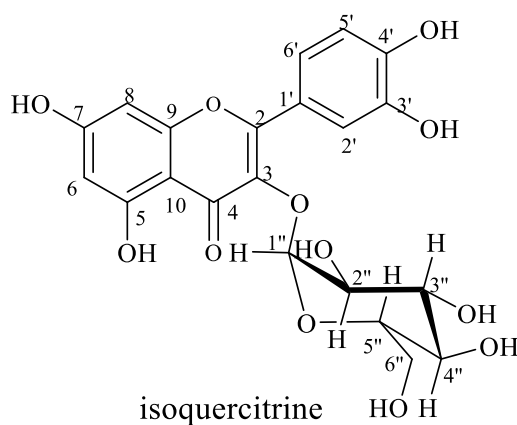
kaempferol-3-O-  $\alpha$ -L-(3''E,4''E-di-p-coumaroyl) -rhamnoside

Poudre jaune

ESIHR :  $[M-H]^+$  à  $m/z$  723,1766 ;  $C_{39}H_{31}O_{14}$

RMN  $^1H$  et  $^{13}C$  ( $CD_4O$ , 400MHz): **Tableau 11**

➤ PAF8 : isoquercitrine

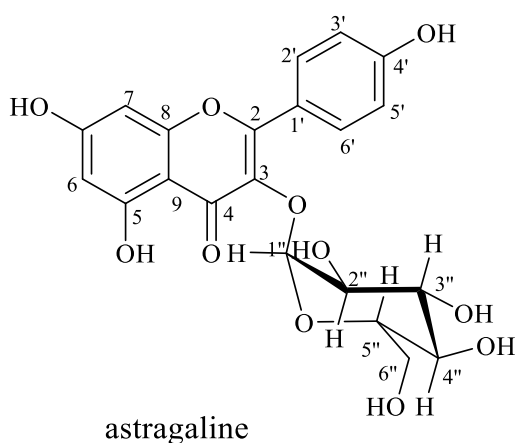


Poudre jaune

ESIHR  $[M-H]^+$  à  $m/z$  463,0961,  $C_{21}H_{19}O_{12}$

RMN  $^1H$  et  $^{13}C$  (DMSO- $d_6$ , 400MHz): **Tableau 9**

➤ PAF7 astragaline



Poudre jaune

ESIHR  $[M-H]^+$  à  $m/z$  463,0961 et 447,1005 ;  $C_{21}H_{19}O_{12}$ ,  $C_{21}H_{19}O_{11}$  respectivement

RMN  $^1H$  et  $^{13}C$  (pyridine  $d_6$ , 400MHz): **Tableau 10.**

## Références

- Abd El-Razek, M. H., 2007. NMR assignments of four catechin epimers. *Asian journal of chemistry*. 19, 4867-4872.
- Abbiw K., 1990. Useful plants of Ghana: West African uses of wild and cultivated plants. Intermediate Technology Publications, London and Royal Botanic Gardens, Kew, Richmond, United Kingdom, 337.
- Afrique Avenir, Premier test réussi pour un vaccin antipaludique, (2010). <http://www.afriqueavenir.org/2010/02/10/premier-test-reussi-pour-un-vaccin-antipaludique/> [en ligne] Page consultée le 27/01/2012.
- Aguilar A., 1994. Herbario Medicinal del IMSS. México: Editorial Redact, S.A.
- Akpabio, U.D., Akpakpan, A.E., Matthew, I.E., Akpan, A.U., 2011. Extraction and characterization of oil from avocado pear (*Persea americana*) and native pear (*Dacryodes edulis*) fruits. *World Journal of Applied Science and Technology*. 3, 27-34.
- Appel, C., Geny, C., Dumontet, V., Birlirakis, N., Roussi, F., Pham, V. C., Huong, D. T. M., Nguyen, V. H., Chau, V. M., Litaudon, M., 2014. Endiandric acid analogues from *Beilschmiedia ferruginea* as dual inhibitors of Bcl-xL/Bak and Mcl-1/Bid interactions. *Journal of Natural Product*. 77, 1430-1437.
- Ashley, E., McGready, R., Proux, S., Nosten, F., 2006. Malaria Review, *Travel Medicine and Infectious Diseases*. 4, 159-173.
- Aubreville, A., 1959. La flore forestière de la Côte d'Ivoire. Deuxième édition révisée. Tome premier. Publication N°15, Centre Technique forestier Tropical, Nogent sur Marne, France, 369.
- Aubry P., Gauzere B. A., 2020. Trypanosomiase humaine africaine ou maladie du sommeil. Centre René Labusquière, Institut de Médecine Tropicale, Université de Bordeaux, 33076 Bordeaux (France). *Médecine Tropicale*. 1-9.
- Aubry P., Gauzere B. A., 2020. Paludisme. Centre René Labusquière, Institut de Médecine Tropicale, Université de Bordeaux, 33076 Bordeaux (France). *Médecine Tropicale*. 1-9.
- Balkwill, F., Charles, K., Montovania, A., 2005. Smoldering and polarized inflammation in the initiation and promotion of malignant diseases. *Cancer cell*. 7, 211-217.
- Bandaranayake, W. M., Banfield, J. E., Black, D. S. C., Fallon, G. D., Gatehouse, B. M., 1980. Endiandric acid, a novel carboxylic acid from *Endiandra introrsa*

- (Lauraceae): X-ray structure determination. *Journal of the Chemical Society, Chemical Communications*. 4, 162-163.
- Bandaranayake, W. M., Banfield, J. E., Black, D. S. C., Fallon, G. D., Gatehouse, B. M., 1981. Constituents of *Endiandra* species. I. Endiandric acid, a novel carboxylic acid from *Endiandra introrsa* (Lauraceae), and a derived lactone. *Australian Journal of Chemistry*. 34, 1655-1667.
  - Banfield, J. E., Black, D. S. C., Collins, D. J., Hyland, B. P. M., Lee, J. J., Pranowo, S. R., 1994. Constituents of some species of *Beilschmiedia* and *Endiandra* (Lauraceae): New endiandric acid and benzopyran derivatives isolated from *B. oligandra*. *Australian Journal of Chemistry*. 47, 587-607.
  - Bankeu, J. J. K., Dawé, A., Mbiancha, M., Feuya, G. R. T., Ali, I., Tchuenmogne, M. A. T., Mehreen, L., Lenta, B. N., Ali, M. S., Ngouela, A. S., 2017. Characterization of bioactive compounds from *Ficusvallis-choudae* Delile (Moraceae). *Trends in Phytochemical Research*. 4, 235-242.
  - Bankeu, J. J. K., Mustafa, S. A. A., Gojayev, A. S., Lenta, B. D., Nougoué, D. T., Ngouela S A, Asaad K, Choudhary M I, Prigge S, Guliyev A A, Nkengfack A E, Tsamo E., Shaiqali, M., 2010. Ceramide and Cerebroside from the Stem Bark of *Ficus mucoso* (Moraceae). *Chemical and Pharmaceutical Bulletin*. 14, 1661-1665.
  - Barrett M.P., Burchmore R.J., Stich A., Lazzari J.O., Frasch A.C., Cazzulo J.J., and Krishna S., 2003. The trypanosomoses. *Lancet*. 362, 1469-1480.
  - Basco, L. K., Ruggeri, C., Le Bras, J., 1994. « Molécules antipaludiques, mécanismes d'action, mécanismes de résistance et relations structure-activité des schizontocides sanguins » *Masson*, 103-109.
  - Barber, B. E., William, T., Jikal, M., Jilip, J., Dhararaj, P., Menon, J., Yeo, T. W., Anstey, N. M., 2011. *Plasmodium knowlesi*, malaria in children. *Emerging Infectious Diseases*. 17, 814-820.
  - Bero, J., Fédérich, M., Quetin-Leclercq, J., 2009. Antimalarial compounds isolated from plants used in traditional medicine. *J. Pharm. Pharmacol.* 61, 1401-1433.
  - Boda, C. ; Courtioux, B.; Jauberteau-marchan, M.O. ; Bisser, S., 2005. Immunity to African trypanosomiasis, *tropical immunology*, 1, 255-277.
  - Bolza, E., Keating, W., 1972. African timbers: the properties, uses and characteristics of 700 species. *Division of Building Research, CSIRO, Melbourne, Australia*, 710.

- Bonham, M., Posakony, J., Coleman, I., Montgomery, B., Simon, J., Nelson, P., 2005. Characterization of chemical constituents in *Scutellaria baicalensis* with antiandrogenic and growth-inhibitory activities toward prostate carcinoma. *Clinical Cancer Research*.11, 3905-3914.
- Brenier-Pinchard, M. P., Pelloux, H., 2002. Paludisme, Corpus médical-Faculté de Médecine de Grenoble, <http://www-sante.ujf-grenoble.fr/sante/corpus/disciplines/parasitomyco/parasito/99/leconimprim.pdf>. [en ligne] Page consultée le 24/01/2012.
- Bross-Walch, N., Kuhn, T., Moskau, D., Zerb, O., 2005. Strategies and tools for structure determination of natural products using modern methods of NMR spectroscopy. *Chemistry & Biodiversity*. 2, 147-177.
- Burkill, M., 1995. The useful plants of West Tropical Africa. 2nd Edition. Families J–L. Royal Botanic Gardens, Kew, Richmond, United Kingdom, 857.
- Brun, R., Blum, J., Chappuis, F., Burri C., 2010. Human African trypanosomiasis. *Lancet*. 375, 148-159
- Bruneton, J., 1999. Pharmacognosie, phytochimie et plantes médicinales. 3<sup>ème</sup> Edition, Technique et Documentation, Rue Lavoisier, France, 279-785.
- Camacho, M. D. R., Croft, S. L., Phillipson, J. D., 2000. Natural products as sources of antiprotozoal drugs. *Current Opinion in Anti-infective Investigational Drugs*. 2, 47-62.
- Chen, J., Chou, E., Peng, C., Chen, I., Yang, S., Huang, H., 2007. Novel epoxyfuranoid lignans and antitubercular constituents from leaves of *Beilschmiedia tsangii*. *Planta Medica*.73, 561-571.
- Chen, J., Kuo, L., Sung, J., Chen, S., Cheng, J., Lim, P., Liao, R., Chang, H., Wei, C., Chen, Y., 2015. Beilschamide, a new amide, and cytotoxic constituents of *Beilschmiedia erythrophloia*. *Chemistry of Natural Compounds*.51, 302-305.
- Chen, J. J., Chou, E. T., Duh, C. Y., Yang, S. Z., Chen, I. S., 2006. New cytotoxic tetrahydrofuran- and dihydrofuran-type lignans from the stem of *Beilschmiedia tsangii*. *Planta Medica*.72, 351-357.
- Chen, X., Klöckner, J., Holze, J., Zimmermann, C., Seemann, W.K., Schrage, R., Bock, A., Mohr, K., Tränkle, C., Holzgrabe, U., 2015. Rational design of partial agonists for the muscarinic M1 acetylcholine receptor. *Journal of Medicinal Chemistry*. 58, 560–576

- Chouna, R. J., Nkeng-Efouet, A. P., Lenta, N. B., Devkota, P. K., Neumann, B., Stammler, H., Kimbu, F. S., Sewald, N., 2009. Antibacterial endiandric acid derivatives from *Beilschmiedia anacardioides*. *Phytochemistry*. 70, 684-688.
- Chouna, J. R., Nkeng-Efouet, P. A., Lenta, B. N., Wansi, D. J., Neumann, B., Stammler, H. G., FonKimbu, S., Sewald, N., 2011. Beilschmiedic acids F and G, other endiandric Acid derivatives from *Beilschmiedia anacardioides*. *Helvetica Chimica Acta*. 94, 1071-1076.
- Chouna, J. R., Nkeng-Efouet, P. A., Lenta, B. N., Wansi, J. D., FonKimbu, S., Sewald, N., 2010. Endiandric acid derivatives from the stem bark of *Beilschmiedia anacardioides*. *Phytochemistry Letters*. 3, 1316.
- Chouna, J. R., Nkeng-Efouet, P. A., Lenta, B. N., Devkota, K. P., Neumann, B., Stammler, H. G., Kimbu, S. F., Sewald, N., 2009. Antibacterial endiandric acid derivatives from *Beilschmiedia anacardioides*. *Phytochemistry*. 70, 684-688.
- Cohen, J., Bennis, S., Vekemans, J., Leach, A., 2010. Le candidat vaccin antipaludique RTS, S/AS est entré en essais cliniques de phase III. *Annales Pharmaceutiques Françaises*. 68, 370-379.
- Condit, R. C., Easterly, R., Pacha, R. F., Fathi, Z., Meis, R. J. A., 1991. Vaccinia virus isatin-beta-thiosemicarbazone resistance mutation maps in the viral gene encoding the 132-kDa subunit of RNA polymerase. *Virology*. 185, 857-861.
- Coussens, L., Werb, Z., 2002. Inflammation and Cancer. *Nature*. 420, 860-867.
- De, P., Bedos-Belva, F., Vanucci-Bacqué, C., Baltas, M. 2012. Cinnamic acid derivatives in tuberculosis, malaria and cardiovascular diseases A Review. *Bentham Science Publishers*. 16, pp.747-768.
- Del, R. R. M., Jerz. G., Villanueva, S., López-Dellamary, F. L., Waibel, R., Winterhalter, P., 2004. Two glucosylated abscisic acid derivatives from avocado seeds (*Persea americana* Mill. Lauraceae cv. Hass). *Phytochemistry*. 65, 955-962.
- Dess, D.B., Martin, J.C., 1983. Readily accessible 12-I-5 oxidant for the conversion of primary and secondary alcohols to aldehydes and ketones. *Journal of Organic Chemistry*. 48, 4155-4156.
- Deepti, D., Rachel M. S., Gregory, R. Z., Joshua, D. L., 2013. Avocado (*Persea americana*) Seed as a Source of Bioactive Phytochemicals. *Current Pharmaceutical Design*. 19, 6133-6140.

- Desowitz, R. S., *the Malaria Capers (More Tales of Parasites and People, Research and Reality)*. W.W. Norton & Company, New York, (1991) <http://archive.idrc.ca/books/reports/1996/01-05f.html> [enligne]. Page consultée le 24/10/2011.
- Ding, H., Chin, Y.W., Kinghorn, A.D., D'Ambrosio, S.M., 2007. Chemopreventive characteristics of avocado fruit. *Sem Cancer Biol.* 17: 386-94.
- Doron, C. G., Zachary, M., Elizabeth, H., Patricia, D., Jiri, G., Conor, R., Caffrey, J. L., Philip, J. R., James, H. M., Kelly, C., 2004. Synthesis and structure-Activity relationships of parasitocidal thiosemicarbazone cysteine protease inhibitors against *Plasmodium falciparum*, *Trypanosoma brucei*, and *Trypanosoma cruzi*. *Journal of Medicinal Chemistry.* 47,3212-3219.
- Du, X., Guo, C., Hansell, E., Doyle, P. S., Caffrey, C. R., Holler, T. P., McKerrow, J. H., Cohen, F. E., 2002. Synthesis and structure-activity relationship study of potent trypanocidal thiosemicarbazone inhibitors of the trypanosomal cysteine protease cruzain. *Journal of Medicinal Chemistry.* 45, 2695-2707.
- Dondorp, A. M, Noste, F., Yi, P., Das, D., PhaePhyo, A., Tarning, J., Maung, L. K., Arie, F., Hanpithakpong, W., Lee, S. J., Ringwald, P., Silamut, K., Imwong, M., Chotivanich, K., Lim, P., Herdman, T., An, S. S., Yeung, S., Singhasivanon, P., Day, N. P. J., Lindegardh, N., Socheat, D., White, N. J., 2009. Artemisinin Resistance in *Plasmodium falciparum* Malaria. *The New England Journal of Medicine.* 361, 455-467.
- Eder, C., Kogler, H., Haag-Richter, S., 2004. New Fused Tetracyclic Compounds, e.g., Endiandric Acid H Obtained from the Plant *Beilschmieda fulva*, are C-maf and NFAT Inhibitors Useful for Treating Allergy or Asthma. German Patent DE 10235624 A1.
- El Babili, F., Bouajila, J., Souchard, J. P., Bertrand, C., Bellvert, F., Fouraste, I. O., 2011. Chemical analysis and evaluation of its antimalarial, antioxidant, and cytotoxic activities. *Journal of Food Sciences.* 76, 512-8.
- Encarta., 2009. « Paludisme » Microsoft Encarta 2009. CDC, Center for Disease Control and Prevention. [http://www.cdc.gov/malaria/biology/life\\_cycle.htm](http://www.cdc.gov/malaria/biology/life_cycle.htm) [en ligne], Page consultée le 29/06/2018.
- Eyog, M., Ndoye, O., Kengue, J., Awono, A., 2003. Les Fruitiers forestiers comestibles du Cameroun. IPGRI, 95-96.
- Falodun, A., Erharuyi, O, Imieje V., Ahomafor, J., Akunyuli, C., Jacobs, M., Khan, S, Hamann, M. T, Langer, P., 2014. In vitro evaluation of aliphatic fatty alcohol

- metabolites of *Persea americana* seed as potential antimalarial and antimicrobial agents. *Nigerian Journal of Biotechnology*. 27, 1-7
- Fankam, A. G., Kuate, J. R., Kuete, V., 2014. Antibacterial activities of *Beilschmiedia obscura* and six other Cameroonian medicinal plants against multi-drug resistant Gram-negative phenotypes, *Complementary and Alternative Medicine*. 14 241.
  - Fatondji, H.R., Gbaguidi, F., Kpoviessi, S., Bero, J., Hannaert, V., Quetin-Leclercq, J., Poupaert, J., Moudachirou, M., 2011. Accrombessi, G.C. Synthesis, characterization and trypanocidal activity of some aromatic thiosemicarbazones and their 1,3,4-thiadiazolines derivatives. *African Journal of Pure and Applied Chemistry*. 5, 59-64.
  - FAO/PAAT. 2014. Agriculture and consumer protection department, Animal production and health: PAAT The disease, [WWW.fao.org/Ag/agalinfo/programmes/en/paat/disease.html](http://WWW.fao.org/Ag/agalinfo/programmes/en/paat/disease.html).
  - Finch, R. A., Liu, M. C., Cory, A. H., Cory, J. G., Sartorelli, A. C., 1999. Triapine (3-aminopyridine-2-carboxaldehyde thiosemicarbazone; 3-AP): an inhibitor of ribonucleotide reductase with antineoplastic activity. *Advances in Enzyme Regulation*. 39, 3-12.
  - Fouilloy, R., 1974. Flore du Cameroun. Lauracées, Myristicacées, Monimiacées. Muséum National d'Histoire Naturelle, Paris, France 18, 3-87.
  - Ganapaty, S., Pannakal, T., Srilakshmi, K., Lakshmi, P., Watterman, P., Brun, R., 2008. Pumilanol, an antiprotozoal isoflavanol from *Tephrosia pumila*. *Phytochemistry Letters*. 1, 175-178.
  - Gentilini, M., 1990. Le paludisme dans la Médecine Tropicale, Flammarion, Paris. 91-122.
  - Genton, B., D'Acremont, V., 2007. Malaria : nouvelles stratégies de traitement. *Forum Medical Suisse*. 7, 386-392.
  - Gessler, M. C., Nkunya, M. H. N., Nwasumbi, L. B., Heinrich, M., Tonner, M., 1994. Screening Tanzanian medical plants for antimalarial activity. *Acta Tropica*. 55, 65-67.
  - GlaxoSmithKline, Dossier santé : le paludisme, (2005). WWW.gsk.fr.
  - Gottlieb, R., 1972. Review Article Chemosystematics of the Lauraceae. *Phytochemistry* 11, 1537-1570.
  - Harborne, J., Mendez, J., 1969. Flavonoids of *Beilschmiedia miersii*. *Phytochemistry*. 8, 763-764.



- Hirumi, H., Martin, S., Hirumi, K., Inoue, N., Kanbara, H., Saito, A., Suzuki, N., 1997. Cultivation of bloodstream forms of *Trypanosoma brucei* and *T. evansi* in a serum-free medium. *Tropical Medicine and International Health*. 2, 240-244.
- Huang, Y. T., Chang, H. S., Wang, G. J., Cheng, M. J., Chen, C. H., Yang, Y. J., Chen, I. S., 2011. Anti-inflammatory endiandric acid analogues from the roots of *Beilschmiedia tsangii*. *Journal of Natural Product*. 74, 1875-1880.
- Huang, Y. T., Chang, H. S., Wang, G. J., Lin, C. H., Chen, I. S., 2012. Secondary metabolites from the roots of *Beilschmiedia tsangii* and their anti-inflammatory activities. *International Journal of Molecular Sciences*. 13, 16430-16443.
- Iwu, M., 1993. Handbook of African Medicinal Plants. CRC, Boca Raton, 435.
- Jae-Taek, H., Myun-Ho, B., Ock-Kyoung, C., Dae-Ok, K., Chang-Yong, L., Nam-In, B., 2004. *Archives of Pharmacal Research*. 27, 390-395.
- Jang, S., Lee, Y., Lee, M., Kim, S., Sun, H., Kim, H., Kim, J., 2009. Flavan-3-ol having a-lactam from the roots of *Actinidia arguta* inhibit the formation of advanced glycation and products *in vitro*. *Chemical and Pharmaceutical Bulletin*. 57, 397-400.
- João, M. J. V., Artur, M. S. S., Josea, S. C., 1998. Chromones and flavanones from *artemisia campestris* subsp. *Maritima*. *Phytochemistry*. 49, 1421-1424.
- Johns, S. R., Lamberton, J. A., Sioumis, A. A., Tweeddale, H. J., 1969. New aporphine alkaloids from *Beilschmiedia podagrica*. *Australian Journal of Chemistry*. 22, 1277-1281.
- Jordan, A.M., 1993. Tsetse-flies (*Glossinidae*). Dans *Medical insects and arachnids*, de R, P. Croskey, R, W. Lane, 333-388. London: Chapman and hall.
- Kaur, K., Jain, M., Kaur, T., Jain, R., 2009. Antimalarials from nature. *Bioorganic & Medicinal Chemistry*. 17, 3229 -3252.
- Kapché, W.F.G.D., 2000. Contribution à l'étude phytochimique d'une plante médicinale du Cameroun : *Dorstenia poinsettiiifolia* et *Dorsetenia psilurus*. (Moraceae) et hémisynthèses de quelques flavanones. Thèse de Doctorat de 3ème cycle, Université de Yaoundé I. Pages 32.
- Kayser, O., Kinderlen, A. F., Croft, S. L., 2003. Natural product as antiparasitic drugs. *Parasitology Research*. 90, S55-S62.
- Keusch, G.T., Jacewicz, M., Hirschman, S.Z., 1972. Quantitative microassay in cell culture for enterotoxin of *Shigella dysenteriae* 1. *Journal of Infectious Diseases*. 125, 539-541.

- Kirby, G. C., Paine, A., Warhurst, D. C., Noamesen, B. K., Phillipson, J. D., 1995. *In vitro* and *in vivo* antimalarial activity of cryptolepine, a plant derived indoloquinoline. *Phytotherapy Research*. 9, 359-363.
- Kitagawa, I., Minogawa, K., Zhang, S., Hori, K., Doi, M., Inoue, M., Ishida, T., Kimura, M., Uji, T., Shibuya, H., 1993. Dehatrine, an antibisbenzylisoquinoline alkaloid from the Indonesian medicinal plant *Beilschmiedia madang*, isolated as mixture of two rotational isomers. *Chemical and Pharmaceutical Bulletin*. 41, 997-999.
- Klayman, D. L., Bartosevich, J. F., Griffin, T., Mason, C. J., Scovill, J. P., 1979. 2-Acetylpyridine thiosemicarbazones. A new class of potential antimalarial agents. *Journal of Medicinal Chemistry*. 22, 855- 862.
- Kuete, V., Tankeo, S.B., Saeed, M.E.M., Wiench, B., Tane, P., Efferth, T., 2014. Cytotoxicity and modes of action of five Cameroonian medicinal plants against multi-factorial drug resistance of tumor cells. *Journal. Ethnopharmacology*. 153, 207-219.
- Kumamoto, J., Scora, R. W., 1970. Structure of sarisan, an isomer of myristicin, isolated from the leaf oil of *Beilschmiedia miersii*. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. 18, 544-545.
- Kroubli M., 2010. Développement de formations colloïdales antiparasitaire pour traiter la trypanosomiase Africaine. Thèse de Doctorat de l'université du droit et de la santé-Lille 2, Discipline : Sciences Physico-chimiques et technologies pharmaceutique.
- Lawrence, O.A.M., Ivar, U., Peter L., Rudolf. H., 2003. Flavonol glycosides of *Warburgia ugandensis* leaves. *Phytochemistry*. 6, 891-896.
- Liao, C., 1996. Lauraceae: Flora of Taiwan. 2nd Ed, Editorial, Committee of the flora of Taiwan, Tapei, Tawain. 2,433-499.
- Lima, C. R., Vasconcelos, C. F. B., Costa-Silva, J. H., Maranhão, C. A., Costa, J., Batista, T. M., Carneiro, E. M., Soares, L. A. L., Ferreira, F., Wanderley, A. G., 2012. Anti-diabetic activity of extract from *Persea americana Mill.* Leaf via the activation of protein kinase B (PKB/Akt) in streptozotocin induced diabetic rats. *Journal of Ethnopharmacology*. 141 :517-525.
- Lenta, B., Chouna, J., Nkeng-Efouet, P., Sewald, N., 2015. Endiandric acid derivatives and other constituents of plants from the genera *Beilschmiedia* and *Endiandra* (Lauraceae). *Biomolécules*. 5, 910-942.
- Lenta, B., Chouna, J., Nkeng-Efouet, P., FonKimbu, S., Tsamo, E., Sewald, N., 2011. Obscurine: A new cyclostachine acid derivative from *Beilschmiedia obscura*. *Natural Product. Communications*. 6, 1591-1592.

- Lenta, B. N., Weniger, B., Antheaume, C., Nougoué, T. D., Ngouela, S., Assob, N. C. J., Vonthron-Sénéchau, C., Fokou, A. P., Devkota, P. K., Tsamo, E., Sewald, N., 2007. Anthraquinones from the stem bark of *Stereospermum zenkeri* with antimicrobial activity. *Phytochemistry*. 68, 1595-1599.
- Lenta, B. N., Tantangmo, F., Devkota, K. P., Wansi, D. J., Chouna, R. J., Soh, F. C. R., Neumann, B., Stammeler, H. G., Tsamo, E., Norbert, S. N., 2009. Bioactive Constituents of the Roots of *Beilschmiedia zenkeri*. *Journal of Natural Products* 72, 2130-2134.
- Leite, J. J.; Brito, E. H.; Cordeiro, R. A.; Brilhante, R. S. N.; Sidrim, J. J. C.; Bertini, L. M.; Morais, S. M.; Rocha, M. F. G. 2009. Chemical composition, toxicity and larvicidal and antifungal activities of *Persea americana* (avocado) seed extracts. *Rev. Soc. Bras. Med. Trop.* 42, 110–113.
- Louppe D, Oteng-Amoako A, Brink M; 2008. *Timbers*. 1. 7, 110.
- Makler, M.T., Ries, J.M., Williams, J.A., Bancroft, J.E., Piper, R.C., Gibbins, B.L., Hinrichs, D.J., 1993. Parasite lactate dehydrogenase as an assay for *Plasmodium falciparum* drug sensitivity. *The American Journal of Tropical Medicine and Hygiene*. 48, 739-741.
- Mishra, V., Pandeya, S. N., Pannecouque, C., Witvrouw, M., De Clercq, E., 2002. Anti-HIV activity of thiosemicarbazone and semicarbazone derivatives of ( $\pm$ )-3-menthone. *Archiv der Pharmazie. (Weinheim)*. 335, 183-186.
- Mollataghi, A., Coudiere, E., Hadi, A. H. A., Mukhtar, M. R., Awang, K., Litaudon, M., Ata, A., 2012. Anti-acetylcholinesterase, anti-glucosidase, anti-leishmanial and anti-fungal activities of chemical constituents of *Beilschmiedia* species. *Fitoterapia*. 83, 298-302.
- Mollataghi, A, Hadi, A. H. A., Awang, K., Mohamad, J., Litaudon, M., Mukhtar, M. R., 2011. (+)-Kunstlerone, a new antioxidant neolignan from the leaves of *Beilschmiedia kunstleri* Gamble. *Molecules*. 16, 6582–6590.
- Morton, J., 1987. Avocado. In: *Fruits of Warm Climates* (Morton JF, ed.); J.F. Morton, Miami, 91-102.
- Mônica, T. P., Paulo, C.V., Joxo, B. F., Tima, D. M. F., silva, D. G. F., 998.  $\gamma$ -lactones from *Trichilia clausenii*. *Phytochemistry*. 48, 307-310.
- Mônica, T. P., Paulo, C.V., Joxo, B. F., Tima, D. M. F., silva, D. G. F., 1996a. cycloartane triterpenoid and to-phenyl alcanoic and alkenoic acids from *trichilia clausenii*. *Phytochemistry*. 42, 795- 798.

- Morton, J., 1987. Avocado. In: *Fruits of Warm Climates* (Morton JF, ed.); J.F. Morton, Miami. 17, 91-102.
- Muranjan, M., Nussenzweig, V., Tomlinson., 1998. Characterization of the human serum trypanosome toxin, haptoglobin-related protein. *Journal of Biology Chemistry*, 273.
- Ngouela, S., Lenta, B. N., Nougoué, D. T., Ngoupayo, J., Boyom, F. F., Tsamo, E., Gut, J., Rosenthal, P. J., Connolly, J. D., 2006. Anti-plasmodial and antioxydant activities of constituents of the seed shells of *Symphonia globulifera* Linn. *Phytochemistry*. 67, 302-306.
- Nian-Yun, Y., Wei-Wei, T., Jin-Ao, D., 2010. Antithrombotic flavonoids from the faeces of *Trogopterus xanthipes*. *Natural Product Resaerch*. 24, 1843-1849.
- Nicolaou, K. C., Petasis, N. A., Zipkin, R. E., Uenishi, J., 1982. The endiandric acid cascade. Electrocyclizations in organic synthesis. 1 stepwise, stereocontrolled total synthesis of endiandric acids A and B. *Journal of the American Chemical Society*. 104, 5555-5557.
- Odugbemi, T. T., 2006. *Outline and Pictures of Medicinal Plants from Nigeria*. University of Lagos Press, Lagos, Nigeria.
- OMS Cameroun, 2009. [En ligne]. <http://www.afro.who.int/omscam/palud.html>; page consultée le 04 juin 2012).
- OMS, 2000. L'utilisation des antipaludiques. Rapport d'une consultation informelle de l'OMS, Genève, 13-17 novembre 2000.
- OMS, 2010. *World Malaria Report 2010*. Who Global Malaria Program.
- OMS, 2011. *Résumé du rapport 2011 sur le paludisme*
- OMS., 2014. *Trypanosomiase Humaine Africaine : lutte et surveillance*. Rapport d'un comité d'experts de l'OMS, Série n°984. Genève, Suisse.
- OMS, 2018. *Résumé du rapport 2011 sur le paludisme*
- OMS, 2019. *Résumé du rapport sur le paludisme*.
- Osorio, E., Arango, G. J., Jiménez, N., Alzate, F., Ruiz, G., David, G., Paco, M. A., Giménez, A., Robledo, S., 2007. Antiprotozoal and cytotoxic activities *in vitro* of *Colombian Annonaceae*. *Journal of Ethnopharmacology*. 111, 630-635.
- Owolabi, M. A, Jaja, S. I, Coker, H. A., 2005. Vasorelaxant action of aqueous extract of the leaves of *Persea americana* on isolated thoracic rat aorta. *Fitoterapia*. 76, 567-573.

- Owolabi, M. A., Coker, H. A. B., Jaja, S. I., 2010. Bioactivity of the phytoconstituents of the leaves of *Persea americana*. *Journal of Medicinal Plants Research*. 4, 1130-1135.
- PATTEC., 2010. Programme National d'éradication des trypanosomoses au Cameroun,
- Péter, M., József, D., Erzsebet, Ö., Ference, Z., Miklós, S., Gyula, T., 2004. Confirmation of the Absolute (3R,3-S,6-R)-Configuration of (all-E) -3-Epilutein. *Helvetica Chemical Acta*. 87,2159-2166.
- Pierry M, Metzgr J; 1980. Medicinal Plants East and Southeast Asia: Attributed Properties and Uses. MIT Press, Cambridge, MA, USA 20, 201-202.
- Pratiwi, P., Mat, R. M. A., Hamid, A., Hadi., Nurdin, S., Hiroshi, M., Marc, L., Khalijah, A., 2010. (6,7-Dimethoxy-4-methylisoquinoliny) -(4'-methoxyphenyl)-methanone, a new benzyloquinoline alkaloid from *Beilschmiedia brevipes*. *Molecules*. 23-44.
- Poltera, A.A., Sayer, P.D., Brighthouse, G., Bovell, D., Rudin, W., 1985. Immunopathological aspects of trypanosomal meningoencephalitis in vervet monkeys after relapse following Berenil treatment. *Transactions of the Royal Society of Tropical Medicine and Hygiene*, 79, 527-53.
- Pudjiastuti, P., Mukhtar, M. R., Hadi, A. H. A., Saidi, N., Morita, H., Litaudon, M., Awang, K., 2010. 6,7-dimethoxy-4-methylisoquinoliny) -(4'-methoxyphenyl)-methanone, a new benzyloquinoline alkaloid from *Beilschmiedia brevipes*. *Molecules*. 15, 2339-2346.
- Raponda-Walker, A., Sillans, R., 1961. Les plantes utiles du Gabon. Encyclopédie Biologique LVI, 213-214.
- Reynolds, W. F., Enriquez, R. G., 2002. Choosing the best pulse sequences, acquisition parameters, postacquisition processing strategies, and probes for natural product structure elucidation by NMR spectroscopy. *Journal of Natural Product*. 65, 221-244.
- RBM, 2001-2010. Roll Back Malaria : le paludisme en Afrique, 2001-2010. Décennie des Nations Unies pour faire reculer le paludisme
- Robert, A., Benoît-Vical, F., Dechit-Cabaret, O., Meunier, B., 2001. From classical antimalarial drugs to new compounds based on the mechanism of action of artemisinin. *Pure and Applied Chemistry*. 73, 1173-1188.
- Sannela, A. R., Messori, L., Casini, A., Vincieri, F. F., Bilia, A. R., Majori, G., 2010. Antimalarial properties of green tea. *Biological & Pharmaceutical Bulletin*. 31, 903-907.

- Suárez, L., Vargas, O., 2005. New chalcones from *Beilschmiedia towarensis*. *Revista Colombiana de Química*. 34, 35-41.
- Soh, F. R. C., 2010. Etude phytochimique de *Morus mesozygia* (Stapf) (Moraceae) et *Pancovia pedicellaris* (Radlk & Gilg) (Sapindaceae) et quelques activités biologiques des extraits et composés isolés, Thèse de Doctorat/Ph. D, Université de Yaoundé I, Cameroun, 121.
- Szent-Györgyi, A., 1937. Oxidation, energy transfer and vitamins. *Nobel. Lecture. Physica Medica*. 1965,440-449.
- Tai-Hung, C., Yu-Hao, H., Jhih-Jhang, L., Bing-Chung, L., Sheng-Yang, W., Yang-Chang, W., Ting-Ting, J., 2010; Cytotoxic Lignan Esters from *Cinnamomum Osmophloeum*. *Planta Medica*. 76, 613-619.
- Talontsi, F. M., Lamshoft, M., Bauer, J. O., Razakarivony, A. A., Andriamihaja, B., Strohmman, C., Spitteller, M., 2013. Antibacterial and antiplasmodial constituents of *Beilschmiedia cryptocaryoides*. *Journal of Natural Product*. 76, 97-102.
- Tagboto, S., Townson, S., 2001. Antiparasitic properties of medicinal plants and other natural occurring products. *Advances in Parasitology*. 50, 199-295.
- Tazoo, D., 2008. « Etude phytochimique et activités biologiques de *Laportea ovalifolia* (Urticaceae). Transformations chimiques sur certains composés isolés ». Thèse de Doctorat/PhD en Chimie Organique, Université de Yaoundé I-Cameroun, 22-23.
- Tchouala, M., 2001. Inventaire ethnobotanique des plantes médicinales du Noun (Ouest Cameroun) utilité pour soigner les infections fongiques et bactériennes. Mémoire de Maîtrise de Biologie Végétale, Université de Dschang, 33.
- TeneTcheghebe, O., Nyamen, L. D., NgouafongTatong, F., Seukep, A. J., 2016 ethnobotanical uses, phytochemical and pharmacological profiles, and toxicity of *persea americana* Mill. an overview. 3, 213-221
- Tene, T. O., Ngouafong, T. F., Kamga, J., Nenwa, J., 2016. Ethnobotanic Survey of Medicinal Plants used for Malaria Therapy in Western Cameroon. *Journal of Medicinal Plants Studies*. 4, 248-258.
- Thomas, D. F., Alexandre, E., Xile, H., 2015. Synthesis of E-alkyl alkenes from terminal alkynes via Ni-catalyzed cross-coupling of alkyl halides with B-alkenyl-9-borabicyclo [3.3.1] nonanes. *Organic Letters*. 17, 4910-4913.
- Treben M., 2000. Health from the Lord's Pharmacy, Advice and experiences with medicinal herbs, Ennsthaler Editore

- Uwe, J., Mundinger, S., Bannwarth, W., 2014. Efficient transfer of chelating amides into different types of esters and lactones. *European Journal of Organic Chemistry*. 2014, 6963–6974.
- Vivien, J., Faure, J., 1988. Fruitiers sauvages du Cameroun. Volume, Fruits Paris 43. 11, 657–676.
- Watchueng, J., 2004. Chalconesprénylés de *Dorsteniabarteri* var. *subtriangularis* (Engl) "(Moracées) ; Hémisynthèse et activités biologiques de certains composés. Thèse de Doctorat/PhD en Chimie Organique, Université de Yaoundé I-Cameroun, 26-39.
- Wesołowska, A., Grzeszczuk, M., Kulpa, D., 2015. GC–MS Analysis of the Essential Oil from Flowers of *Chrysanthemum coronarium* L. Propagated Conventionally and Derived from *In-vitro* Cultures. *Acta Chromatographia*. 3, 525-539.
- William, J., Léon, H., Narcisana, E., 2000. Estudioanatomicos del leno de siete especies Del género *Beilschmiedia* Nees (Lauraceae). *Revista Forestal Venezolan*. 44, 47-56.
- Williams, R. B., Martin, S. M., Hu, J. F., Norman, V. L., Goering, M. G., Loss, S., O'Neil-Johnson, M., Eldridge, G. R., Starks, C. M., 2012. Cytotoxic and antibacterial beilschmiedic acids from a Gabonese species of *Beilschmiedia*. *Journal of Natural Product*. 75, 1319-1325.
- Willcox, M. L., Bodeker, G., 2004. Traditional herbal medicines for malaria. *British Medical Journal*. 329, 1156-1159.
- Wilson, H. R., Revankar, G. R., Tolman, R. L., 1974. *In vitro* and *in vivo* activity of certain thiosemicarbazones against *Trypanosoma cruzi*. *Journal of Medecinal Chemistry*. 17, 760-761.
- Yang, P. S., Cheng, M. J., Peng, C. F., Chen, J. J., Chen, I. S., 2009. Endiandric acid analogues from the roots of *Beilschmiedia erythrophloia*. *Journal of Natural Product*. 72, 53-58.
- Yang, P. S., Cheng, M. J., Peng, C. F., Chen, J. J., Chen, I.S., 2008. Two new endiandric acid analogs, a new benzopyran, and a new benzenoid from the root of *Beilschmiedia erythrophloia*. *Helvetica Chimica Acta*. 91, 2130-2138.
- Yong, Y. J., 1992. A flavonoid study of the lauraceae. Thesis of Master of Science, Departement of Botany, the Faculty of Graduate Studies, the University of British Columbia, 19.
- Ziegler, H.L., Stark, D., Christensen, J., Hviid, L., Hagerstrand, H., Jaroszewski, J.W., 2002. *In vitro Plasmodium falciparum* drug sensitivity assay: Inhibition of parasite

## REFERENCES

growth by incorporation of stomatocytogenic amphiphiles into the erythrocyte membrane. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*. 46, 1441-1446.

- Zur, H., 2002. Papilloma viruses and Cancer: from basic studies to clinical application. *Nature Reviews Cancer*. 2, 332-340.