

REPUBLIQUE DU CAMEROUN

Paix-Travail-Patrie

UNIVERSITE DE YAOUNDE I

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



REPUBLIC OF CAMEROON

Peace-Work-Fatherland

UNIVERSITY OF YAOUNDE I

POSTGRADUATE SCHOOL OF
SCIENCE, TECHNOLOGY AND
GEOSCIENCES

**UNITE DE RECHERCHE ET DE FORMATION DOCTORALE EN CHIMIE ET
APPLICATIONS**

DOCTORAL RESEARCH UNIT FOR CHEMISTRY AND APPLICATIONS

**Isolement et caractérisation des métabolites secondaires de deux
plantes médicinales camerounaises : *Asparagus schweinfürthii* Baker
(Asparagaceae) et *Allamanda cathartica* L (Apocynaceae), et
évaluation de l'activité cytotoxique et de l'activité antibactérienne.**

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

Option : Chimie des substances naturelles

Par :

KAMDEU NGUELAMI Elodie

Matricule : 11T0708

Master en Chimie Organique

Sous la co-direction :

TABOPDA KUIATE

Turibio

Maître de Conférences

TCHUENDEM KENMOGNE

Marguérite Hortence

Maître de Conférences



Année académique 2024/2025

REPUBLIQUE DU CAMEROUN
Paix-Travail-Patrie

UNIVERSITE DE YAOUNDE I

FACULTE DES SCIENCES

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



REPUBLIC OF CAMEROON
Peace-Work-Fatherland

THE UNIVERSITY OF YAOUNDE I

FACULTY OF SCIENCE

*POSTGRADUATE SCHOOL OF SCIENCE,
TECHNOLOGY AND GEOSCIENCES*

**DEPARTEMENT DE CHIMIE ORGANIQUE
DEPARTMENT OF ORGANIC CHEMISTRY**

ATTESTATION DE CORRECTION

Titre de la thèse : « Isolement et caractérisation des métabolites secondaires de deux plantes médicinales camerounaises : *Asparagus schweinfürthii (flagellaris)* Baker (Asparagaceae) et *Allamanda cathartica* Lin (Apocynaceae), et évaluation de leurs activités cytotoxiques sur les cellules tumorales et antituberculeuse »

Nous soussignés, Professeurs PEGNYEMB Dieudonné Emmanuel, ATCHADE Alex De Théodore et TABOPDA KUIATE Turibio, attestons que la candidate KAMDEU NGUELAMI Elodie, Matricule 11T0708, après sa soutenance de thèse de Doctorat/Ph.D le 16 Mai 2025, a pris en compte dans la mouture finale de sa thèse toutes les corrections qui lui ont été faites conformément aux recommandations du jury.

En foi de quoi nous lui délivrons cette attestation de correction pour servir et valoir ce que de droit.

Fait à Yaoundé, le 21 /05 /2025

Président :

PEGNYEMB Dieudonné E.
(Professeur, UY1)

Rapporteur :

TABOPDA KUIATE Turibio
(Maître de Conférences, UY1)

Examineur :

ATCHADE Alex De Théodore.
(Professeur, UY1)

UNIVERSITÉ DE YAOUNDÉ I

Faculté des Sciences

Division de la Programmation et du
Suivi des Activités Académiques

LISTE DES ENSEIGNANTS PERMANENTS



THE UNIVERSITY OF YAOUNDE I

Faculty of Science

Division of Programming and Follow-up
of Academic Affairs

LIST OF PERMANENT TEACHING STAFF

ANNÉE ACADEMIQUE 2023/2024

(Par Département et par Grade)

DATE D'ACTUALISATION 04 Juin 2024

ADMINISTRATION

DOYEN : OWONO OWONO Luc Calvin, *Professeur*

VICE-DOYEN / DPSAA : NDJIGUI Paul-Désiré, *Professeur*

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

VICE-DOYEN / DRC : NOUNDJEU Pierre, *Maître de Conférences*

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

Chef Division des Affaires Académiques, de la Recherche et de la Scolarité DAARS :

AJEAGAH Gideon AGHAINDUM, *Professeur*

1- DÉPARTEMENT DE BIOCHIMIE (BC) (43)

| N° | NOMS ET PRÉNOMS | GRADE | OBSERVATIONS |
|----|----------------------|------------|----------------------------|
| 1. | BIGOGA DAIGA Jude | Professeur | En poste |
| 2. | FEKAM BOYOM Fabrice | Professeur | En poste |
| 3. | KANSCI Germain | Professeur | En poste |
| 4. | MBACHAM FON Wilfred | Professeur | En poste |
| 5. | MOUNDIPA FEWOU Paul | Professeur | <i>Chef de Département</i> |
| 6. | NGUEFACK Julienne | Professeur | En poste |
| 7. | NJAYOU Frédéric Nico | Professeur | En poste |
| 8. | OBEN Julius ENYONG | Professeur | En poste |

| | | | |
|-----|--------------------------------|-----------------------|------------------------|
| 9. | ACHU Merci BIH | Maître de Conférences | En poste |
| 10. | AKINDEH MBUH NJI | Maître de Conférences | En poste |
| 11. | ATOGHO Barbara MMA | Maître de Conférences | En poste |
| 12. | AZANTSA KINGUE GABIN BORIS | Maître de Conférences | En poste |
| 13. | BELINGA née NDOYE FOE F. M. C. | Maître de Conférences | <i>Chef DAF / FS</i> |
| 14. | DAKOLE DABOY Charles | Maître de Conférences | En poste |
| 15. | DONGMO LEKAGNE Joseph Blaise | Maître de Conférences | En poste |
| 16. | DJUIDJE NGOUNOU Marceline | Maître de Conférences | En poste |
| 17. | DJUIKWO NKONGA Ruth Viviane | Maître de Conférences | En poste |
| 18. | EFFA ONOMO Pierre | Maître de Conférences | <i>VD/FS/Univ Ebwa</i> |
| 19. | EWANE Cécile Annie | Maître de Conférences | En poste |
| 20. | KOTUE TAPTUE Charles | Maître de Conférences | En poste |
| 21. | LUNGA Paul KEILAH | Maître de Conférences | En poste |
| 22. | MANANGA Marlyse Joséphine | Maître de Conférences | En poste |

| | | | |
|-----|---------------------------|-----------------------|-----------------------|
| 23. | MBONG ANGIE M. Mary Anne | Maître de Conférences | En poste |
| 24. | MOFOR née TEUGWA Clotilde | Maître de Conférences | <i>Doyen FS / UDs</i> |
| 25. | NANA Louise épouse WAKAM | Maître de Conférences | En poste |
| 26. | NGONDI Judith Laure | Maître de Conférences | En poste |
| 27. | Palmer MASUMBE NETONGO | Maître de Conférences | En poste |
| 28. | PECHANGOU NSANGOU Sylvain | Maître de Conférences | En poste |
| 29. | TCHANA KOUATCHOUA Angèle | Maître de Conférences | En poste |

| | | | |
|-----|-----------------------------|------------------|----------|
| 30. | BEBEE Fadimatou | Chargée de Cours | En poste |
| 31. | BEBOY EDJENGUELE Sara N. | Chargé de Cours | En poste |
| 32. | FONKOUA Martin | Chargé de Cours | En poste |
| 33. | FOUPOUPOUOGNIGNI Yacouba | Chargé de Cours | En poste |
| 34. | KOUOH ELOMBO Ferdinand | Chargé de Cours | En poste |
| 35. | MBOUCHE FANMOE Marceline J. | Chargé de Cours | En poste |
| 36. | OWONA AYISSI Vincent Brice | Chargé de Cours | En poste |
| 37. | WILFRED ANGIE ABIA | Chargé de Cours | En poste |

| | | | |
|-----|----------------------------------|-----------|----------|
| 38. | BAKWO BASSOGOG Christian Bernard | Assistant | En Poste |
| 39. | ELLA Fils Armand | Assistant | En Poste |
| 40. | EYENGA Eliane Flore | Assistant | En Poste |
| 41. | MADIESSE KEMGNE Eugenie Aimée | Assistant | En Poste |
| 42. | MANJIA NJIKAM Jacqueline | Assistant | En Poste |
| 43. | WOGUIA Alice Louise | Assistant | En Poste |

2- DÉPARTEMENT DE BIOLOGIE ET PHYSIOLOGIE ANIMALES (BPA) (49)

| | | | |
|-----|------------------------------|------------|--|
| 1. | AJEAGAH Gideon AGHAINDUM | Professeur | <i>DAARS/FS</i> |
| 2. | DIMO Théophile | Professeur | En Poste |
| 3. | DJIETO LORDON Champlain | Professeur | En Poste |
| 4. | DZEUFIET DJOMENI Paul Désiré | Professeur | En Poste |
| 5. | ESSOMBA née NTSAMA MBALA | Professeur | <i>CD et Vice Doyen/FMSB/Uyi</i> |
| 6. | KEKEUNOU Sévilor | Professeur | <i>Chef de Département(a.i)</i> |
| 7. | NJAMEN Dieudonné | Professeur | En poste |
| 8. | NOLA Moïse | Professeur | En poste |
| 9. | TAN Paul VERNYUY | Professeur | En poste |
| 10. | TCHUEM TCHUENTE Louis Albert | Professeur | <i>Inspecteur de service / Coord.Progr./MINSANTE</i> |
| 11. | ZEBAZE TOGOUET Serge Hubert | Professeur | En poste |

| | | | |
|-----|---|-----------------------|-----------------------------|
| 12. | ALENE Désirée Chantal | Maître de Conférences | <i>Vice Doyen/ Uté Ebwa</i> |
| 13. | ATSAMO Albert Donatien | Maître de Conférences | En poste |
| 14. | BILANDA Danielle Claude | Maître de Conférences | En poste |
| 15. | DJIOGUE Séfirin | Maître de Conférences | En poste |
| 16. | GOUNOUE KAMKUMO Raceline épouse FOTSING | Maître de Conférences | En poste |
| 17. | JATSA BOUKENG Hermine épouse MEGAPTCHÉ | Maître de Conférences | En Poste |
| 18. | KANDEDA KAVAYE Antoine | Maître de Conférences | En poste |

| | | | |
|-----|----------------------------|-----------------------|----------|
| 19. | LEKEUFACK FOLEFACK Guy B. | Maître de Conférences | En poste |
| 20. | MAHOB Raymond Joseph | Maître de Conférences | En poste |
| 21. | MBENOUN MASSE Paul Serge | Maître de Conférences | En poste |
| 22. | MEGNEKOU Rosette | Maître de Conférences | En poste |
| 23. | MOUNGANG Luciane Marlyse | Maître de Conférences | En poste |
| 24. | NOAH EWOTI Olive Vivien | Maître de Conférences | En poste |
| 25. | MONY Ruth épouse NTONE | Maître de Conférences | En Poste |
| 26. | MVEYO NDANKEU Yves Patrick | Maître de Conférences | En poste |
| 27. | NGUEGUIM TSOFAK Florence | Maître de Conférences | En poste |
| 28. | NGUEMBOCK | Maître de Conférences | En poste |
| 29. | TAMSA ARFAO Antoine | Maître de Conférences | En poste |
| 30. | TOMBI Jeannette | Maître de Conférences | En poste |

| | | | |
|-----|---|------------------|----------------------------------|
| 31. | AMBADA NDZENGUE GEORGIA ELNA | Chargé de Cours | En poste |
| 32. | BASSOCK BAYIHA Etienne Didier | Chargé de Cours | En poste |
| 33. | ETEME ENAMA Serge | Chargé de Cours | En poste |
| 34. | FEUGANG YOUMSSI François | Chargé de Cours | En poste |
| 35. | FOKAM Alvine Christelle Epse KENGNE | Chargé de Cours | En poste |
| 36. | GONWOUO NONO Legrand | Chargé de Cours | En poste |
| 37. | KOGA MANG DOBARA | Chargé de Cours | En poste |
| 38. | LEME BANOCK Lucie | Chargé de Cours | En poste |
| 39. | MAPON NSANGO Indou | Chargé de Cours | En poste |
| 40. | METCHI DONFACK MIREILLE FLAURE EPSE GHOUMO | Chargé de Cours | En poste |
| 41. | NGOUATEU KENFACK Omer Bébé | Chargé de Cours | En poste |
| 42. | NJUA Clarisse YAFI | Chargée de Cours | <i>Chef Div. Uté Bamenda</i> |
| 43. | NWANE Philippe Bienvenu | Chargé de Cours | En poste |
| 44. | TADU Zephyrin | Chargé de Cours | En poste |
| 45. | YEDE | Chargé de Cours | En poste |
| 46. | YOUNOUSSA LAME | Chargé de Cours | En poste |

| | | | |
|-----|----------------------------|------------|----------|
| 47. | KODJOM WANCHE Jacguy Joyce | Assistante | En poste |
| 48. | NDENGUE Jean De Matha | Assistant | En poste |
| 49. | ZEMO GAMO Franklin | Assistant | En poste |

3- DÉPARTEMENT DE BIOLOGIE ET PHYSIOLOGIE VÉGÉTALES (BPV) (32)

| | | | |
|----|--------------------------|------------|----------------------------|
| 1. | AMBANG Zachée | Professeur | <i>Chef de Département</i> |
| 2. | DJOCGOUE Pierre François | Professeur | En poste |
| 3. | MBOLO Marie | Professeur | En poste |
| 4. | MOSSEBO Dominique Claude | Professeur | En poste |
| 5. | NDONGO BEKOLO | Professeur | En poste |
| 6. | ZAPFACK Louis | Professeur | En poste |

| | | | |
|-----|-----------------------------|-----------------------|----------|
| 7. | ANGONI Hyacinthe | Maître de Conférences | En poste |
| 8. | BIYE Elvire Hortense | Maître de Conférences | En poste |
| 9. | MAHBOU SOMO TOUKAM. Gabriel | Maître de Conférences | En poste |
| 10. | MALA Armand William | Maître de Conférences | En poste |

| | | | |
|-----|---------------------------|-----------------------|--------------------|
| 11. | MBARGA BINDZI Marie Alain | Maître de Conférences | <i>DAAC /UDla</i> |
| 12. | NGALLE Hermine BILLE | Maître de Conférences | En poste |
| 13. | NGONKEU MAGAPTCHE Eddy L. | Maître de Conférences | <i>CT /MINRESI</i> |
| 14. | TONFACK Libert Brice | Maître de Conférences | En poste |
| 15. | TSOATA Esaïe | Maître de Conférences | En poste |
| 16. | ONANA JEAN MICHEL | Maître de Conférences | En poste |

| | | | |
|-----|-----------------------------------|-----------------|-----------------------------------|
| 17. | DJEUANI Astride Carole | Chargé de Cours | En poste |
| 18. | GONMADGE CHRISTELLE | Chargé de Cours | En poste |
| 19. | MAFFO MAFFO Nicole Liliane | Chargé de Cours | En poste |
| 20. | MANGA NDJAGA JUDE | Chargé de Cours | En poste |
| 21. | NNANGA MEBENGA Ruth Laure | Chargé de Cours | En poste |
| 22. | NOUKEU KOUAKAM Armelle | Chargé de Cours | En poste |
| 23. | NSOM ZAMBO EPSE PIAL ANNIE CLAUDE | Chargé de Cours | <i>En détachement-UNESCO MALI</i> |
| 24. | GODSWILL NTSOMBOH NTSEFONG | Chargé de Cours | En poste |
| 25. | KABELONG BANAHOU Louis-Paul-Roger | Chargé de Cours | En poste |
| 26. | KONO Léon Dieudonné | Chargé de Cours | En poste |
| 27. | LIBALAH Moses BAKONCK | Chargé de Cours | En poste |
| 28. | LIKENG-LI-NGUE Benoit C | Chargé de Cours | En poste |
| 29. | TAEDOUNG Evariste Hermann | Chargé de Cours | En poste |
| 30. | TEMEGNE NONO Carine | Chargé de Cours | En poste |
| 31. | DIDA LONTSI Sylvere Landry | Assistant | En poste |
| 32. | METSEBING Blondo-Pascal | Assistant | En poste |

4- DÉPARTEMENT DE CHIMIE INORGANIQUE (CI) (27)

| | | | |
|----|----------------------------|------------|--------------------------------------|
| 1. | GHOGOMU Paul MINGO | Professeur | <i>Ministre Chargé de Mission PR</i> |
| 2. | NANSEU NJIKI Charles Péguy | Professeur | En poste |
| 3. | NDIFON Peter TEKE | Professeur | <i>CT MINRESI</i> |
| 4. | NENWA Justin | Professeur | En poste |
| 5. | NGOMO Horace MANGA | Professeur | <i>Vice Chancellor/UB</i> |
| 6. | NJIOMOU C. épse DJANGANG | Professeur | En poste |
| 7. | NJOYA Dayirou | Professeur | En poste |

| | | | |
|-----|---------------------------------|-----------------------|----------------------------|
| 8. | ACAYANKA Elie | Maître de Conférences | En poste |
| 9. | EMADAK Alphonse | Maître de Conférences | En poste |
| 10. | KAMGANG YOUBI Georges | Maître de Conférences | En poste |
| 11. | KEMMEGNE MBOUGUEM Jean C. | Maître de Conférences | En poste |
| 12. | KENNE DEDZO GUSTAVE | Maître de Conférences | En poste |
| 13. | MBEY Jean Aime | Maître de Conférences | En poste |
| 14. | NDI NSAMI Julius | Maître de Conférences | <i>Chef de Département</i> |
| 15. | NEBAH Née NDOSIRI Bridget NDOYE | Maître de Conférences | <i>Sénatrice/SENAT</i> |
| 16. | NYAMEN Linda Dyorisse | Maître de Conférences | En poste |

| | | | |
|----|------------------------------|-----------------------|--------------------------------------|
| 17 | PABOUDAM GBAMBIE AWAWOU | Maître de Conférences | En poste |
| 18 | TCHAKOUTE KOUAMO Hervé | Maître de Conférences | En poste |
| 19 | BELIBI BELIBI Placide Désiré | Maître de Conférences | <i>Chef Service/ ENS Bertoua</i> |
| 20 | CHEUMANI YONA Arnaud M. | Maître de Conférences | En poste |
| 21 | KOUOTOU DAOUDA | Maître de Conférences | En poste |

| | | | |
|-----|--------------------------|------------------|----------|
| 22. | MAKON Thomas Beauregard | Chargé de Cours | En poste |
| 23. | NCHIMI NONO KATIA | Chargée de Cours | En poste |
| 24. | NJANKWA NJABONG N. Eric | Chargé de Cours | En poste |
| 25. | PATOUOSSA ISSOFA | Chargé de Cours | En poste |
| 26. | SIEWE Jean Mermoz | Chargé de Cours | En Poste |
| 27. | BOYOM TATCHEMO Franck W. | Assistant | En Poste |

6- DÉPARTEMENT DE CHIMIE ORGANIQUE (CO) (34)

| | | | |
|----|------------------------------|-----------------------|--|
| 1. | Alex de Théodore ATCHADE | Professeur | <i>DEPE / U Bertoua</i> |
| 2. | DONGO Etienne | Professeur | <i>Vice-Doyen/FSE/UIYI</i> |
| 3. | NGOUELA Silvère Augustin | Professeur | <i>Chef de Département UDs</i> |
| 4. | PEGNYEMB Dieudonné Emmanuel | Professeur | <i>Recteur UBertoua/ Chef de Département</i> |
| 5. | MBAZOA née DJAMA Céline | Professeur | En poste |
| 6. | MKOUNGA Pierre | Professeur | En poste |
| 7. | AMBASSA Pantaléon | Maître de Conférences | En poste |
| 8. | EYONG Kenneth OBEN | Maître de Conférences | En poste |
| 9. | FOTSO WABO Ghislain | Maître de Conférences | En poste |
| 10 | KAMTO Eutrophe Le Doux | Maître de Conférences | En poste |
| 11 | KENMOGNE Marguerite | Maître de Conférences | En poste |
| 12 | KOUAM Jacques | Maître de Conférences | En poste |
| 13 | MVOT AKAK CARINE | Maître de Conférences | En poste |
| 14 | NGO MBING Joséphine | Maître de Conférences | <i>Chef de Cellule MINRESI</i> |
| 15 | NGONO BIKOBO Dominique Serge | Maître de Conférences | <i>DIP/ UBertoua</i> |
| 16 | NOTE LOUGBOT Olivier Placide | Maître de Conférences | <i>Dir ENS/Uté Bertoua</i> |
| 17 | NOUNGOUE TCHAMO Diderot | Maître de Conférences | En poste |
| 18 | TABOPDA KUATE Turibio | Maître de Conférences | En poste |
| 19 | TAGATSING FOTSING Maurice | Maître de Conférences | En poste |
| 20 | OUAHOUE WACHE Blandine M. | Maître de Conférences | En poste |
| 21 | ZONDEGOUMBA Ernestine | Maître de Conférences | En poste |

| | | | |
|----|-------------------------|------------------|----------|
| 22 | MESSI Angélique Nicolas | Chargé de Cours | En poste |
| 23 | MUNVERA MFIFEN Aristide | Chargé de Cours | En poste |
| 24 | NGNINTEDO Dominique | Chargé de Cours | En poste |
| 25 | NGOMO Orléans | Chargée de Cours | En poste |
| 26 | NONO NONO Éric Carly | Chargé de Cours | En poste |

| | | | |
|----|--------------------------------|------------------|----------|
| 27 | OUETE NANTCHOUANG Judith Laure | Chargée de Cours | En poste |
| 28 | SIELINOU TEDJON Valérie | Chargé de Cours | En poste |
| 29 | TCHAMGOUE Joseph | Chargé de Cours | En poste |
| 30 | TSAFFACK Maurice | Chargé de Cours | En poste |
| 31 | TSAMO TONTSA Armelle | Chargé de Cours | En poste |
| 32 | TSEMEUGNE Joseph | Chargé de Cours | En poste |

| | | | |
|----|----------------------------------|-----------|----------|
| 33 | NDOGO ETEME Olivier | Assistant | En poste |
| 34 | NGUEMDJO CHIMEZE Valery Wilfried | Assistant | En poste |

6- DEPARTEMENT DES ENERGIES RENOUVELABLES (ER) (1)

| | | | |
|--|---------------|------------|----------------------------|
| | BODO Bertrand | Professeur | <i>Chef de Département</i> |
|--|---------------|------------|----------------------------|

7- DÉPARTEMENT D'INFORMATIQUE (IN) (22)

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

| | | | |
|----|----------------|-----------------------|----------|
| 3. | NDOUNDAM René | Maître de Conférences | En poste |
| 4. | TSOPZE Norbert | Maître de Conférences | En poste |

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

| | | | |
|-----|-------------------------------|-----------|-----------------------|
| 19. | BAYEM Jacques Narcisse | Assistant | En poste |
| 20. | EKODECK Stéphane Gaël Raymond | Assistant | En poste |
| 21. | MAKEMBE. S. Oswald | Assistant | <i>Directeur CUTI</i> |
| 22. | NKONDOCK. MI. BAHANACK.N. | Assistant | En poste |

8- DÉPARTEMENT DE MATHÉMATIQUES (MA) (33)

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

| | | | |
|----|----------------------------|-----------------------|--|
| 2. | KIANPI Maurice | Maître de Conférences | En poste |
| 3. | MBANG Joseph | Maître de Conférences | En poste |
| 4. | MBEHOU Mohamed | Maître de Conférences | <i>Chef de Division/ENSPY</i> |
| 5. | MBELE BIDIMA Martin Ledoux | Maître de Conférences | <i>Chef de Département de modélisation et applications industrielles/ENSPY</i> |
| 6. | NOUNDJEU Pierre | Maître de Conférences | <i>VDRG/FS/UYI</i> |
| 7. | TAKAM SOH Patrice | Maître de Conférences | En poste |
| 8. | TCHAPNDA NJABO Sophonie B. | Maître de Conférences | <i>Directeur/AIMS Rwanda</i> |
| 9. | TCHOUNDJA Edgar Landry | Maître de Conférences | En poste |

| | | | |
|-----|-------------------------------|------------------|---|
| 10. | AGHOUKENG JIOFACK Jean Gérard | Chargé de Cours | <i>Chef Cellule MINEPAT</i> |
| 11. | BOGSO ANTOINE Marie | Chargé de Cours | En poste |
| 12. | BITYE MVONDO Esther Claudine | Chargé de Cours | En poste |
| 13. | CHENDJOU Gilbert | Chargé de Cours | En poste |
| 14. | DJIADEU NGAHA Michel | Chargé de Cours | En poste |
| 15. | DOUANLA YONTA Herman | Chargé de Cours | En poste |
| 16. | KIKI Maxime Armand | Chargé de Cours | En poste |
| 17. | LOUMNGAM KAMGA Victor | Chargé de Cours | En poste |
| 18. | MBAKOP Guy Merlin | Chargé de Cours | En poste |
| 19. | MBATAKOU Salomon Joseph | Chargé de Cours | En poste |
| 20. | MENGUE MENGUE David Joël | Chargé de Cours | <i>Chef Dpt /ENS Université d'Ebolowa</i> |
| 21. | MBIAKOP Hilaire George | Chargé de Cours | En poste |
| 22. | NGUEFACK Bernard | Chargé de Cours | En poste |
| 23. | NIMPA PEFOUKEU Romain | Chargée de Cours | En poste |
| 24. | OGADOA AMASSAYOGA | Chargée de Cours | En poste |
| 25. | POLA DOUNDOU Emmanuel | Chargé de Cours | <i>En stage</i> |
| 26. | TENKEU JEUFACK Yannick Léa | Chargé de Cours | En poste |
| 27. | TCHEUTIA Daniel Duviol | Chargé de Cours | En poste |
| 28. | TETSADJIO TCHILEPECK M. Eric. | Chargé de Cours | En poste |

| | | | |
|-----|-----------------------------|-----------|----------|
| 29. | FOKAM Jean Marcel | Assistant | En poste |
| 30. | GUIDZAVAI KOUCHERE Albert | Assistant | En poste |
| 31. | MANN MANYOMBE Martin Luther | Assistant | En poste |
| 32. | MEFENZA NOUNTU Thiery | Assistant | En poste |
| 33. | NYOUMBI DLEUNA Christelle | Assistant | En poste |

9- DÉPARTEMENT DE MICROBIOLOGIE (MIB) (24)

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

| | | | |
|----|---------------------------|------------|----------|
| 3. | SADO KAMDEM Sylvain Leroy | Professeur | En poste |
|----|---------------------------|------------|----------|

| | | | |
|----|---|-----------------------|--|
| 4. | ASSAM ASSAM Jean Paul | Maître de Conférences | En poste |
| 5. | BOUGNOM Blaise Pascal | Maître de Conférences | En poste |
| 6. | BOYOMO ONANA | Maître de Conférences | En poste |
| 7. | KOUITCHEU MABEKU Epse KOUAM Laure Brigitte | Maître de Conférences | En poste |
| 8. | RIWOM Sara Honorine | Maître de Conférences | En poste |
| 9. | NJIKI BIKOÏ Jacky | Maître de Conférences | En poste |
| 10 | TCHIKOUA Roger | Maître de Conférences | <i>Chef de Service de la Scolarité</i> |

| | | | |
|----|-------------------------------------|-----------------|----------|
| 11 | ESSONO Damien Marie | Chargé de Cours | En poste |
| 12 | LAMYE Glory MOH | Chargé de Cours | En poste |
| 13 | MEYIN A EBONG Solange | Chargé de Cours | En poste |
| 14 | MONI NDEDI Esther Del Florence | Chargé de Cours | En poste |
| 15 | NKOUDOU ZE Nardis | Chargé de Cours | En poste |
| 16 | NKOUÉ TONG Abraham | Chargé de Cours | En poste |
| 17 | TAMATCHO KWEYANG Blandine Pulchérie | Chargé de Cours | En poste |
| 18 | SAKE NGANE Carole Stéphanie | Chargé de Cours | En poste |
| 19 | TOBOLBAÏ Richard | Chargé de Cours | En poste |

| | | | |
|----|------------------------------|-----------|----------|
| 20 | EZO'O MENGO Fabrice Télésfor | Assistant | En poste |
| 21 | EHETH Jean Samuel | Assistant | En poste |
| 22 | MAYI Marie Paule Audrey | Assistant | En poste |
| 23 | NGOUE NAM Romial Joël | Assistant | En poste |
| 24 | NJAPNDOUNKE Bilkissou | Assistant | En poste |

10. DEPARTEMENT DE PHYSIQUE(PHY) (42)

| | | | |
|----|---------------------------------|------------|-----------------------|
| 1. | BEN- BOLIE Germain Hubert | Professeur | En poste |
| 2. | BIYA MOTTO Frédéric | Professeur | <i>DG/HYDRO Mekin</i> |
| 3. | DJUIDJE KENMOE épouse ALOYEM | Professeur | En poste |

| | | | |
|-----|----------------------------|------------|-------------------------------------|
| 4. | EKOBENA FOU DA Henri Paul | Professeur | <i>Vice-Recteur. Uté Ngaoundéré</i> |
| 5. | ESSIMBI ZOBO Bernard | Professeur | En poste |
| 6. | EYEBE FOU DA Jean sire | Professeur | En poste |
| 7. | HONA Jacques | Professeur | En poste |
| 8. | NANA ENGO Serge Guy | Professeur | En poste |
| 9. | NANA NBENDJO Blaise | Professeur | En poste |
| 10. | NDJAKA Jean Marie Bienvenu | Professeur | <i>Chef de Département</i> |
| 11. | NJANDJOCK NOUCK Philippe | Professeur | En poste |
| 12. | NOUAYOU Robert | Professeur | En poste |
| 13. | SAIDOU | Professeur | <i>Chef de centre/IRGM/MINRESI</i> |
| 14. | SIMO Elie | Professeur | En poste |
| 15. | TABOD Charles TABOD | Professeur | <i>Doyen FSUniv/Bda</i> |
| 16. | TCHAWOUA Clément | Professeur | En poste |
| 17. | WOAFO Paul | Professeur | En poste |
| 18. | ZEKENG Serge Sylvain | Professeur | En poste |

| | | | |
|-----|-----------------------------------|-----------------------|--|
| 19. | ENYEGUE A NYAM épse BELINGA | Maître de Conférences | <i>Chef de Division de la formation continue et à distance/ENSPY</i> |
| 20. | FEWO Serge Ibraïd | Maître de Conférences | En poste |
| 21. | FOUEJIO David | Maître de Conférences | <i>Chef Cell/ MINADER</i> |
| 22. | MBINACK Clément | Maître de Conférences | En poste |
| 23. | MBONO SAMBA Yves Christian U. | Maître de Conférences | En poste |
| 24. | MELI'I Joelle Larissa | Maître de Conférences | En poste |
| 25. | MVOGO ALAIN | Maître de Conférences | En poste |
| 26. | NDOP Joseph | Maître de Conférences | En poste |
| 27. | SIEWE SIEWE Martin | Maître de Conférences | En poste |
| 28. | VONDOU Derbetini Appolinaire | Maître de Conférences | En poste |
| 29. | WAKATA née BEYA Annie Sylvie | Maître de Conférences | <i>SG.UYII</i> |
| 30. | WOULACHE Rosalie Laure | Maître de Conférences | <i>En stage depuis février 2023</i> |
| 31. | ABDOURAHIMI | Chargé de Cours | En poste |
| 32. | AYISSI EYEBE Guy François Valérie | Chargé de Cours | En poste |
| 33. | CHAMANI Roméo | Chargé de Cours | En poste |
| 34. | DJIOTANG TCHOTCHOU Lucie Angennes | Chargée de Cours | En poste |
| 35. | EDONGUE HERVAIS | Chargé de Cours | En poste |
| 36. | KAMENI NEMATCHOUA Modeste | Chargé de Cours | En poste |
| 37. | LAMARA Maurice | Chargé de Cours | En poste |
| 38. | NGA ONGODO Dieudonné | Chargé de Cours | En poste |
| 39. | OTTOU ABE Martin Thierry | Chargé de Cours | <i>Directeur Unité de production des réactifs/IMPM</i> |
| 40. | TEYOU NGOUPO Ariel | Chargé de Cours | En poste |
| 41. | WANDJI NYAMSI William | Chargé de Cours | En poste |

| | | | |
|-----|----------------------|-----------|----------|
| 42. | SOUFFO TAGUEU Merimé | Assistant | En poste |
|-----|----------------------|-----------|----------|

11- DÉPARTEMENT DE SCIENCES DE LA TERRE (ST) (39)

| | | | |
|----|---------------------------|------------|-------------------------------------|
| 1. | BITOM Dieudonné-Lucien | Professeur | <i>Doyen / FASA /Uds</i> |
| 2. | EKOMANE Emile | Professeur | <i>Chef Div./Uté Ebolowa</i> |
| 3. | GANNO Sylvestre | Professeur | En poste |
| 4. | NDAM NGOUPAYOU Jules-Remy | Professeur | En poste |
| 5. | NDJIGUI Paul-Désiré | Professeur | <i>Vice-doyen / DPSAA</i> |
| 6. | NGOS III Simon | Professeur | En poste |
| 7. | NKOUMBOU Charles | Professeur | En poste |
| 8. | ONANA Vincent Laurent | Professeur | <i>Chef de Département/Uté. Eb.</i> |
| 9. | YENE ATANGANA Joseph Q. | Professeur | <i>Chef Div. /MINTP</i> |

| | | | |
|-----|--|-----------------------|----------------------------------|
| 10. | BISSO Dieudonné | Maître de Conférences | <i>Chef de Département</i> |
| 11. | Elisé SABABA | Maitre de Conférences | En poste |
| 12. | EYONG John TAKEM | Maître de Conférences | En poste |
| 13. | FUH Calistus Gentry | Maître de Conférences | <i>Sec. D'Etat/MINMIDT(ai)</i> |
| 14. | GHOGOMU Richard TANWI | Maître de Conférences | <i>Chef de Div. /Uté Bertoua</i> |
| 15. | MBIDA YEM | Maitre de Conférences | En poste |
| 16. | MBESSE Cécile Olive | Maitre de Conférences | En poste |
| 17. | METANG Victor | Maître de Conférences | En poste |
| 18. | NGO BIDJECK Louise Marie | Maître de Conférences | En poste |
| 19. | NGUEUTCHOUA Gabriel | Maître de Conférences | <i>CEA/MINRESI</i> |
| 20. | NJILAH Isaac KONFOR | Maître de Conférences | En poste |
| 21. | NYECK Bruno | Maître de Conférences | En poste |
| 22. | TCHAKOUNTE Jacqueline épouse NUMBEM | Maître de Conférences | <i>Chef. Cell /MINRESI</i> |
| 23. | TCHOUANKOUE Jean-Pierre | Maître de Conférences | En poste |
| 24. | TEMGA Jean Pierre | Maître de Conférences | En poste |
| 25. | ZO'O ZAME Philémon | Maître de Conférences | <i>DG/ART</i> |

| | | | |
|-----|---|------------------|----------|
| 26. | ANABA ONANA Achille Basile | Chargé de Cours | En poste |
| 27. | BEKOA Etienne | Chargé de Cours | En poste |
| 28. | ESSONO Jean | Chargé de Cours | En poste |
| 29. | MAMDEM TAMTO Lionelle Estelle, épouse BITOM | Chargée de Cours | En poste |
| 30. | NGO BELNOUN Rose Noël | Chargée de Cours | En poste |
| 31. | NGO'O ZE ARNAUD | Chargé de Cours | En poste |
| 32. | NOMO NEGUE Emmanuel | Chargé de Cours | En poste |
| 33. | NTSAMA ATANGANA Jacqueline | Chargée de Cours | En poste |
| 34. | TCHAPTCHET TCHATO De P. | Chargé de Cours | En poste |
| 35. | TEHNA Nathanaël | Chargé de Cours | En poste |
| 36. | FEUMBA Roger | Chargé de Cours | En poste |
| 37. | MBANGA NYOBE Jules | Chargé de Cours | En poste |

| | | | |
|-----|---|------------|----------|
| 38. | KOAH NA LEBOGO Serge P. | Assistant | En poste |
| 39. | TENE DJOUKAM Joëlle Flore, épouse KOUANKAP NONO | Assistante | En poste |

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

NOMBRE D'ENSEIGNANTS

| DÉPARTEMENT | Professeurs | Maîtres de Conférences | Chargés de Cours | Assistants | Total |
|--------------|----------------|------------------------|------------------|----------------|-----------------|
| BCH | 8 (01) | 21 (12) | 8 (04) | 6 (04) | 43 (21) |
| BPA | 11 (01) | 19 (09) | 16 (05) | 3 (02) | 49 (17) |
| BPV | 6 (01) | 10 (02) | 14 (08) | 2 (00) | 32 (11) |
| CI | 7 (01) | 14 (04) | 5 (01) | 1 (00) | 27 (06) |
| CO | 6 (01) | 15 (05) | 11 (05) | 2 (00) | 34 (11) |
| ER | 1 (00) | | / | / | 1 (0) |
| IN | 2 (00) | 2 (00) | 14 (01) | 4 (00) | 22 (01) |
| MAT | 1 (00) | 8 (00) | 19 (02) | 5 (01) | 33 (03) |
| MIB | 3 (01) | 7 (03) | 9 (05) | 5 (02) | 24 (11) |
| PHY | 18 (01) | 12 (04) | 11 (01) | 1 (00) | 42 (06) |
| ST | 09 (00) | 16 (03) | 12 (03) | 2 (01) | 39 (07) |
| Total | 72 (07) | 124 (42) | 120 (35) | 31 (10) | 346 (94) |

Soit un total de

346 (94) dont :

- Professeurs **73 (07)**
- Maîtres de Conférences **124 (42)**
- Chargés de Cours **120 (35)**
- Assistants **31 (11)**

() = Nombre de Femmes

94

DEDICACES

Je dédie ce travail

À mon **Papa NGUELAMI Sadrak**

À ma fille **MAGNE KAMDEM Océane Princess**

REMERCIEMENTS

Beaucoup de personnes ont rendu possible la réalisation de ce travail de thèse qu'il m'est aujourd'hui difficile de ne pas leur exprimer ma sincère gratitude. Au terme de ces années de Doctorat/*Ph.D.*, j'éprouve une sincère gratitude envers tous ceux qui ont participé à ce travail et je tiens ici à leur remercier.

Au Professeur **PEGNYEMB Dieudonné Emmanuel**, Chef de Département de Chimie Organique de l'Université de Yaoundé I, pour les efforts qu'il consent pour la bonne marche du Département et pour sa disponibilité.

Au Professeur **TCHUENDEM KENMOGNE Marguerite Hortence**, Maître de Conférences, en plus d'être ma superviseuse de thèse, est une maman pour moi. Merci maman pour m'avoir accompagnée durant ces années. Grâce à votre écoute, votre instinct maternel et votre ouverture d'esprit, j'ai pu mener mes travaux en toute sérénité et avec beaucoup d'enthousiasme.

Je tiens à exprimer du fond de moi, mes sincères et vifs remerciements à mon Directeur de thèse, le Professeur **TABOPDA KUATE Turibio**, Maître de conférences, qui, malgré ma position de femme au foyer et de mère d'enfants a accepté d'encadrer cette thèse. Professeur, votre disponibilité, votre assistance et vos analyses scientifiques m'ont permis de mieux comprendre réellement la science et m'offrent tant de capacités pour une insertion réelle dans le cadre de la recherche ; trouvez ici l'expression de ma satisfaction et ma profonde gratitude pour toute votre attention et votre patience. Merci Professeur.

Mes remerciements vont également à l'endroit du Professeur **ATCHADE Alex de Théodore**, Chef du laboratoire et aux Professeurs **TAGATSING FOTSING Maurice** et **NGOMO Orléans**, Maîtres de Conférences, qui m'ont accueilli pendant des années de cette thèse au sein du Laboratoire des Substances Naturelles et Valorisation de l'Université de Yaoundé I. Merci pour les multiples discussions enrichissantes tant sur le plan académique que social. Votre assistance a été d'un grand apport tout au long de nos travaux.

Je tiens à remercier le Docteur **ABDOU TCHOUKOUA** de l'Université de Maroua pour sa participation à la récolte de la plante.

De plus, j'adresse mes remerciements au Professeur **YOSHIHITO Shiono** de l'Université de Yamagata, Tsuruoka au Japon pour l'enregistrement des spectres qui figurent dans cette thèse.

Je tiens aussi à remercier le Professeur **HAMANN Mark** de Medical University of south Carolina aux Etats Unis d'Amérique et le Docteur **DOUANLA Pascal** pour les tests biologiques.

Je ne saurais continuer sans jeter un grand regard vers mon amour et tendre époux Monsieur **NZEBONG FONGUING Jean-Claude** qui, depuis des années a su me soutenir. Durant la

préparation de cette thèse, il a été un papa, une maman, un frère et un ami pour moi. Chéri, je tiens de tout cœur à te dire merci.

En outre, mes remerciements vont à l'endroit de mes enfants **METAFE NZEBONG Gloria Perlita**, **TOUTCHEU NZEBONG Ezekiel** et **NZEBONG NZEBONG Eden Turibio** pour toute l'affection et pour leur soutien multiple. Soyez rassuré de toute mon attention.

Je témoigne ma gratitude au Docteur **MBANE NOAH Martin** pour son assistance au laboratoire et le traitement des spectres présents dans cette thèse. Merci pour votre détermination, disponibilité, soutien sans faille et amitié sans cesse renouvelée. Ce fut un très grand plaisir de travailler avec vous.

J'exprime également ma reconnaissance aux Docteurs **SAKAVA Paul**, **TOUKAM Paul**, **DONGMO Zeukang Rostanie**, **GADE Isaac Silvère** et **ACHI Mahamat** de l'équipe de recherche du laboratoire N° 3, pour leur esprit d'équipe et les discussions constructives dans le domaine de la recherche.

Mes remerciements vont par ailleurs :

À ma maman **KAMENI Monique** qui m'a toujours donné son affection et son amour.

À mon grand frère **TOUTCHEU NGUELAMI Anselme Paul**, qui a toujours été à mes côtés pour me prodiguer les conseils et m'encourager. Merci pour tout grand frère

À mes frères et sœurs **TIEKWE NGUELAMI Chancéline**, **LEUSSA NGUELAMI Lucien**, **NATCHEU NGUELAMI Céline**, **HAPPI NGUELAMI Idress** et **AYAMENI NGUELAMI Platiny** pour leurs encouragements, l'intérêt constant qu'ils ont montré envers mon travail, pour avoir été toujours à mes côtés sans réserve et avec amour, qu'ils trouvent ici l'expression de mon plus profond attachement.

À Madame **MAKAMLA POMBO Stéphanie**, qui m'a toujours encouragé à aller plus loin. Ton humilité, ton amitié au quotidien, pour ne pas dire ta bonne humeur, m'ont toujours galvanisées même dans les moments de désespoir et de découragement. Grâce à ton soutien inconditionnel je suis arrivée jusque-là. Merci ma sœur.

À mon amie Madame **TINGUEP TCHAPNDA Nadine-Phalone**, qui a toujours été à mes côtés pendant les moments de découragement et qui a partagé avec moi les moments de travail très amicaux et décontractée. J'en garde un souvenir impérissable.

J'exprime ma profonde gratitude à tous les enseignants du Département de Chimie Organique de l'Université de Yaoundé I, pour la formation tant morale qu'intellectuelle qu'ils m'ont donnée.

Je tiens à remercier Monsieur **NANA victor** Botaniste à l'Herbier National du Cameroun et Monsieur **TAPSOU** Enseignant à l'Université de Maroua pour l'identification des deux plantes étudiées dans le cadre de cette thèse.

Ma profonde gratitude va à l'endroit de Madame **NGOUNE Miriame** et son époux pour les encouragements, les conseils et la générosité qu'ils n'ont jamais manqué de porter à mon égard.

Mes remerciements vont à l'endroit de Madame **NGOUAKA Viviane** pour ses encouragements et son soutien.

Je ne pourrai finir sans remercier tous mes cadets du laboratoire pour leurs soutiens et la bonne atmosphère maintenue tout au long de ce travail.

Mes remerciements vont enfin à l'endroit de toutes les personnes qui n'ont pas été citées ici, mais qui de près ou de loin, matériellement ou moralement ont consenti des efforts nécessaires à l'aboutissement de ce travail.

TABLE DES MATIERES

| | |
|---|--------|
| DEDIDACES..... | Xiii |
| REMERCIEMENTS..... | Xiv |
| LISTE DES ABREVIATIONS ET SYMBOLES..... | Xx |
| LISTE DES TABLEAUX..... | Xxii |
| LISTE DES FIGURES..... | Xxiv |
| LISTE DES SCHEMAS..... | Xxvii |
| RESUME..... | Xxviii |
| ABSTRACT..... | Xxix |
| INTRODUCTION..... | 1 |

CHAPITRE I : REVUE DE LA LITTERATURE

| | | |
|-------|--|----|
| I | Généralités sur le cancer..... | 7 |
| I.1 | Définition..... | 7 |
| I.2 | Biologie du cancer..... | 7 |
| I.3 | Epidémiologie du cancer..... | 8 |
| I.3.1 | Le cancer de l’ovaire..... | 8 |
| I.3.2 | Le cancer du poumon. | 9 |
| I.3.3 | Le cancer du pancréas..... | 10 |
| I.3.4 | Le cancer du foie..... | 10 |
| I.3.5 | Les glioblastomes : Cancers du système nerveux central | 11 |
| II | Généralités sur la tuberculose..... | 13 |
| II.1 | Biologie de la tuberculose..... | 13 |
| II.2 | Epidémiologie de la tuberculose..... | 13 |
| II.3 | Traitement de la tuberculose..... | 15 |
| III | Aperçu botanique des Apocynaceae..... | 16 |
| III.1 | Le genre <i>Allamanda</i> | 16 |
| III.2 | L’espèce <i>Allamanda cathartica</i> | 16 |
| III.3 | Répartition géographique de <i>Allamanda cathartica</i> | 18 |
| III.4 | Intérêts et usages des plantes du genre <i>Allamanda</i> | 19 |
| III.5 | Travaux chimiques antérieurs sur l’espèce <i>Allamanda cathartica</i> | 19 |
| III.6 | Activités pharmacologiques des espèces du genre <i>Allamanda</i> | 27 |
| IV | Généralités sur la famille des Asparagaceae..... | 30 |
| IV.1 | Généralités sur le genre <i>Asparagus</i> | 30 |
| IV.2 | Répartition géographique des espèces du genre <i>Asparagus</i> | 31 |

| | | |
|--|---|-----|
| IV.3 | Intérêts et usages des plantes du genre <i>Asparagus</i> | 31 |
| IV.4 | Travaux chimiques antérieurs des espèces du genre <i>Asparagus</i> | 32 |
| IV.5 | Généralités sur les saponosides..... | 33 |
| IV.5.1 | Définition..... | 33 |
| IV.5.2 | Biosynthèse des sapogénines à partir de l'oxydosqualène..... | 34 |
| IV.5.3 | Structures des saponines..... | 36 |
| IV.5.4 | Saponosides stéroïdiques..... | 36 |
| IV.5.5 | Saponosides triterpéniques..... | 38 |
| IV.5.6 | Les sucres..... | 39 |
| IV.5.7 | Méthodes d'études des saponines..... | 39 |
| IV.5.8 | Extraction et purification des saponines..... | 40 |
| IV.5.9 | Les techniques physico-chimiques..... | 41 |
| CHAPITRE II : RESULTATS ET DISCUSSION | | |
| I | Etude chimique..... | 48 |
| | Extraction, isolement et caractérisation des composés isolés des racines de <i>Asparagus</i> | |
| I.1 | <i>schweinfürthii</i> | 48 |
| I.1.1 | Extraction et isolement des composés des racines de <i>Asparagus</i> | |
| | <i>schweinfürthii</i> | 48 |
| I.1.2 | Caractérisation structurale des composés isolés des racines de <i>Asparagus</i> | |
| | <i>schweinfürthii</i> | 51 |
| I.1.2.1 | Identification du composé AS43..... | 51 |
| I.1.2.2 | Identification du composé ASFC5A..... | 59 |
| I.1.2.3 | Identification du composé ASF33C1..... | 62 |
| I.1.2.4 | Identification du composé ASF33C9A..... | 73 |
| I.1.2.5 | Identification du composé ASFC4-DMSO..... | 76 |
| I.1.2.6 | Détermination de la structure du composé AST9 | 81 |
| I.1.2.7 | Détermination de la structure du composé AST5..... | 90 |
| I.1.2.8 | Détermination de la structure du composé AST6 | 96 |
| I.1.2.9 | Détermination de la structure du composé ASFC5B | 104 |
| I.1.2.10 | Etude du mécanisme de fragmentation des saponines : cas spécifique du spectre de masse ESI (+)..... | 110 |
| I.1.2.11 | Détermination de la structure du composé ASP81 | 111 |
| I.1.2.12 | Identification du composé AS4..... | 121 |
| I.1.2.13 | Identification du composé AS2..... | 124 |

| | | |
|-------------------------------------|---|-----|
| I.2 | Extraction, isolement et caractérisation des composés de <i>Allamanda cathartica</i> | 127 |
| I.2.1 | Extraction et isolement des composés de <i>Allamanda cathartica</i> | 127 |
| I.2.2 | Caractérisation structurale des composés isolés de <i>Allamanda cathartica</i> | 128 |
| I.2.2.1 | Identification du composé AC3..... | 128 |
| I.2.2.2 | Identification du composé AC4..... | 131 |
| I.2.2.3 | Identification du composé AC1..... | 136 |
| I.2.2.4 | Identification du composé AC5..... | 139 |
| I.2.2.5 | Identification du composé AC2..... | 145 |
| II | Evaluation des activités biologiques..... | 149 |
| II.1 | Mise en évidence de l'activité cytotoxique <i>in vitro</i> | 149 |
| II.2 | Mise en évidence de l'activité antituberculeux <i>in vitro</i> | 150 |
| II.3 | Discussion..... | 150 |
| CONCLUSION ET PERSPECTIVES..... | | 153 |
| CHAPITRE III : PARTIE EXPERIMENTALE | | |
| I | Matériels et méthodes..... | 157 |
| I.1 | Matériel chromatographique..... | 157 |
| I.2 | Méthodes physico-chimiques..... | 159 |
| I.3 | Détermination de la configuration relative par la méthode DP4+..... | 160 |
| I.4 | Matériel végétal..... | 161 |
| I.4.1 | Extraction et isolement..... | 161 |
| I.4.2 | Extraction et isolement des composés des racines de <i>Asparagus schweinfürthii</i> | 161 |
| I.4.3 | Caractéristiques physiques et spectroscopiques des composés isolés de <i>Asparagus schweinfürthii</i> | 163 |
| I.4.4 | Extraction et isolement des composés de <i>Allamanda cathartica</i> | 168 |
| I.4.5 | Caractéristiques physiques et spectroscopiques des composés isolés de <i>Allamanda cathartica</i> | 170 |
| II | Evaluation des activités biologiques..... | 172 |
| II.1 | Evaluation de l'activité cytotoxique <i>in vitro</i> | 172 |
| II.2 | Evaluation de l'activité antituberculeuse <i>in vitro</i> | 174 |
| REFERENCES | | 175 |
| ANNEXE..... | | 193 |

LISTE DES ABREVIATIONS ET SYMBOLES

| | |
|-----------------------------|---|
| AcOEt | : Acétate d'éthyle |
| <i>al</i> | : collaborateur |
| CC | : Chromatographie sur Colonne |
| CCM | : Chromatographie sur Couche Mince |
| CI ₅₀ | : Concentration Inhibitrice 50% |
| COSY | : <i>Correlation Spectroscopy</i> |
| <i>d</i> | : doublet |
| <i>ddd</i> | : doublet de doublets dédoublés |
| <i>dd</i> | : doublet de doublets |
| DMSO- <i>d</i> ₆ | : Diméthyle sulfoxyde hexadeutéié |
| ESI-MS-TOF | : <i>ElectroSpray Ionization-Mass Spectroscopy-Time-of-Flight</i> |
| Gal | : galactopyranoside |
| Glc | : glucopyranoside |
| Hex | : Hexane |
| HMBC | : <i>Heteronuclear Multiple Bond Connectivity</i> |
| HMQC | : <i>Heteronuclear Multiple Quantum Correlation</i> |
| HR-ESI- MS | : <i>High Resolution Electro Spray Ionisation Mass spectrometry</i> |
| HSQC | : <i>Heteronuclear Single Quantum Correlation</i> |
| Hz | : <i>Hertz</i> |
| <i>J</i> | : constante de couplage en Hertz |
| <i>m</i> | : multiplet |
| <i>m/z</i> | : masse/charge d'un ion |
| MEM | : milieu essentiel minimum |
| MHz | : mégahertz |
| μM | : micromole |
| NOESY | : <i>Nuclear Overhauser Effect Spectroscopy</i> |
| OMS | : Organisation Mondiale de la Santé |
| <i>δ</i> (<i>ppm</i>) | : déplacement chimique en ppm |
| Rha | : Rhamnopyranosyl |
| RMN ¹³ C | : Résonance Magnétique Nucléaire du Carbone-13 |
| RMN ¹ H | : Résonance Magnétique Nucléaire du Proton |
| <i>s</i> | : singulet |
| SM | : Spectrométrie de masse |

t : triplet
WHO : *World Health Organization*

LISTE DES TABLEAUX

| | | |
|--------------|--|-----|
| Tableau 1 : | Position systématique de <i>Allamanda cathartica</i> | 17 |
| Tableau 2 : | Quelques composés phénoliques et flavonoïdiques isolés de <i>Allamanda cathartica</i> | 21 |
| Tableau 3 : | Quelques stéroïdes, terpénoïdes et caroténoïdes isolés de <i>Allamanda cathartica</i> | 23 |
| Tableau 4 : | Quelques lactones isolées de <i>Allamanda cathartica</i> | 24 |
| Tableau 5 : | Différents sucres constitutifs des saponines..... | 39 |
| Tableau 6 : | Données de RMN [¹ H, 600 et ¹³ C, 150 MHz), CD ₃ OD] de la partie aglycone de AS43 et comparaison avec celles de la littérature | 55 |
| Tableau 7 : | Données de RMN [¹ H, 600 et ¹³ C, 150 MHz), CD ₃ OD] de la partie osidique de AS43 | 58 |
| Tableau 8 : | Données de RMN [¹ H, 600 et ¹³ C, 150 MHz), CD ₃ OD] de la partie aglycone de ASFC5A et comparaison avec celles de la littérature..... | 60 |
| Tableau 9 : | Données de RMN [¹ H, 600 et ¹³ C, 150 MHz), CD ₃ OD] de la partie osidique de ASFC5A | 64 |
| Tableau 10: | Données de RMN [¹ H, 600 et ¹³ C, 150 MHz), CD ₃ OD] de la partie aglycone de ASFC33C1 et comparaison avec celles de la littérature..... | 68 |
| Tableau 11: | Données de RMN [¹ H, 600 et ¹³ C, 150 MHz), CD ₃ OD] de la partie osidique de ASFC33C1 | 72 |
| Tableau 12 : | Données de RMN [¹ H, 600 et ¹³ C, 150 MHz), CD ₃ OD] de ASF33C9A et comparaison avec celles de la littérature..... | 75 |
| Tableau 13 : | Déplacements chimiques de RMN [¹ H, 600 et ¹³ C,150 MHz), DMSO- <i>d</i> ₆] de ASFC4-DMSO_a et ASFC4-DMSO_b | 80 |
| Tableau 14 : | Données de RMN [¹ H, 600 et ¹³ C, 150 MHz), CD ₃ OD]de la partie aglycone de AST9 | 86 |
| Tableau 15 : | Données de RMN [¹ H, 600 et ¹³ C, 150 MHz), CD ₃ OD] de la partie osidique de AST9 | 90 |
| Tableau 16 : | Déplacements chimiques RMN [¹ H, 600 et ¹³ C, 150 MHz), CD ₃ OD] du composé de AST5 | 95 |
| Tableau 17 : | Données de RMN [¹ H, 600 et ¹³ C, 150 MHz), CD ₃ OD] de la partie aglycone de AST6 | 100 |
| Tableau 18 : | Données de RMN [¹ H, 600 et ¹³ C, 150 MHz), CD ₃ OD] de la partie osidique de AST6 | 103 |
| Tableau 19 : | Données de RMN [¹ H, 600 et ¹³ C, 150 MHz), CD ₃ OD] de la partie aglycone de ASFC5B | 108 |
| Tableau 20 : | Données de RMN [¹ H, 600 et ¹³ C, 150 MHz), CD ₃ OD] de la partie osidique de ASFC5B | 110 |
| Tableau 21 : | Données de RMN [¹ H, 600 et APT, 150 MHz), DMSO- <i>d</i> ₆] du composé ASP81 | 121 |

| | | |
|--------------|---|-----|
| Tableau 22 : | Données RMN [^1H , 600 et ^{13}C , 150 MHz), CD_3OD] du composé AS4 et comparaison avec celles de la littérature..... | 124 |
| Tableau 23 : | Données RMN [^1H , 600 et ^{13}C , 150 MHz), CD_3OD] du composé de AS2 et comparaison avec celles de la littérature..... | 126 |
| Tableau 24 : | Données spectrales de RMN [^1H , 600 et ^{13}C , 150 MHz), CD_3OD] de AC3 comparées à la littérature (125 MHz, CD_3OD)..... | 131 |
| Tableau 25 : | Données RMN [^1H , 600 et ^{13}C , 150 MHz), CD_3OD] et comparaison avec celles de la littérature (100 MHz, Pyr-d5) de AC4 | 136 |
| Tableau 26 : | Données RMN [^1H , 600 et ^{13}C , 150 MHz), CDCl_3] du composé AC1 et comparaison avec celles du composé AC4 | 139 |
| Tableau 27 : | Données RMN [^1H , 600 et ^{13}C , 150 MHz), Pyr-d5] et comparaison avec celles de la littérature (100 MHz, Pyr-d5) de AC5 | 145 |
| Tableau 28 : | Données RMN [^1H , 600 et ^{13}C , 150 MHz), CD_3OD] par comparaison avec celles de la littérature (100 MHz, CDCl_3) de AC2 | 148 |
| Tableau 29 : | Valeurs des CI_{50} de quelques composés testés sur les cellules cancéreuses MCF-7, NCI-H460, Hela et BJ..... | 149 |
| | Valeurs des diamètres d'inhibition (DI) des sous-fractions et quelques composés isolés de la fraction au n-BuOH testés sur les cellules cancéreuses H-125, OVC-5, PANC-1, HepG2, U251N, CEM et CFU..... | 150 |
| Tableau 30 : | | 150 |
| Tableau 31 : | Concentrations minimales inhibitrices des composés testés..... | 150 |
| Tableau 32 : | Chromatogramme de la fraction à l'acétate d'éthyle des racines de <i>Asparagus schweinfürthii</i> | 162 |
| Tableau 33 : | Chromatogramme de la fraction au n-BuOH des racines de <i>Asparagus schweinfürthii</i> | 163 |
| Tableau 34 : | Données physiques et spectroscopiques des composés isolés de <i>Asparagus schweinfürthii</i> | 164 |
| Tableau 35 : | Données physiques et spectroscopiques des composés isolés de <i>Allamanda cathartica</i> | 170 |

LISTE DES FIGURES

| | | |
|-------------|---|----|
| Figure 1 : | Les différentes parties de <i>Allamanda cathartica</i> | 18 |
| Figure 2 : | Photo des différentes parties de <i>Asparagus schweinfürthii</i> | 31 |
| Figure 3 : | Différentes sortes de squelette d'un aglycone..... | 38 |
| Figure 4 : | Corrélations COSY des sucres..... | 43 |
| Figure 5 : | Corrélations TOCSY des sucres..... | 44 |
| Figure 6 : | Corrélations NOESY des sucres..... | 44 |
| Figure 7 : | Corrélations NOESY entre le sucre et l'aglycone..... | 44 |
| Figure 8 : | Corrélations HMBC..... | 45 |
| Figure 9 : | Corrélations ^1H - ^{13}C (^1J)..... | 45 |
| Figure 10 : | Spectre RMN ^1H (600 MHz, CD_3OD) de AS43 | 52 |
| Figure 11 : | Spectre RMN ^{13}C (150 MHz, CD_3OD) de AS43 | 52 |
| Figure 12 : | Spectre HMBC de AS43 | 53 |
| Figure 13 : | Spectre HMQC de AS43 | 53 |
| Figure 14 : | Spectre COSY de AS43 | 57 |
| Figure 15 : | Spectre HMBC élargi de AS43 | 57 |
| Figure 16 : | Spectres couplés de RMN ^{13}C (150 MHz, CD_3OD) de ASFC5A et de AS43 | 59 |
| Figure 17 : | Spectre HMQC élargi du composé ASFC5A | 61 |
| Figure 18 : | Spectre COSY élargi du composé ASFC5A | 62 |
| Figure 19 : | Spectre HMBC élargi du composé ASFC5A | 63 |
| Figure 20 : | Spectre RMN ^1H (600 MHz, CD_3OD) élargi du composé ASFC33C1 | 65 |
| Figure 21 : | Spectre RMN ^{13}C (150 MHz, CD_3OD) du composé ASFC33C1 | 66 |
| Figure 22 : | Spectre HMBC élargi du composé ASFC33C1 | 67 |
| Figure 23 : | Spectre HMQC élargi de l'aglycone de ASFC33C1 | 69 |
| Figure 24 : | Spectre COSY élargi du composé ASFC33C1 | 70 |
| Figure 25 : | Spectre HMBC élargi du composé ASFC33C1 | 71 |
| Figure 26 : | Spectre RMN ^1H (600 MHz, CD_3OD) du composé ASFC33C9A | 73 |
| Figure 27 : | Spectre RMN ^{13}C (150 MHz, CD_3OD) du composé ASFC33C9A | 73 |
| Figure 28 : | Spectre RMN ^1H (600 MHz, $\text{DMSO}-d_6$) élargi du composé ASFC4-DMSO_{a/b} | 76 |
| Figure 29 : | Spectre RMN ^{13}C (150 MHz, $\text{DMSO}-d_6$) découplé large bande du composé ASFC4-DMSO_{a/b} | 77 |
| Figure 30 : | Spectre HMQC élargi du composé ASFC4-DMSO_{a/b} | 78 |
| Figure 31 : | Spectre HMBC élargi du composé ASFC4-DMSO_{a/b} | 79 |
| Figure 32 : | Spectre de masse TOF-HR-ESI (-) du composé AST9 | 81 |

| | | |
|-------------|---|-----|
| Figure 33 : | Spectre de masse TOF-HR-ESI (+) du composé AST9 | 82 |
| Figure 34 : | Spectre RMN ¹ H (600 MHz, CD ₃ OD) découplé large bande du composé AST9 | 82 |
| Figure 35 : | Spectre RMN ¹³ C (150 MHz, CD ₃ OD) du composé AST9 | 83 |
| Figure 36 : | Spectre HMBC du composé AST9 | 84 |
| Figure 37 : | Spectre HMQC du composé AST9 | 87 |
| Figure 38 : | Spectre COSY élargi du composé AST9 | 87 |
| Figure 39 : | Spectre HMBC élargi de la partie osidique du composé AST9 | 88 |
| Figure 40 : | Spectre de masse TOF-HR-ES (-) du composé AST5 | 90 |
| Figure 41 : | Spectre de masse TOF-HR-ESI (+) du composé AST5 | 90 |
| Figure 42 : | Spectre RMN ¹³ C (150 MHz, CD ₃ OD) du composé AST5 | 91 |
| Figure 43 : | Spectre HMBC élargi élargi du composé AST5 | 92 |
| Figure 44 : | Spectre de masse TOF-ESI (+) du composé AST6 | 95 |
| Figure 45 : | Spectre RMN ¹ H (600 MHz, CD ₃ OD) du composé AST6 | 96 |
| Figure 46 : | Spectre RMN ¹³ C (150 MHz, CD ₃ O) découplé large bande du composé AST6 | 96 |
| Figure 47 : | Spectre HMBC du composé AST6 | 97 |
| Figure 48 : | Spectre HMQC élargi du composé AST6 | 100 |
| Figure 49 : | Spectre COSY élargi du composé AST6 | 101 |
| Figure 50 : | Spectre HMBC élargi du composé AST6 | 101 |
| Figure 51 : | Spectre de masse TOF-HR-ESI (+) du composé ASFC5B | 103 |
| Figure 52 : | Spectre RMN ¹ H (600 MHz, CD ₃ OD) du composé ASFC5B | 104 |
| Figure 53 : | Spectre RMN ¹³ C (150 MHz, CD ₃ OD) élargi du composé ASFC5B | 104 |
| Figure 54 : | Spectre HMBC élargi du composé ASFC5B | 105 |
| Figure 55 : | Spectre de masse TOF-HR-ESI (+) de ASP81 | 112 |
| Figure 56 : | Spectre RMN ¹ H (600 MHz, DMSO- <i>d</i> ₆) du composé ASP81 | 113 |
| Figure 57 : | Spectre de APT (150 MHz, DMSO- <i>d</i> ₆) du composé ASP81 | 114 |
| Figure 58 : | Spectre COSY élargi du composé ASP81 | 114 |
| Figure 59 : | Spectre élargi du composé ASP81 | 116 |
| Figure 60 : | Spectre HSQC-TOCSY élargi du composé ASP81 | 116 |
| Figure 61 : | Spectre HMBC du composé ASP81 | 117 |
| Figure 62 : | Régression linéaire des déplacements chimiques des RMN (¹ H et ¹³ C) expérimentales et calculées par B3LYP/6-311 + (d, p) dans le DMSO..... | 119 |
| Figure 63 : | Régression linéaire des déplacements chimiques des (¹ H et ¹³ C) expérimentales et calculées par mPW1PW91/6-311+G (d, p) dans le DMSO..... | 119 |

| | | |
|-------------|--|-----|
| Figure 64 : | Régression linéaire des déplacements chimiques des RMN (^1H et ^{13}C) expérimentales et calculées par B3LYP/6-311+(d, p) dans le DMSO..... | 120 |
| Figure 65 : | Régression linéaire des déplacements chimiques des RMN (^1H et ^{13}C) expérimentales et calculées par mPW1PW91/6-311+G (d, p) dans le DMSO..... | 120 |
| Figure 66 : | Spectre RMN ^1H (600 MHz, CD_3OD) du composé AS4 | 122 |
| Figure 67 : | Spectre RMN ^{13}C (600 MHz, CD_3OD) du composé AS4 | 123 |
| Figure 68 : | Spectre RMN ^1H (600 MHz, CD_3OD) du composé AS2 | 125 |
| Figure 69 : | Spectre RMN ^1H (600 MHz, CD_3OD) de AC3 | 129 |
| Figure 70 : | Spectre RMN ^{13}C (150 MHz, CD_3OD) de AC3 | 131 |
| Figure 71 : | Spectre RMN ^1H (600 MHz, Pyr-d5) du composé AC4 | 132 |
| Figure 72 : | Spectre RMN ^{13}C (150 MHz, Pyr-d5) du composé AC4 | 133 |
| Figure 73 : | Spectre COSY du composé AC4 | 134 |
| Figure 74 : | Spectre HMBC du composé AC4 | 135 |
| Figure 75 : | Spectre RMN ^1H (600 MHz, CDCl_3) du composé AC1 | 137 |
| Figure 76 : | Spectre RMN ^{13}C (150 MHz, CDCl_3) du composé AC1 | 137 |
| Figure 77 : | Spectre RMN ^1H (600 MHz, Pyr-d5) du composé AC5 | 140 |
| Figure 78 : | Spectre RMN ^{13}C (150 MHz, Pyr-d5) du composé AC5 | 141 |
| Figure 79 : | Spectre HMQC du composé AC5 | 141 |
| Figure 80 : | Spectre COSY du composé AC5 | 142 |
| Figure 81 : | Spectre HMBC du composé AC5 | 143 |
| Figure 82 : | Spectre RMN ^1H (600 MHz, CD_3OD) du composé AC2 | 146 |
| Figure 83 : | Spectres RMN ^{13}C (150 MHz, CD_3OD) du composé AC2 | 146 |

LISTE DES SCHEMAS

| | | |
|-------------|---|-----|
| Schéma 1 : | Cyclisation de l'oxydosqualène en squelette triterpénique et stéroïdique... | 35 |
| Schéma 2 : | Conversion d'un glycoside furostanol en un spirostanol par hydrolyse enzymatique du 26-glycoside..... | 37 |
| Schéma 3 : | Protocole d'extraction des saponines à partir des racines d'une plante.... | 40 |
| Schéma 4 : | Protocole d'extraction des composés de la fraction au n-BuOH des racines de <i>Asparagus schweinfürthii</i> | 49 |
| Schéma 5 : | Protocole d'extraction des composés de la fraction à l'acétate d'éthyle des racines de <i>Asparagusschweinfürthii</i> | 50 |
| Schéma 6 : | Corrélations HMBC de AS43 | 54 |
| Schéma 7 : | Corrélations COSY et HMBC élargi de AS43 | 58 |
| Schéma 8 : | Corrélations COSY et HMBC de ASFC5A | 63 |
| Schéma 9 : | Corrélations HMBC du composé ASFC33C1 | 67 |
| Schéma 10 : | Corrélations HMBC élargi du composé ASFC33C1 | 71 |
| Schéma 11 : | Corrélations HMBC du composé AST9 | 84 |
| Schéma 12 : | Corrélations COSY et HMBC élargi du composé AST9 | 88 |
| Schéma 13 : | Corrélations HMBC-élargi du composé AST5 | 92 |
| Schéma 14 : | Corrélations COSY et HMBC du composé AST6 | 98 |
| Schéma 15 : | Corrélations HMBC-élargi du composé AST6 | 102 |
| Schéma 16 : | Corrélations HMBC du composé ASFC5B | 105 |
| Schéma 17 : | Production des ions fragments en mode positive induit par protonation de l'atome de l'oxygène de la liaison glycosidique..... | 110 |
| Schéma 18 : | Corrélations COSY du composé ASP81 | 114 |
| Schéma 19 : | Corrélations et HSQC-TOCSY du composé ASP81 | 116 |
| Schéma 20 : | Corrélations HMBC du composé ASP81 | 117 |
| Schéma 21 : | Protocole d'extraction et d'isolement des composés de <i>Allamanda cathartica</i> | 127 |
| Schéma 22 : | Corrélation COSY du composé AC4 | 132 |
| Schéma 23 : | Corrélation HMBC du composé AC4 | 133 |
| Schéma 24 : | Corrélation COSY du composé AC5 | 141 |
| Schéma 25 : | Corrélation HMBC du composé AC5 | 142 |

RESUME

Ce travail a pour but l'isolement et la caractérisation des métabolites secondaires de deux plantes médicinales camerounaises : *Asparagus schweinfürthii* Baker (Asparagaceae) et *Allamanda cathartica* L. (Apocynaceae) et évaluation de l'activité cytotoxiques et de l'activité antibactériennes.

Des extraits de ces deux plantes, nous avons isolé dix neuf (19) composés par des méthodes chromatographiques usuelles (VLC, CC et CCM). De l'extrait au MeOH/H₂O de *Asparagus schweinfürthii*, nous avons obtenu quatorze composés. Leurs structures ont été élucidées grâce aux techniques spectroscopiques modernes à 1D et 2D, la spectrométrie de masse et l'analyse théorique par DP4+. Des composés isolés, six sont décrits pour la première fois parmi lesquels un alcaloïde : schweinfurthiamide (**86**) et cinq saponines : la schweinfurthioside A-E (**79**, **80**, **82**, **84** et **85**). Les huit (08) autres composés ont été identifiés à deux (02) saponines stéroïdiques de type furostane, quatre (04) saponines stéroïdiques de type spirostanes et deux norlignanes. L'étude de l'extrait au MeOH de *Allamanda cathartica* a conduit à l'isolement de cinq composés connus parmi lesquels trois (03) iridoïdes, un (01) flavonoïde et un (01) triterpène pentacyclique.

La cytotoxicité de certaines fractions et quelques composés isolés de *Asparagus schweinfürthii* a été évaluée sur huit cellules cancéreuses humaines MCF-7 (cancer du sein), NCI-H460 et H-125 (cancer du poumon), Hela (cancer du col de l'utérus), PANC-1 (cancer du pancreas), HepG2 (cancer du foie), U251N (cancer du cerveau) et OVC-5 (cancer de l'ovaire). La *schweinfurthiamide* (**86**) a montré une cytotoxicité significative contre les lignées cellulaires MCF-7, NCI-H460 et Hela avec des valeurs CI₅₀ de $1,18 \pm 0,02$; $2,25 \pm 0,19$ et $4,23 \pm 0,26$ μM , respectivement. La fraction ASF33B a montré une très bonne activité avec des diamètres d'inhibition de 600, 750 et 700 unités contre les souches H-125, OVC-5 et HepG2. Le composé **73** a été très actif avec des diamètres d'inhibition de 500, 300 et 450 unités contre les souches H-125, OVC-5 et HepG2 tandis que le composé **74** a montré une très bonne activité avec des diamètres d'inhibition de 400 et 450 unités contre les souches H-125 et OVC-5.

La pluméricine (**90**) et l'isopluméricine (**91**) isolés de *Allamanda cathartica* ont été évalués sur la souche bactérienne *Mycobacterium tuberculosis* H37Rv ATCC multi-résistante avec des valeurs CMI de 2,25 et 3,70 μM , respectivement. La pluméricine (**90**) et l'isopluméricine (**91**) ont une activité antituberculeuse très significative et pourraient être des agents antituberculeux prometteurs. Ces résultats confirment l'effet cytotoxique de *Asparagus schweinfürthii* et antituberculeux de *Allamanda cathartica* et valident leurs usages en médecine traditionnel.

Mots clés : *Asparagus schweinfürthii*, *Allamanda cathartica*, Saponines, Cytotoxicité, Antibactérienne

ABSTRACT

This work deals with isolation and characterization of the secondary metabolites of two cameroonian medicinal plants: *Asparagus schweinfürthii* Baker (Apocynaceae) and *Allamanda cathartica* L. (Apocynaceae), and evaluation of cytotoxic activity and antibacterial activity.

Nineteen (19) compounds were isolated from extracts of these two plants using standard chromatographic methods (flash, CC and TLC).

From the MeOH/H₂O extract of *Asparagus schweinfürthii* fourteen compounds were isolated. The structures of these compounds were elucidated using modern spectroscopic techniques such as 1D and 2D, mass spectrometry and theoretical analysis (DP4+). Among the isolated compounds, six are described here for the first time, there include schweinfurthiamide (**86**) (alkaloid) and schweinfurthioside A-E (**79**, **80**, **82**, **84** and **85**) (five saponins). The remaining eight (08) compounds were identified with two (02) furostane steroidal saponins, four (04) spirostane steroidal saponins and two norlignans. From the MeOH extract of *Allamanda cathartica*, five known compounds were isolated, including three (03) iridoids, one (01) flavonoid and one (01) pentacyclic triterpene.

The cytotoxicity of some fractions and compounds isolated from *Asparagus schweinfürthii* evaluated against eight human cancer cells MCF-7 (breast cancer), NCI-H460 and H-125 (lung cancer), Hela (cervical cancer), PANC-1 (pancreatic cancer), HepG2 (liver cancer), U251N (brain cancer) and OVC-5 (ovarian cancer). Schweinfurthiamide (**86**) showed significant cytotoxicity against MCF-7, NCI-H460 and Hela cell lines, with IC₅₀ values of 1.18 ± 0.02 , 2.25 ± 0.19 , and 4.23 ± 0.26 μ M, respectively. The ASF33B fraction showed very good activity with inhibition diameters of 600, 750 and 700 units against strains H-125, OVC-5 and HepG2. Compound **73** was highly active with inhibition diameters of 500, 300 and 450 units against H-125, OVC-5 and HepG2, while compound **74** showed very good activity with inhibition diameters of 400 and 450 units against H-125 and OVC-5.

Plumericin (**90**) and isoplumericin (**91**) isolated from *Allamanda cathartica* were evaluated against the multidrug-resistant bacterial strain *M. tuberculosis* H37Rv ATCC with MIC values of 2.25 and 3.70 μ M, respectively. Plumericin (**90**) and isoplumericin (**91**) have very significant antituberculosis activity and could be promising antituberculosis agents. These results confirm the cytotoxic effect of *Asparagus schweinfürthii* and the antituberculosis effect of *Allamanda cathartica*, and validate their use in traditional medicine.

Key words: *Asparagus schweinfürthii*, *Allamanda cathartica*, Saponins, Cytotoxicity, Antituberculosis.

INTRODUCTION GENERALE

Le pouvoir de la recherche pour protéger et faire progresser l'humanité a toujours été un véritable combat. La conception, la fabrication et l'administration des vaccins et des thérapies sont autant d'indicateurs qui témoignent de la passion, l'ingéniosité et la perspicacité des chercheurs fortement dévoués. Cependant, les thérapies fortement recommandées issus des produits de synthèse n'ont pas toujours satisfait aux problèmes de santé que vit l'humanité. Partout, les chercheurs ont pu accéder rapidement à de nouvelles idées, les adapter à leurs besoins locaux et forger de nouvelles innovations.

Dans ce cadre, de nombreuses recherches ont été et sont effectuées afin de découvrir de nouveaux médicaments, notamment d'origine naturelle. On estime à l'heure actuelle que 25% des médicaments pharmaceutiques prescrits à travers le monde ont une origine végétale (Sahoo et *al.*, **2010**). Et s'agissant du cancer spécifiquement, il apparaît que 75% des médicaments anticancéreux sont d'origine naturelle (Newman et Cragg, **2020**).

Le cancer est une maladie qui se caractérise par la multiplication continue des cellules du corps humain. Il englobe plus de 100 maladies distinctes, aux facteurs de risque et à des épidémiologies variés (Stratton et *al.*, **2009**) et tue en moyenne une personne sur huit dans le monde (Kantarjian et *al.*, **2007**). Selon Globocan (**2020**) près de 20745 nouveaux cas de cancers sont enregistrés chaque année. La faible capacité du système de santé à répondre efficacement aux besoins de la population, se traduit par des indicateurs sanitaires avec notamment une morbi-mortalité élevée d'environ 13000 décès par an. En matière d'incidence, les femmes sont les plus affectées avec 12235 nouveaux cas chaque année contre 8510 nouveaux cas chaque année chez les hommes (Sung et *al.*, **2021**). Ces chiffres de plus en plus croissants dans des cas de cancers, font de ces derniers un véritable problème de santé publique.

La réponse du système de santé camerounais à la problématique des cancers s'est traduite par la mise en place en 1990, puis la réorganisation en 2002 d'une stratégie de lutte contre le cancer organisé autour d'un Comité National de Lutte contre le Cancer. Au vu de toutes les difficultés à mieux orienter des stratégies et à prendre des décisions basées sur les évidences, la mise en place d'une plateforme adaptée à l'enregistrement et à la description des différents cancers diagnostiqués au Cameroun en 2021 indique 2796 cas. Les tumeurs malignes, seins et organes génitaux de la femme enregistrent le score le plus élevé avec 1174 cas soit un pourcentage de 41,99% (Rapport Cancers, **2022**).

Malgré des progrès considérables dans le diagnostic et le traitement des tumeurs solides, les métastases restent la principale cause de décès liés au cancer (Panel et *al.*, **2009**). Jusqu'à présent, les traitements du cancer sont effectués sur la base d'une classification chimique et pathologique déterminée à l'aide d'outils de diagnostic morphologique, tels que la radiologie conventionnelle et

les examens histopathologiques. La propagation des cellules tumorales se fait inaperçue. Les traitements anticancéreux les plus courants tels que la chimiothérapie, la radiothérapie, la chirurgie et l'immunothérapie, n'ont pas conduit à surveiller la dissémination systémique des cellules tumorales dans le sang et la moelle osseuse (Zach et *al.*, **2006** ; Pantel et *al.*, **2008**). La moelle osseuse semble ainsi être un tissu d'origine commun pour les cellules tumorales véhiculées par le sang et dérivées des carcinomes primaires apparaissant dans divers organes épithéliaux tels que l'ovaire, le poumon, le foie, le cerveau et le pancréas (Pantel et *al.*, **2009**). La chimiothérapie, l'un des traitements les plus utilisés pour lutter contre le cancer, se heurte au développement de la résistance aux médicaments qui le rend inefficace. Cette chimiorésistance à de nombreux anticancéreux peut mettre les patients à rude épreuve et nuire davantage à leur santé. Le développement de la résistance aux anticancéreux l'est aussi pour d'autres médicaments de base utilisés contre les infections microbiennes, le cas de la tuberculeuse. De plus, les maladies cancéreuses en particulier le cancer pulmonaire serait susceptible de favoriser la réactivité d'une tuberculose, elle-même ayant longtemps été susceptée d'augmenter le risque (Bennani et *al.*, **2017**).

La tuberculeuse (TB) est l'une des maladies infectieuses les plus courantes et les plus mortelles, avec une incidence de 9,4 millions de nouveaux cas chaque année, causant 1,3 million de décès dans le monde (Kumar et *al.*, **2013**). Géolocalisée tant dans les pays en développement que dans les pays industrialisés, la tuberculose est due à un agent infectieux unique chez l'adulte (Raviglione et *al.*, **1995**). Elle est observée particulièrement chez les patients positifs au VIH (Getahun et *al.*, **2010**). Bien qu'étant globalement en diminution légère et constante, l'Afrique subsaharienne reste un foyer de nouveaux cas (WHO, **2017**). Au Cameroun, la tuberculose (TB) constitue un sérieux problème de santé. En effet, le taux d'incidence estimée par l'Organisation Mondiale de la Santé (OMS) est de l'ordre de 164 nouveaux cas pour 100,000 habitants avec une moyenne en valeur absolue de 45,000 nouveaux cas par an, soit 10 à 12% pour la tuberculose pédiatrique (PNLT, **2022**).

Depuis 1950, la découverte d'antituberculeux efficaces et l'amélioration des conditions de vie avaient guéri beaucoup des patients tuberculeux surtout dans les pays développés (Newton et *al.*, **2000**). L'incidence de la TB-MR au Cameroun est estimée à 3 pour 100,000 habitants et la proportion estimée de cas pour 2022 représente 1,4% chez les nouveaux cas et 8,3% chez les cas préalablement traités (PNLT, **2022**).

Cependant, l'émergence des bactéries multi-résistantes (MDR) et ultra-résistantes (XDR) pose un véritable défi au traitement et au contrôle de la tuberculose (Franke et *al.*, **2008**). En outre, le seul vaccin actuellement disponible, Bacille de Calmette-Guérin (BCG), est très efficacité contre la forme

pulmonaire adulte (Whelana et *al.*, 2008). Les traitements recommandés se font sur une durée d'au moins six mois et le non respect de la posologie indiqué se traduit par des rechutes qui se manifeste par des formes plus graves. Par conséquent, la recherche de nouveaux médicaments antituberculeux est devenue plus pressante. En plus de trouver de nouveaux composés synthétiques, les médicaments traditionnels à base de plantes sont une source alternative pour rechercher de nouveaux médicaments antituberculeux. De nos jours, on estime qu'environ deux tiers à trois quarts de la population mondiale dépendent des plantes médicinales comme principale source de médicaments (Chatterjee et *al.*, 2013).

Sans remettre en question l'intérêt de nouvelles technologies, notamment la pharmacomodulation, le retour vers un criblage des composés naturels pour identifier de nouveaux leaders pourrait être la base du développement du médicament. Les plantes demeurent l'une des sources de molécules prometteuses dans tous les domaines de santé, à la fois dans le traitement et la prévention de certaines pathologies depuis des millénaires. Par ailleurs, l'industrie pharmaceutique moderne s'appuie largement sur des métabolites secondaires végétaux pour trouver des molécules aux propriétés biologiques inédites.

Ainsi, nous avons dans le cadre de cette thèse, focalisé notre attention sur l'investigation de deux plantes médicinales camerounaises, *Asparagus schweinfürthii* et *Allamanda cathartica*, la première est utilisée dans la médecine traditionnelle pour traiter le cancer et la deuxième pour soigner la tuberculose.

Les extraits de *Asparagus schweinfürthii* et *Allamanda cathartica*, peuvent-elles avoir des métabolites secondaires qui permettraient d'optimiser le traitement des maladies cancéreuses et la tuberculose ?

A cette question, quelques éléments de réponse ont été apportés au cours des travaux de cette thèse partant de l'hypothèse selon laquelle les extraits de *Asparagus schweinfürthii* et *Allamanda cathartica* possèdent des métabolites secondaires doués d'activités biologiques et qui peuvent être utilisés pour le traitement des maladies cancéreuses et/ou la tuberculose.

L'objectif général de ce travail est l'isolement, la caractérisation des métabolites secondaires et l'évaluation des activités cytotoxiques des fractions et des composés isolés des racines de *Asparagus schweinfürthii* et de l'activité antituberculeuse de quelques composés isolés de *Allamanda cathartica*. Plus spécifiquement, il s'agit de :

- Extraire, isoler les métabolites secondaires des extraits des différentes plantes.
- Caractériser les métabolites secondaires des extraits des différentes plantes.
- Evaluer les activités biologiques des fractions et composés isolés, spécifiquement l'activité cytotoxique et l'activité antibactériennes, dans l'optique de justifier leurs usages en médecine traditionnelle.

Le plan de ce travail s'articulera autour de trois chapitres :

- Le premier chapitre est consacré à la revue de la littérature, constituée d'une brève description botanique des deux plantes, d'une présentation succincte des diverses molécules déjà isolées des dites plantes ainsi que leur potentiel biologique et d'une synthèse sur le cancer et la tuberculeuse.

- Le deuxième chapitre présente les résultats phytochimiques et biologiques obtenus ainsi que la discussion de ces résultats.

- La troisième partie présente l'appareillage, le matériel végétal et biologique utilisés, ainsi que les diverses méthodes et protocoles qui ont conduit à l'obtention des composés et à l'évaluation des différentes activités biologiques.

REVUE DE LA LITTERATURE

I. Généralités sur le cancer

I.1 Définition

Le cancer d'après l'Américain Cancer Society est une maladie caractérisée par la prolifération incontrôlée et anormale des cellules, liée à un échappement aux mécanismes de régulation qui assure le développement harmonieux de notre organisme (ACS, **2011**). Les premières idées sur le rôle central du génome dans le développement du cancer sont apparues à la fin du XIXe et au début du XXe siècle, grâce aux études de von Hansemann David (**1890**) et Boveri Theodor (**1914**). Les cancers proviennent des cellules préalablement saines et fonctionnelles qui sont devenues anormales suite à un dysfonctionnement du cycle cellulaire. Leur évolution est caractérisée par trois étapes entrant dans le processus de cancérisation : l'initiation, la promotion et la progression. Les nouvelles cellules qui se forment de façon désordonnée, peuvent être à l'origine des tumeurs (un néoplasme) malignes, qui ont la capacité de se propager à travers le corps et de former des métastases (foyer secondaire). Ces cellules échappent aux différents signaux de contrôles régulant le cycle cellulaire et obtiennent leur propre autonomie (Pantel et *al.*, **2009**).

I.2 Biologie du cancer

Le cancer vient de six altérations de la physiologie cellulaire (Hanahan et *al.*, **2000**). Ces altérations sont communes à toutes les cellules cancéreuses et sont à l'origine de leurs proliférations incontrôlées. La division cellulaire est induite par certains signaux. Contrairement aux cellules normales, les cellules cancéreuses acquièrent la capacité de produire elles-mêmes leurs propres signaux de croissance cellulaire et d'y être sensibles. Cette capacité s'accompagne de l'apparition d'une insensibilité aux différents signaux antiprolifératifs. Par ailleurs, l'apoptose, qui est l'un des moyens de destruction des cellules ne pouvant achever un cycle cellulaire normal, est absente. Les cellules cancéreuses acquièrent également la capacité de se diviser à l'infini et à activer l'angiogenèse (formation des nouveaux vaisseaux) des capillaires sanguins à proximité. Enfin, la tumeur primaire envahit les tissus adjacents et dissémine des cellules pionnières dans l'organisme qui fonderont des tumeurs secondaires (métastases). Ces tumeurs distantes sont la cause de 90% des décès dans les cancers (Hanahan et *al.*, **2000**). Environ 15% des cancers humains peuvent être associés à des agents infectieux. Cela peut être des virus (HBV et cancer du foie, HPV et cancer du col de l'utérus, EBV et lymphome de Burkitt), plus rarement des bactéries (*Helicobacter* et cancer gastrique) ou encore plus rarement des parasites (Schistosomes et cancer du foie). Dans tous ces cas, outre l'infection, on trouve également des altérations d'oncogènes ou de gènes suppresseurs dans les tumeurs.

I.3 Épidémiologie du cancer

Les chiffres sur le cancer sont très alarmants et constituent un fardeau mondial. Aujourd'hui, on estime que le fardeau mondial du cancer a atteint 382 millions de nouveaux cas et 157 millions de décès en 2018 selon l'Institut National du Cancer. L'Europe concentre 23,4% du total de cas de cancer dans le monde et 20,3% des décès dus au cancer, alors qu'elle ne représente que 9,0% de la population mondiale. Les Amériques comptent 13,3% de la population mondiale mais concentrent 21,0% de l'incidence et 14,4% de la mortalité dans le monde. Le nombre de cas de décès en Afrique et en Asie est plus élevé que les proportions de cas d'incidence 48,4% et 5,8% respectivement (CIRC, 2018). Ces taux défavorables en Afrique et en Asie sont principalement dus à l'accès limité aux services de diagnostiques et aux traitements opportuns.

Le cancer est un problème de santé publique au Cameroun, selon les statistiques de l'OMS en 2018, plus de 15700 nouveaux cas sont diagnostiqués chaque année et 10533 cas de décès par an avec un ratio mortalité/incidence supérieur à 65%. Plus de 80% de cas sont diagnostiqués à un stade avancé de la maladie et la plupart décède dans les 12 mois qui suivent le diagnostic.

L'augmentation des malades du cancer est due à plusieurs facteurs, notamment la pauvreté et aux infections vers des cancers associés aux modes de vie plus typiques des pays industrialisés (CIRC, 2018). Avoir une alimentation riche en fruits et légumes, pratiquer une activité physique régulière, vivre dans un environnement sain et bannir l'alcool et le tabac de notre mode de vie, sont les facteurs qui diminuent le risque de développer un cancer (Jemal et *al.*, 2011 ; Malvezzi et *al.*, 2013). Derrière le terme cancer se « cachent » une centaine de maladies différentes, sans compter un grand nombre de sous-catégories, puisque chaque organe et chaque type de cellule peut être à l'origine d'une tumeur cancéreuse. Ainsi, il existe plusieurs types de cancer, notamment le cancer du sein, le cancer de la prostate, le cancer du poumon, le cancer du foie, le cancer du cerveau, le cancer du pancréas, le cancer de l'ovaire et le cancer du col de l'utérus, etc.

I.3.1 Le cancer de l'ovaire

Le cancer de l'ovaire prend naissance dans les cellules de l'ovaire. Il résulte le plus souvent d'une dégénérescence maligne des cellules épithéliales qui tapissent l'ovaire et qui est due à des méthodes contraceptives, des infections bactériennes et virales plus spécifiquement au virus papillome humaine. Cette tumeur épithéliale ovariennes est différenciée sur la base de la morphologie des cellules tumorales. On distingue quatre principaux types de gomes épithéliales-séreuses, endométrioses, claires et mucineuses-qui présentent une forte ressemblance avec les cellules normales qui tapissent différents organes du tractus génital féminin ; car tous seraient dérivés d'un

précurseur commun, mésothéliome colique (Kurman et *al.*, 2002). Ils se développent généralement insidieusement sans occasionner de signe clinique particulier au début de sa croissance. Environ 70% des cancers de l’ovaire sont diagnostiqués à un stade avancé.

Le cancer de l’ovaire est la 9^{ème} cause de cancer chez la femme. Il cause plus de décès aux Etats-Unis que tout autre type de cancer de l’appareil reproducteur, avec environ 22000 nouveaux cas et 15000 en 2007 (Cho et Shih, 2009). En France, le nombre de nouveaux cas diagnostiqués en 2020 est estimé à 5320 avec 3935 décès recensés (IARC, 2020 ; IARC, 2021). L’incidence du cancer de l’ovaire est de 10 femmes/100 000 femmes par an, ce qui correspond à 4000 nouveaux cas par an. Le pic de fréquence de mortalité est de 60 ans.

Les traitements proposés dans le cancer de l’ovaire s’adaptent à chaque situation. De façon générale, le traitement du cancer de l’ovaire repose avant tout sur la chirurgie qui consiste en une ablation de la tumeur, si possible en totalité. En fonction de l’extension de celle-ci, la chirurgie peut également décider de retirer l’utérus. Le plus souvent une chimiothérapie est administrée après la chirurgie pour réduire les risques de récurrences. La chirurgie du cancer de l’ovaire aura des conséquences sur la fertilité. L’ablation des ovaires entraîne en effet une ménopause précoce. Certains des effets secondaires du traitement du cancer de l’ovaire comprennent des bouffées de chaleur, des sueurs, des troubles de sommeil et de l’humeur, une sécheresse vaginale, etc.

I.3.2 Le cancer du poumon

Le cancer du poumon est la principale cause de décès par cancer dans les pays développés (Espey et *al.*, 2007). Le cancer du poumon, appelé aussi cancer broncho-pulmonaire, est une maladie des cellules des bronches où plus rarement des cellules qui tapissent les alvéoles pulmonaires. Cette maladie, causée en général par la consommation abusive de l’alcool et du tabac, se développe à partir d’une cellule initialement normale qui se transforme et se multiplie de façon anarchique, jusqu’à former une masse appelée tumeur maligne. Le cancer de poumon est plus souvent associé à divers syndromes paranéoplasiques, notamment le syndrome de sécrétion inappropriée d’hormone antidiurétique. Il représente environ 15% des carcinomes broncho-géniques. Aussi, il existe plusieurs formes de cancer du poumon en fonction de type de cellules en causes ; le cancer du poumon non à petites cellules (le plus fréquent) et le cancer du poumon à petites cellules (rare).

Malgré les efforts intensifs pour lutter contre cette maladie, le pronostic du cancer du poumon reste défavorable et est particulièrement misérable dans les cas avancés du cancer du poumon non à petites cellules. L’une des principales causes de mauvais résultats de traitements du cancer du poumon non à petites cellules est la résistance innée des patients aux médicaments anticancéreux. Les taux de réponses de la plupart des schémas thérapeutiques utilisés dans les chimiothérapies de

première intention sont d'environ 30 % (Rinaldi et *al.*, 2006). De plus la résistance acquise qui se développe en réponse aux thérapies répétées est un grand obstacle au traitement anticancéreux (Wang et *al.*, 2004). En conséquence, le contrôle d'une telle résistance est considérée comme un problème urgent pour le traitement du cancer du poumon non à petites cellules (Young et *al.*, 2001 ; Soini et *al.*, 2001).

I.3.3 Le cancer du pancréas

Le cancer du pancréas est une maladie dévastatrice qui touche actuellement environ 28000 personnes aux Etats-Unis. Le taux de survie à 5 ans chez les patients atteints du cancer du pancréas est inférieur à 5 %, ce qui fait de cette maladie la quatrième cause de mortalité lié au cancer. Il est considéré comme une perte des mécanismes de régulation normaux qui inhibent la progression inappropriée du cycle cellulaire (Greenlees et *al.*, 2000). De nombreuses anomalies génétiques retrouvées dans l'adénocarcinome du pancréas affectent les mécanismes contrôlant la progression du cycle cellulaire et la prolifération cellulaire (Setzer et *al.*, 2003). Il se manifeste par la perte de poids, les douleurs persistantes vers l'estomac et le dos, la jaunisse, les nausées et l'anémie. En raison du diagnostic relativement tardif du cancer du pancréas, la tumeur métastase fréquemment envahit les tissus environnants au moment du diagnostic. Les options de traitement non chirurgicales telles que la chimiothérapie et/ou la radiothérapie a des résultats décevants jusqu'à présent, et les raisons de la résistance des cellules cancéreuses pancréatiques aux rayonnements et aux agents cytotoxiques et leur croissance agressive ne sont pas complètement comprises (Craig, 1999 ; Cragg et Newman, 2005).

Les agents chimiothérapeutiques utilisés depuis longtemps dans le traitement oncologique produisent des effets secondaires délétères qui augmentent la mortalité et la morbidité causés par le cancer.

I.3.4 Le cancer du foie

Le cancer du foie est le 6^{ème} cancer le plus fréquent et la 2^{ème} cause de décès par cancer dans le monde (Ferlay et *al.*, 2015). Les facteurs de risque du cancer de foie sont variés. Ils tiennent d'une part à des expositions environnementales et professionnelles (arsenic et chlorure de vinyle) et d'autre part aux infections parasitaires (les champignons), virales ainsi qu'à des comportements individuels (consommation excessive de l'alcool). Toutefois, les carcinomes hépatocellulaires représentent les facteurs de risques prédominants et sont attribuables aux infections chroniques par le virus de hépatites B et/ou C. On distingue plusieurs types de cancer du foie et les formes histologiques prédominantes sont le carcinome hépatocellulaire (env. 85 % des cas) et le cholangiocarcinome (env. 15 %) (Amon et *al.*, 2005). En 2012, les estimations portent à 782000 le nombre de nouveaux cas et 745 000 le nombre de morts causés par le cancer du foie à l'échelle mondial et les hommes représentent la population la plus

touchée par la maladie car 2 à 4 fois plus atteints que les femmes (Stewart et Wild, **2014** ; Torre et *al.*, **2015**). Le cancer du foie est principalement rencontré dans les pays du Sud, et plus particulièrement dans les trois régions de l'Asie de l'Est, l'Asie du Sud-Est et de l'Afrique subsaharienne.

Dans la majorité des cas, les patients souffrant de carcinomes hépatocellulaires aigües ne présentent pas de signes de la maladie. L'identification des populations à risque de développer la maladie et le dépistage est donc d'une grande importance dans la prise en charge de la pathologie (Yu et *al.*,**1997**). Le diagnostic des carcinomes hépatocellulaires aigües (hépatiques virales C) est principalement basé sur les techniques d'imagerie par résonance magnétique (IRM) et la biopsie hépatique (Bruix et Sherman, **2011**). Malheureusement, dans les pays en voie de développement, le dépistage n'est pas accessible à tous et le diagnostic se fait à des stades déjà avancés de la maladie (Eav et *al.*, **2012**).

Différents types de traitements existent pour prendre en charge le patient de carcinome hépatocellulaire. Le type de traitement à utiliser va dépendre de l'état du foie non tumoral, de la taille, de l'extension de la tumeur et de l'état général du patient. L'âge et l'espérance de vie attendue suite au traitement doivent également être pris en compte dans la décision thérapeutique. Les méthodes de traitements à visée curative comprennent la transplantation hépatique, la résection hépatique et la destruction percutée. Elles sont indiquées pour les malades atteints de tumeur à taille limitée (Befeler et Bisceglie, **2002**). Les méthodes de traitement à visée palliative, la chimio-embolisation artérielle et les traitements médicamenteux (traitements symptomatiques, thérapies ciblées). Elles sont principalement indiquées pour les patients atteints d'un carcinome hépatocellulaire à un stade intermédiaire ou avancé.

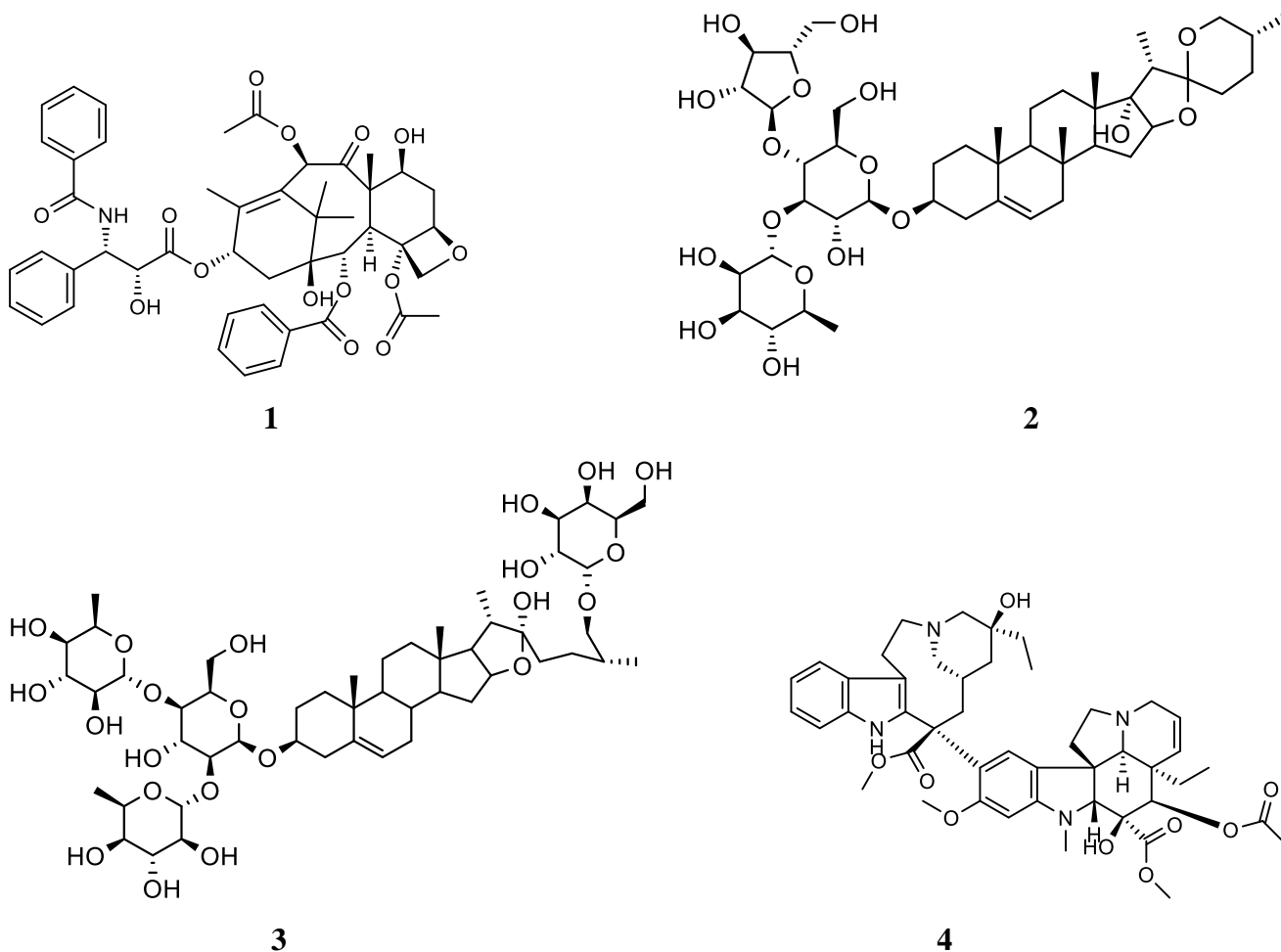
Parmi les traitements médicamenteux, la chimiothérapie par voie systémique, les anti-androgènes, le tamoxifène, l'octréotide et l'interféron n'ont pas démontré leur efficacité dans le traitement du carcinome hépatocellulaire (Bruix et Llovet, **2002**). Ces méthodes de traitement n'ont pas prouvé leur effet dans l'amélioration de la survie des patients et reste très limité (9,2 mois) (Ferenci et *al.*, **2010**).

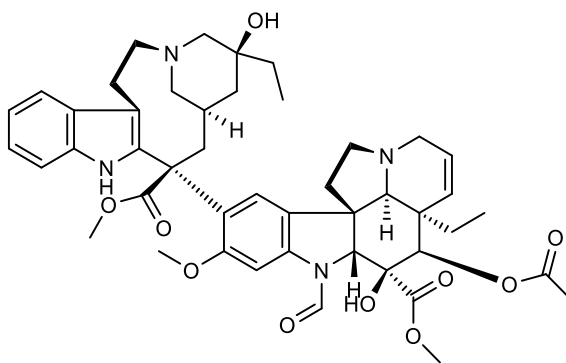
I.3.5 Les glioblastomes : Cancers du système nerveux central

Les cancers du système nerveux central (SNC) constituent un groupe rare et hétérogène de tumeurs sur le plan génétique et biologique (Louis et *al.*, **2016**). Ils représentent approximativement 3 % des cas de cancer dans le monde et sont plus fréquents chez les hommes que chez les femmes (Ferlay et *al.*, **2015**). Le glioblastome se présente sous plusieurs formes. La forme multiple est la forme la plus agressive des gliomes qui sont un ensemble de tumeurs formées à partir des cellules gliales ou leurs précurseurs. Le glioblastome multiforme (GBM) est la forme la plus invasive des tumeurs et reste incurable jusqu'à nos jours (Palama et *al.*, **2019**). Le GBM est classé selon l'OMS au grade IV des

gliomes et son pronostic est sombre (Louis *et al.*, 2016). Malgré les avancées dans la thérapie des glioblastomes, la moyenne de survie est comprise entre 12 et 18 mois pour les patients nouvellement diagnostiqués sous traitement intensif et approximativement 10 % seulement atteignent les un an de survie. En absence de traitements, les patients décèdent très tôt après le diagnostic (Lieberman, 2017). La thérapie standard des glioblastomes est la résection chirurgicale qui est suivie généralement par la combinaison de la radiothérapie et de la chimiothérapie (Cha et Kim, 2017). Toutefois, à cause du caractère complexe et invasif de ces cellules tumorales, le GBM résiste à l'efficacité de tous les traitements existants.

Les agents anticancéreux d'origine végétale testés cliniquement et dont les avantages ont été prouvés comprennent le paclitaxel (1), la polyphylline II (2), la 20 (S)-généoside Rg (3), les alcaloïdes de Vinca, la vinblastine (4), la vincristine (5) et les dérivés de la camptothécine. Ces composés partagent des activités antitumorales et des voies de signalisation communes ciblant le cycle cellulaire tumoral et la mort cellulaire (Singh *et al.*, 2002 ; Bai *et al.*, 2016 ; Zhao *et al.*, 2018, Cui *et al.*, 2024).





5

II Généralités sur la tuberculose

Au cours de ces dix dernières années, la tuberculose, une maladie qui semblait être vaincue, est réapparue et de surcroît avec de fulgurantes poussées. Cette maladie infectieuse qui, causée par une mycobactérie appelé bacille de Koch, est l'une des plus mortelles après le VIH/SIDA. Un tiers de la population mondiale est porteuse du bacille et sur les 8 millions de cas déclarés, la mortalité s'élève à 1,4 millions en 2016 (WHO, 2017). La tuberculose constitue ainsi la première cause de mortalité chez les patients VIH positif (Getahun *et al.*, 2010). Les populations les plus vulnérables sont celles vivantes dans des conditions de précarité, à savoir la malnutrition, la promiscuité et/ou présentant un système immunitaire affaibli.

II.1 Biologie de la tuberculose

La tuberculose (TB) est une maladie infectieuse provoquée par une mycobactérie qui se transmet par voie aériennes aussi bien aux enfants qu'aux adultes. Elle touche le plus souvent les poumons mais atteint aussi parfois d'autre organes et peut évoluer vers le décès si elle n'est pas traitée.

II.2 Epidémiologie de la tuberculose

A l'heure actuelle, la tuberculose demeure un problème majeur de santé publique au niveau mondiale (Cathie, 2012). Chaque jour, 25000 personnes développent une tuberculose active et 5000 personnes en meurent (Véronique, 2013). C'est la principale cause de décès lié à une maladie infectieuse curable (OMS, 2013). L'OMS estime à 8,8 millions le nombre de nouveaux cas par an en 2010, soit une incidence estimée de 128/100000 habitants. Parmi ces cas estimés, 65% seulement avaient été déclarés (Che, 2013). Les décès dus à la tuberculose sont estimés à 1,45 million répartis à 1,1 million dans la population VIH-négative et 0,35 million supplémentaire chez les personnes

séropositives pour le VIH (Véronique, **2013** ; Che, **2013**). Parmi les nouveaux cas pulmonaires déclarés, 57% étaient des cas avec un examen direct positif (May, **2005** ; Che, **2013**).

En 2011, l'incidence mondiale de la tuberculose-maladie était de 9 millions de nouveaux cas et près de 1,5 millions de décès liés à cette maladie. Il existe une disparité majeure entre les pays en voie de développement et les pays industrialisés (May, **2005**).

L'Afrique et l'Asie représentent en elles seules 85% de l'ensemble des cas observés. Mais l'Afrique est le continent qui présente le taux d'incidence le plus élevé (345/100000 habitants soit à peu près 2800688 cas en 2009 et 276/100000 habitants soit 2300000 cas en 2010). Le taux de prévalence de la tuberculose est pareillement très important avec une prévalence de 475/100000 habitants soit environ 3900000 cas (OMS, **2013** ; May, **2005** ; Cathie, **2012**, Véronique, **2013**).

L'Afrique subsaharienne compte 24%. L'incidence dans cette sous-région est 2 fois plus élevée qu'en Asie et dépasse les 350 cas pour 100000 habitants. Enfin, si la majorité des décès dus à la tuberculose subviennent en Asie, le taux de mortalité le plus élevé au monde est toujours en Afrique sub-saharienne (Cathie, **2012**).

Le Cameroun est l'un des pays d'Afrique où le programme de lutte contre la tuberculose est très actif. Selon une étude publiée en 2016, la prévalence de la tuberculose y a régressé de 2006 à 2014 soit de 121 à 70 cas pour 100000 habitants (Noeske et *al.*, **2016**). Cette évolution remarquable dans la lutte contre cette maladie reste tout de même très loin des objectifs de l'OMS pour l'éradication de la tuberculose à l'échelle mondiale. Dans cette perspective, l'OMS se propose d'atteindre un taux d'incidence mondial inférieur à 100 cas par million d'habitants d'ici 2035 (Pease et *al.*, **2017**). Une étude faite à Douala au Cameroun en 2013 identifiait la co-infection tuberculose-VIH, le contact avec les patients tuberculeux, l'alcool et le tabac comme les facteurs qui influencent le développement de la tuberculose (Assob et *al.*, **2013**).

Dans les pays en développement, un patient tuberculeux contagieux peut infecter 10 à 20 personnes au cours de l'histoire naturelle de la tuberculose (Lawn et *al.*, **1998** ; Okur et *al.*, **2006**). Lin et *al.* (**2008**), ont montré que 30 jours seulement suffisent à un cas indexé contagieux pour transmettre le bacille aux membres de son ménage. Ainsi, tout retard au diagnostic et toute prescription tardive du traitement antituberculeux peuvent contribuer à entretenir l'épidémie tuberculeuse. Ces retards exposent également le malade à une plus grande morbidité et à un risque de décès plus accru (Lawn et *al.*, **1998** ; Asch et *al.*, **1998** ; Storla et *al.*, **2008**).

L'augmentation des malades de la tuberculose est due à plusieurs facteurs, notamment l'âge, la malnutrition. Elle est également observée chez les patients sous immunosuppresseur ou présentant une maladie telle que le SIDA et le cancer comme dans le cas du cancer du poumon. La promiscuité et les conditions de vie dans certains pays d'Afrique et d'Asie, accompagnée par l'intensification

d'infection au VIH sont d'autres facteurs de la recrudescence de cette épidémie de tuberculose (Kahn et al., 2010) ainsi que, l'insuffisance rénale, le diabète, le cancer, le tabagisme et l'alcoolisme (WHO, 2009). Il existe plusieurs types de tuberculose : la tuberculose pulmonaire, la tuberculose osseuse, la tuberculose ganglionnaire cervicale, la tuberculose miliaire, etc. La toux grasse est le symptôme majeur ; cependant, elle peut provenir d'allergies ou tout simplement des infections des voies aériennes non tuberculeuses.

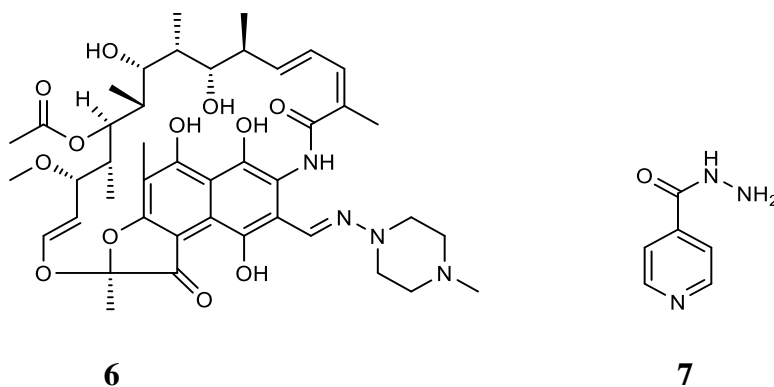
Pour diagnostiquer cette maladie, le test du crachat des patients par examen bactériologique à l'aide de la microscopie est la plus moderne. Il existe d'autres moyens comme l'amplification génique par réactions de polymérisations en chaîne (PCR) pour la recherche de *Mycobacterium tuberculosis*. Depuis 2010, il existe un nouveau test moléculaire très sensible qui est utilisé largement suite à la diffusion par FIND (Foundation for Innovative New Diagnostics) ; il est nommé GenXpert MTB/RIF par l'OMS.

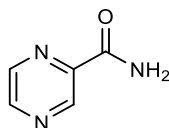
II.3 Traitement de la tuberculose

L'amélioration des conditions de vie en société et des actions de prévention ont relativement été les facteurs déterminants de la baisse de l'épidémie dans les pays développés. Une meilleure aération et de la présence de lumière dans les lieux de vie en communauté sont des approches de base pour remédier à l'infection de la tuberculose. Ensuite vient l'état nutritionnel des patients pour s'assurer d'une bonne défense immunitaire avant la mise en place de traitement. À la suite de ces moyens non médicamenteux très soulageant, il existe plusieurs moyens de prise en charge.

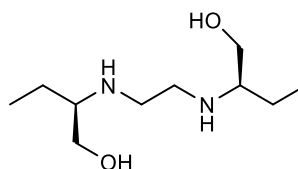
Un moyen vaccinal est disponible et obligatoire dans les pays où la maladie est endémique, cette vaccination se fait par le BCG (Bacille de Calmette et Guérin) qui n'offre cependant qu'une protection partielle.

Il est possible de traiter la tuberculose avec une combinaison d'antibiotiques pendant une durée moyenne de six mois avec l'isoniazide (7), la rifampicine (6), la pyrazinamide (8) et l'éthambutol (9) et en cas de tuberculose multi-résistante, le traitement peut être prolongé jusqu'à 18 à 24 mois.





8



9

III Aperçu botanique des Apocynaceae

La famille des Apocynaceae a été décrite pour la première fois en 1789 par le botaniste français Antoine-Laurent de Jussieu. Les Apocynaceae sont l'une des plus grandes familles du règne végétal. Il existe des variations dans la façon dont de nombreuses espèces ou genres appartiennent à la famille des Apocynaceae (Judd et *al.*, 2002). Endress, Liede-schumann et Meve ont rapporté en 2014 une version révisée et récemment mise à jour pour la famille des Apocynaceae. Selon cette classification actualisée, la famille des Apocynaceae comporte 424 genres avec plus de 4600 espèces réparties en cinq sous-familles telles que les Rauvolfioideae, les Apocynoideae, les Periplocoideae, les Secamonoideae et les Asclepiadoideae.

Les plantes de la famille des Apocynaceae sont originaires de toute l'Inde, le Pakistan, la Chine, le Bangladesh et le Sri Lanka (Mahmood et *al.*, 2011). Les plantes de cette famille sont principalement des arbres et des arbustes, plantes ligneuses ou herbacées contenant du latex laiteux. La plupart des plantes de cette famille sont riches en alcaloïdes et ont une immense importance médicinale. Plusieurs espèces sont également utilisées comme plantes ornementales. Certaines sont consommées par les habitants des zones rurales comme nourriture et d'autres l'utilise comme poison. Les plantes de la famille des Apocynaceae sont utilisées dans le monde entier pour des applications médicinales et par conséquent, elles sont incluses dans différents systèmes traditionnels (Bhat et *al.*, 2012).

III.1 Le genre *Allamanda*

Allamanda, également connu sous le nom de cloche jaune ou trompette d'or, est un genre d'arbustes tropicaux ou de vignes (Jiangsu, 1986). Il appartient à la famille des Apocynaceae et contient environ 15 espèces à savoir : *A. Augustifolia*, *A. Blanchetti*, *A. Caccicola*, *A. Cathartica*, *A. Doniana*, *A. Laevis*, *A. Martii*, *A. Oenotherifolia*, *A. Plyantha*, *A. Puberula*, *A. Schottii*, *A. Setulosa*, *A. Thevetifolia* et *A. Weberbaueri*. Le genre *Allamanda* est endémique d'Amérique du sud (Monroy-Ortiz et *al.*, 2006). Le nom de ce genre dérive de celui du botanique Suisse Jean Frédéric-François Louis Allemand, qui a collecté des graines au Suriname et les a données à Carlos Linnaeus qui les nommera en 1771 (David, 1997).

III.2 L'espèce *Allamanda cathartica*

Allamanda cathartica Linn est un arbuste ornemental impérissable. C'est une espèce de plante vivace qui grandit très rapidement environ 1,5 à 3,5 m de longueur chaque année, en été et en plein lumière du soleil, elle produit des fleurs et pousse mieux (Jetée, 2013 ; Francis, 2000).

Des études botaniques ont montré que *Allamanda cathartica* était répandu dans les Caraïbes depuis le milieu du XIX^e siècle. En 1864, Grisebach a observé que la plante était cultivée à Saint-Vincent, à Saint-Kitts, en Jamaïque et en Antigua (Grisebach, 1864). Dans le compendium mondial des mauvaises herbes, *Allamanda cathartica* est décrit comme un arbuste ligneux ressemblant à une vigne (Randall, 2012). Cette espèce se reproduit par multiplication végétative, par bouturage et sexuellement par graines (Jetée., 2013). Le tableau 1 suivant indique la position systématique de *Allamanda cathartica*.

Tableau 1 : Position systématique de *Allamanda cathartica*

| | |
|----------------------|-----------------------------|
| Domaine | <i>Eucaryota</i> |
| Royaume | <i>Plantae</i> |
| Embranchement | <i>Spermatophyta</i> |
| Classe | Dicotylédones |
| Commandement | Gentianes |
| Famille | Apocynaceae |
| Genre | <i>Allamanda</i> |
| Espèce | <i>Allamanda cathartica</i> |

Allamanda cathartica est utilisé comme plante à fleurs ornementale ou de jardin dans les régions tropicales et subtropicales du monde. Ces espèces végétales sont en croissance rapide. La plante est un arbuste vivace ou une vigne ligneuse, parfois jumelage ou grimpant riche en latex laiteux et il est très ramifié, la plupart de temps de 3 à 9 m de longueur. Les feuilles sont ovoïdes, elliptiques, ridées et l'apex est bordé ; les marges révolutionnées et ondoyantes, le fond est intense ; face supérieure brillante, vert foncé, glabre avec une nervure médiane pointue ; face inférieure verte jaunâtre, avec la nervure médiane condensée. Les pétioles mesurent 5 à 10 mm de long ; les tiges sont cylindriques, nues et grisâtre. Les fleurs sont formées en cymes axillaires-calices verdâtres, cinq sépales en pièces de 12 à 18 mm de long. Les capsules ellipses, couvertes d'épines abondantes, peu fréquentes ; plusieurs graines ovales resserrées de 1,2 à 1,5 cm de long avec une marge souillée en forme d'aile (Acevedo-Rodriguez, 2005).



Figure 1 : Les différentes parties de *Allamanda cathartica* (Photo prise par Kamdeu, 2018)

Allamanda cathartica possède des feuilles qui sont disposées en verticilles de 3 à 4 lames, elliptiques et oblong ; la base est aiguée ; le sommet est acuminé ; les bords sont ondulés et révolutionnaires ; plus haut la surface est glabre, brillante, vert foncé avec un milieu proéminent veine ; la face inférieure vert-jaunâtre, épaisse et les stipules transformées en 4 petites galantes pétioles de 4 à 12 mm de long.

Les fleurs sont jaunes et en forme de trompette, avec des tubes de la corole. Elles sont organisées en cymes auxiliaires. Le calice est vert, cinq sépales lancéolés de 11 à 17 mm de longueur. Le tube de 6 à 10 cm de long, le membre a cinq lobes arrondis et révolutes de 9 cm de diamètre.

Les fruits ont des capsules ellipsoïdes, entourées d'épines peu fréquentes ; des graines sont abondantes, comprimées et ovales de 1,5 à 1,8 cm de long avec un bord fané en forme d'aile (Acevedo-Rodriguez, 2005).

La tige de cette plante est un arbuste ou vigne ligneuse très ramifiée en forme de croissance de 3 à 9 m de long.

Les fleurs de l'espèce poussent toute l'année et les fruits poussent d'avril à juillet et en Octobre. Dans les textes botaniques, *Allamanda cathartica* aurait une large diffusion mondiale dans les climats chauds (Monroy-Ortiz et al., 2006).

Lors de la reproduction, elle est principalement polonisée par les insectes ; la fleur est hermaphrodite et se développe pour être auto-incompatible, les graines sont à peine produites par variétés (Francis, 2000).

III.3 Répartition géographique de *Allamanda cathartica*

Elles sont réparties dans la zones tropicales et subtropicales de nombreux pays y compris : Etats-Unis, Mexique, Belize, Honduras, Nicaragua, Costa Rica, Panama, Venezuela, Bolivie,

Equateur, Guyane française, Paraguay, Pérou (Monroy-Ortiz et al., 2006), Cameroun (Maia et al., 2000) et la France (Gurib-Fakim et al., 2008).

III.4 Intérêts et usages des plantes du genre *Allamanda*

Les plantes du genre *Allamanda* présentent divers usages, tant sur le plan thérapeutique que sur le plan économique :

En médecine traditionnelle, *A. cathartica* est indiqué pour divers traitement dans de nombreuses régions du monde :

Aux Etats-Unis, aux Caraïbes et au Bangladesh, on l'utilise comme antifongique et antivirale (Sarker et al., 2012).

La sève laiteuse est reconnue pour ses propriétés antibactériennes et éventuellement des activités anticancéreuses en Malaisie, Bangladesh et Inde (Mukherjee K et al., 1986 ; Sarker R et al., 2012 ; Gurib-Fakim et al., 1997).

Elle est également utilisée comme diurétique et émétique en Inde lors du traitement de la fièvre ; en philippines et au Bangladesh pour traiter l'hypertension (Wong et al., 2012 ; Prabhadevi et al., 2012 ; Sarker et al., 2012). Elle permet aussi d'améliorer la circulation sanguine en Indonésie et réduit l'inflammation au Nigeria (Mahbubur Rahman et al., 2016 ; Savithamma et al., 2013).

Les racines sont utilisées contre la jaunisse, le paludisme au Nigeria et dans plusieurs autres pays (Joselin et al., 2012).

Les fleurs sont employées comme laxatif, et sont également utilisées comme antibiotique, en Inde, au Suriname et au Nigeria. Le latex est employé pour les coliques et comme purgatif en Asie du sud-Est (Nwambie et al., 1993).

Les feuilles sont utilisées contre la toux, les maux de tête et les morsures de serpents.

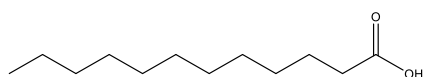
III.5 Travaux chimiques antérieurs de *Allamanda cathartica*

Les travaux chimiques antérieurs permettent de mettre en exergue la diversité structurale des métabolites secondaires préalablement isolés. Sur les 15 espèces de *Allamanda*, la plupart d'études phytochimiques, pharmacologiques et toxicologiques sont concentrés sur *Allamanda cathartica*.

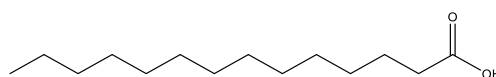
Les autres plantes de ce genre ont fait l'objet de très peu d'études. Néanmoins, celles disponibles font état de plusieurs classes de composés.

III.5.1 Acides gras et phospholipides

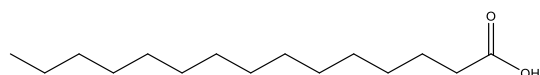
Une analyse de la composition de la plante a permis d'identifier des acides gras saturés et insaturés ainsi que des phospholipides tel que : l'acide dodécanoïque (10) (fleurs, feuilles et tiges) (Augustus et Seiler, 2011 ; Prabhadevi et *al.*, 2012), l'acide tétradécanoïque (11) (fleurs, feuilles et tiges) (Arthur et Hui, 1954 ; Hema et Sukumar, 2013 ; Kupchan et *al.*, 1974), l'acide pentadécanoïque (12) (feuilles et fleurs) (Arthur et Hui, 1954 ; Hema et Sukumar, 2013), le phosphatidycholine (13) (fleurs) et l'acide 17-méthyl-5,9-octadécadiénoïque (14) (fleurs) (Arthur et Hui, 1954) pour ne citer que ceux-ci.



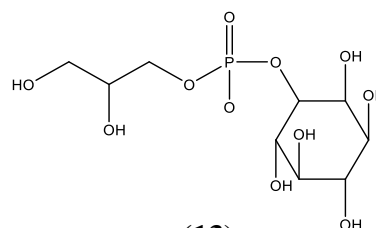
(10)



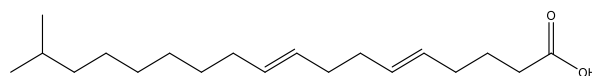
(11)



(12)



(13)



(14)

III.5.2 Les composés phénoliques et les flavonoïdes

A partir des fleurs et des tiges les composés phénoliques et les flavonoïdes ont été identifiés. Le tableau 2 ci-dessous présente quelques composés isolés de ce genre.

Tableau 2 : Quelques composés phénoliques et flavonoïdiques isolés de *Allamanda cathartica*

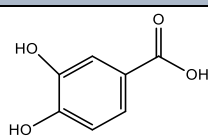
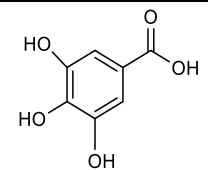
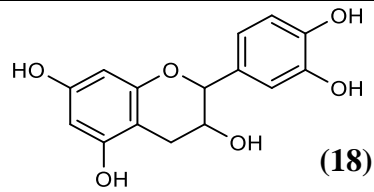
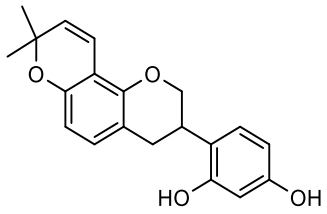
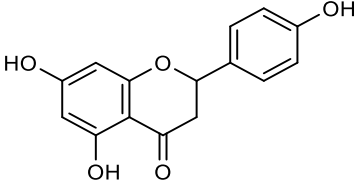
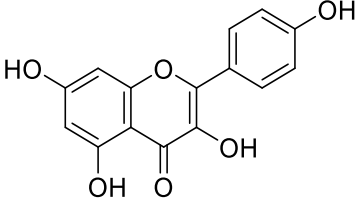
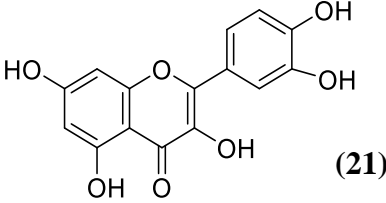
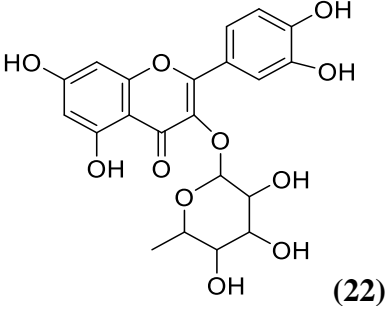
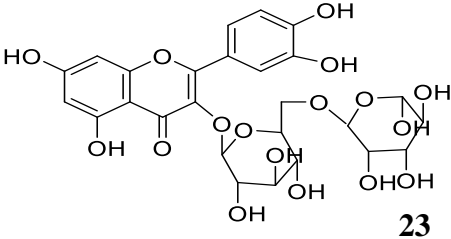
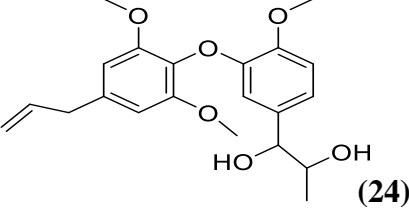
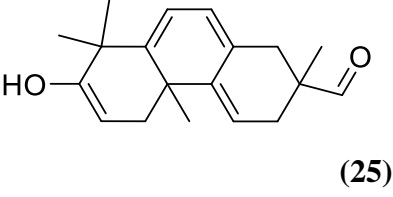
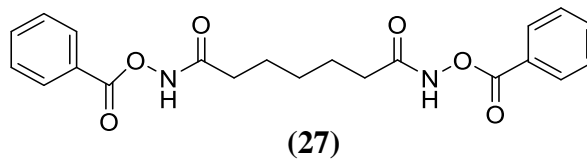
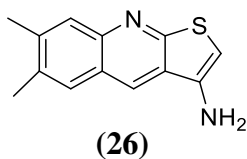
| Partie de la plante | Noms des composés | Structure des composés | Références |
|---------------------|------------------------|--|-----------------------|
| Fleurs | Acide protocatéchuïque |  <p>(15)</p> | Mehta et al., 2017 |
| | Acide gallique |  <p>(16)</p> | |
| Fleurs | Épicatéchine |  <p>(18)</p> | |
| Tiges | Glabridine |  <p>(17)</p> | |
| Tiges | Naringénine |  <p>(19)</p> | Thomas, 1992 |
| | Kaempférol |  <p>(20)</p> | |

Tableau 2 : Quelques composés phénoliques et flavonoïdiques isolés de *Allamanda cathartica* (suite)

| Partie de la plante | Noms des composés | Structure des composés | Références |
|---------------------|--|---|----------------------|
| Tiges | Quercétine |  (21) | Osbon, 1943 |
| Fleurs | Quercitrine |  (22) | |
| Fleurs | Rutine |  23 | Sarker et al., 2014 |
| Tiges | 1-(3-(4-Allyl-2,6-dimethoxyphenoxy)-4-methoxyphenyl)propane-1,2-diol |  (24) | Thomas, 1992 |
| Feuilles et tiges | 7-hydroxy-2,4b,8,8-tetramethyl-1,2,3,4,4a,4b,5,6,7,8,8a,9-dodecahydrophenanthrene-2-carbaldehyde |  (25) | Kupchan et al., 1974 |

III.5.3 Les alcaloïdes isolés sur *Allamanda cathartica*

Deux alcaloïdes à savoir la 6,7-diméthylthiénol (2,3-b) quinoléine-3-ylamine **26** et l'heptane diamide-*N, N'*-dibenzoyloxy **27** (Kupchan et al., 1974) présents dans les tiges.

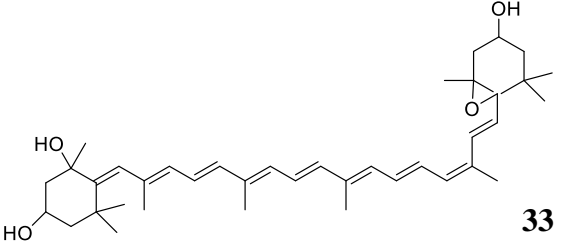
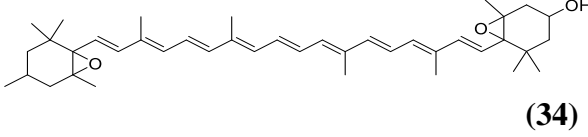


III.5.4 Les stéroïdes, terpénoïdes et les caroténoïdes

Tableau 3 : Quelques stéroïdes, terpénoïdes et caroténoïdes isolés de *Allamanda cathartica*

| Partie de la plante | Noms des composés | Structure des composés | Références |
|---------------------|---------------------|------------------------|----------------------|
| Feuilles et tiges | β -sitostérol | (28) | Boeing et al., 2018 |
| | β -amyrine | (29) | |
| | Acide ursolique | (30) | Tinoi et al., 2006 |
| Feuilles | Squalène | (31) | Kupchan et al., 1974 |
| | Vitamine E | (32) | |

Tableau 3 : Quelques stéroïdes, terpénoïdes et caroténoïdes isolés de *Allamanda cathartica* (suite et fin)

| | | | |
|--------|----------------|---|---------------------------|
| Fleurs | Néo xanthine |  33 | Akah et <i>al.</i> , 1992 |
| | Viola xanthine |  (34) | |

III.5.5 Les lactones

Tableau 4 : Quelques lactones isolées de *Allamanda cathartica*

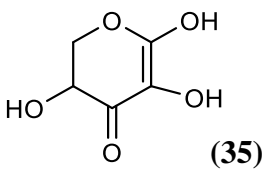
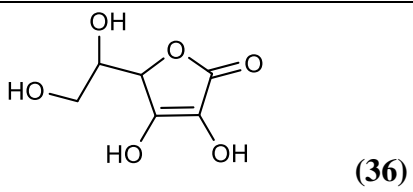
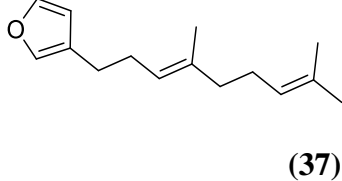
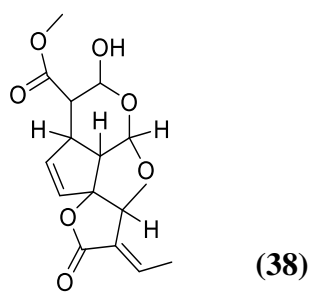
| Partie de la plante | Noms des composés | Structure des composés | Références |
|-------------------------|---|---|------------------------------|
| Feuilles et tige | 3,5,6-trihydroxy-2,3-dihydro-4H-pyran-4-one |  (35) | Kupchan et <i>al.</i> , 1974 |
| Feuilles | Vitamine C |  (36) | Tinoi et <i>al.</i> , 2006 |
| Fleurs | Dendrolasine |  (37) | Fasola et <i>al.</i> , 2015 |
| Les écorces des racines | Allamandine |  (38) | Gupta et <i>al.</i> , 2004 |

Tableau 4 : Quelques lactones isolées de *Allamanda cathartica* (suite)

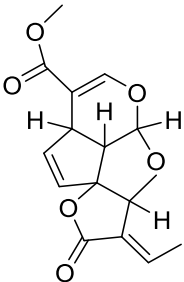
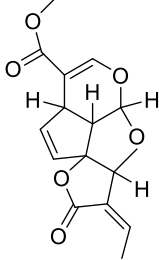
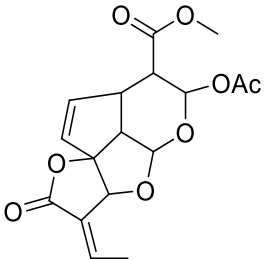
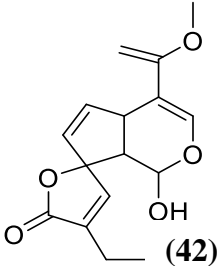
| Partie de la plante | Noms des composés | Structure des composés | Références |
|---|--------------------|--|--|
| Feuilles, racine, tige, fleurs et écorces | Pluméricine |  (39) | Radford et <i>al.</i> , 1994 |
| Feuilles, racine, tige, fleurs et écorces | Isopluméricine |  (40) | Suprpta et <i>al.</i> , 2012 |
| Ecorces des racines | Acétyllallamandine |  (41) | Kupchan et <i>al.</i> , 1974 |
| Ecorces des racines | Allamidine |  (42) | Gupta et <i>al.</i> , 2004 |

Tableau 4 : Quelques lactones isolées de *Allamanda cathartica* (suite)

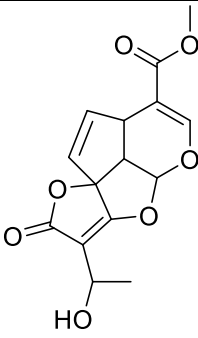
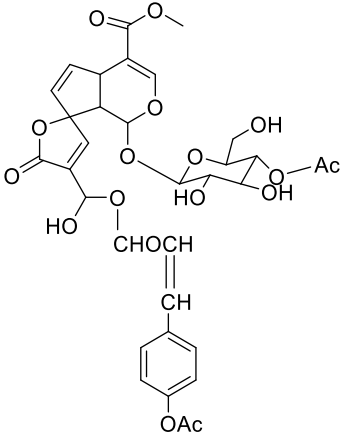
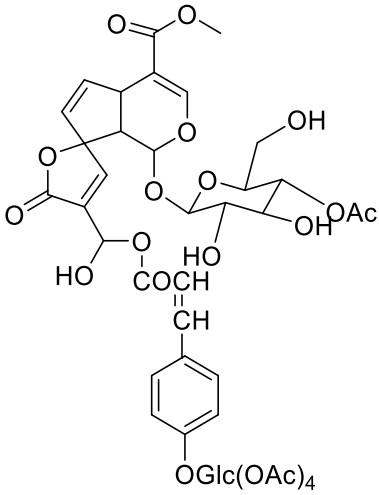
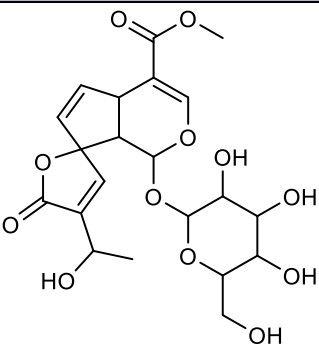
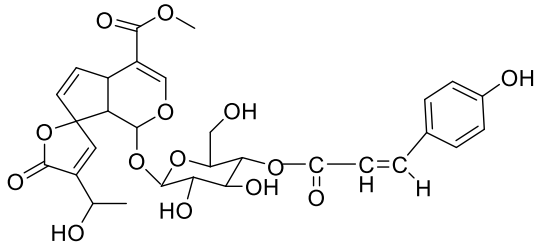
| Partie de la plante | Noms des composés | Structure des composés | Références |
|---------------------|-------------------------------------|--|------------------------------|
| Ecorces des racines | Allamandicine |  <p>(43)</p> | Gupta et <i>al.</i> , 2004 |
| Racines | Coumarate de penta-acétylplumiéride |  <p>(44)</p> | Fartyal et <i>al.</i> , 2016 |
| | Coumarate d'octa-Acethylplumiéride |  <p>(45)</p> | |

Tableau 4 : Quelques lactones isolées de *Allamanda cathartica* (suite et fin)

| Partie de la plante | Noms des composés | Structure des composés | Références |
|---|----------------------|--|---|
| Racines, tiges, feuilles, fleurs et écorces | Plumiéride |  (46) | Radford et <i>al.</i> , 1994 ; Fartyal et <i>al.</i> , 2016 |
| | Plumiéride coumarate |  (47) | |

Enfin dans les feuilles, les tiges et le nectar on a isolé les glucides tels que : les Rhamnose (Nguyen et *al.*, **2015**), les Glucoses et le fructoses (Islam et *al.*, **2010**), le 3-*O*-méthyl-*D*-glucose (Savithamma et *al.*, **2013** ; Kupchan et *al.*, **1974**), les 1-Déoxy-*D*-mannitol et le méthyle β -*L*-arabinose.

III.6 Activités pharmacologiques des espèces du genre *Allamanda*

Des investigations pharmacologiques sur divers extraits bruts et composés chimiques isolés de l'espèce ont montré des activités anti-inflammatoire, antidépresseur, antidiabétique, antimicrobiene, antipaludique et antioxydant.

III.6.1 Anti-inflammatoire

L'inhibition de l'hémolyse dans les érythrocytes humains par une fraction aqueuse de l'extrait méthanolique a été évaluée avec des taux de $69,49 \pm 0,49\%$ par rapport au contrôle positif d'acide acétyle salicylique (0,1 mg/mL) qui montre une inhibition de 72,79% (Sarker et *al.*, **2014**). Dans une autre étude, la quercitrine obtenue à partir des fleurs fraîches de *A. cathartica* a été évalué pour l'activité anti-inflammatoire en utilisant une méthode *in vitro* comme étude de stabilisation de la membrane hémolytique. L'effet de l'inflammation a été étudié à l'aide d'érythrocytes exposé à une solution hypotonique. Les résultats ont indiqué que le composé obtenu présentait une activité de

stabilisation membranaire qui était la plus élevée avec 75 µg (Hema, 2014). Dans un modèle *in vivo*, le composé **38** obtenu à partir d'un extrait d'éthanol de fleur a été évalué pour son activité contre la colite ulcéreuse induit par le sulfate de dextrane sodique (DSS) chez une souris femelle. Comme contrôle standard, l'acide 5-amino-salicylique a été utilisé et les souris ont reçu l'un ou l'autre composé à la même dose (100 mg/kg/jour pendant 7 jours).

III.6.2 Antidépresseur

L'activité antidépresseur du composé **38** a été évaluée chez des souris femelles Swiss W Ebster (0,5 et 2µg/ip). Des doses de 1 µg/kg ont montré une différence significative $p < 0,001$ par rapport au contrôle négatif. L'impramide (20 mg/kg ip) a été utilisé comme témoin positif (Sarker et *al.*, 2014).

III.6.3 Antidiabétique

Les extraits aqueux de *A. cathartica* (400 mg/kg pendant 28 jours) ont réduit dans le sang le taux de glucose chez les rats diabétiques avec la streptozotocine par rapport au glibenclamide (5 mg/kg) comme standard avec une signification statistique $p < 0,001$ (Chaithra, 2017)

III.6.4 Antifertilité

L'administration orale d'extraits aqueux des feuilles (150 mg/kg/jour pendant 14, 28 et 42 jours) induit l'infertilité et des changements dans divers paramètres reproductifs mâles à parkes souches de souris. Histologiquement, les testicules des souris traités à l'extrait ont montré une dégénérescence non uniforme dans le séminifère. Le traitement a également eu des effets indésirables sur la mobilité, la viabilité, les morphologies et le nombre de spermatozoïdes dans les épидидymes de la queue. La fertilité des mâles traités à l'extrait a également été supprimée (Singh et *al.*, 2008).

III.6.5 Antiviral

Grâce à une méthode *in silico*, il a été déterminé que certains composés présents dans *A. cathartica* ont une activité antivirale contre la protéine de capsid virale de l'hépatite B humaine (Mathew, 2016). L'activité antirabique de l'extrait au méthanol et de l'extrait aqueux des feuilles ont été évaluée ; cependant, les extraits n'ont pas inhibé virus de la rage aux concentrations évaluées (Mehta et *al.*, 2017).

III.6.6 Antipaludique

Dans un modèle *in vivo* chez des rats albinos, l'activité antipaludique d'un extrait éthanolique de feuille a été évaluée à différents doses (50, 100 et 200 mg/ml). En tant que contrôle positif, le composé **32** a été utilisé (200 mg/kg) et l'extrait a montré un effet similaire au composé **32** (Conrad et al., 2013).

III.6.7 Cytotoxicité

Bien que *A. cathartica* serait vénéneuse en raison de la présence d'un glycoside cardiotoxique (Radford et al., 1994) en elle, des études ont été menées sur la cytotoxicité et la génotoxicité des extraits à l'hexane des feuilles de *A. cathartica* ; il en ressort qu'une concentration de 315 mg/mL est cytotoxique pour les lymphocytes avec une viabilité cellulaire de 79 % alors qu'une CI_{50} de 13,5 mg/mL a été trouvé pour les cellules HeLa. Par ailleurs, au cours de l'évaluation de toxicité aigüe (ip) chez la souris, il a été observé que la DI_{50} était de 1320 ± 15 mg/kg (Akah et al., 1992). L'administration par voie orale de 2 mg/kg de l'extrait éthanolique des fleurs et du composé **45** sur souris Swiss Websterles en dose unique et l'évaluation pendant 14 jours n'ont montré aucun effet toxique, aucun changement des paramètres biochimiques ou hématologiques, et aucun effet génotoxique (Bonomimi et al., 2017). En outre, l'évaluation toxicologique de l'extrait à l'éther de pétrole des feuilles sur les souris albinos n'a montré aucune toxicité à des doses de 100 à 1000 mg/kg pendant 72 heures.

III.6.8 Antioxydant

L'activité antioxydant de cette plante a été évaluée *in vitro* à l'aide des méthodes du FRAP et du TEAC avec le méthanol. L'acide acétique, extrait méthanol-eau (50 :3.7 :46.3 v/v/v) ainsi que les hydrosolubles et la fraction liposoluble des fleurs ont montré les activités antioxydantes via FRAP de 18.95 ± 0.34 et $4.56 \pm 0.11 \mu\text{mol Fe(II)/g}$ respectivement (Saker et al., 2012). Les extraits méthanoliques des fleurs ont montré une activité antioxydante par la méthode DPPH à une concentration de 0,6 mg/mL (Victor et al., 2015). Différentes parties de la plante ont été analysées pour leur activité antioxydante *in vitro* où elle était plus élevée plus > racine > feuille > fleurs.

III.6.9 Toxicité

L'extrait méthanolique des feuilles et les fractions subséquentes (hexane, tétrachlorure de méthane, chloroforme et méthanol) ont été évalués pour leurs effets toxiques sur les artémias. Les fractions solubles dans le chloroforme, l'hexane et le tétrachlorure de méthane ont montré un effet

cytotoxique significatif contre les crevettes *Saumure nauplii* avec des valeurs de CI₅₀ de 1,45 ; 5,00 et 5,24 µg/mL respectivement (Bharath Kumar et al., 2014).

Les composés **38**, **39** et **42** obtenus de l'extrait à l'éthanol à 90% des feuilles de *A. cathartica* ont montré une suppression tumorale significative *in vitro* contre les cellules humaines de carcinome du nasopharynx (KB) avec une DI₅₀ de 2,1 ; 2,6 et 2,7 µg/mL respectivement (Gupta et al., 2004).

IV. Généralités sur la famille des Asparagaceae

Les Asparagaceae sont une famille monogénérique, auparavant inclus dans la famille des Liliaceae. Le nom de la famille a été donné par Jussieu (1789), en référence au genre *Asparagus*. Selon la classification phylogénétique APG IV, cette famille compte également tous les genres des anciennes familles : Asparagaceae, Agavaceae, Phyllanthaceae, Hesperocallidaceae, Hyacinthaceae, Laxmanniaceae, Ruscaceae et Themidaceae. Cette famille botanique appartient à l'ordre des Asparagales, superordre des Lilianae, sous classe des Magnoliidae (Monocotylédones), classe des Equisetopsida, division des Magnoliopsida (Angiospermes), superdivision des Magnoliophyta. Les Asparagaceae sont des arbustes, des lianes et des herbes vivaces par des bulbes ou des rhizomes, distribués dans les régions tempérées chaudes et subtropicales. Ils ont la particularité de présenter un "feuillage" original c'est-à-dire des cladodes fasciculés filiformes avec des tiges très fines et ramifiées qui imitent un feuillage délicat et vaporeux.

IV.1 Généralités sur le genre *Asparagus*

Le genre *Asparagus* L. compte 300 espèces parmi lesquelles *Asparagus officinalis* la délicieuse asperge et *Asparagus plumosus*, les plus répandues (Negi et al., 2010). Les espèces du genre *Asparagus* possèdent des branches persistantes portant des rameaux aplatis en forme d'aiguilles, simulant des feuilles appelées cladodes. Ces cladodes portent des feuilles réduites à l'état d'écailles. Les fleurs sont hermaphrodites, pourvues de 6 étamines, 3 carpelles soudées et de 6 tépales soudés. Les fruits se présentent sous la forme de baie contenant de la graisse, de l'aleurone et de l'hémicellulose. Les racines sont en forme de rhizome ou parfois tubéreuses donnant naissance à des rameaux de fougère bien visibles, de 5 à 15 cm de longueur et 2 cm d'épaisseur (Chauhan et al., 2011). Elles sont plus ou moins lisses et fraîches et commencent à développer des rides longitudinales au séchage. En Afrique, les espèces du genre *Asparagus* sont cultivées comme plantes ornementales. Le genre *Asparagus* est constitué des asperges qui peuvent être dressées ou grimpantes dont la plupart des espèces sont plus ou moins ligneuses.

La plante offre un port buissonnant et peut atteindre plus d'un mètre de hauteur et ses rameaux (souvent épineux chez les plantes âgées) sont souples et longs plus ou moins arqués et

retombants selon les espèces mais toujours très légers et aériens. Le plus populaire est sans doute l'*Asparagus setaceus* 'Plumosus' ou *Asparagus* des fleuristes apprécié dans les compositions florales pour ses tiges plumeuses très élégantes. L'espèce *Asparagus schweinfürthii* Baker, n'a fait encore l'objet d'aucune étude botanique, à notre connaissance.



Figure 2 : Photo des différentes parties de *Asparagus schweinfürthii*

IV.2 Répartition géographique des espèces du genre *Asparagus*

Les espèces du genre *Asparagus* sont largement cultivée dans les régions tropicales et subtropicales de l'Inde et dans l'Himalaya jusqu'à une altitude de 1500 m (Mazumdar et Mukhopadhyay, 2006). On les trouve également dans certaines parties du Sri Lanka, de l'Indonésie, de l'Australie et de l'Afrique tropicale (Chauhan et al., 2011). Aujourd'hui, on retrouve les espèces du genre *Asparagus* dans tous les continents et au Cameroun, on trouve *Asparagus schweinfürthii* à l'extrême-nord plus précisément.

IV.3 Intérêts et usages des plantes du genre *Asparagus*

Les plantes médicinales sont connues pour leurs valeurs médicinales traditionnelles et sources pour de nombreux médicaments modernes (Singh et al., 2004 ; Chauhan et al., 2011 ; Rawat et Singh, 2013 ; Bianchi, 2015). Elles sont le cadeau de la nature donnée à l'être humain pour mener une vie saine.

➤ **Sur le plan culturel et économique**

Les espèces du genre *Asparagus* sont cultivées pour ses succulentes tiges printanières. Plusieurs espèces africaines sont cultivées comme plante ornementale.

➤ **Sur le plan médicinal**

Les connaissances traditionnelles et modernes sur ce genre ont confirmé d'énormes potentiels médicinaux (Chauhan et al., 2011). Ce fil médicament a été signalé dans les pharmacopées

indiennes et britanniques et dans le système international de médicaments traditionnels comme l'Ayurveda, Unani et Siddha pour le traitement des maladies (Wiboonpun et al., 2004).

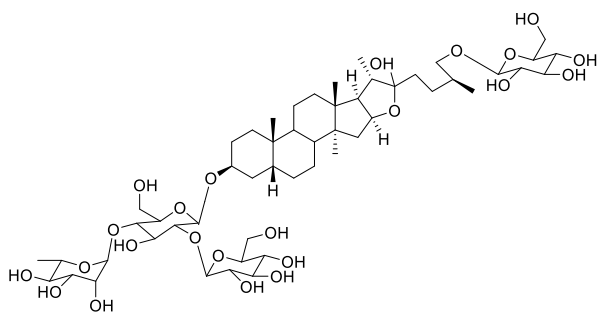
L'utilisation de cette plante est mentionnée dans la littérature ancienne d'Ayurveda (Charaka samhita) (Chawla et al., 2011). Traditionnellement, *Asparagus* est indiqué pour soigner l'épilepsie, les troubles de vata (Gomase et al., 2010), aide à réguler les troubles cardiaques et l'hypertension. Il est largement utilisé dans les dysfonctionnements génitaux masculins, oligospermie, irrégularités spermatogènes et d'autres troubles masculins tels que la miction douloureuse (Sahu et al., 2002 ; Dartsh, 2008). Il est également exploré dans les formulations ayurvédiques pour inconfort digestif, indigestion, amibiase, hémorroïdes et la débilité (Sharma et al., 2012 ; Hussain et al., 2011).

En Thaïlande, traditionnellement, les racines décortiquées de la plante ont été utilisées comme remède contre les maladies de la rate, du foie et d'autres organes internes, y compris la prévention fausse-couche (Wiboonpun et al., 2004).

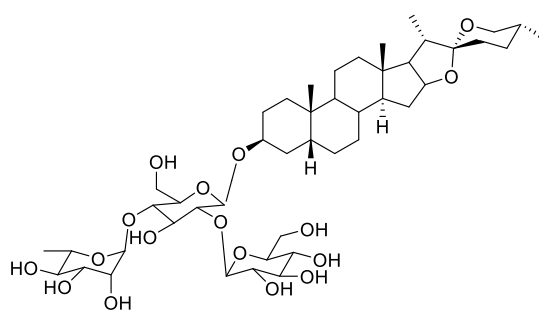
En Inde, conventionnellement les racines ont été utilisées lors de douleurs internes, de tumeurs, fièvre et comme tonique (Kala, 2009).

IV.4 Travaux chimiques antérieurs des espèces du genre *Asparagus*

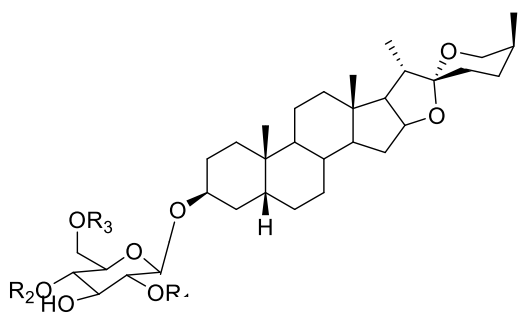
Les travaux chimiques antérieurs effectués sur les espèces du genre *Asparagus* ont révélé qu'elles contiennent des sapogénines et des saponines, dans leurs différentes parties. Ainsi, des racines de *Asparagus racemonus*, ont été isolés la Shatavarine I (48), Shatavarine VI (49), L'Asparinine A (50), Shatavarine VII (51) (Hayes et al., 2008).



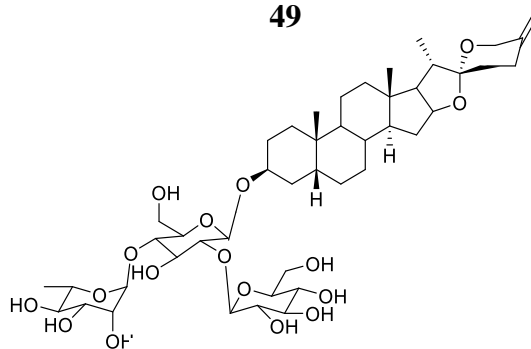
48



49



50



51

Des rapports et des expériences récentes ont révélé que les Shatavarine sont reconnus pour leurs activités antidiarrhéique (Venkatesam *et al.*, 2005), antispasmodique, aphrodisiaque (Sharma *et al.*, 2012), antidysentérique, adoucissant, diurétique (Potduang *et al.*, 2008), galactagogue, nutritif, mucilagineux, réfrigérant et agit comme tonique pour les êtres humains (Pharmacopée, 2007). Il est également connu pour renforcer le système immunitaire et protéger les organes vitaux comme le cœur (Visavadiya *et al.*, 2009), cerveau (Goel *et al.*, 2002) et autres organes du corps.

IV.5 Généralités sur les saponosides

IV.5.1 Définition

La saponine est un hétéroside généralement d'origine végétale formé d'une génine de type triterpène ou stéroïde appelée sapogénine, possédant un ou des groupements osidiques. Les saponosides sont un vaste groupe de glycosides, largement distribués chez les plantes supérieures. Leurs propriétés tensio-actives les distinguent des autres glycosides. Ils se dissolvent dans l'eau pour former des solutions moussantes colloïdales par agitation (Tyler *et al.*, 1981). Elles sont généralement connues en tant que composés non-volatils. Le nom « saponine » est dérivé du mot latin *sapo*, qui signifie « savon », parce que les molécules de saponosides forment des solutions moussantes quand on les mélange avec l'eau. Structurellement et chimiquement, ce sont les molécules glycosidiques triterpéniques et stéroïdiques. Cette combinaison structurelle d'éléments polaires et non polaires (caractère amphiphile), explique leur comportement de savon dans les solutions aqueuses (Oleszek., 2002) et leur dote des propriétés émulsifiantes (Price *et al.*, 1987). Les saponosides ont un large éventail de propriétés, dérivant de leur goût doux et amer (Grenby, 1991 ; Kitagawa, 2002 ; Heng *et al.*, 2006). On peut citer des propriétés pharmacologiques telles que les effets analgésiques, antidépresseurs, des propriétés hémolytiques (Oda *et al.*, 2000 ; Sparg S *et al.*, 2004), ainsi que des activités antimicrobiennes, insecticides (Sparg *et al.*, 2004). Ces divers atouts leur octroient des applications dans le secteur des boissons, des confiseries, de la cosmétique (Price *et al.*, 1987 ; Petit *et al.*, 1995) et des produits pharmaceutiques (Sprag *et al.*, 2004).

Leur diversité structurelle est énorme. L'élucidation des structures chimiques des produits naturels et leurs voies biosynthétiques, ont considérablement avancé, et il est devenu possible de nos jours d'avoir une classification plus précise. Ces progrès ont stimulé la classification des produits naturels à partir de la voie biosynthétique de leur squelette carboné (Devon *et al.*, 1972 ; Connolly *et al.*, 1991 ; Xu *et al.*, 2004). Cependant, la classification peut être basée sur les transformations ultérieures que subissent les principaux squelettes carbonés issus de la biosynthèse tels que les réarrangements mineurs, les oxydations, les réductions, les homologations et/ou des dégradations.

Plusieurs travaux ont été publiés au cours des deux dernières décennies en mettant l'accent sur la biosynthèse, l'isolement, l'élucidation et les activités biologiques des saponines (Kulshreshtha et *al.*, 1972 ; Mahato et *al.*, 1997 ; Tan et *al.*, 1999 ; Connolly et *al.*, 2000 ; Sparg et *al.*, 2004).

IV.5.2 Biosynthèse des sapogénines à partir de l'oxydosqualène

Elles sont issues de la voie des isoprénoïdes dans laquelle trois unités d'isoprène se condensent « tête-à-tête » formant le farnésyle pyrophosphate. Ensuite deux molécules de farnésyle pyrophosphate se lient « queue-à-queue » pour conduire au squalène (Holstein et *al.*, 2004). Le squalène est par la suite oxydé en oxydosqualène qui se cyclisera de façon différente pour former les squelettes triterpéniques en C-30 et stéroïdiques en C-27 (Vincken et *al.*, 2007).

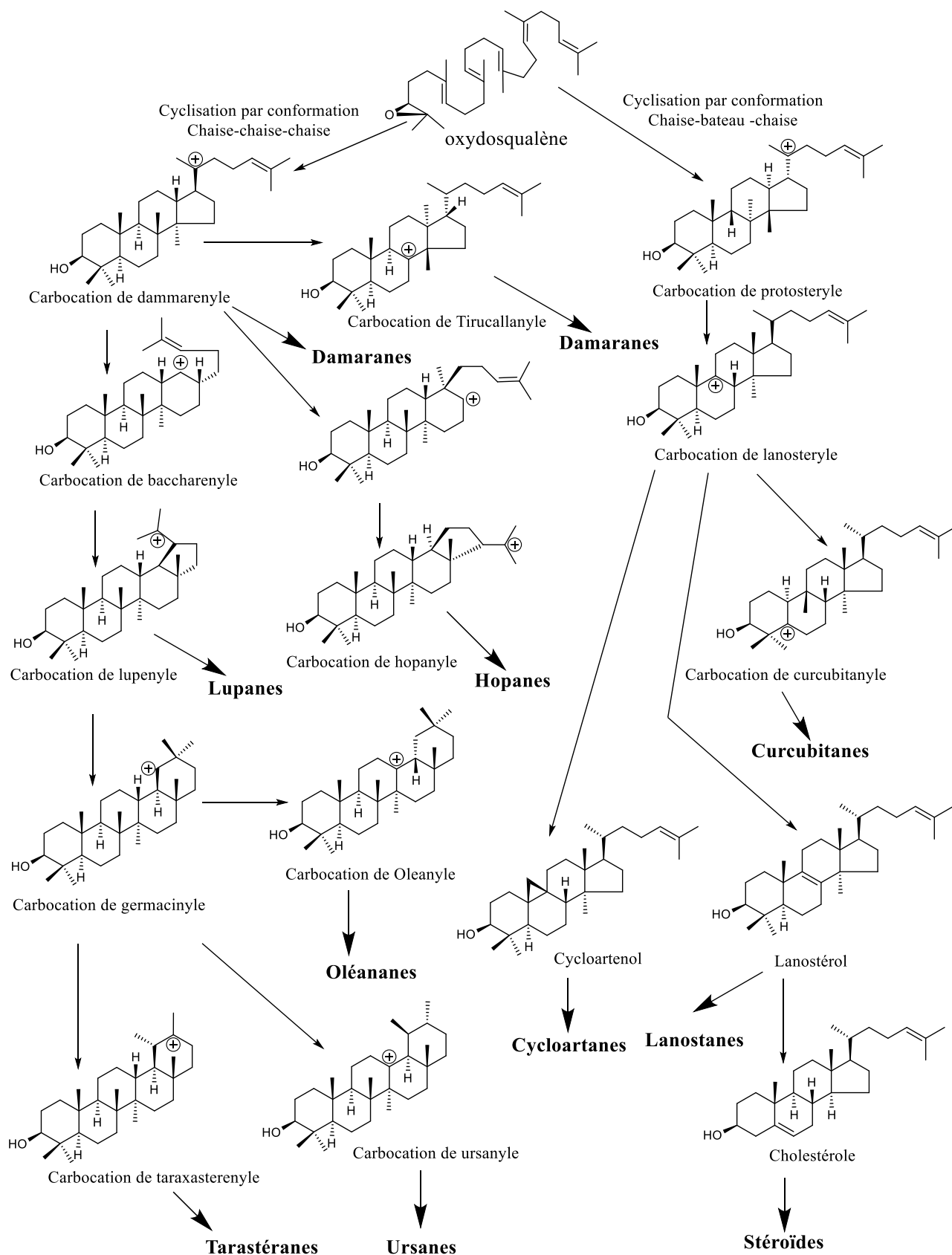


Schéma 1 : Cyclisation de l'oxydosqualène en squelette triterpénique et stéroïdique (Vincken et al., 2007)

IV.5.3 Structures des saponines

Structuralement, les saponines peuvent être classées en deux groupes selon la nature de la génine :

➤ Le premier groupe est constitué des saponosides stéroïdiques, qui sont presque exclusivement présent dans les angiospermes monocotylédones (Liliopsida) : Alliaceae (*Allium*), Agavaceae (agave, *Yucca*), Asparagaceae, Dioscoreaceae (*Dioscorea*). On en connaît toutefois chez les Fabaceae (fenugrec), les Solanaceae (Tabac) ou chez des Plantaginaceae (Digitales).

➤ Le second groupe est constitué des saponosides triterpéniques pentacyclique, qui sont les plus courants et surviennent surtout chez les angiospermes dicotylédones (Magnoliopsida) : Araliaceae, Fabales, Cucurbitaceae, etc (Bahrle-Rapp, 2007, Chomsky, 2012).

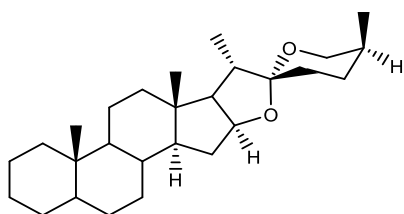
➤ Certains auteurs distinguent un troisième groupe appelé amines stéroïdiques, classés par d'autres auteurs comme alcaloïdes stéroïdiques qui correspond aux glucoalcaloïdes qu'on retrouve chez les solanaceae.

IV.5.4 Saponosides stéroïdiques

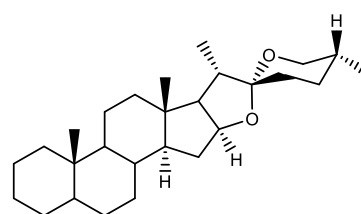
Elles sont constituées d'un squelette en C27 spirostane, comprenant généralement une structure de six anneaux. Dans certains cas, quand la matière végétale est fraîche, le groupement hydroxyle en position C-26 est engagé dans une liaison glycosidique, et ainsi la structure d'aglycone devient pentacyclique et lui confère la structure de furostane (58). Compte tenu de la nature spiro du carbone C-22, on désigne couramment ce squelette hexacyclique par le terme de spirostane (57). Les deux cycles E (furanique) et F (pyranique) sont formellement la conséquence d'une cétilisation intramoléculaire qui intervient après l'oxydation en 16, 22 et 26 d'un précurseur. Les hétérosides spirostaniques sont principalement distribués dans les bulbes, racines et graines.

Les variations structurales des saponosides stéroïdiques sont limitées :

➤ Si le squelette hexacyclique comporte de nombreux carbones asymétriques, seule la configuration du carbone C-25 peut varier ce qui détermine l'existence de deux séries : néosapogénines (25S, le méthyl est axial) (52) et isosapogénines (25R, le méthyl est équatorial) (53) (Bruneton., 2009 ; Hostettmann et al., 1991 et 1995 ; Kamernitskii et al., 1968). La fusion des cycles B/C et C/D est toujours *trans*, celle des cycles D et E est toujours *cis* et la configuration des carbones C-20 et C-22, respectivement *S* et *R* est également constante chez les sapogénines naturelles.

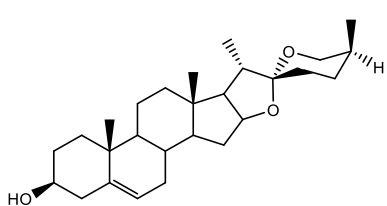


Néosapogénines : 25S-spirostane (**52**)

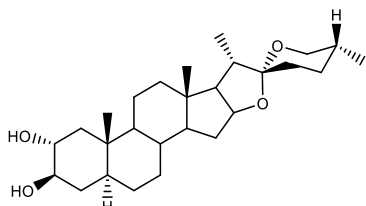


Isosapogénines : 25R-spirostane (**53**)

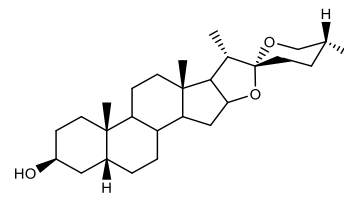
➤ La double liaison en 5,6 peut être conservée (exemple : diosgénine) ou réduite, ce qui induit l'existence de dérivés à cycle A/B fusionnés en *trans* (H-5 α , exemple : tigogénine, digitogénine) ou en *cis* (H-5 β , exemple : smilagénine, sarsapogénine) avec leurs déplacements chimiques égale à 40 et 36,2 ppm respectivement.



Diosgénine (**54**)



Digitogénine (**55**)



Smilagénine (**56**)

➤ Les furostanols ont un anneau F ouvert et un sucre lié en C-26. Marker et Lopez postulèrent pour la première fois l'existence des glycosides à chaîne ouverte de ce type en 1947. L'hydrolyse enzymatique (ou acide) du sucre en position C-26 conduit à la fermeture spontanée du cycle, formant ainsi le dérivé spirostanol (schéma 2). L'ouverture du cycle a été observée dans des cultures cellulaires (Tschesche et Wulf, 1972 ; Marker et Lopez, 1947).

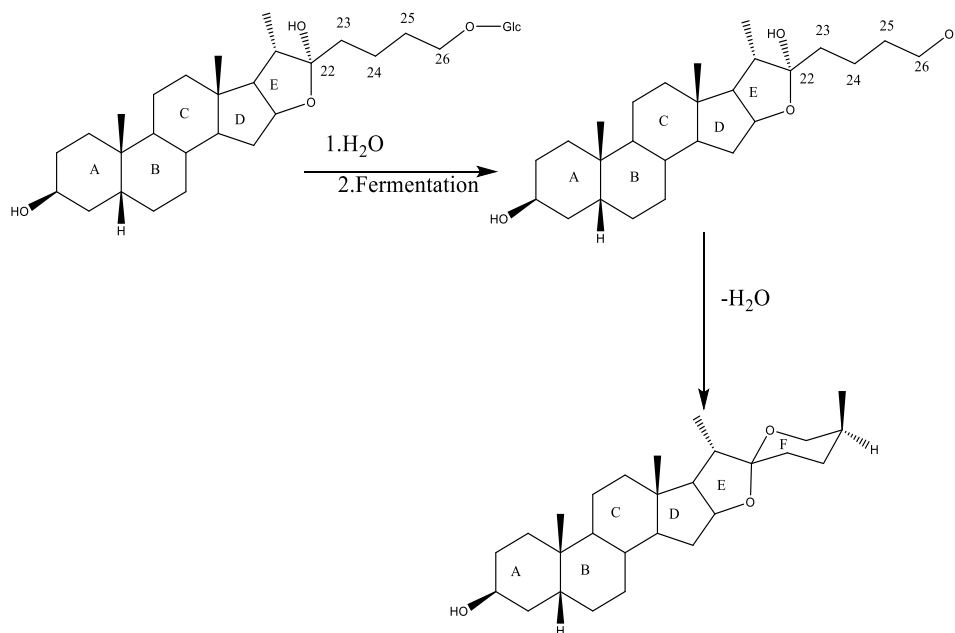


Schéma 2 : Conversion d'un glycoside furostanol en un spirostanol par hydrolyse enzymatique du 26-glycoside (Tschesche et Wulf, 1972 ; Marher et Lopez, 1947).

➤ L'hydroxyle porté par le C-3 est constant, mais l'oxydation peut aussi conserver d'autres carbones : possibilité d'hydroxylation en C-1, C-2, C-5, C-6 et, plus rarement en C-17 ou en C-24 chez les Asparagales (agigénines, convallagénine, chlorogénine, cépagénine),

➤ Très exceptionnellement, on peut avoir une lactone (spirostan-26-one, *Solanum*), une deméthylation (18-norpirostanols, *Trillium*) ou encore la sulfatation d'un hydroxyle de la génine.

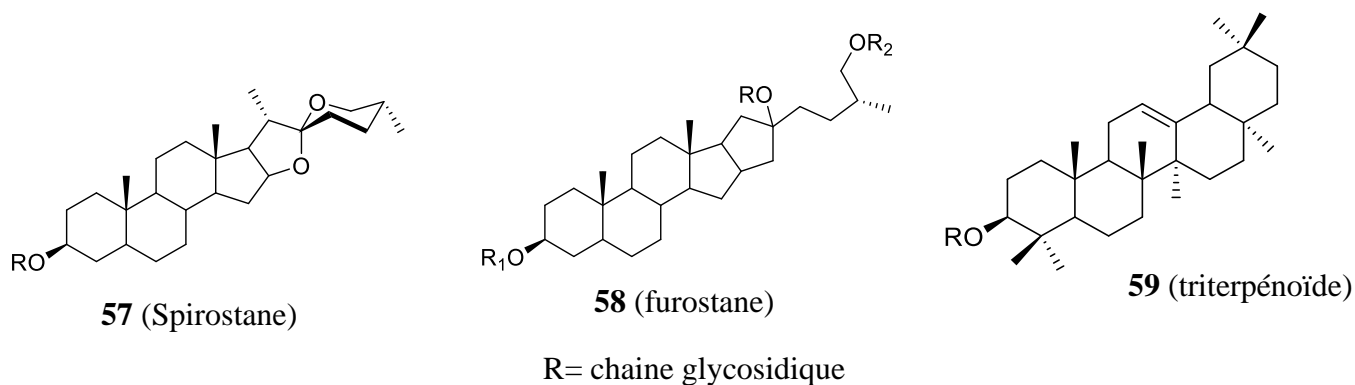


Figure 3 : Différentes formes de squelette d'un aglycone

IV.5.5 Saponosides triterpéniques

Elles sont constituées d'un aglycone triterpénique qui se compose d'un squelette C₃₀, comprenant une structure pentacyclique (**59**). On les trouve principalement dans les angiospermes dicotylédones. Les saponosides à aglycone triterpénique présentent une cyclisation de (3*S*) 2,3-époxy-2,3-dihydrosqualéne. Cette cyclisation conduit en premier lieu aux dammaranes molécules tétracycliques qui existent à l'état d'hétérosides dans des plantes comme le ginseng. Beaucoup plus fréquemment, le composé tétracyclique de type dammarane n'est qu'un intermédiaire qui évolue vers des squelettes pentacycliques : oléanes, ursanes et lupanes qui peuvent eux-mêmes subir quelques réarrangements. De ce fait, les sapogénines triterpéniques de loin les plus nombreuses sont des molécules pentacycliques : oléane (dérivé de la β -amyrine), ursane (dérivé de la α -amyrine) et lupane, ces trois squelettes sont les plus communs. Plus de 50% des saponines connues se rattachent à l'oléane, en particulier à l'acide oléanolique et à l'hédéragénine. Les éléments structuraux qui caractérisent ces séries sont :

- L'existence habituelle d'une insaturation en C-12(13) ;
- L'oxydation fréquente des carbones des méthyles en C-23 et C-28, mais aussi en C-30 (hydroxyméthyle, aldéhyde ou carboxyle) ;
- L'oxydation d'un plus ou moins grand nombre de carbones cycliques : C-2, C-7, C-11, C-15, C-16, C-21, C-22. L'oxydation de l'un de ces hydroxyles en cétone n'est pas rare (surtout au niveau de C-11) et la polyfonctionnalisation peut entraîner, par estérification interne ou lactonisation,

la formation de cycles supplémentaires. C'est le cas des 13β , 28-oxydes, souvent isolés sous la forme artéfactuelle d'un 12-én-28-ol ;

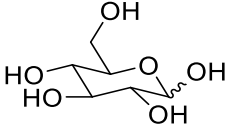
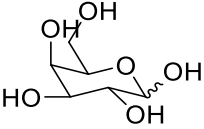
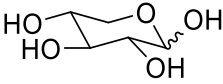
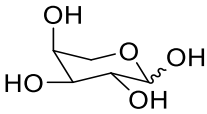
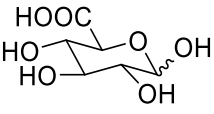
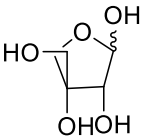
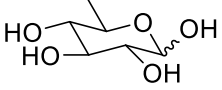
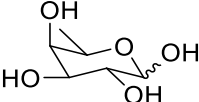
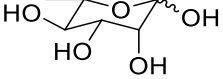
- Il peut arriver que la génine soit partiellement estérifiée, généralement par des acides aliphatiques de faibles masses moléculaires. Parfois, la génine dérive du lanostane, du cycloartane (*Passiflora*, *Abrus*) ou d'un nortriterpène.

IV.5.6 Les sucres

Une ou plusieurs chaînes osidiques peuvent se lier aux génines triterpéniques ou stéroïdiques pour former les saponines. Celles-ci peuvent être constituées d'une à douze unités osidiques en chaîne linéaire ou ramifiée. Les sucres les plus courants au niveau des saponines sont :

- des hexoses (D-glucopyranose, D-galactopyranose)
- des 6-déoxy-hexoses (L-rhamnopyranose, D-fucopyranose, D-quinovopyranose)
- des pentoses (L-arabinopyranose, D-xylopyranose, D-apiofuranose)

Tableau 5 : Différents sucres constitutifs des saponines

| | | |
|--|--|---|
|  <p>D-glucopyranose 60</p> |  <p>D-galactopyranose 61</p> |  <p>D-xylopyranose 62</p> |
|  <p>L-arabinopyranose 63</p> |  <p>acide D-glucopyranose 64</p> |  <p>D-apiofuranose 65</p> |
|  <p>D-quinovopyranose 66</p> |  <p>D-fucopyranose 67</p> |  <p>L-rhamnopyranose 68</p> |

IV.5.7 Méthodes d'études des saponines

L'intérêt pour les plantes médicinales et produits alimentaires combiné à une impressionnante évolution des outils d'analyse a débouché sur plusieurs publications concernant l'isolement et la caractérisation de nombreuses nouvelles saponines et à des méthodes modernes concernant la séparation et l'analyse des saponines (Marston *et al.*, 2000 ; Muir *et al.*, 2000 ; Schöpke, 2000).

IV.5.8 Extraction et purification des saponines

La première indication de la présence de saponines dans les extraits végétaux et/ou fractions brutes peut être obtenue à l'aide de la pulvérisation de réactifs. Les saponines de type stéroïdique donnent des taches jaunes sur une plaque de chromatographie sur couche mince (CCM) avec l'anisaldéhyde, vertes avec le réactif de Komarowski qui fait apparaître en violet les taches liées aux saponines de type triterpénique. Le travail de purification de saponines commence naturellement par l'obtention d'un mélange de saponines brutes. Chaque protocole d'extraction des saponines est à adapter en fonction de la plante à étudier et de sa composition en saponines (stéroïdes ou triterpènes). En règle générale, tout commence par l'extraction de la matière végétale avec un solvant polaire, ou des solvants de polarités croissantes suivant le schéma global d'extraction

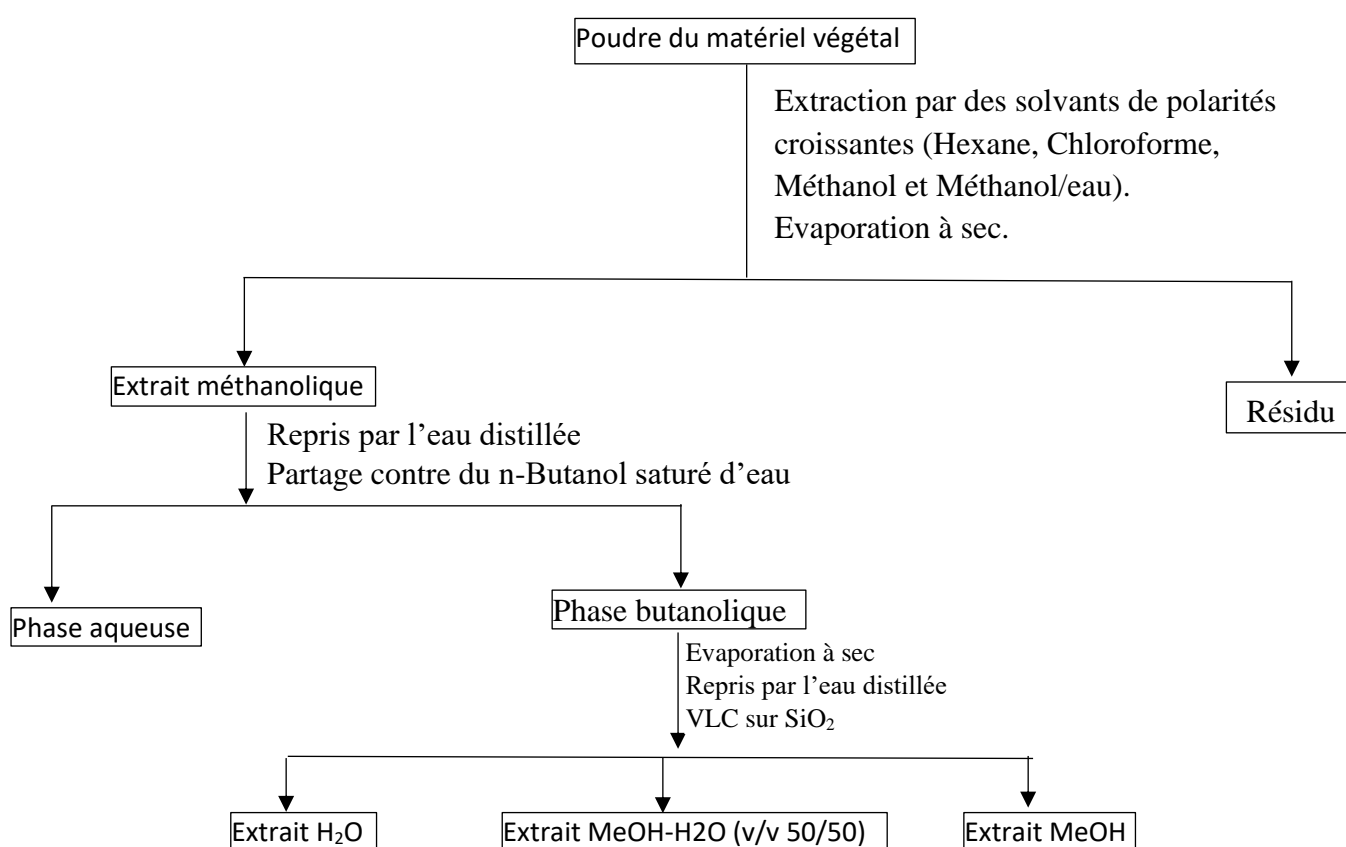


Schéma 3 : Protocole d'extraction des saponines à partir des racines d'une plante

IV.5.9 Les techniques physico-chimiques

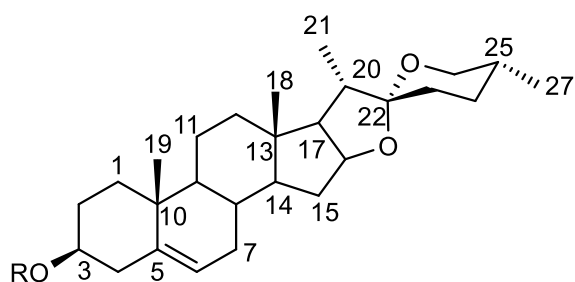
IV.5.9.1 Les techniques chromatographiques

La séparation d'un mélange de saponines en différents composants est une tâche difficile qui nécessite l'application combinée de plusieurs techniques chromatographiques. La chromatographie sur couche mince (CCM) et la chromatographie sur couche mince haute performance (HPTLC) sont souvent utilisées pour les analyses qualitatives de routine (Mangle et *al.*, 1998). La purification qui est ensuite réalisée et peut impliquer la chromatographie liquide à pression atmosphérique sur une colonne de gel de silice (CC), la chromatographie Flash, la chromatographie liquide à moyenne pression (MPLC) ou la chromatographie liquide à haute pression (HPLC) qui est devenue la technique la plus puissante et la plus couramment employée. Dans la plupart des cas, certaines de ces étapes doivent être répétées avec un changement de support ou d'éluant afin d'atteindre un niveau de pureté élevé. Trois types de support sont souvent utilisés, notamment la silice en phase normale, la silice en phase inverse (RP-18) et le gel de Séphadex LH-20. Des solvants variés mettent en jeu la plupart du temps des mélanges de chloroforme-méthanol-eau sur silice normale, des mélanges méthanol-eau sur silice en phase inverse et des mélanges acétonitrile-eau en HPLC.

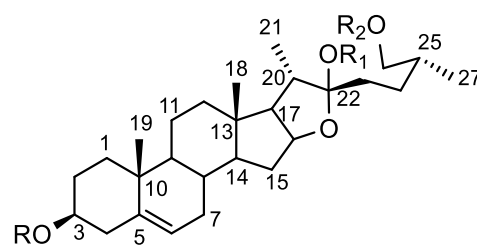
IV.5.9.2 Détermination structurale

La détermination structurale des saponines se déroule généralement en deux étapes : premièrement une analyse chimique préliminaire par l'intermédiaire d'hydrolyses acides et alcalines fortes et/ou douces, permettant d'obtenir des informations sur la nature de l'aglycone et des sucres. Puis des méthodes spectroscopiques (spectrométrie de masse et spectroscopie de RMN mono et bidimensionnelle) permettent d'attribuer la structure complète du composé.

❖ Caractérisation des saponines



Structures de type spirostane **57**



Structures de type furostane **58**

❖ Méthodes spectroscopiques

Différentes méthodes physico-chimiques et instrumentales parmi lesquelles les méthodes spectroscopiques et la spectrométrie de masse sont employées pour établir la structure des saponines.

• La spectrométrie de masse

Parmi les méthodes analytiques, la spectrométrie de masse occupe une place de choix grâce à ses caractéristiques : sensibilité, limite de détection ou variété des applications (analyses chimiques quantitatives et qualitatives, biomédecine, réactions ions-molécules, etc.). A l'origine la spectrométrie de masse servait à détecter et séparer les différents isotopes d'un élément. Elle est maintenant utilisée pour élucider la structure d'une substance. Elle peut être combinée à d'autres méthodes telles que la chromatographie en phase gazeuse ou chromatographie en phase liquide.

➤ ESI-MS

L'électrospray (électronébullation) est produit par application d'un fort champ électrique à pression atmosphérique sur un liquide traversant un tube capillaire avec un faible débit (couramment entre 1-10 $\mu\text{L}/\text{min}$). Le champ électrique est obtenu par application d'une différence de potentiel de 3 à 6 KV entre le capillaire et la contre-électrode, séparés de 0,3 à 2 cm. Ce champ provoque une accumulation de charges à la surface du liquide, située à l'extrémité de capillaire, qui va se rompre pour former des gouttelettes hautement chargées (De Hoffmann et *al.*, 1994).

➤ FAB-MS

Dans cette méthode, un faisceau d'atomes neutres comme le Xénon ou l'Argon est dirigé sur un solide provoquant sa désorption et son ionisation. Ce type d'ionisation donne peu de fragments mais un ion moléculaire intense. Il est surtout utilisé pour l'analyse des molécules de poids moléculaire élevé. Dans cette technique, l'ion moléculaire n'est pas toujours observable. On observe généralement l'ion correspondant au poids moléculaire plus un proton $[\text{M}+\text{H}]^+$, on parle alors de mode positif (FAB⁺) ou l'ion correspondant au poids moléculaire moins un proton $[\text{M}-\text{H}]^-$, on parle alors de mode négatif (FAB⁻). D'autres ions adduits peuvent se former lorsqu'il existe des impuretés de sel ou par addition de chlorure de sodium NaCl (on obtient dans ce cas $[\text{M}+\text{Na}]^+$), ou de chlorure de potassium (on obtient $[\text{M}+\text{K}]^+$).

• Résonance Magnétique Nucléaire (RMN)

L'application des techniques de RMN 1D (¹H et ¹³C) et 2D (COSY, HSQC, TOCSY, HMBC, NOESY et/ou ROESY) permet de réaliser une élucidation structurale fiable des saponines et d'assigner complètement tous les carbones et protons de la molécule.

➤ Spectroscopie de RMN monodimensionnelle (¹H et ¹³C)

Généralement, les spectres RMN ¹H montre clairement la présence les protons anomériques (4.3–6.9 ppm) dans la pyridine, ainsi que les doublets des méthyles des déoxy-6-hexoses (1,4– 1,8

ppm). Les valeurs élevées des constantes de couplage ($J > 7,0$ Hz) observées pour les protons anomères de *D*-glucose, *D*-galactose et *D*-xylose sont caractéristiques pour la configuration β tandis que les petites valeurs ($J = 1-1,5$ Hz) observées pour le *L*-rhamnose suggère la configuration α . L'analyse du spectre RMN ^{13}C rend les choses encore plus simples. Les carbones anomériques résonnent dans une région bien distincte du spectre (90–112 ppm). Cela permet d'avoir une estimation du nombre de sucre présents dans la molécule. L'orientation du proton anomérique du *L*-rhamnose pourrait être également confirmée à partir des déplacements chimiques des carbones C-3 et C-5. Pour le β -*L*-rhamnopyranoside ces carbones résonnent à 75,4 et 73,5 ppm, tandis que pour le α -*L*-rhamnopyranoside, on les observe à 72,5 et 69,4 ppm, respectivement (Agrawal et al., 1985 ; Sang et al., 1999).

➤ **RMN Bidimensionnelle Homonucléaires**

✓ **COSY (Corrélation Spectroscopy)**

Les spectres COSY mettent en évidence les couplages directs (géminal et vicinal) des protons d'un même système de spins. Ce sont des couplages scalaires ^2J , et ^3J (**Fig.4**). Cette méthode peut permettre de retrouver l'enchaînement des protons dans un squelette de la molécule et donc sa nature. Cette expérience permet de connaître les déplacements chimiques des protons osidiques et l'ordre de grandeur des constantes de couplage interprotoné (Gunther, 1996 ; Massiot et al., 1995).

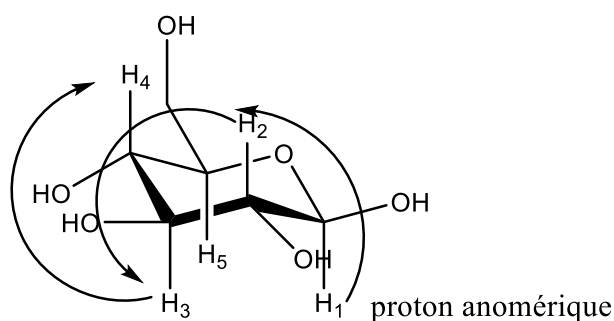


Figure 4 : Corrélations COSY des sucres

✓ **TOCSY (Total Correlation Spectroscopy)**

A partir d'un spectre TOCSY, un « Réseau-J » peut être établi. Il est défini comme un groupe de protons qui sont reliés en série par un couplage scalaire. Par exemple, tous les protons d'une seule unité de saccharide appartiennent à un même « Réseau J » (Agrawal, 1992). Un système de spin peut donc être identifié, s'il y a au moins une résonance dans le système de spin, comme le proton anomère qui est bien isolée et ayant un grand couplage avec ses spins voisins (**Fig. 5**). De façon plus pratique, pour un sucre, il suffit d'observer une résonance pour identifier les autres protons de cette unité osidique. Pour les désoxy-6-hexoses, leurs méthyles caractéristiques servent souvent de point de départ.

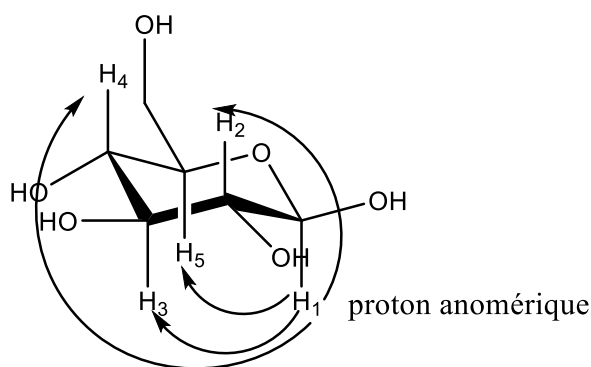


Figure 5 : Corrélations TOCSY des sucres

✓ **NOESY (Nuclear Overhauser Effect Spectroscopy)**

L'expérience NOE (Nuclear Overhauser Enhancement) met en évidence la proximité des protons. Les signaux de corrélation sont observés dans un spectre NOESY entre les paires de protons qui sont proches dans l'espace. En général, on observe des corrélations 1,3-diaxiales et équatoriale-axiales entre les paires de protons distants de moins 4.5 Å (**Fig. 6**).

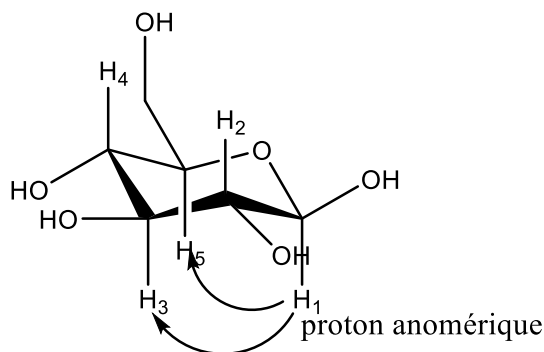


Figure 6 : Corrélations NOESY des sucres

Si le NOESY intramoléculaire est un des outils importants dans l'attribution des signaux d'un résidu saccharidique, le NOESY intermoléculaire est essentiellement utilisé pour déterminer la séquence des sucres et leurs points de jonction. Lorsqu'on observe une corrélation NOESY entre le proton anomère d'un sucre et un proton appartenant à un autre sucre, ces deux protons définissent la liaison entre les deux sucres. Les corrélations NOE sont les plus souvent observées entre le proton anomère et le proton relié à l'atome de carbone de la liaison avec l'aglycone (**Fig. 7**).

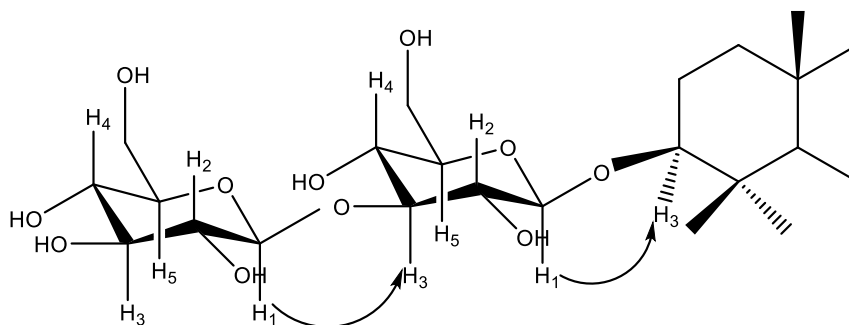


Figure 7 : Corrélations NOESY entre le sucre et l'aglycone

✓ HMBC (Heteronuclear Multiple Bond Correlation)

Cette méthode permet d'observer des corrélations 3J entre proton-carbone, soit le proton anomère d'un sucre et un carbone d'un autre, soit entre le proton anomère d'un sucre et un carbone de l'aglycone, et vice versa. Elle permet ainsi à identifier les liaisons entre les sucres, donc leur séquence et le point de fixation de cette séquence sur l'aglycone (**Fig. 8**).

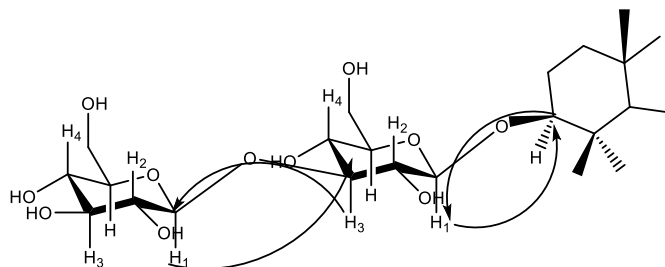


Figure 8 : Corrélations HMBC

✓ HMQC (Heteronuclear Single Quantum Coherence)

Les séquences de pulses permettent d'observer le couplage direct 1J entre un proton 1H et le carbone ^{13}C qui le porte. Les taches de corrélations apparaissent à l'intersection des déplacements chimiques des ^{13}C et des 1H qui sont directement liés les uns aux autres. Cette expérience permet à partir du spectre proton, d'attribuer sans doute la majorité des carbones protonés de la saponine (**Fig. 9**).

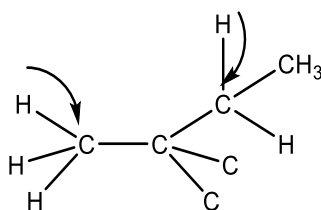


Figure 9 : Corrélations 1H - ^{13}C (1J)

➤ Configuration absolue des sucres

La configuration absolue *D* ou *L* des sucres peut être déterminée par chromatographie en phase gazeuse de dérivés chiraux des sucres issus de l'hydrolysate acide par comparaison des temps de rétention obtenus avec ceux observés pour les dérivés d'échantillons témoins (Hara et al., 1987). Une méthode de détermination des configurations absolues des sucres consiste en la détermination du pouvoir rotatoire de ceux-ci après hydrolyse de la molécule et la séparation par CCM préparatives des sucres. Dans ce cas, il faut des quantités importantes de saponines. Cependant, généralement la configuration absolue *L* pour le rhamnose et arabinose, *D* pour le glucose, le xylose, le fructose et le quinovose est admise puisqu'il s'agit des sucres les plus fréquemment rencontrés dans la nature (Haddad et al., 2003).

➤ Détermination de la position des substituants

La position d'un substituant, par exemple un groupe acyle dans un glycoside ou sur un aglycone ne peut pas être déterminée par les méthodes COSY ou TOCSY. La présence de tel substituant modifie considérablement les déplacements chimiques des protons et carbone du résidu glycosidique auquel il est attaché.

➤ Localisation du groupement acyle

La présence d'un groupement acyle sur un sucre induit des variations des valeurs de déplacements chimiques du sucre en question. Les déplacements chimiques associés à une telle modification sont appelés Déplacements-Induits par Acylation (DIA) (Agrawal, 1992). Dans le spectre RMN ^1H , le proton carbonyle (proton géminale au groupement acyloxy) apparaît dans les champs très faibles (4,9–6,0 ppm) avec une multiplicité caractéristique dépendant du mode de couplage. Leur différenciation avec les protons anomères est souvent simple. Ils apparaissent généralement comme un triplet ou un triplet diffus en fonction des constantes de couplage avec les protons vicinaux, alors que les protons anomères apparaissent comme des doublets ayant des constantes de couplage caractéristiques. Une exception à ce comportement se trouve sur les dérivés 6-O-acylé, dans lesquels les protons H-6, dans la plupart des cas, se chevauchent avec d'autres protons du sucre. L'acylation du groupe hydroxyle alcoolique (le carbone C-6 du sucre) provoque un déblindage de l'ordre de 0,6–3,5 ppm du carbone α (le carbone C-6 du sucre) et un blindage de l'ordre de 1,2–4,0 ppm de la résonance du carbone adjacent (le carbone β , le carbone C-5 du sucre) (Terui et al., 1976 ; Dorman et al., 1975 ; Agrawal et al., 1996).

➤ Localisation du groupement sulfate

La position d'un groupement sulfate sur un glycoside sulfaté peut être déterminée puisque la présence du groupe sulfate influence les déplacements chimiques des carbones et protons. Le groupement sulfate provoque le déblindage des protons vicinaux et géminaux. Le déblindage de ces protons dépend de la nature du groupe hydroxyle mis en cause. Les protons méthylènes ($\text{CH}_2\text{OSO}_3\text{H}$) voient leur résonance augmenter de 0,4-0,5 ppm, alors que le proton méthine (CHOSO_3H) voit son déplacement augmenter considérablement de 0,7-0,9 ppm. Dans le spectre RMN ^{13}C , la présence d'un groupe sulfate provoque un déblindage prononcé du carbone α de l'ordre de 6-11 ppm pendant que le carbone β se trouve plutôt blindé (Sung et al., 1991 ; Kostova et al., 2002 ; Sanchez-Contreras et al., 1998 ; 2000 ; Sasmakov et al., 2003 ; Shaker et al., 2000).

Dans une démarche méthodique, basée sur les méthodes spectroscopiques décrites ci-dessus, il sera question dans la deuxième partie de cette thèse, d'expliquer la détermination des structures des composés obtenus au cours de ce travail.

RESULTATS ET DISCUSSION

Les travaux que nous avons menés pour la préparation de cette thèse se focalisent sur deux aspects : isolement et caractérisation des métabolites secondaires de deux plantes médicinales camerounaises : *Asparagus schweinfürthii* Baker (Asparagaceae) et *Allamanda cathartica* L. (Apocynaceae) et l'évaluation de l'activité cytotoxique sur cellules tumorales et de l'activité antituberculeuse des extraits et composés isolés.

I. Etude chimique

Elle a porté sur l'extraction, l'isolement, la purification et la caractérisation des constituants des extraits des racines de *Asparagus schweinfürthii* Baker et de *Allamanda cathartica* L.

I.1 Extraction, isolement et caractérisation des composés isolés des racines de *Asparagus schweinfürthii*

I.1.1 Extraction et isolement des composés des racines de *Asparagus schweinfürthii*

Les racines de *Asparagus schweinfürthii*, récoltées à Maroua en avril 2019, ont été découpées, séchées et broyées. 200 g de poudre obtenue ont subi une extraction au méthanol/eau (80 : 20) à la température ambiante pendant 72 heures. Après filtration et concentration, 37 g de l'extrait hydrométhanolique ont été dissouts dans l'eau et a subi une solubilité différentielle à l'hexane (5 g), à l'acétate d'éthyle (8 g) et au n-butanol (17 g).

L'extrait au n-Butanol a conduit à l'isolement de onze composés indexés, AS43, ASF33C1, ASF33C9A, ASFC5A, ASFC4-DMSO_{a/b}, AST6, AST9, AST5, ASFC5B_{1/2}. Le protocole utilisé est illustré par le schéma 4.

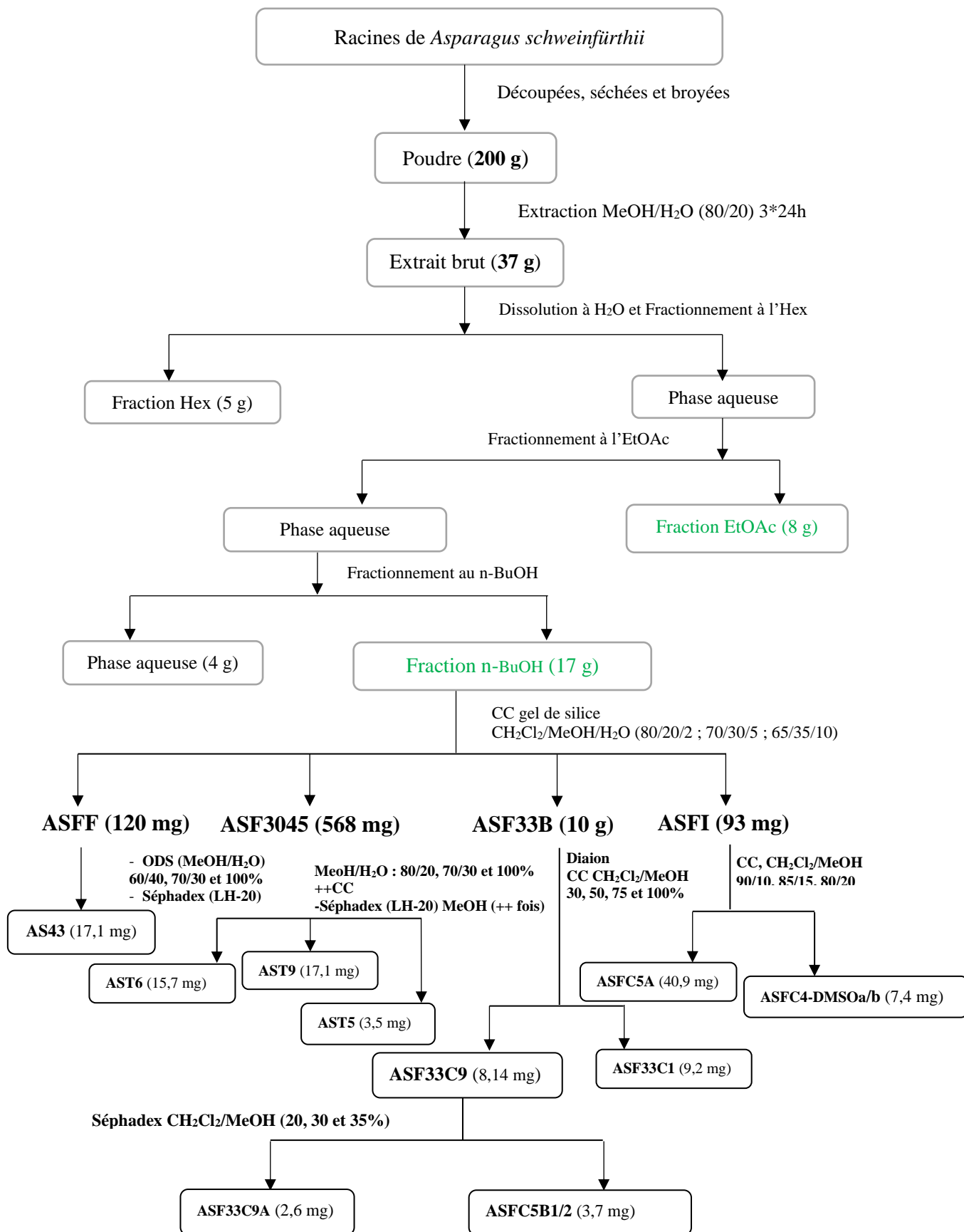


Schéma 4 : Protocole d'extraction et de purification des composés de *Asparagus schweinfürthii* de la fraction au n-BuOH

La fraction à l'acétate d'éthyle a conduit à l'isolement de neuf composés indexés AS2, AS4, ASP81, ASF2, ASF3, ASF4a/b et ASF39_{1/2}.

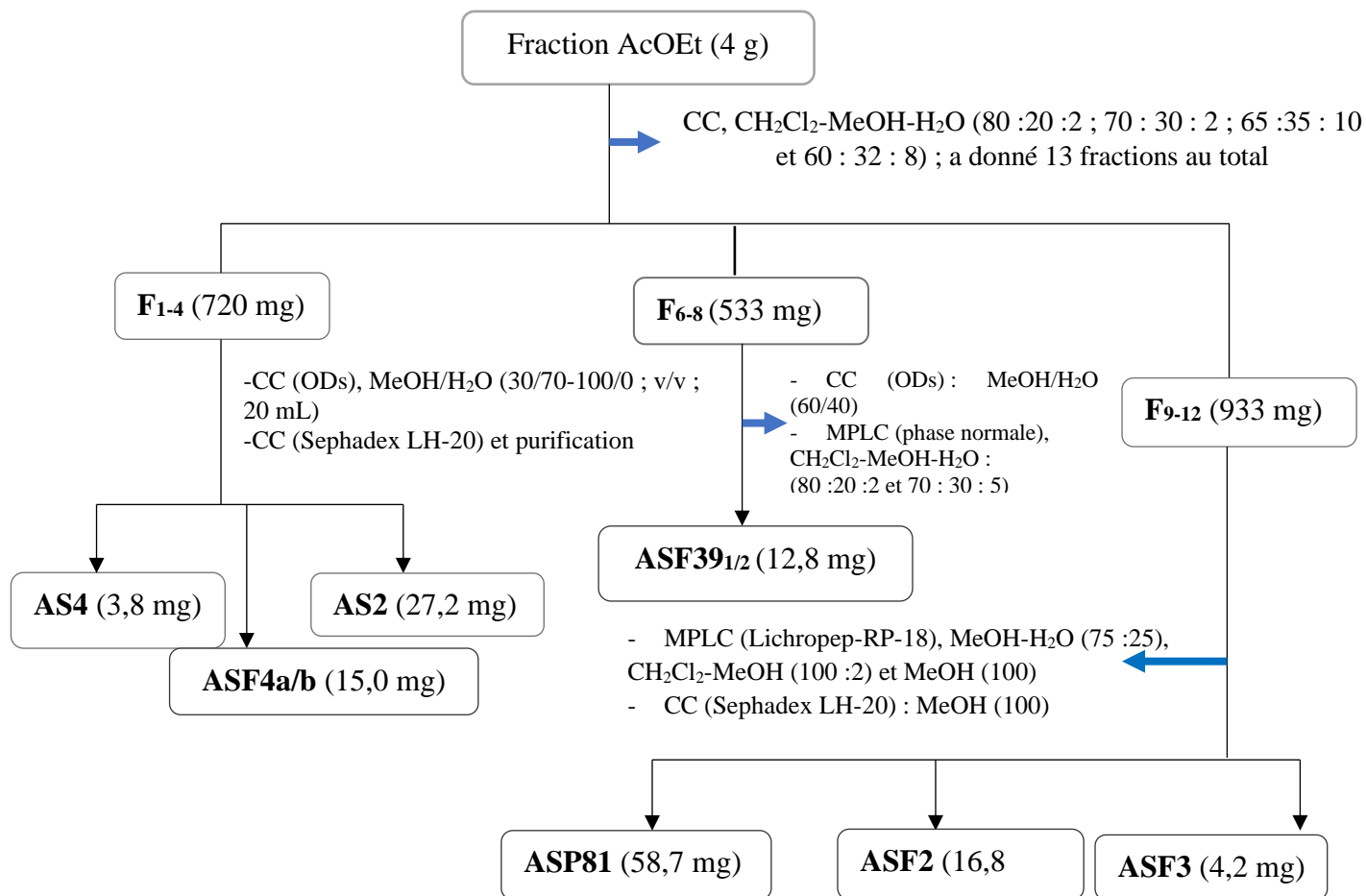


Schéma 5 : Protocole d'extraction et de purification des composés de *Asparagus schweinfürthii* de la fraction à l'acétate d'éthyle.

I.1.2 Caractérisation structurale des composés isolés des racines de *Asparagus schweinfürthii*

Au terme des différents processus de séparation et de purification, nous avons caractérisé 14 composés de cette plante. La détermination de leurs structures s'est basée essentiellement sur l'analyse des spectres de Résonance Magnétique Nucléaire (RMN) 1D (^1H et ^{13}C) et 2D (COSY, HMQC, HSQC-TOCSY et HMBC) ainsi que l'analyse des spectres de masse.

I.1.2.1 Identification du composé AS43 (ASF2)

Le composé **AS43** se présente sous forme de poudre blanche amorphe, est soluble dans le méthanol et répond positivement au test de Libermann-Bürchard en donnant une coloration bleu-verdâtre caractéristique des stéroïdes et au test de Molisch caractéristique des sucres suggérant que **AS43** est une saponine. Sa formule brute $\text{C}_{39}\text{H}_{62}\text{O}_{12}$, possédant 9 degrés d'insaturations, est déduite de l'analyse des spectres de RMN 1D et 2D.

Identification de l'aglycone

Le spectre de RMN ^1H (**Fig. 10**) de **AS43** indique à δ_H 5,30 (*m*) le pic d'un proton oléfinique H-6, deux oxyméthines à δ_H 3,46 (*m*) et 4,32 (*d*; 7,8 Hz) correspondants aux protons H-3 et H-16 respectivement et un signal à δ_H 1,67 correspondant au proton H-17. Il apparaît également deux pics caractéristiques d'un oxyméthylène à δ_H 3,21 (*m*) et 3,37 (*m*) correspondants aux protons H-26a et H-26b, deux méthyles singulets à δ_H 0,73 (*s*) et 0,97 (*s*) et deux méthyles doublets à 0,88 (*d*; 7,0 Hz) et 0,71 (*d*; 6,4 Hz) correspondants aux méthyles H-18, H-19, H-21 et H-27, respectivement.

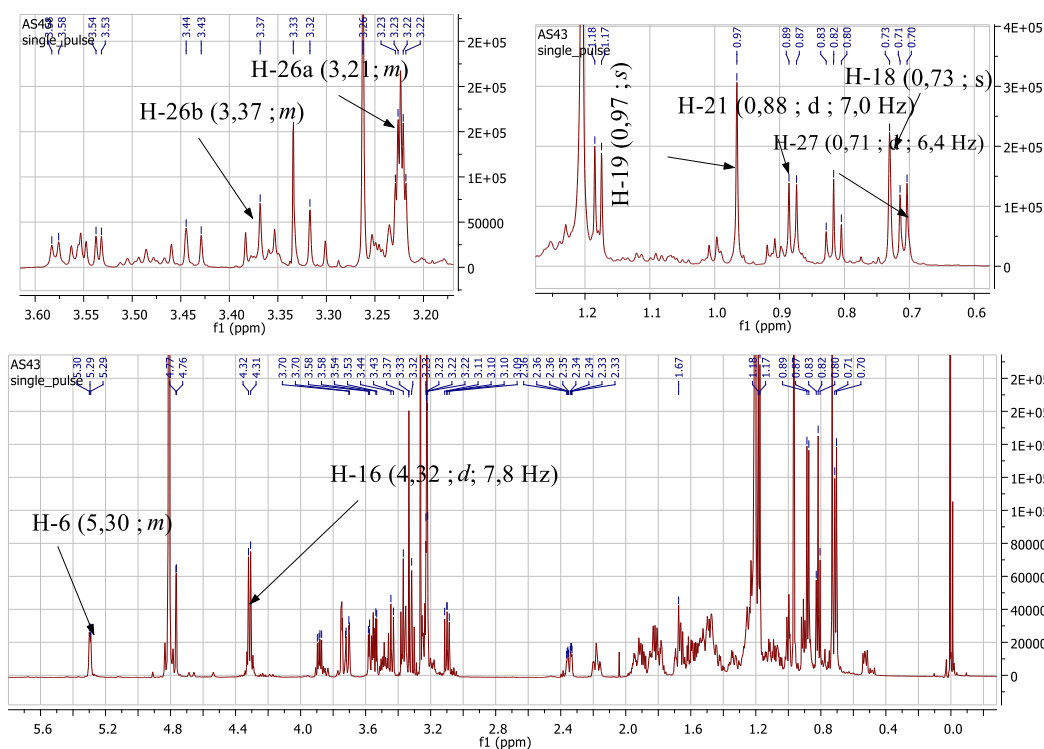


Figure 10 : Spectre de RMN ^1H (600 MHz, CD_3OD) de **AS43**

Le spectre de RMN ^{13}C (**Fig. 11**) de **AS43** montre des pics à δ_{C} 141,6 ; 121,2 ; 80,9 et 75,3 attribuables aux carbones oléfiniques C-5 et C-6, et aux oxyméthines C-16 et C-3, respectivement. Le même spectre révèle un signal à δ_{C} 62,4 correspondant au carbone C-17. Les déplacements chimiques à δ_{C} 66,5 et 109,2 sont caractéristiques des carbones C-26 et C-22 du cycle F des spirostanes (Zhou X *et al.*, 2006). Il indique aussi quatre signaux à δ_{C} 13,6 ; 15,5 ; 16,5 et 18,5 correspondants aux carbones des méthyles C-21, C-27, C-18 et C-19, respectivement. Ces données suggèrent que le composé **AS43** a pour squelette de base un stéroïde de type spirostane.

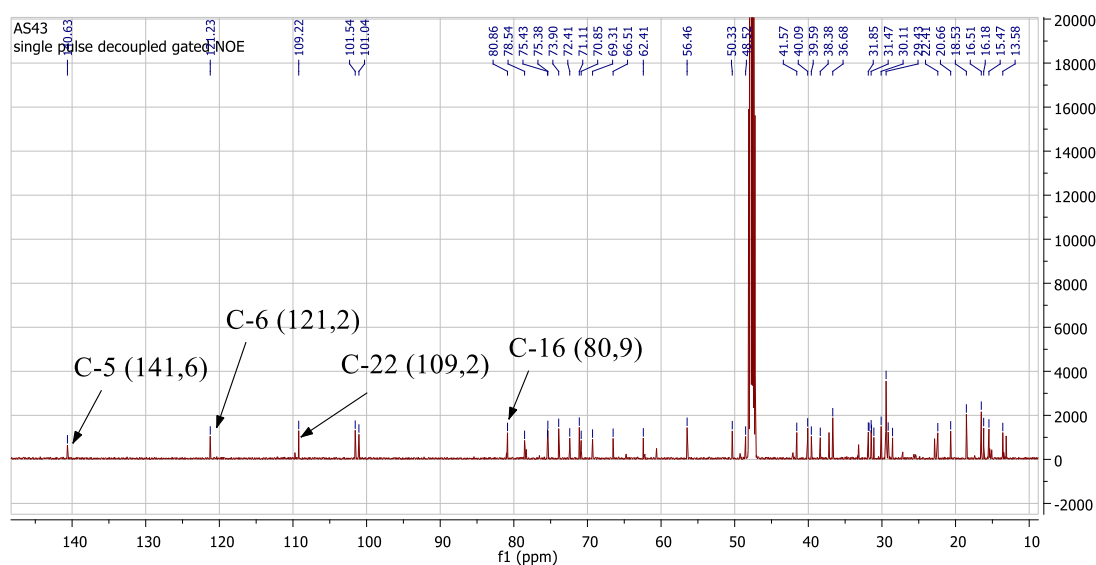


Figure 11 : Spectre de RMN ^{13}C (150 MHz, CD_3OD) de **AS43**

L'orientation β -axiale en C-25 est déterminée par le profil du signal de H-26 avec pour caractéristique les déplacements chimiques de ces protons à δ_H 3,43 (*t*; 11,0 Hz) et 3,28 (*sl*) (Lee et al., 2013) et est soutenue par le déplacement chimique du carbone à δ_C -27 β 16,4 (vs δ_C -27 α 17,1 \pm 0,1) (Hayes et al., 2008).

Le spectre HMBC (Fig. 12) permet de confirmer la nature de l'aglycone. En effet, il montre des corrélations entre les protons H-19 (δ_H 0,97) avec les carbones C-9 (δ_C 50,3), C-5 (δ_C 141,6) et C-1 (δ_C 37,2), et H-18 (δ_H 0,73) avec les carbones C-14 (δ_C 56,5), C-17 (δ_C 62,4) et C-13 (δ_C 40,1). Il indique également les corrélations entre les protons H-21 (δ_H 0,88) avec les carbones C-17 (δ_C 62,4), C-20 (δ_C 41,6) et C-22 (δ_C 109,2), et H-27 (δ_H 0,71) avec les carbones C-25 (δ_C 30,1) et C-26 (δ_C 66,5).

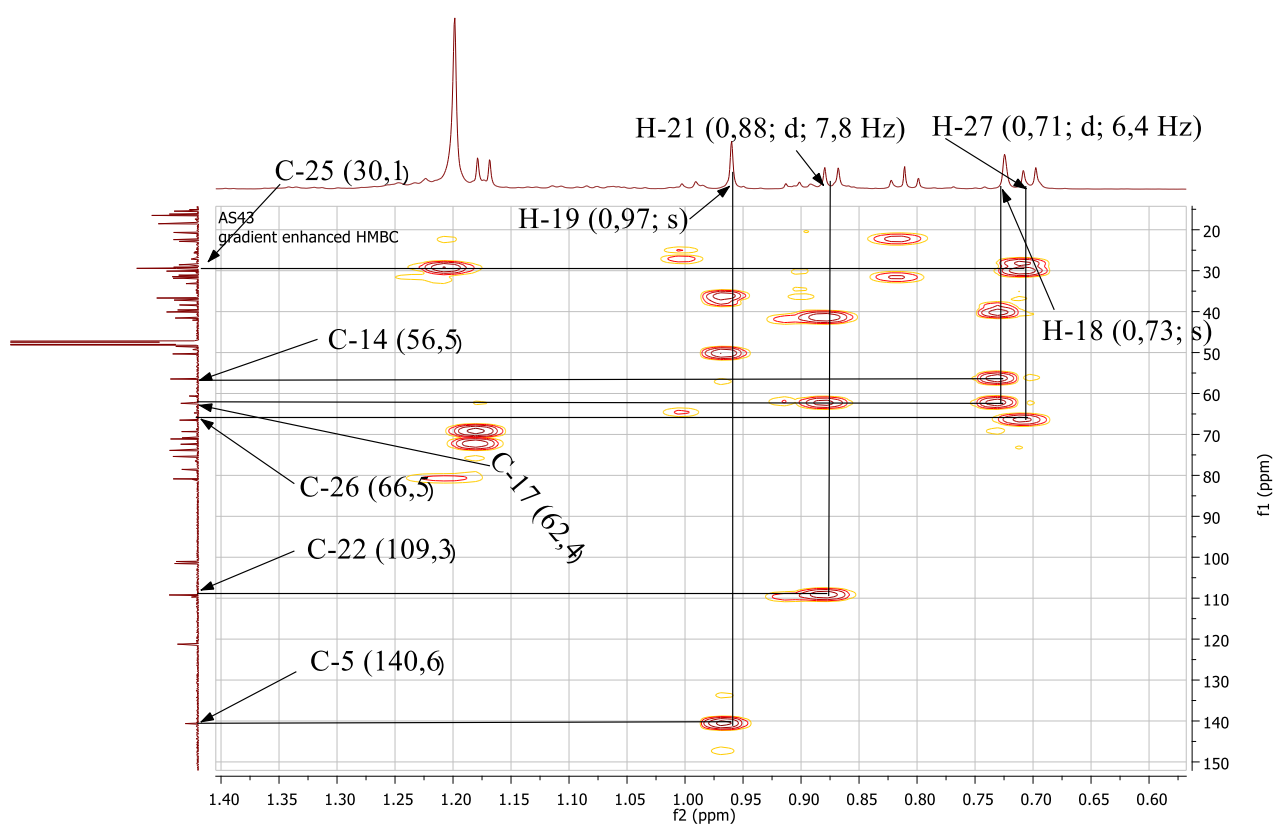


Figure 12 : Spectre HMBC (150 MHz, CD₃OD) de AS43

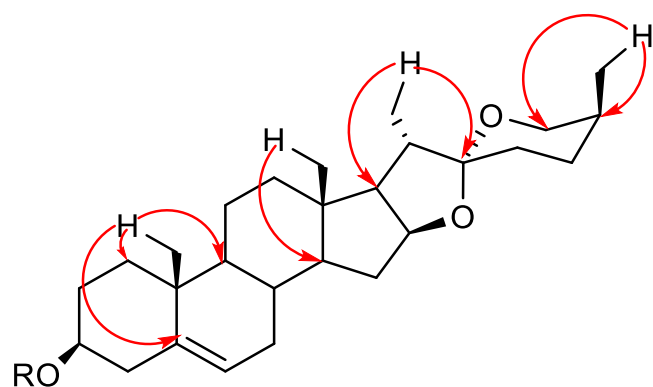


Schéma 6 : Corrélations HMBC de l'aglycone de **AS43**

L'analyse complète des spectres COSY et HMBC de **AS43** ainsi que la comparaison de ces données de RMN 1D (**Tableau 6**) avec celles de la littérature ont permis d'identifier notre aglycone à la diosgénine (Kougan et *al.*, 2010, Nakano et *al.*, 1989).

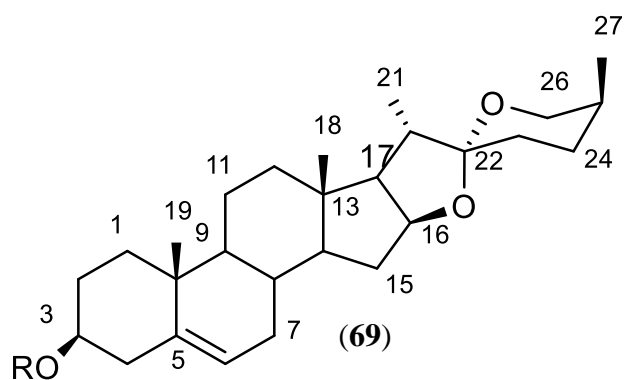


Tableau 6 : Données de RMN [^1H , 600 et ^{13}C , 150 MHz), CD_3OD] de la partie aglycone de **AS43** et comparaison avec celles de la littérature

| N° | AS43 | | Zhang et al., 2020 | |
|----|------------|---|--------------------|-------------------------------------|
| | δ_C | δ_H (mult., J en Hz) | δ_C | δ_H (mult., J en Hz) |
| 1 | 37,2 | 1,04/1,83 | 46,2 | 1,31/2,33 |
| 2 | 29,3 | 1,25/1,58 | 70,6 | 4,08 |
| 3 | 75,3 | 3,46 (<i>m</i>) | 85,7 | 3,85 (<i>m</i>) |
| 4 | 38,4 | 2,23/2,40 | 38,1 | 2,58/2,72 |
| 5 | 141,6 | - | 140,5 | - |
| 6 | 121,2 | 5,30 (<i>m</i>) | 122,2 | 5,31(<i>d</i> ; 4,2) |
| 7 | 31,9 | 1,25/1,98 | 32,5 | 1,49/1,83 |
| 8 | 31,5 | 1,26 | 31,5 | 1,50 |
| 9 | 50,3 | 0,93 | 50,5 | 0,96 |
| 10 | 36,7 | - | 38,3 | - |
| 11 | 20,7 | 1,01/1,47 | 21,6 | 1,45/1,54 |
| 12 | 39,6 | 1,16/1,75 | 40,1 | 1,08/1,66 |
| 13 | 40,1 | - | 40,8 | - |
| 14 | 56,5 | 1,06 | 56,6 | 1,04 |
| 15 | 31,7 | 1,98 | 32,6 | 1,40/2,00 |
| 16 | 80,9 | 4,32 (<i>m</i>) | 81,4 | 4,53 (<i>m</i>) |
| 17 | 62,4 | 1,67 | 63,2 | 1,79 |
| 18 | 16,5 | 0,73 (<i>s</i>) | 16,7 | 0,80 (<i>s</i>) |
| 19 | 18,5 | 0,97 (<i>s</i>) | 20,8 | 0,97 (<i>s</i>) |
| 20 | 41,6 | 1,87 | 42,3 | 1,94 |
| 21 | 13,6 | 0,88 (<i>d</i> ; 7,0) | 15,4 | 1,13 (<i>d</i> ; 6,9) |
| 22 | 109,2 | - | 109,6 | - |
| 23 | 31,0 | 1,51 (<i>sl</i>) /1,65 (<i>dd</i> ; 12,3 et 5,2 Hz) | 32,2 | 1,56/1,64 |
| 24 | 28,6 | 1,39 | 29,6 | |
| 25 | 30,1 | 1,25 | 30,9 | |
| 26 | 66,5 | 3,21 (<i>sl</i>)/3,37 (<i>t</i> ; 11,0 Hz) | 67,2 | 3,49 (<i>m</i>)/3,52 (<i>m</i>) |
| 27 | 15,5 | 0,71 (<i>d</i> ; 6,4) | 17,7 | 0,68 (<i>d</i> ; 5,8) |

Détermination du nombre et la nature des sucres

L'analyse du spectre de RMN ^1H (Fig. 10) de AS43 permet de distinguer dans la zone des sucres deux signaux attribuables aux protons anomériques à δ_H 4,36 (d ; 7,8 Hz) et 4,80 (d ; 1,6 Hz) et qui corrèlent respectivement sur le spectre HMQC (Fig. 13) avec les carbones à δ_C 101,1 et 101,5 suggérant la présence de deux unités osidiques. L'analyse approfondie des spectres COSY et HMBC a permis d'identifier les sucres aux monosaccharides D-Gal et L-Rha. Ce rhamnose est confirmée sur le spectre HMQC par la présence d'un méthyle doublet à δ_H/δ_C (1,24/16,5).

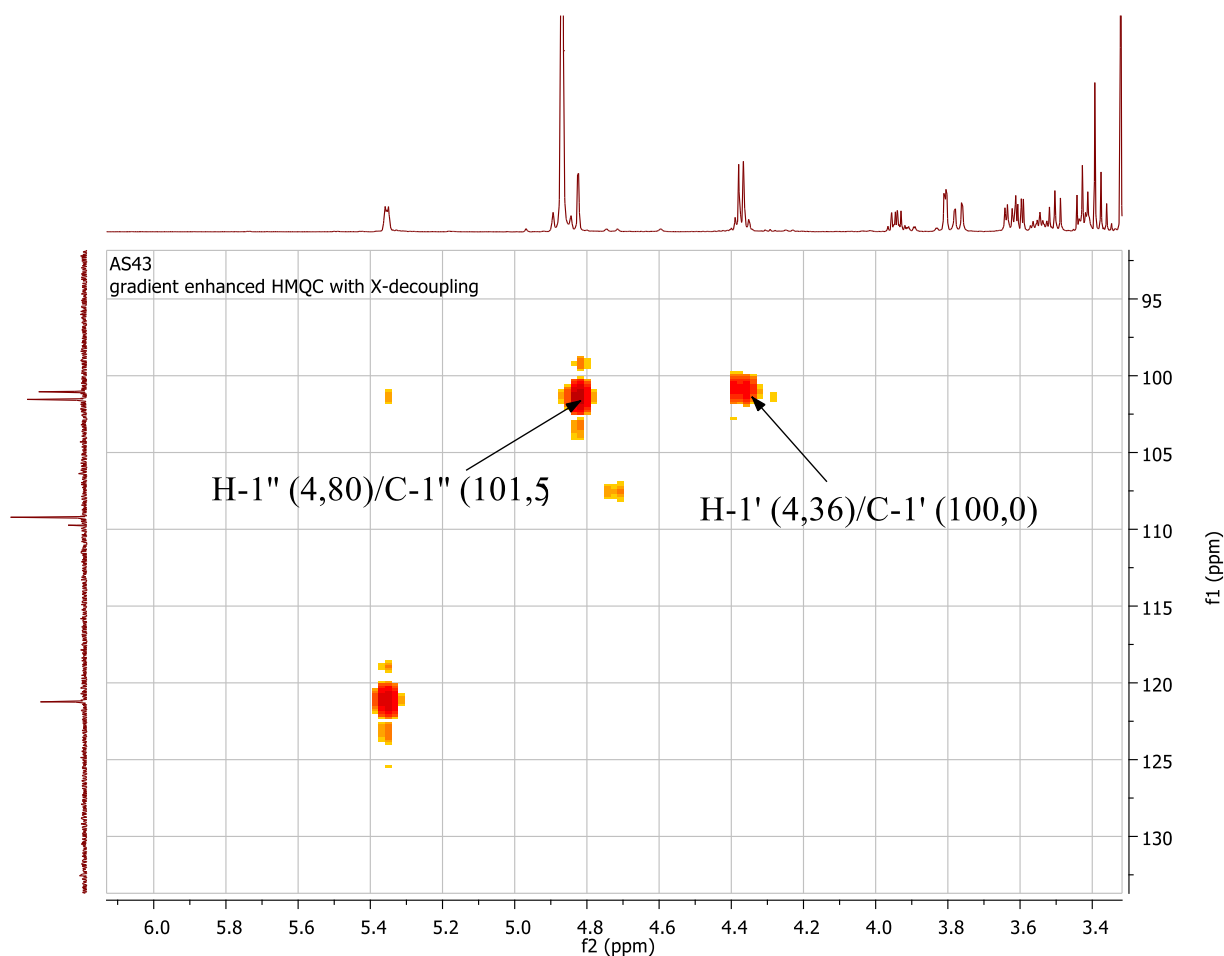


Figure 13 : Spectre HMQC de AS43

Le spectre COSY (Fig. 14) du composé AS43 montre des corrélations entre les protons H-1' (δ_H 4,36) et H-2' (δ_H 3,16) de l'unité osidique galactopyranosyle d'une part, d'autre part entre les H-1'' (δ_H 4,80) et H-2'' (δ_H 3,81) de la rhamnopyranosyle.

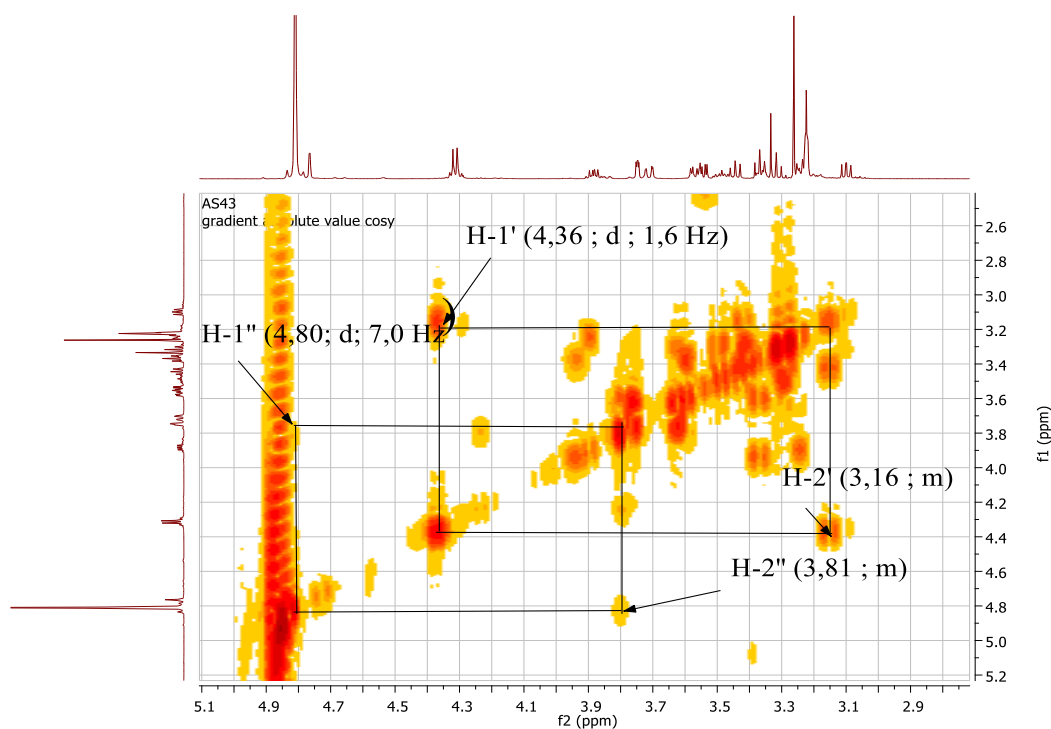


Figure 14 : Spectre COSY de AS43

La détermination du site de fixation de l'aglycone et l'enchaînement des sucres ont été établis grâce à l'interprétation du spectre HMBC élargi (**Fig. 15**). Ainsi, il est établi la corrélation entre le proton H-3 (δ_H 3,46) et le carbone C-1' (δ_C 101,1) suggérant que le Gal est lié à la génine en position 3. Il apparaît également une corrélation interosidique entre le proton H-1'' (δ_H 4,80 ; *d* ; 1,6 Hz) avec le carbone à δ_C 78,3 (C-4') montrant une substitution en cette position.

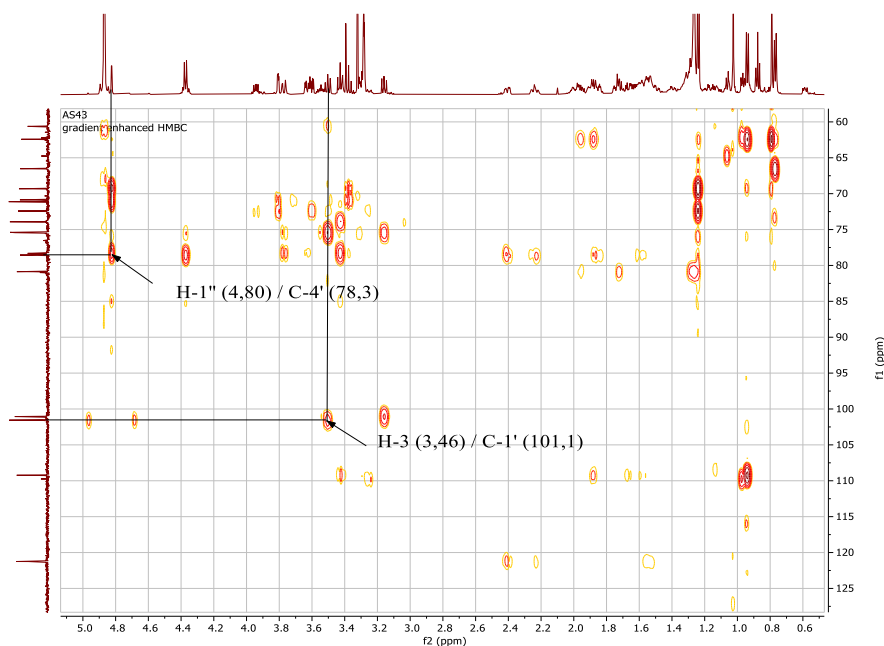


Figure 15 : Spectre HMBC élargi de AS43

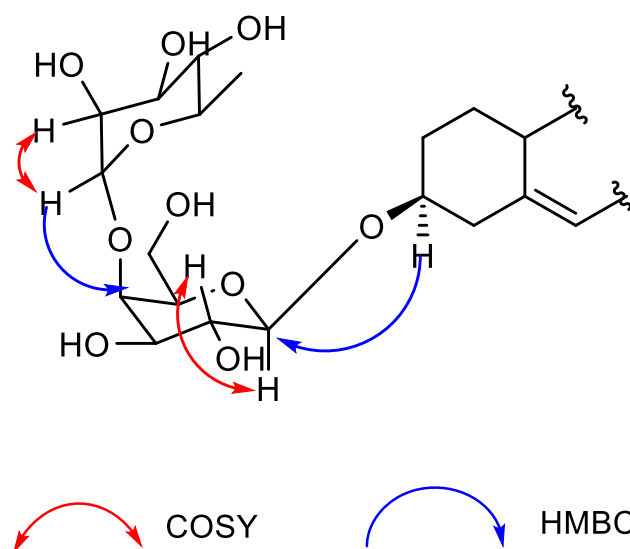


Schéma 7 : Corrélations COSY et HMBC de la partie oligosaccharide de **AS43**

L'ensemble des données ci-dessus, comparées à celles de la littérature, a permis de déterminer le composé **AS43** à la *diosgénine-3-O- α -L-rhamnopyranosyl-(1 \rightarrow 4)- β -D-galactopyranoside* (Espejo *et al.*, 1982).

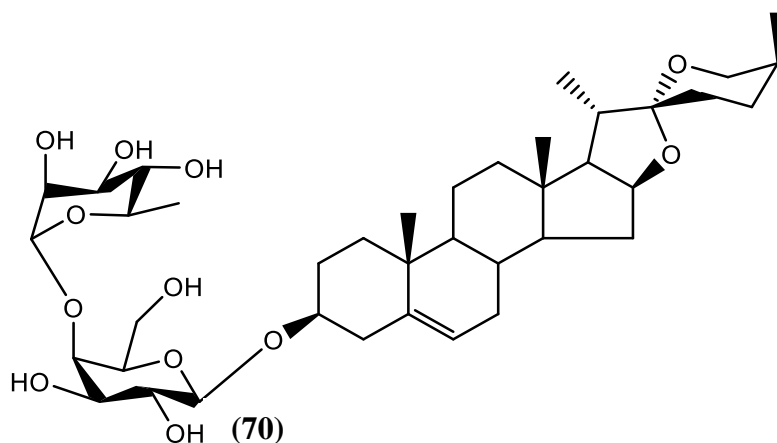


Tableau 7 : Données de RMN [^1H , 600 et ^{13}C , 150 MHz), CD_3OD] de la partie osidique de **AS43**

| N° | AS43 | | | |
|----|------------|-------------------------------|-----------------------------|-------------------------------|
| | Gal | | Rha (1 \longrightarrow 4) | |
| | δ_C | δ_H (mult., J en Hz) | δ_C | δ_H (mult., J en Hz) |
| 1 | 101,1 | 4,36 (d ; 7,8) | 101,5 | 4,80 (d ; 1,6) |
| 2 | 73,9 | 3,16 | 71,1 | 3,81 |
| 3 | 75,4 | 3,27 | 70,9 | 3,57 |
| 4 | 78,3 | 3,49 | 72,4 | 3,37 |
| 5 | 78,5 | 3,52 | 69,3 | 3,94 |
| 6 | 60,6 | 3,63/3,78 | 16,5 | 1,24 (d ; 6,5) |

I.1.2.2 Identification du composé ASFC5A (ASF3)

Le composé **ASFC5A** se présente sous forme de poudre blanche amorphe. Il est soluble dans le méthanol et répond positivement au test de Libermann-Bürchard en donnant une coloration bleu verdâtre caractéristique des stéroïdes et au test de Molisch caractéristique des sucres. Sa formule brute, $C_{45}H_{74}O_{16}$, possédant 9 degrés d'insaturations, a été déduite de l'analyse des spectres de RMN 1D et 2D.

Nature de la partie aglycone

La comparaison des valeurs des déplacements chimiques observés après analyse des spectres de RMN 1D du composé **ASFC5A** avec celles du composé **AS43**, montre que ces deux composés renferment le même aglycone, à savoir la diosgénine (Pathak et *al.*, 2019). Toutefois, il apparaît une différence au niveau des pics caractéristiques des carbones des sucres (**Fig. 16**) avec emphase trois carbones anomériques pour le composé **ASFC5A**.

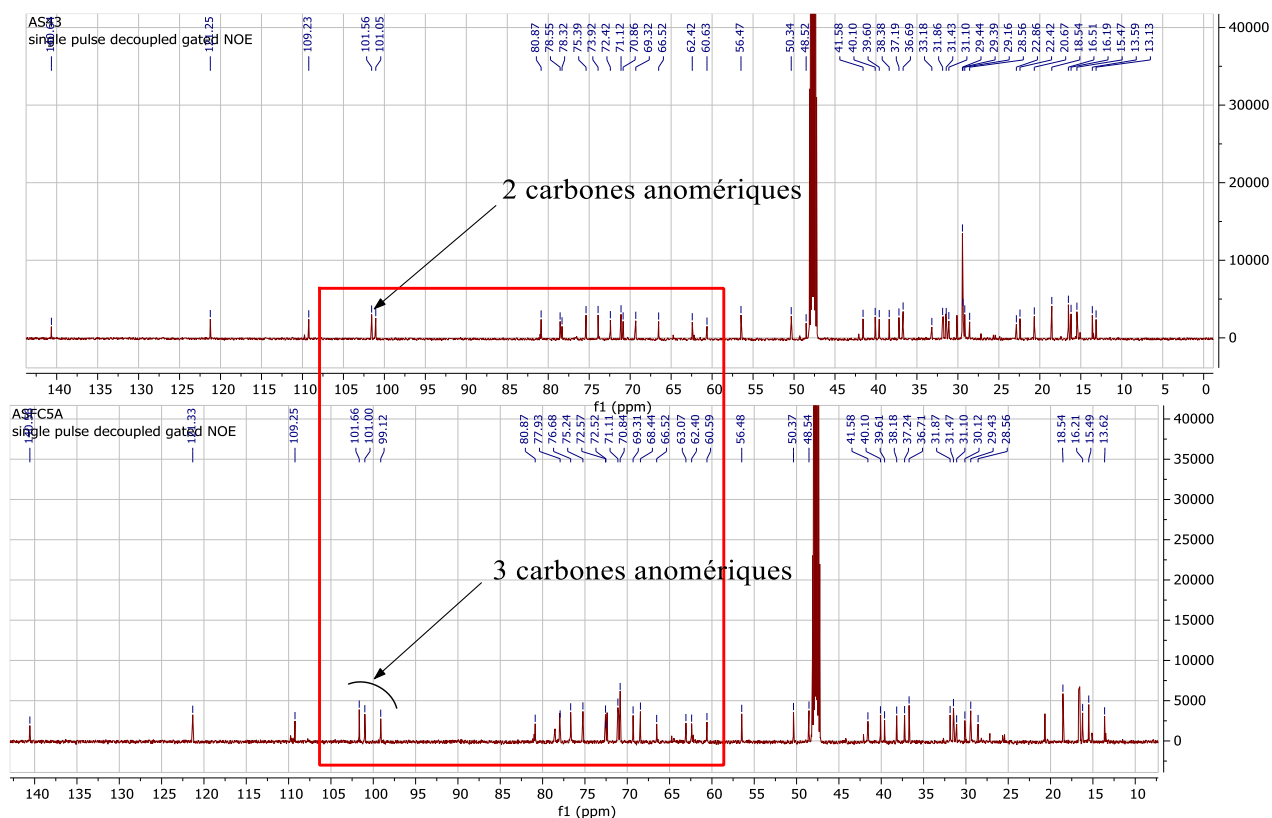


Figure 16 : Spectres couplés de RMN ^{13}C (150 MHz, CD_3OD) de **ASFC5A** et de **AS43**

Tableau 8 : Données de RMN [$^1\text{H}/^{13}\text{C}$, 600/150 MHz), CD_3OD] de la partie aglycone de **ASF5A** et comparaison avec celles de la littérature

| N° | ASF5A | | Zhang et al., 2020 | |
|----|------------|-------------------------------------|--------------------|-------------------------------------|
| | δ_C | δ_H (mult., J en Hz) | δ_C | δ_H (mult., J en Hz) |
| 1 | 37,2 | 1,04/1,83 | 46,2 | 1,31/2,33 |
| 2 | 29,4 | 1,25/1,58 | 70,6 | 4,08 |
| 3 | 76,8 | 3,40 (<i>m</i>) | 85,7 | 3,85 (<i>m</i>) |
| 4 | 38,2 | 2,23/2,40 | 38,1 | 2,58/2,72 |
| 5 | 140,5 | - | 140,5 | - |
| 6 | 121,3 | 5,35 (<i>d</i> ; 5,3) | 122,2 | 5,31(<i>d</i> ; 4,2) |
| 7 | 31,9 | 1,25/1,98 | 32,5 | 1,49/1,83 |
| 8 | 31,5 | 1,26 | 31,5 | 1,50 |
| 9 | 50,4 | 0,93 | 50,5 | 0,96 |
| 10 | 36,7 | - | 38,3 | - |
| 11 | 20,7 | 1,01/1,47 | 21,6 | 1,45/1,54 |
| 12 | 39,6 | 1,16/1,75 | 40,1 | 1,08/1,66 |
| 13 | 40,1 | - | 40,8 | - |
| 14 | 56,5 | 1,06 | 56,6 | 1,04 |
| 15 | 31,7 | 1,98 | 32,6 | 1,40/2,00 |
| 16 | 80,9 | 4,37 (<i>m</i>) | 81,4 | 4,53 (<i>m</i>) |
| 17 | 62,4 | 1,72 | 63,2 | 1,79 |
| 18 | 16,7 | 0,74 (<i>s</i>) | 16,7 | 0,80 (<i>s</i>) |
| 19 | 18,5 | 0,97 | 20,8 | 0,97 (<i>s</i>) |
| 20 | 41,6 | 1,87 | 42,3 | 1,94 |
| 21 | 13,6 | 0,94 (<i>d</i> ; 7,0) | 15,4 | 1,13 (<i>d</i> ; 6,9) |
| 22 | 109,2 | - | 109,6 | - |
| 23 | 31,0 | 1,51/1,65 | 32,2 | 1,56/1,64 |
| 24 | 28,6 | 1,39 | 29,6 | Chevauchement |
| 25 | 30,1 | 1,25 | 30,9 | Chevauchement |
| 26 | 66,5 | 3,28 (<i>m</i>)/3,43 (<i>m</i>) | 67,2 | 3,49 (<i>m</i>)/3,52 (<i>m</i>) |
| 27 | 15,5 | 0,77 (<i>d</i> ; 6,4) | 17,7 | 0,68 (<i>d</i> ; 5,8) |

Détermination du nombre et la nature des sucres

Le spectre de RMN ^1H a permis d'identifier trois (03) signaux des protons anomériques à δ_H 4,34 (d ; 6,5 Hz) ; 4,63 (d ; 1,5 Hz) et 4,97 (d ; 1,4 Hz) qui corrélerent sur le spectre HMQC (**Fig. 17**) avec les carbones à δ_C 99,1 ; 101,6 et 101,0 respectivement. Les valeurs des constantes de couplages observés à 7,8 Hz ; 1,4 Hz et 1,5 Hz montrent la présence d'un sucre β et de deux sucres α , respectivement. L'analyse des spectres de RMN 1D et 2D a permis d'identifier une unité β -D-galactopyranosyle (Gal) à δ_H 4,34 (d ; 7,8 Hz) et deux unités de α -L-rhamnopyranosyle (Rha) à δ_H 4,97 (d ; 1,4 Hz) et 4,63 (d ; 1,5 Hz).

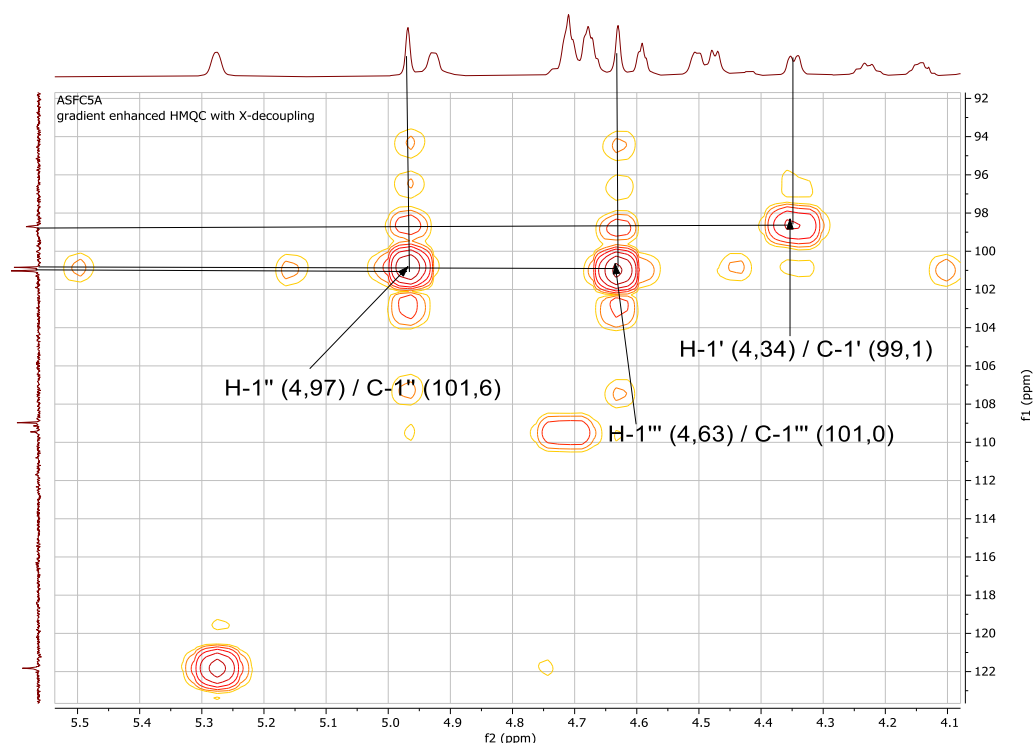


Figure 17 : Spectre HMQC élargi du composé ASFC5A

L'analyse détaillée des spectres de RMN 1D et 2D permet d'identifier tous les protons des sucres. Les carbones correspondants ont été, sur la base des corrélations hétéronucléaires entre proton et carbone directement liés, observés sur le spectre HMQC (**Fig. 17**) et confirmés par le spectre HMBC (**Fig. 19**). Egalement, le spectre COSY (**Fig. 18**) a permis de mettre en évidence des couplages spin-spin des protons portés par des carbones directement liés. Ce dernier indique des corrélations entre les protons H-1' (δ_H 4,34) et H-2' (δ_H 3,17) de l'unité osidique galactopyranosyle d'une part, d'autre part entre les protons H-1'' (δ_H 4,97) avec H-2'' (δ_H 3,36) du Rha I et H-1''' (δ_H 4,63) avec H-2''' (δ_H 3,63) du Rha II.

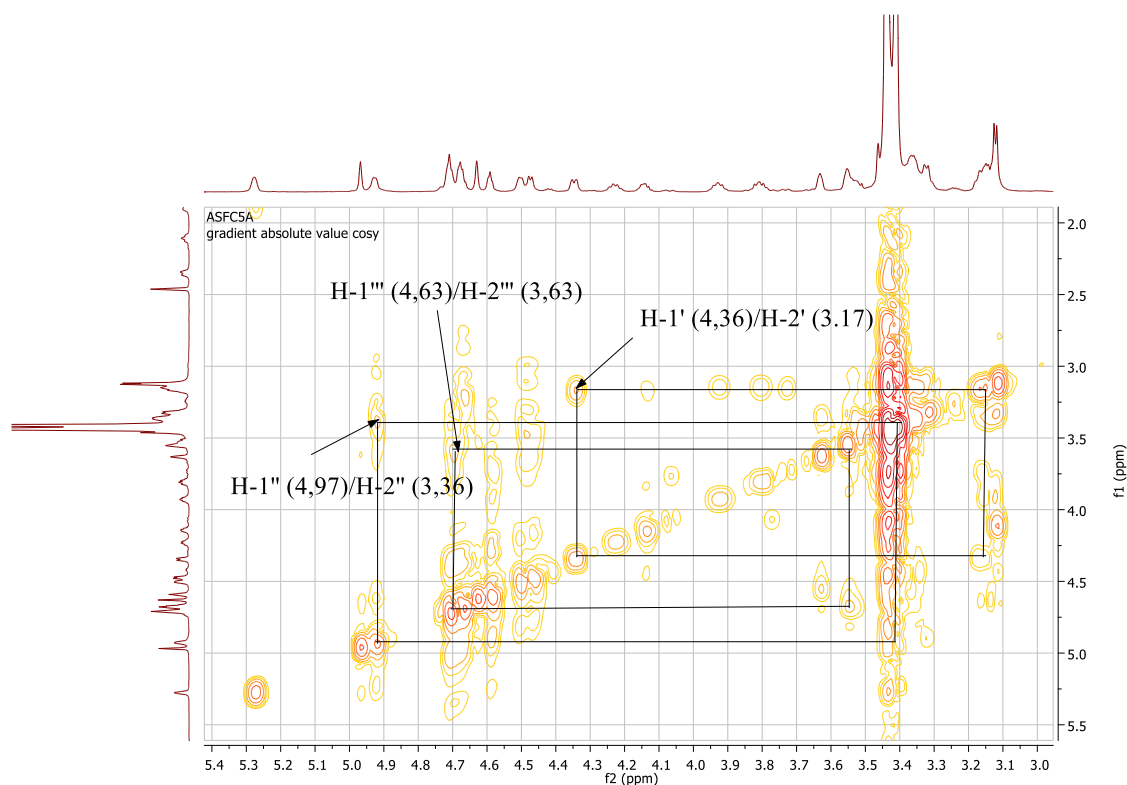


Figure 18 : Spectre COSY élargi du composé **ASFC5A**

L'observation sur le spectre de RMN ^{13}C du signal à δ_{C} 76,8 indique que **ASFC5A** est un dérivé de la *diosgénine* portant en C-3 une chaîne osidique (Pathak *et al.*, 2019). La séquence de la chaîne oligosaccharidique ainsi que son point de fixation avec l'aglycone, ont été établis grâce au spectre HMBC.

Ainsi, l'étude comparative des spectres de RMN 1D et 2D de **ASFC5A** et **AS43** montre que la chaîne oligosaccharidique en C-3 de **ASFC5A** possède un L-Rha supplémentaire lié au Gal par une liaison (1→2). L'analyse du spectre HMBC élargi (**Fig. 19**) a permis d'établir des corrélations qui justifient l'enchaînement des différentes unités. Il montre les corrélations entre le proton H-1'' (δ_{H} 4,97 ; 1,4 Hz) du Rha I avec le carbone C-2'' (δ_{C} 78,0) du Gal d'une part et d'autre part entre le proton H-1''' (δ_{H} 4,63 ; 1,5 Hz) du Rha II avec le carbone C-4' (δ_{C} 77,9) du Gal. Sur le même spectre, il apparaît la corrélation entre le proton H-1' (δ_{H} 4,34 ; d ; 7,8 Hz) du Gal et le carbone C-3 (76,8) de la génine. La séquence de la chaîne oligosaccharidique en C-3 a été établie à α -L-rhamnopyranosyl-(1→2)-[α -L-rhamnopyranosyl-(1→4)]- β -D-galactopyranosyle.

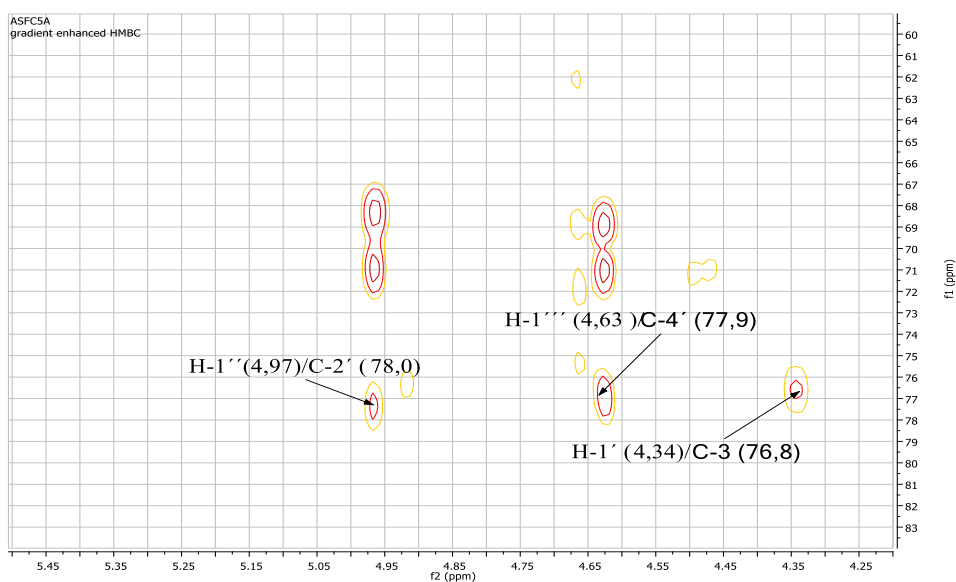


Figure 19 : Spectre HMBC élargi du composé ASFC5A

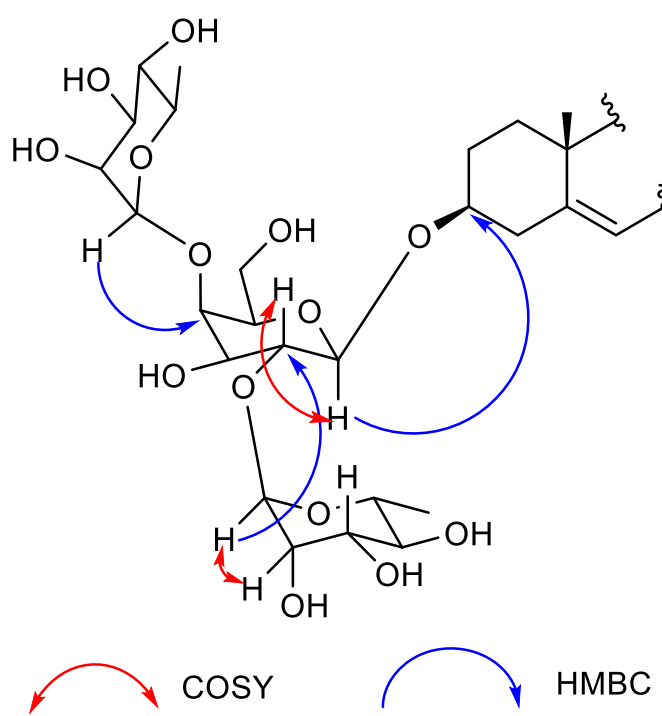


Schéma 8 : Corrélations COSY et HMBC-élargi de ASFC5A

L'ensemble de toutes ces données a permis d'identifier le composé **ASFC5A** à la *diosgénine-3-O- α -L-rhamnopyranosyl-(1 \rightarrow 2)-[α -L-rhamnopyranosyl-(1 \rightarrow 4)]- β -D-galactopyranosyle* (Du et al., 2002).

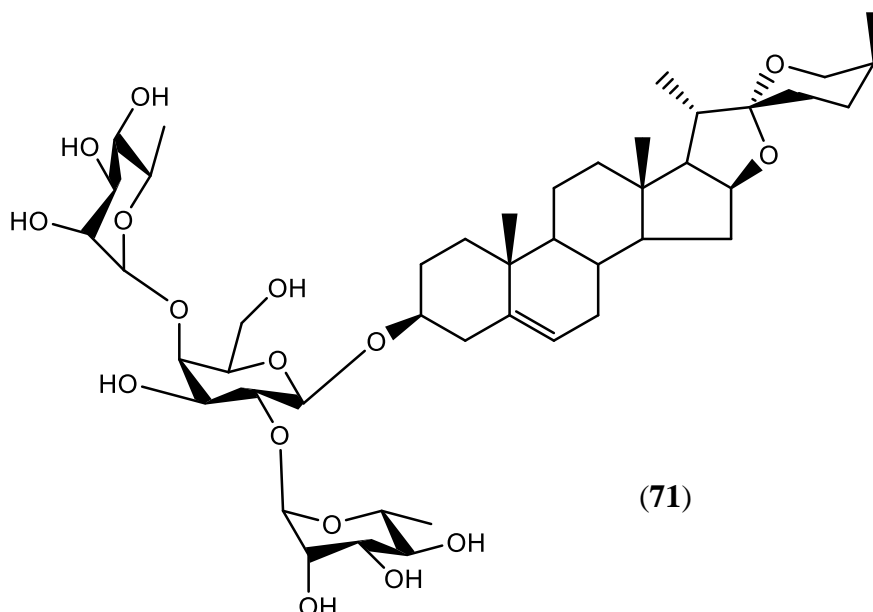


Tableau 9 : Données de RMN [^1H , 600 et ^{13}C , 150 MHz), CD_3OD] de la partie osidique de **ASFC5A**

| N° | ASFC5A | | | | | |
|----|------------|--------------------------------|---------------------------|--------------------------------|----------------------------|--------------------------------|
| | Gal | | Rha I (1 \rightarrow 2) | | Rha II (1 \rightarrow 4) | |
| | δ_C | δ_H (multi ; J en Hz) | δ_C | δ_H (multi ; J en Hz) | δ_C | δ_H (multi ; J en Hz) |
| 1 | 99,1 | 4,34 (d ; 7,8) | 101,6 | 4,97 (d ; 1,4) | 101,0 | 4,63 (d ; 1,5) |
| 2 | 78,0 | 3,17 | 71,2 | 3,36 | 70,8 | 3,63 |
| 3 | 76,8 | 3,40 | 71,1 | 3,55 | 71,0 | 3,36 |
| 4 | 77,9 | 3,32 | 72,4 | 3,14 | 72,4 | 3,14 |
| 5 | 75,2 | 3,11 | 68,4 | 3,92 | 69,3 | 3,79 |
| 6 | 60,6 | 3,36/3,55 | 18,3 | 1,05 (d ; 6,5) | 18,3 | 1,03 (d ; 6,5) |

I.1.2.3 Identification du composé ASF33C1 (ASF39₁)

Le composé **ASF33C1** se présente sous forme de poudre blanche amorphe, il est soluble dans le méthanol et répond positivement au test Libermann-Bürchard en donnant une coloration bleu verdâtre caractéristique des stéroïdes et au test de Molisch caractéristique des sucres. Sa formule brute C₅₅H₉₀O₂₆, possédant 11 degrés d'insaturations, a été déduite de l'analyse des spectres de 1D et 2D.

- **Nature de l'aglycone de ASF33C1**

Le spectre de RMN ¹H (**Fig. 20**) du composé **ASF33C1** indique à δ_H 5,35 (*m*) un signal d'un proton oléfinique H-6, deux pics à δ_H 3,29 (*m*) et 4,34 (*m*) correspondants respectivement aux protons H-3 et H-16 des oxyméthines. Il indique également deux pics à δ_H 3,32 (*dd* ; 8,2 et 6,5) et 3,70 (*dd* ; 9,5 et 6,5 Hz) des protons diastériostopiques de l'oxyméthylène C-26, quatre signaux à δ_H 0,81(s) ; 1,02 (s) ; 0,97 (*d* ; 6,9 Hz) et 0,93 (*d* ; 6,7 Hz) correspondants aux groupes méthyles H-18, H-19, H-21 et H-27 respectivement, attribuables au fragment de l'aglycone stéroïdique (Zhou et al., 2006).

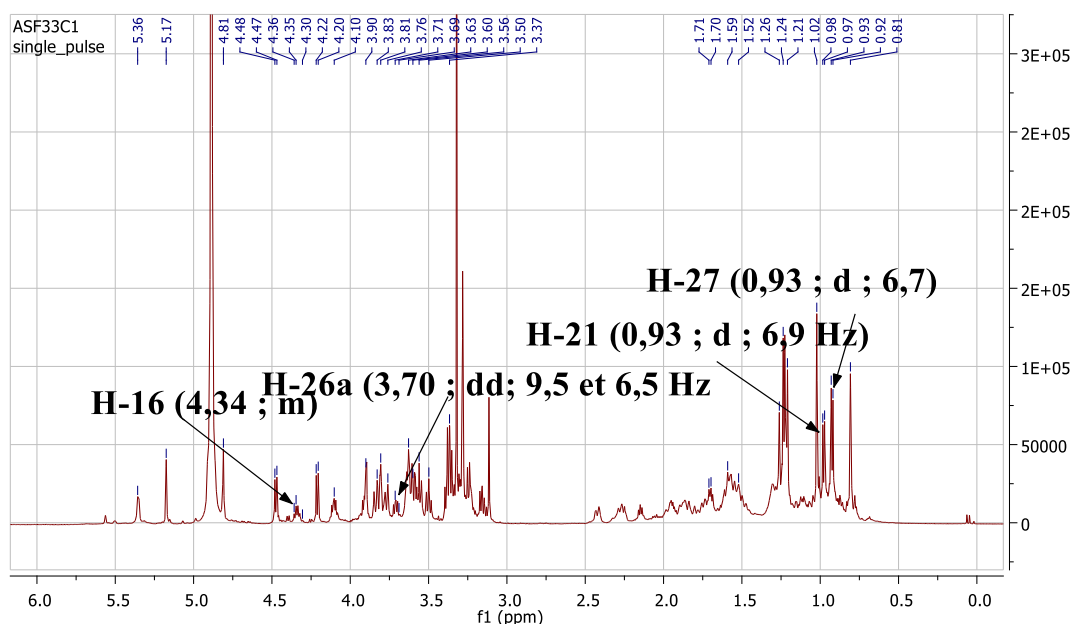


Figure 20 : Spectre de RMN ¹H (600 MHz, CD₃OD) élargi du composé **ASF33C1**

Le spectre de RMN ¹³C (**Fig. 21**) permet de distinguer dans la zone de l'aglycone, un signal à δ_C 112,6 correspondant au carbone acétalique C-22 et un oxyméthylène à δ_C 74,7 correspondant au carbone C-26, caractéristiques du squelette stéroïdique de type furostane (Corea et al., 2003). Le spectre de RMN ¹³C (**Fig. 21**) du composé **ASF33C1** montre également des signaux à δ_C 140,6 et 121,3 correspondants aux carbones oléfiniques de la double liaison $\Delta^{5,6}$.

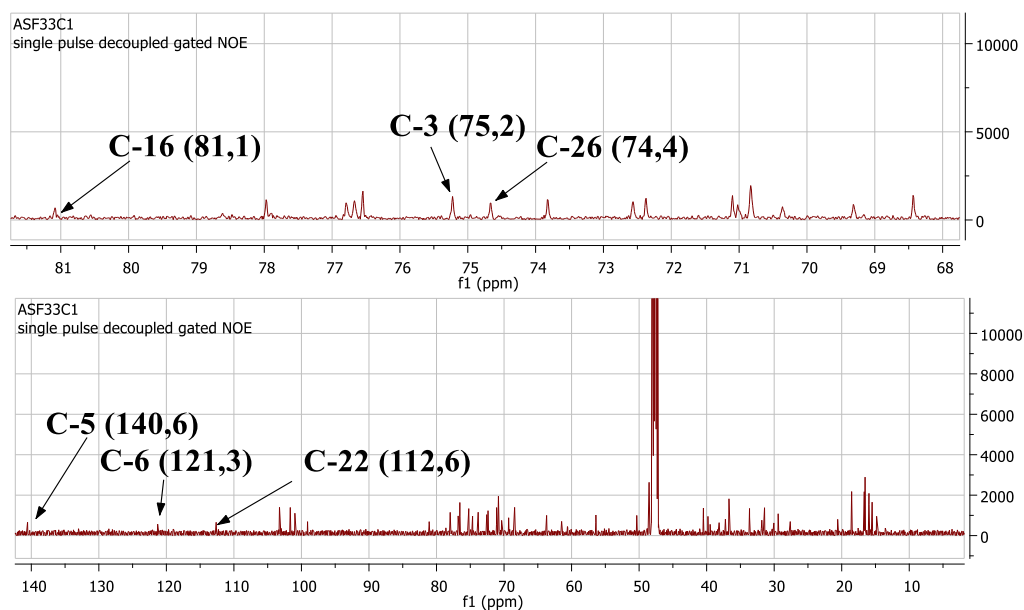


Figure 21 : Spectre de RMN ^{13}C (150 MHz, CD_3OD) du composé ASF33C1

La configuration *S* en C-25 du méthyle C-27 est déduite des déplacements chimiques des carbones C-25 (33,7), C-26 (74,7) et C-27 (16,0) et des protons H-26a et H-26b et par comparaison avec ceux de la littérature (Belhouchet et al., 2008). La différence observée entre les déplacements chimiques des protons géminés H-26a et H-26b ($\delta_a - \delta_b = 0,38$) corrobore au squelette furostane de configuration 25*S* tandis que lorsque cette différence est supérieure à 0,57 ppm la stéréochimie du carbone C-25 est *R*.

Sur le spectre HMBC (**Fig. 22**), il apparaît des corrélations entre les protons H-19 (δ_H 1,02) avec les carbones C-9 (δ_C 50,4), C-5 (δ_C 140,6) et C-1 (δ_C 37,2) ; et H-18 (δ_H 0,81) avec les carbones C-14 (δ_C 56,9) et C-17 (δ_C 63,7). Il montre également les corrélations entre les protons H-21 (δ_H 0,97) avec les carbone C-17 (δ_C 63,7), et C-22 (δ_C 112,6) ; et H-27 (δ_H 0,93) avec les carbones C-24 (δ_C 27,6), C-25 (δ_C 33,7) et C-26 (δ_C 74,7).

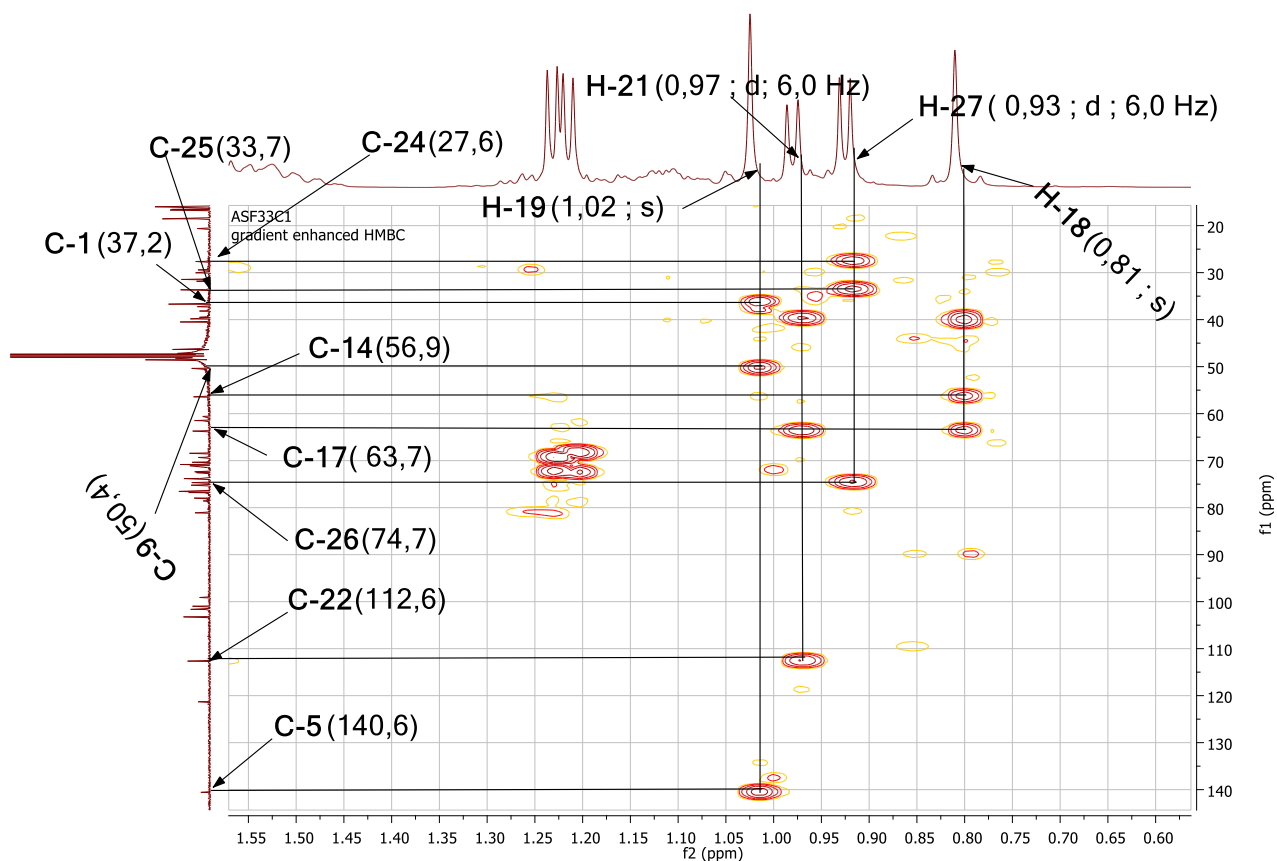


Figure 22 : Spectre HMBC de l'aglycone de ASF33C1

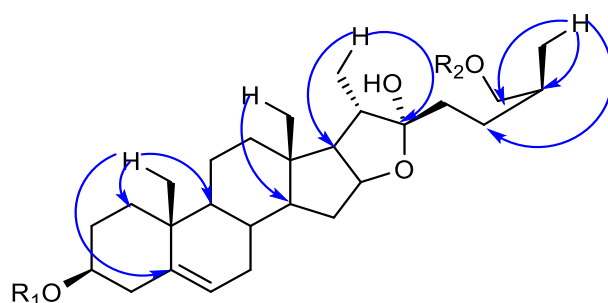


Schéma 9 : Corrélations HMBC de ASF33C1

L'analyse préliminaire des spectres de RMN 1D et 2D et par comparaison avec celles de la littérature ont permis d'identifier l'aglycone de ASF33C1 au squelette (25*S*) furost-5-én-3β,22α,26-triol (Munafò *et al.*, 2010, Staerk *et al.*, 2006).

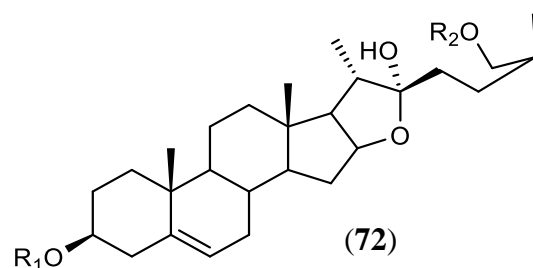


Tableau 10 : Données de RMN [^1H , 600 et ^{13}C , 150 MHz), CD_3OD] de la partie aglycone de **ASFC33C1** et comparaison avec celles de la littérature

| | ASFC33C1 | | TchouPANC et al., 2017 | |
|----|------------|---|------------------------|--|
| | δ_C | δ_H (mult., J en Hz) | δ_C | δ_H (mult., J en Hz) |
| 1 | 37,2 | 1,03/1,86 | 38,6 | 1,87(<i>ddd</i> ,13,3 ;3,6 et 3,6)/1,08(<i>m</i>) |
| 2 | 30,1 | 1,26/1,90 | 30,8 | 1,92 (<i>m</i>)/1,61 (<i>m</i>) |
| 3 | 75,2 | 3,29 (<i>m</i>) | 79,2 | 3,62 (<i>m</i>) |
| 4 | 38,2 | 2,23/2,39 | 39,5 | 2,45 (<i>ddd</i> ,13,3 ;4,6 ; 2,3)/2,30 (<i>m</i>) |
| 5 | 140,6 | - | 141,9 | - |
| 6 | 121,3 | 5,35 (<i>m</i>) | 122,6 | 5,38 (<i>m</i>) |
| 7 | 31,8 | 1,93 (<i>m</i>)/1,99 (<i>m</i>) | 33,2 | 2,00(<i>m</i>)/1,56 (<i>m</i>) |
| 8 | 31,4 | 1,25 | 32,8 | 1,66(<i>dddd</i> ,10,6 ;10,6 ;10,6 et 5,1) |
| 9 | 50,4 | 1,18 | 51,7 | 0,97(<i>m</i>) |
| 10 | 36,6 | - | 38,1 | - |
| 11 | 20,6 | 1,53/1,23 | 21,9 | 1,54 (<i>m</i>)/1,50(<i>m</i>) |
| 12 | 39,6 | 1,14/1,73 | 40,8 | 1,78 (<i>m</i>)/1,19(<i>m</i>) |
| 13 | 40,5 | - | 41,8 | - |
| 14 | 56,9 | 1,09 | 57,7 | 1,13 (<i>ddd</i> , 13,7 ;10,9 et 5,7) |
| 15 | 33,7 | 1,71 | 32,8 | 1,98 (<i>m</i>)/1,28 (<i>m</i>) |
| 16 | 81,1 | 4,34 (<i>dd</i> ; 14,6 et 7,3) | 82,4 | 4,37 (<i>ddd</i> ; 8,5 ;7,5 et 6,0) |
| 17 | 63,7 | 1,70 | 65,1 | 1,73 (<i>dd</i> ; 8,5 et 6,0) |
| 18 | 15,5 | 0,81 (<i>s</i>) | 16,8 | 0,84 (<i>s</i>) |
| 19 | 18,5 | 1,02 (<i>s</i>) | 19,9 | 1,05 (<i>s</i>) |
| 20 | 39,8 | 2,14/1,75 | 41,3 | 2,17 (<i>dq</i> ; 6,0 et; 7,0) |
| 21 | 14,8 | 0,97 (<i>d</i> ; 6,9) | 16,2 | 1,00 (<i>d</i> ; 7,0) |
| 22 | 112,6 | - | 113,9 | - |
| 23 | 29,4 | 1,86/1,90 | 31,4 | 1,83 (<i>m</i>)/1,61 (<i>m</i>) |
| 24 | 27,6 | 1,57/1,11 | 28,9 | 1,59 (<i>m</i>)/1,16 (<i>m</i>) |
| 25 | 33,7 | 1,71 | 34,9 | 1,76 (<i>m</i>) |
| 26 | 74,7 | 3,70 (<i>dd</i> ; 9,5 et 6,5) /3,32 (<i>dd</i> ; 8,2 et 6,5) | 76,2 | 3,68 (<i>dd</i> ; 9,8 ; 6,5) / 3,47 (<i>dd</i> ; 9,8 ; 6,1) |
| 27 | 16,0 | 0,93 (<i>d</i> ; 6,7) | 17,2 | 0,95 (<i>d</i> ; 6,9) |

- **Nature des sucres de ASF33C1**

Le spectre de RMN ^1H (**Fig. 20**) du composé **ASF33C1** permet de distinguer dans la zone des sucres quatre signaux attribuables aux protons anomériques à δ_H 4,21 (*d* ; 7,0 Hz) ; 5,17 (*s*) ; 4,81 (*s*) et 4,47 (*d* ; 7,0 Hz) et qui corrélient sur le spectre HMQC (**Fig. 23**) avec les carbones à δ_C 103,3 ; 101,0 ; 101,7 ; 99,1 respectivement et deux doublets de trois protons chacun à δ_H 1,22 (*d* ; 8,5 Hz, 3H) et 1,25 (*d* ; 8,5 Hz, 3H) correspondants à deux groupes méthyles, confirmant la présence de deux Rha.

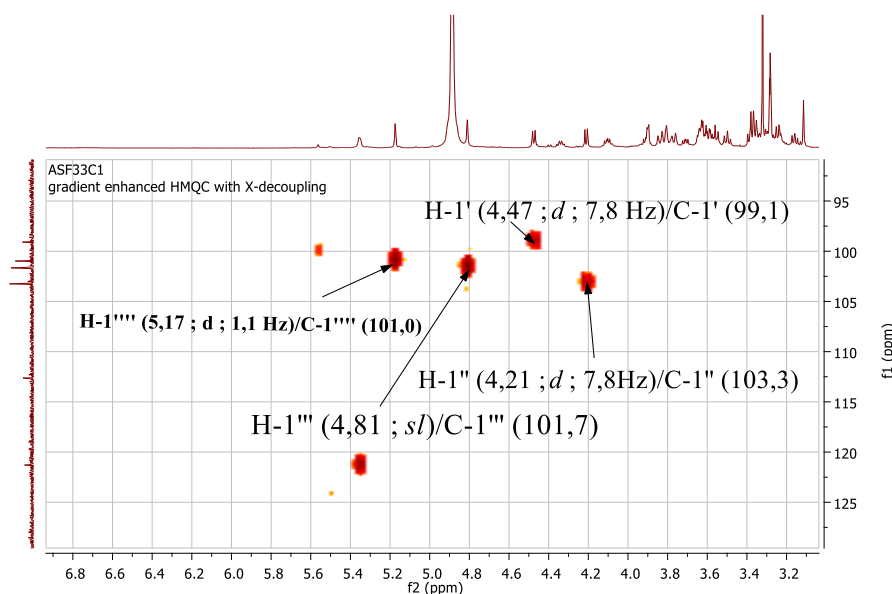


Figure 23 : Spectre HMQC élargi du composé **ASF33C1**

L'analyse détaillée des spectres de RMN 1D et 2D a permis d'identifier tous les protons des oligosaccharides. Les carbones correspondants ont été observés sur la base des corrélations du spectre HMQC (**Fig. 23**) et confirmés par le spectre HMBC élargi (**Fig. 25**).

En définitive, il a été identifié :

- un groupement β -galactopyranosyle (Gal) à δ_H 4,21 (*d* ; 7,8 Hz)
- un groupement β -glucopyranosyle (Glc) à δ_H 4,47 (*d* ; 7,8 Hz)
- Deux groupements α -rhamnopyranosyle (Rha) à δ_H 5,17 (*sl*) et 4,81 (*sl*)

Il apparaît sur le spectre COSY (**Fig. 24**) des corrélations entre les protons H-1' (δ_H 4,47) et H-2' (δ_H 3,37) de l'unité osidique Glc, H-1'' (δ_H 4,21) et H-2'' (δ_H 3,16) du Gal, H-1''' (δ_H 4,81) et H-2''' (δ_H 3,80) du Rha I, et H-1'''' (δ_H 5,17) et H-2'''' (δ_H 3,90) du Rha II.

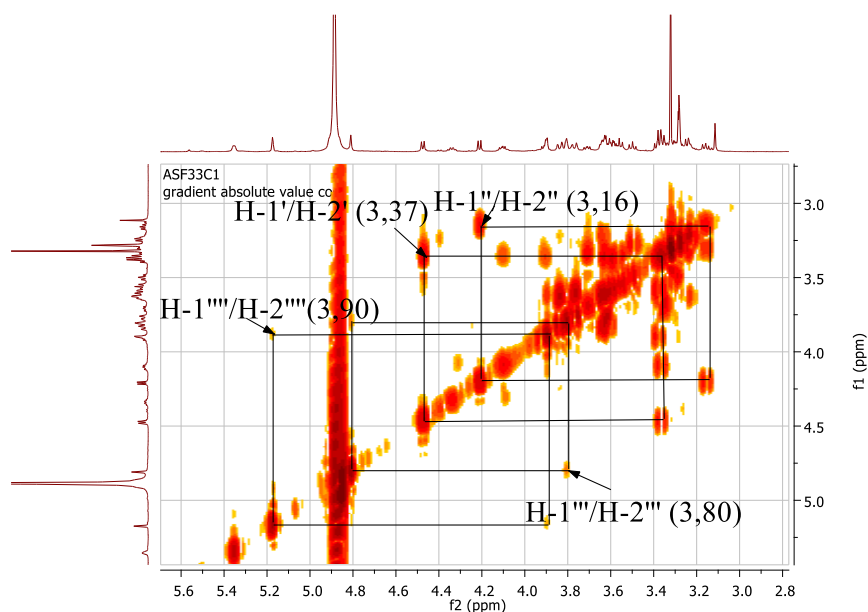


Figure 24 : Spectre COSY élargi du composé **ASF33C1**

La détermination du site de fixation de l'aglycone et l'enchaînement des sucres ont été établis grâce à l'interprétation du spectre HMBC.

Séquence des sucres en C-3

Le spectre HMBC (**Fig. 25**) montre les corrélations entre les protons H-1'' (δ_H 4,21 ; d ; 7,8 Hz) et le carbone C-3 (δ_C 75,2), H-1''' (δ_H 4,81 ; s) du Rha-I et le carbone C-4'' (δ_C 78,6) et H-1'''' (δ_H 5,17 ; s) avec le carbone C-2'' (73,8). Ces corrélations montrent que le Gal est lié à l'aglycone en position C-3, le Rha I est lié au Gal par une liaison (1→2) et le Rha II est lié au Gal par une liaison (1→4).

Séquençage en C-26

Le spectre HMBC (**Fig. 25**) indique également une corrélation entre le proton anomérique H-1' (δ_H 4,47 ; d ; 7,8 Hz) du Glc et le carbone C-26 (δ_C 74,7 ; Agly-26).

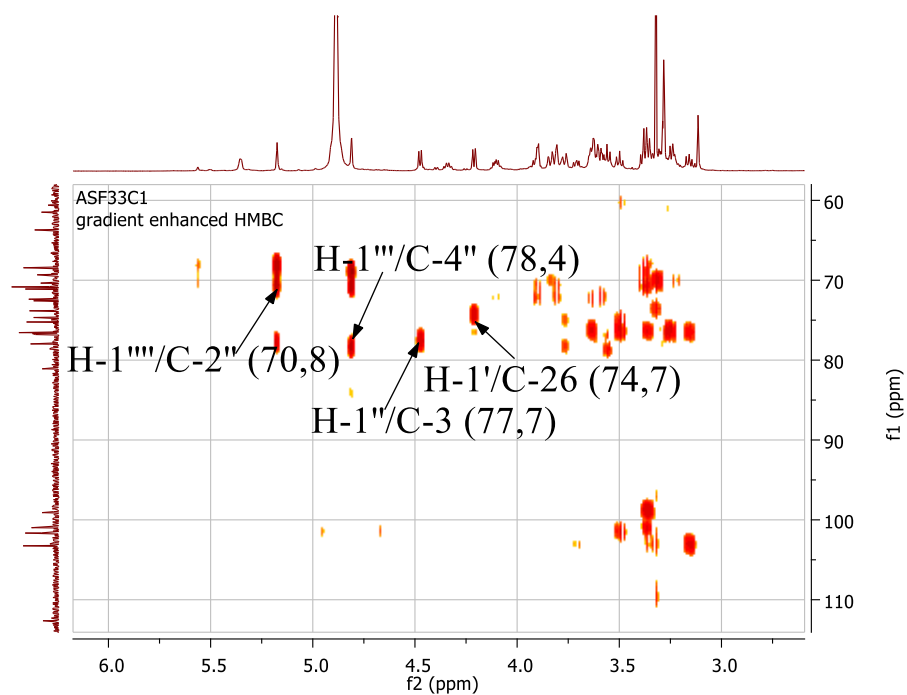


Figure 25 : Spectre HMBC élargi du composé ASF33C1

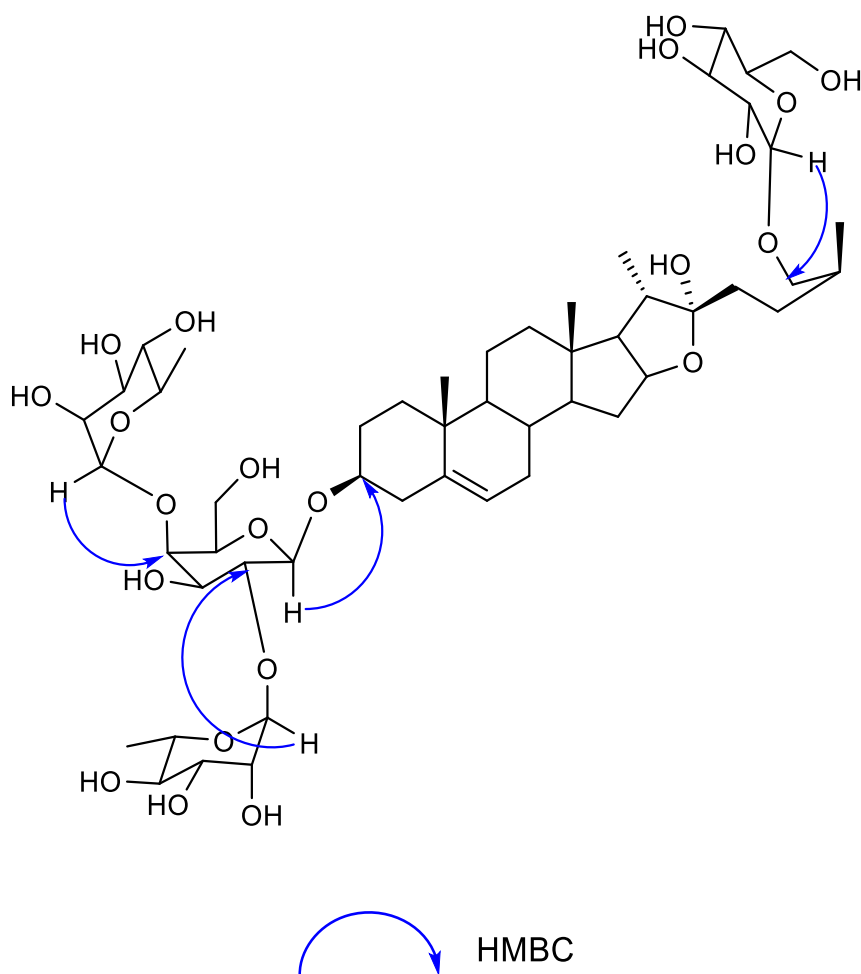


Schéma 10 : Corrélations HMBC-élargi du composé ASF33C1

L'ensemble des données ci-dessus et par comparaison avec celles de la littérature, permet de déterminer la structure du composé **ASFC33C1** au (25*S*) furost-5-én-3β,22α,26-triol-3-*O*-([α-*L*-rhamnopyranosyle-(1→2)]-[α-*L*-rhamnopyranosyle-(1→4)]-β-*D*-galactopyranoside)-26-*O*-β-*D*-glucopyranosyle (Shao *et al.*, 1997 ; Huang *et al.*, 2009).

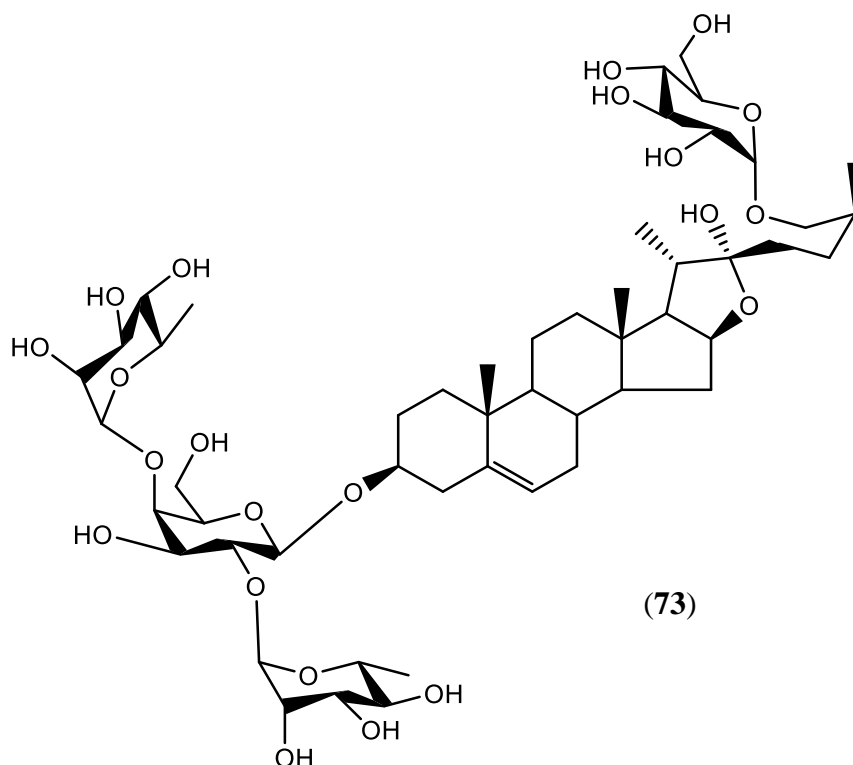


Tableau 11 : Données de RMN [¹H, 600 et ¹³C, 150 MHz), CD₃OD] de la partie osidique de **ASFC33C1**

| N° | ASFC33C1 | | | | | | | |
|----|------------|------------------------------------|------------|------------------------------------|-------------|------------------------------------|--------------|------------------------------------|
| | Gal (1) | | Glc (26) | | Rha I (1→2) | | Rha II (1→4) | |
| | δ_C | δ_H (mult., <i>J</i> en Hz) | δ_C | δ_H (mult., <i>J</i> en Hz) | δ_C | δ_H (mult., <i>J</i> en Hz) | δ_C | δ_H (mult., <i>J</i> en Hz) |
| 1 | 99,1 | 4,47 (<i>d</i> ; 7,0) | 103,3 | 4,21 (<i>d</i> ; 7,0) | 101,0 | 5,17 (<i>sl</i>) | 101,7 | 4,81 (<i>sl</i>) |
| 2 | 77,9 | 3,37 | 73,8 | 3,16 | 70,8 | 3,90 | 71,1 | 3,80 |
| 3 | 78,0 | | 76,7 | | 71,0 | 3,61 | 70,8 | 3,90 |
| 4 | 78,6 | 3,50 | 70,4 | 3,23 | 72,6 | 3,37 | 72,4 | 3,40 |
| 5 | 78,1 | | 76,8 | | 68,4 | 4,10 | 69,3 | 3,90 |
| 6 | 60,6 | 3,75/3,78 | 61,5 | 3,81/3,66 | 16,5 | 1,22 (<i>d</i> ,) | 16,5 | 1,25 (<i>d</i> ,) |

I.1.2.4 Identification du composé ASF33C9A (ASF39₂)

Le composé **ASF33C9A** se présente sous forme de poudre blanche amorphe, il est soluble dans le méthanol et répond positivement au test de Libermann-Bürchard en donnant une coloration bleu verdâtre caractéristique des stéroïdes et au test de Molisch caractéristique des sucres. Sa formule brute C₅₆H₉₂O₂₆, renfermant 11 degrés d'insaturations, a été déduite de l'analyse des spectres de RMN 1D et 2D

Les données de RMN 1D et 2D de **ASF33C9A** sont quasi-similaires à celles du composé **ASF33C1**. Sur le spectre de RMN ¹H (**Fig. 26**), il apparaît un pic à δ_H 3,28 (s ; 3H) correspondant à un oxyméthyle et qui est confirmé sur le spectre de RMN ¹³C (**Fig. 27**) à δ_C 46,3. Ainsi, l'aglycone de **ASF33C9A** est identifié au 25S-22-méthoxyfurost-5-én-3 β ,22 α ,26-triol.

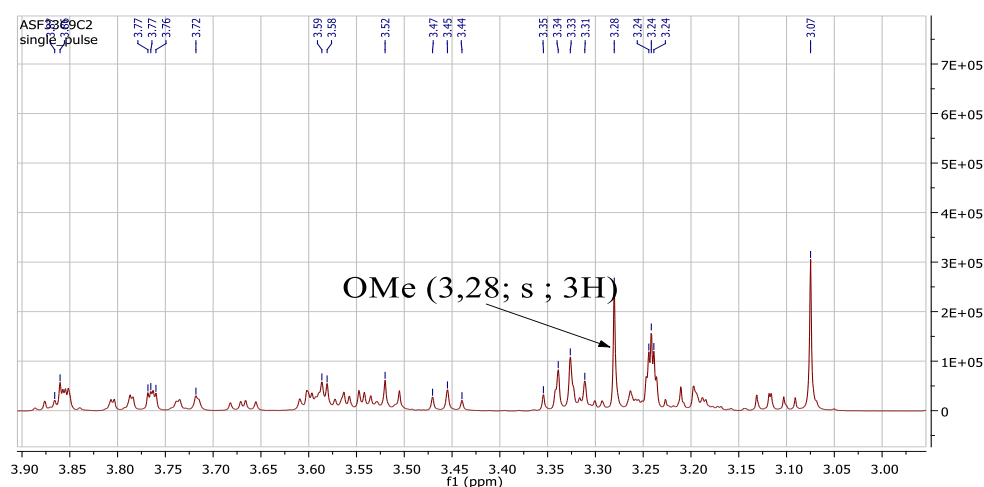


Figure 26 : Spectre de RMN ¹H (600 MHz, CD₃OD) du composé **ASF33C9A**

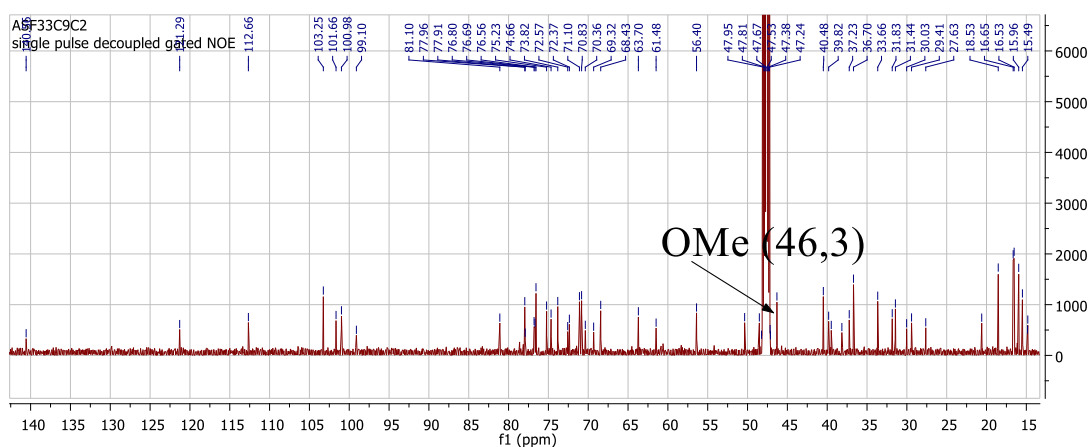


Figure 27 : Spectre de RMN ¹³C (150 MHz, CD₃OD) du composé **ASF33C9A**

L'analyse des données des spectres de RMN 1D et comparaison avec celles de la littérature, a permis de déterminer le composé **ASF33C9A** au (25*S*) 22-méthoxyfurost-5-én-3β,22α,26-triol-3-*O*-([α-*L*-rhamnopyranosyle-(1→2)]-[α-*L*-rhamnopyranosyle-(1→4)]-β-*D*-glucopyranoside)-26-*O*-β-*D*-glucopyranosyle (Shao et al., 1997 ; Huang et al., 2009).

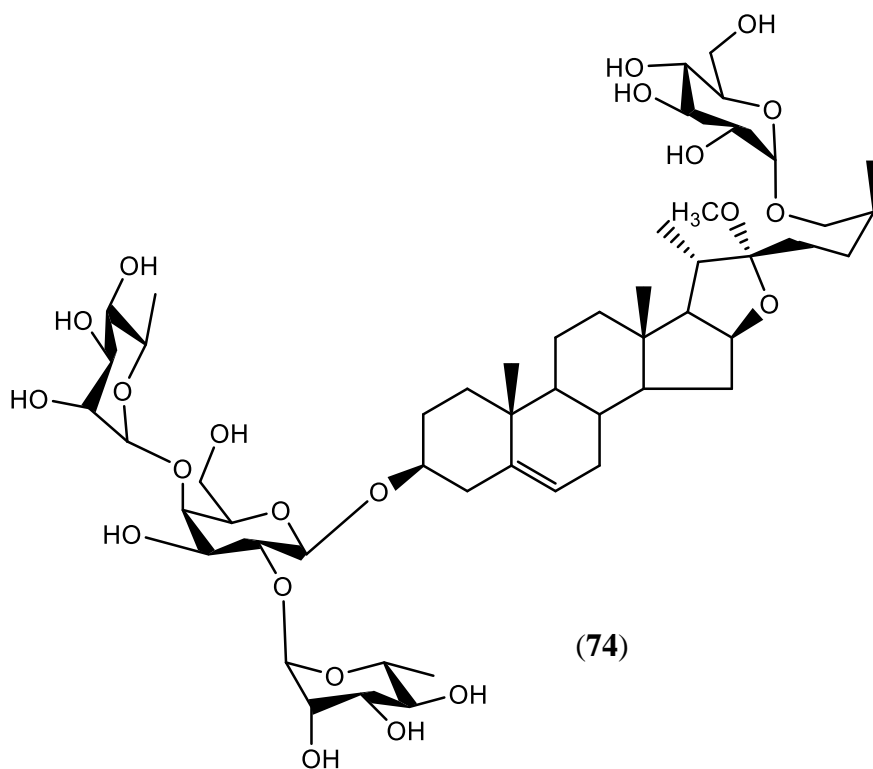


Tableau 12 : Données de RMN [^1H , 600 ^{13}C , 150 MHz), CD_3OD] de **ASF33C9A** et comparaison avec celles de la littérature

| N° | ASF33C9A | | | | |
|-----|------------|---|---------|----------------|------------------------------------|
| | Aglycone | | | Sucre | |
| | δ_C | δ_H (mult., <i>J</i> en Hz) | Gal (1) | δ_C | δ_H (mult., <i>J</i> en Hz) |
| 1 | 37,2 | 1,03/1,86 | 1' | 99,1 | 4,47 (<i>d</i> ; 7,0) |
| 2 | 30,1 | 1,26/1,90 | 2' | 77,9 | 3,37 |
| 3 | 75,2 | 3,29 (<i>m</i>) | 3' | 78,0 | |
| 4 | 38,2 | 2,23/2,39 | 4' | 78,6 | 3,50 |
| 5 | 140,0 | - | 5' | 78,1 | |
| 6 | 121,3 | 5,35 (<i>m</i>) | 6' | 60,6 | 3,75/3,78 |
| 7 | 31,8 | 1,93/1,99 | | Glc (26) | |
| 8 | 31,4 | 1,25 | 1'' | 103,3 | 4,20 (<i>d</i> ; 7,0) |
| 9 | 50,4 | 3,32 | 2'' | 73,8 | 3,16 |
| 10 | 36,6 | - | 3'' | 76,7 | |
| 11 | 20,6 | 1,53/1,23 | 4'' | 70,4 | 3,23 |
| 12 | 39,6 | | 5'' | 76,8 | |
| 13 | 40,5 | - | 6'' | 61,5 | 3,81/3,66 |
| 14 | 56,4 | 1,09 | | Rha I (1 → 2) | |
| 15 | 33,7 | 1,71 | 1''' | 101,0 | 4,81(<i>sl</i>) |
| 16 | 81,1 | 4,34 (<i>dd</i> ; 14,4 et 7,6) | 2''' | 70,8 | 3,90 |
| 17 | 63,7 | 1,70 | 3''' | 71,0 | 3,61 |
| 18 | 15,5 | 0,81 | 4''' | 72,6 | 3,37 |
| 19 | 18,5 | 1,02 | 5''' | 68,4 | 4,10 |
| 20 | 39,8 | 2,14/1,75 | 6''' | 16,5 | 1,24 |
| 21 | 14,8 | 0,98 (<i>d</i> ; 6,9) | | Rha II (1 → 2) | |
| 22 | 112,6 | - | 1''' | 101,7 | 5,17 (<i>sl</i>) |
| 23 | 29,4 | 1,86/1,90 | 2''' | 71,1 | 3,80 |
| 24 | 27,6 | 1,57/1,11 | 3''' | 70,8 | 3,90 |
| 25 | 33,7 | 1,71 | 4''' | 72,4 | 3,40 |
| 26 | 74,7 | 3,70 (<i>dd</i> ; 9,5 et 6,5) /3,32 (<i>dd</i> ; 8,2 et 6,5) | 5''' | 69,3 | 3,90 |
| 27 | 16,0 | 0,92 (<i>d</i> ; 6,7) | 6''' | 16,5 | 1,25 |
| OMe | 46,3 | 3,28(<i>s</i>) | | | |

1.1.2.5 Identification du composé ASFC4-DMSO (ASF4a/b)

ASFC4-DMSO se présente sous forme de poudre blanche amorphe. Il est soluble dans le méthanol et répond positivement au Libermann-Bürchard en donnant une coloration bleu verdâtre caractéristique des stéroïdes et au test de Molisch caractéristique des sucres. Sa formule brute $C_{39}H_{64}O_{13}$, possédant 8 degrés d'insaturations, a été déduite de l'analyse des spectres de RMN 1D et 2D

Identification de l'aglycone

Le spectre de RMN 1H (**Fig. 28**) de **ASFC4-DMSO** montre un pic à δ_H 4,22 (*m*) correspondant au proton H-16 d'un oxyméthine, deux pics apparaissant sous forme de paires à δ_H 4,06 (*m*) et 3,77 (*m*) correspondant aux protons H-26a et H-26b d'une part et d'autre part à δ_H 3,74 (*m*) et 3,14 (*m*) correspondant aux protons H-26a' et H-26b', caractéristiques de deux oxyméthylènes. Il apparaît également des signaux à δ_H 0,66 (*s*) ; 0,68 (*d* ; 1,7 Hz) ; 0,85 (*s*) ; 0,88 (*d* ; 6,9 Hz) et 0,96 (*d* ; 7,1 Hz) des groupes méthyles correspondant aux protons H₃-18, H₃-27e, H₃-19, H₃-21 et H₃-27a respectivement suggérant que le composé **ASFC4-DMSO** est un mélange d'isomères 25*R* et 25*S* de spirostane (PANC *et al.*, 2012).

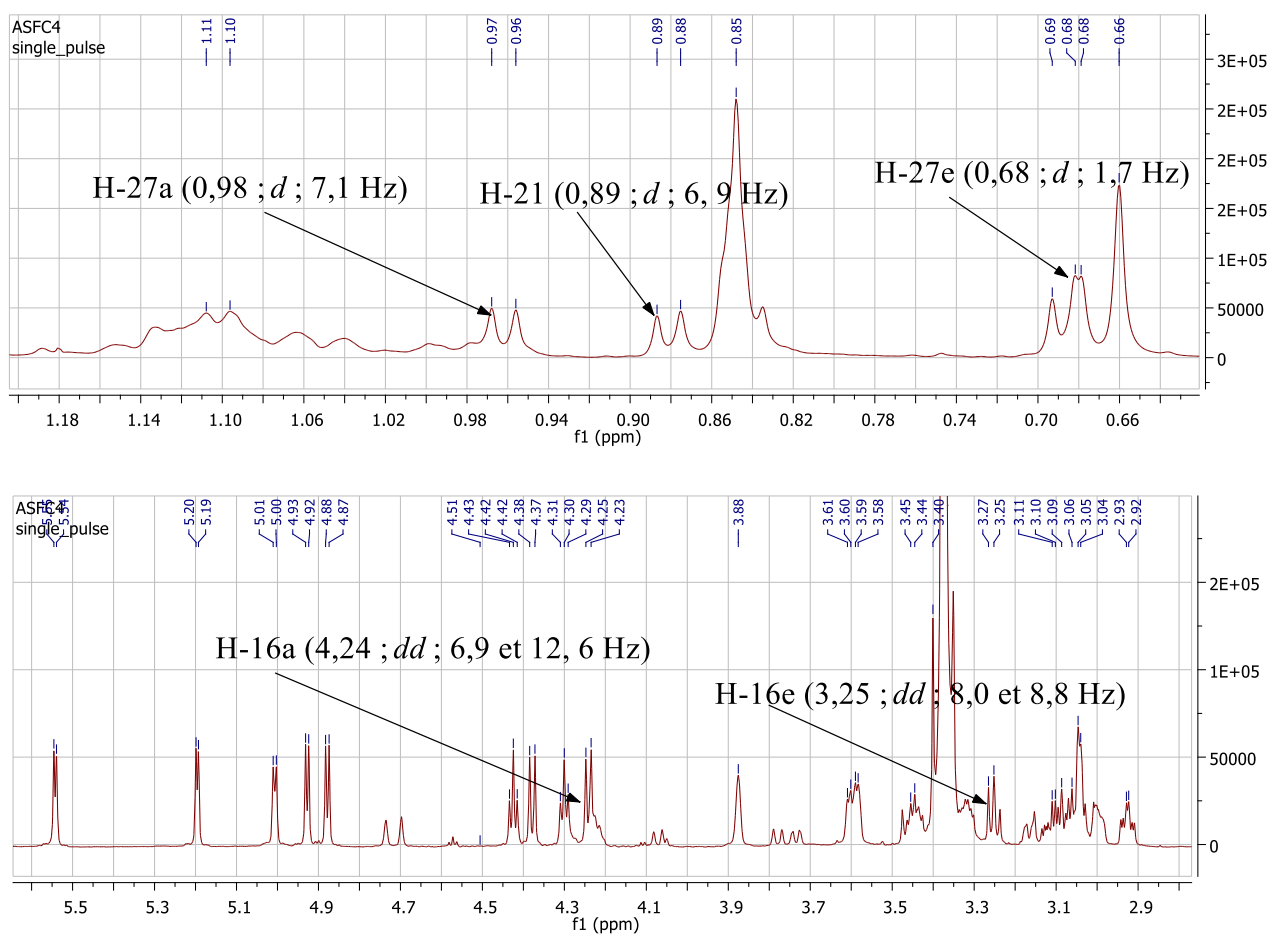


Figure 28 : Spectre de RMN 1H (600 MHz, DMSO- d_6) élargi du composé **ASFC4-DMSO**

Le spectre de RMN ^{13}C (**Fig. 29**) de **ASFC4-DMSO** montre un pic à δ_{C} 74,1 correspondant au carbone C-3, deux pics à δ_{C} 80,8 et 80,9 correspondant aux groupes oxyméthines en C-16a et C-16b. Il apparaît deux oxyméthylènes à δ_{C} 64,8 et 66,5 correspondant aux carbones C-26a et C-26b et deux signaux à δ_{C} 108,9 et 109,1 correspondant aux carbones quaternaires en C-22a et C-22b. Il indique également sept signaux à δ_{C} 15,2 ; 16,0 ; 16,6 ; 17,8 ; 24,1 ; 27,0 et 30,3 correspondant aux carbones des méthyles C-21, C-18, C-27a, C-27b, C-19, C-25b et C-25a. Ces doubles apparitions des signaux observées en C-16, C-22, C-26 et C-27 montrent que le composé **ASFC4-DMSO** est un mélange de deux isomères dont le squelette de base est un stéroïde de type spirostane. Il apparaît aussi les signaux des carbones à δ_{C} 36,4 (C-5) ; 40,1 (C-9) ; 35,0 (C-10) suggérant une orientation β du proton H-5 (Mandal *et al.*, 2006). Les orientations β -axiale et α -équatoriale en C-25 sont déterminées à partir du profil de déplacement chimique du carbone C-27. Il indique que pour une β -axiale le carbone à C-27 est inférieur à 17 ppm ($\delta_{\text{C}}\text{-27}\beta$ 16,6) tandis que si c'est une α -équatoriale le carbone à C-27 est supérieure à 17 ppm (C-27 α 17,8) (Hayes *et al.*, 2008).

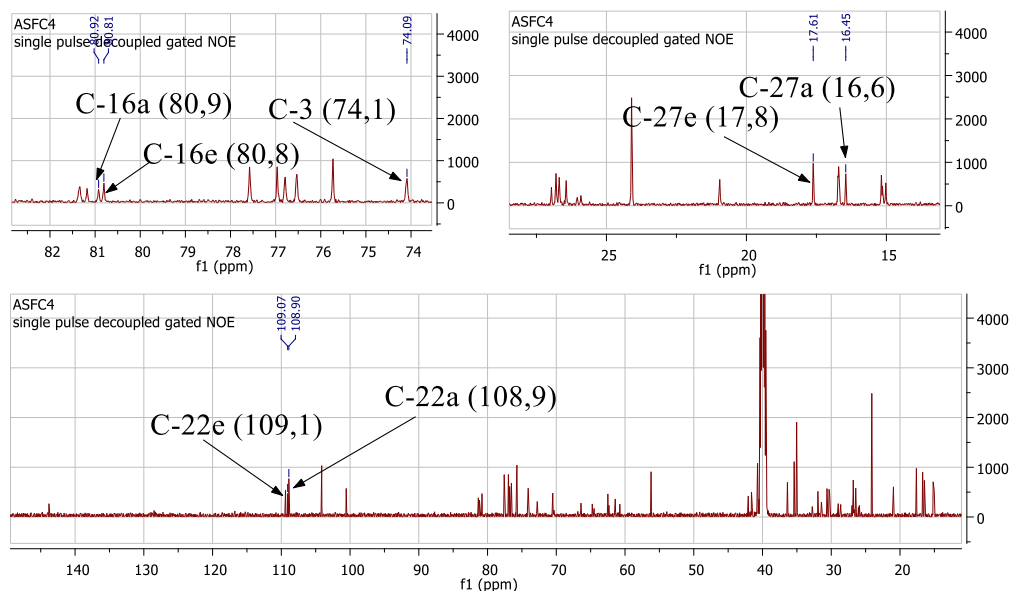
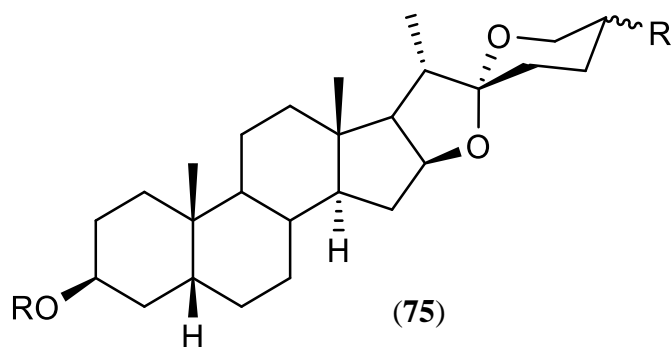


Figure 29 : Spectre de RMN ^{13}C (150 MHz, DMSO- d_6) du composé **ASFC4-DMSO**

Tous les protons et carbones de **ASFC4-DMSO** ont été attribués par l'analyse des spectres HMQC (**Fig. 30**) et HMBC (**Fig. 31**) et par comparaison avec les données de la littérature, l'aglycone de **ASFC4-DMSO** est identifié au squelette de (20*S*, 22*R*, 25*R*) -5 β -spirostan-3 β -ol et à son isomère 25*S* (Kuroda *et al.*, 1995).



- **Nature des sucres et enchainement sur l'aglycone**

Les sucres de **ASFC4-DMSO** ont été déterminées à deux monosaccharides à savoir le D-Glc d'après l'analyse des spectres RMN 1D et 2D.

Le spectre de RMN ^1H (**Fig. 27**) de **ASFC4-DMSO** montre dans la zone des sucres deux signaux attribuables aux protons anomériques à δ_H 4,24 (*d* ; 7,6 Hz) et 4,38 (*d* ; 7,7 Hz) et qui corrént sur le spectre HMQC (**Fig. 30**) avec les carbones à δ_C 100,6 et 104,1 respectivement. L'orientation β des unités osidiques est établie sur la base des constantes de couplage (*J*) à 7,6 et 7,7 Hz des différents protons anomériques. Les carbones correspondants ont été attribués sur la base des corrélations observées sur le spectre HMQC.

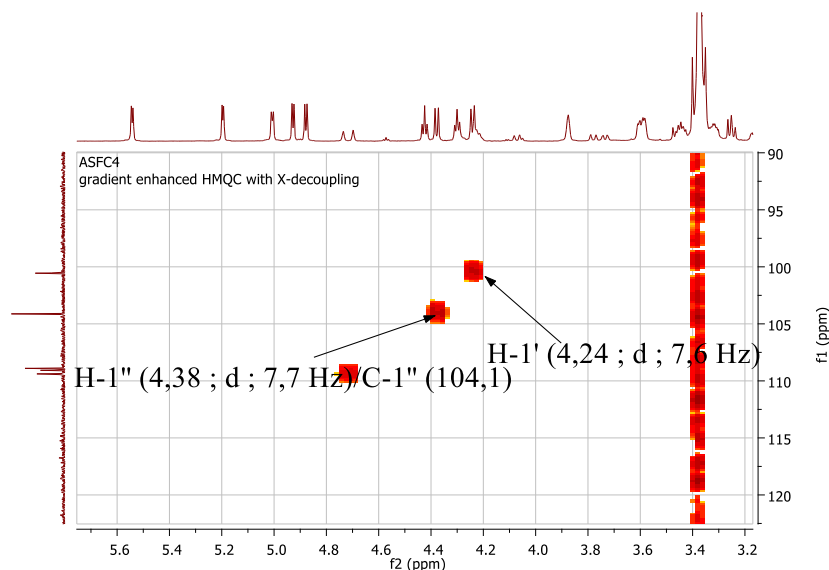


Figure 30 : Spectre HMQC élargi du composé **ASFC4-DMSO**

La détermination du site de fixation de l'aglycone et l'enchainement des sucres sont établis grâce à l'interprétation du spectre HMBC élargi (**Fig. 31**). En effet, il indique la corrélation entre le proton H-1' (δ_H 4,24) et le carbone C-3 (δ_C 74,1) suggérant que le Glc I est lié à la génine en position 3. Il apparaît également une corrélation entre le proton H-1'' (δ_H 4,38) avec le carbone à δ_C 81,4

correspondant au carbone C-2'. Cette corrélation montre que le Glc II est lié au Glc I par une liaison (1→2).

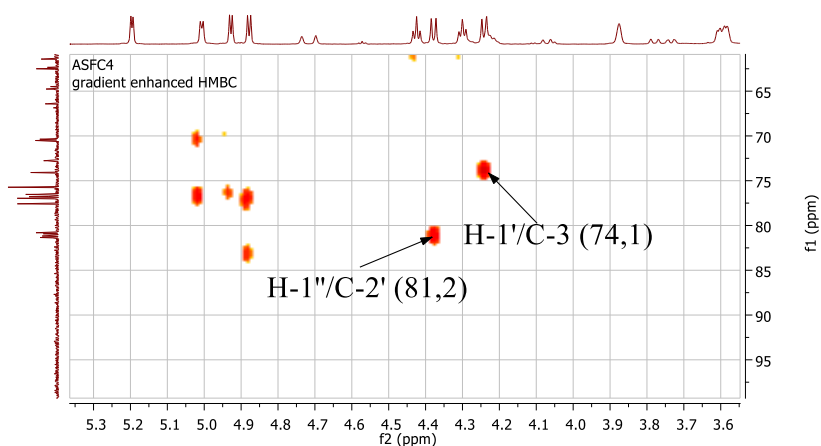


Figure 31 : Spectre HMBC élargi du composé **ASFC4-DMSO**

Les structures du composé **ASFC4-DMSO** sont identifiées et par comparaison avec la littérature aux (20*S*, 22*R*, 25*R*) 5β-spirost-3β-*O*-glucopyranosyl-(1→2)-β-*D*-glucopyranosyle et (20*S*, 22*R*, 25*S*) 5β-spirost-3β-*O*-glucopyranosyl-(1→2)-β-*D*-glucopyranosyle (Zhang *et al.*, 2004), un mélange de deux isomères dans les proportions 60/40.

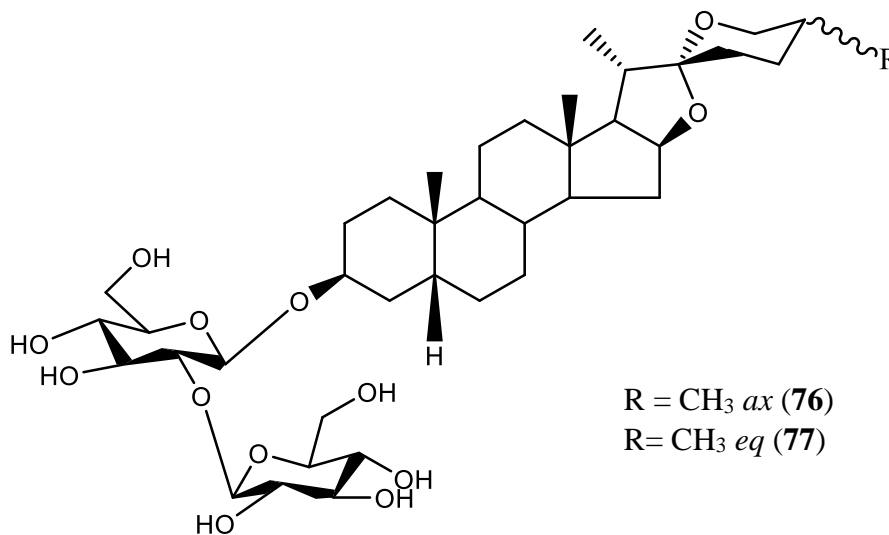


Tableau 13 : Déplacements chimiques de RMN [^1H , 600 et ^{13}C , 150 MHz), DMSO- d_6] de ASFC4-DMSO_a et ASFC4-DMSO_b.

| N ^o | Aglycone | | | | | | Sucre | | |
|----------------|-------------------------|---------------------------------|-------------------------|--------------------------------|--------------------|------------------------|--------------------------------|------------|---------------------------|
| | ASFC4-DMSO _a | | ASFC4-DMSO _b | | Zhang et al., 2004 | | Glc I | δ_C | δ_H (en Hz) |
| | δ_C | δ_H (en Hz) | δ_C | δ_H (en Hz) | δ_C | δ_H (en Hz) | | | |
| 1 | 30,6 | 1,37/1,69 | 30,6 | 1,37/1,69 | 30,8 | 1,85/1,46 | 1' | 100,6 | 4,24 (<i>d</i> ; 7,6) |
| 2 | 27,0 | 1,30/1,75 | 26,8 | 1,30/1,75 | 26,1 | 1,83/1,49 | 2' | 81,4 | 3,26 |
| 3 | 74,1 | 3,88 (<i>m</i>) | 74,1 | 3,88 (<i>m</i>) | 75,1 | 4,22 (<i>m</i>) | 3' | 76,8 | 3,32 |
| 4 | 31,9 | 1,86/1,42 | 31,9 | 1,86/1,11 | 30,6 | 1,75 | 4' | 70,4 | 3,08 |
| 5 | 36,4 | 2,20 | 36,4 | 2,20 | 36,5 | 2,21 | 5' | 77,0 | 3,03 |
| 6 | 26,5 | 1,53/1,33 | 26,5 | 1,53/1,33 | 26,8 | 1,77/1,11 | 6' | 61,4 | 3,34/3,60 |
| 7 | 26,7 | 1,30 | 26,3 | 1,38 | 26,9 | 1,19/0,90 | Glc II (1 \longrightarrow 2) | | |
| 8 | 35,4 | 1,50 | 35,4 | 1,50 | 35,5 | 1,46 | 1" | 104,1 | 4,38 (<i>d</i> ; 7,7 Hz) |
| 9 | 40,1 | 1,30 | 40,1 | 1,30 | 40,2 | 1,24 | 2" | 75,7 | 2,93 |
| 10 | 35,0 | - | 35,0 | - | 35,3 | - | 3" | 76,5 | 3,09 |
| 11 | 21,0 | 1,11/1,27 | 21,0 | 1,11/1,27 | 21,2 | 1,30/1,23 | 4" | 70,5 | 3,01 |
| 12 | 40,8 | 1,64 | 40,8 | 1,65 | 40,3 | 1,65/1,03 | 5" | 77,6 | 3,00 |
| 13 | 39,9 | - | 39,9 | - | 40,9 | - | 6" | 61,5 | 3,43/3,60 |
| 14 | 56,2 | 1,09 | 56,2 | 1,09 | 56,2 | 1,01 | | | |
| 15 | 31,9 | 1,90/1,43 | 31,9 | 1,90/1,43 | 32,2 | 2,00/1,41 | | | |
| 16 | 80,8 | 4,22 (<i>dd</i> ; 6,9 et 12,6) | 80,9 | 3,25 (<i>dd</i> ; 8,0 et 8,8) | 81,4 | 4,57 | | | |
| 17 | 62,5 | 1,82 | 62,3 | 1,82 | 63,0 | 1,81 | | | |
| 18 | 16,0 | 0,85 | 16,0 | 0,85 | 16,6 | 0,80 | | | |
| 19 | 24,1 | 0,85 | 24,1 | 0,85 | 24,0 | 0,96 | | | |
| 20 | 41,6 | 1,82 | 41,5 | 1,74 | 42,5 | 1,92 | | | |
| 21 | 15,2 | 0,88 | 15,2 | 0,88 | 15,0 | 1,14 | | | |
| 22 | 108,9 | - | 109,1 | - | 109,1 | - | | | |
| | | | 1 | | | | | | |
| 23 | 26,6 | 1,75/1,60 | 26,6 | 1,75/1,60 | 26,4 | 1,89/1,42 | | | |
| 24 | 25,9 | 1,85 | 26,0 | 1,23 | 26,2 | 2,13/1,33 | | | |
| 25 | 30,3 | 1,70 | 27,0 | 1,59 | 27,6 | 1,57 | | | |
| 26 | 66,5 | 3,74/3,14 | 64,8 | 4,06/3,77 | 65,1 | 4,06/3,35 | | | |
| 27 | 16,6 | 0,96 (<i>d</i> ; 7,1) | 17,8 | 0,68 (<i>d</i> ; 1,7) | 16,3 | 1,06 (<i>d</i> ; 7,0) | | | |

I.1.2.6 Détermination de la structure du composé AST9

Le composé **AST9** se présente sous forme de poudre blanche amorphe, il est soluble dans le méthanol et répond positivement au test de Libermann-Bürchard en donnant une coloration bleu verdâtre caractéristique des stéroïdes et au test de Molisch caractéristique des sucres.

Spectre de masse

Le composé **AST9** montre sur le spectre de masse TOF-HR-ESI (**Fig. 32**) en mode négatif le pic de l'ion moléculaire M^- à m/z 738,4177 (valeur calculée 738,4190) ; en accord avec la formule brute $C_{39}H_{62}O_{13}$ possédant 9 degrés d'insaturations. Le spectre de masse TOF-HR-ESI (**Fig. 33**) en mode positif indique un ion fragment à m/z 414,2706 $[(M+H)-162-162-Na]$ correspondant au clivage de la liaison reliant l'oligosaccharide à la génine. La dissociation de la liaison reliant l'oligosaccharide à la génine en présence de l'ion cation (Na^+) ne fournit aucune information concernant les structures détaillées des chaînes oligosaccharidique (Savarino P *et al.*, 2021). Cependant, la valeur à m/z 349 correspond à la perte de deux oses à m/z 162 chacun (équivalent à $C_6H_{12}O_5$) en plus de l'adduit sodium $[2 \times 162 + 2H + Na]^{3+}$.

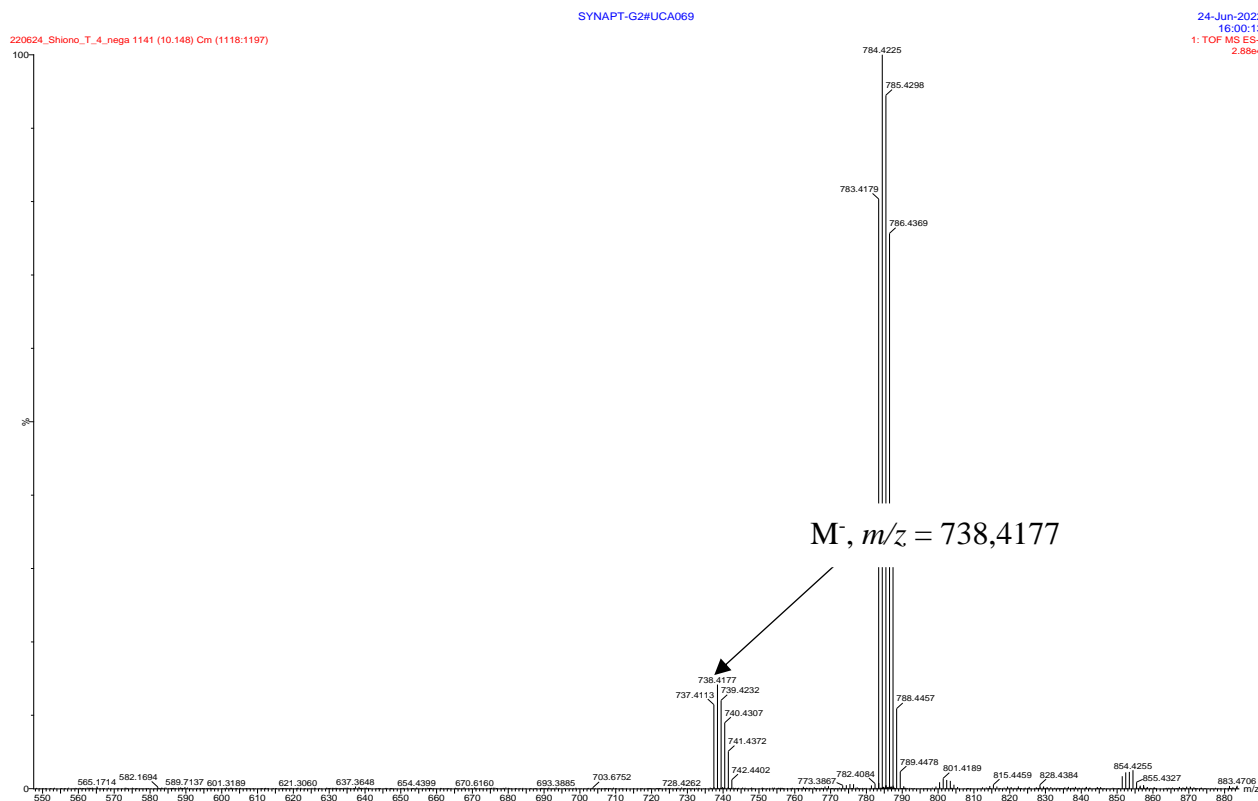


Figure 32 : Spectre de masse TOF-HR-ESI (-) du composé **AST9**

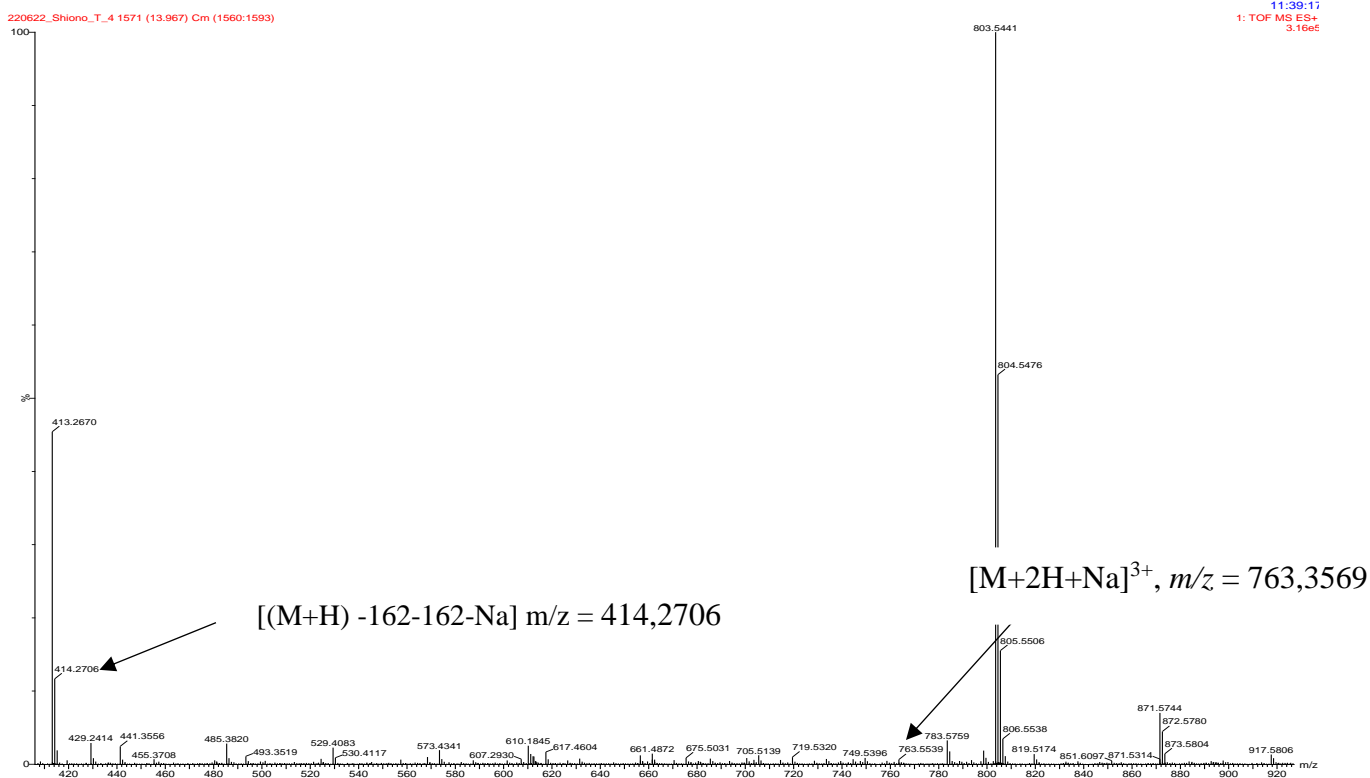


Figure 33 : Spectre de masse TOF-ES (+) du composé **AST9**

- **Nature de l'Aglycone de AST9**

Le spectre de RMN ¹H (**Fig. 34**) du composé **AST9**, révèle trois méthyles parmi lesquels deux singulets à δ_H 0,77 (3H, *s*, Me-18) et 0,97 (3H, *s*, Me-19) et un doublet à δ_H 0,92 (3H ; *d* ; 7,1 Hz, Me-21). Il apparaît également deux pics à δ_H 1,84 (*m*) et 4,42 (*dd* ; 6,8 et 12,0 Hz) correspondant aux protons H-5 et H-16, respectivement. Le spectre de RMN ¹H de **AST9** montre deux signaux d'un hexométhylène à δ_H 4,70 (H_{27a}) et 4,73 (H_{27b}). La différence de résonance observée en C-27 montre la présence de la double liaison entre C-25 et C-27 suggérant la diastérisotopie des protons en C-27.

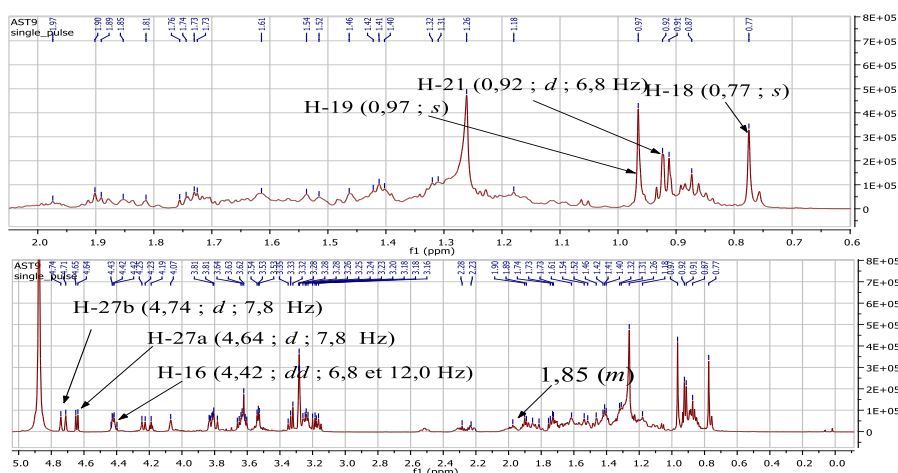


Figure 34 : Spectre de RMN ¹H (600 MHz, CD₃OD) du composé **AST9**

Le spectre de RMN ^{13}C (**Fig. 35**) de **AST9** montre deux pics à δ_{C} 143,9 et 107,6 des carbones vinyliques C-25 et C-27 montrant qu'il s'est produit une déshydrogénation au niveau du composé **AST9** comparativement au composé **AS43**. Il apparaît deux signaux à δ_{C} 81,3 et 75,0 correspondants aux carbones C-16 et C-3 attribuables aux oxyméthines. Son spectre de RMN ^{13}C (**Fig. 35**) montre également des pics caractéristiques du squelette des spirostanes (Zhou *et al.*, 2006) à δ_{C} 62,7 ; 64,5 et 109,3 correspondants aux carbones C-17, C-26 et C-22, respectivement. Ce même spectre indique trois signaux à δ_{C} 13,6 ; 15,6 et 23,2 correspondants aux carbones des méthyles C-21, C-18 et C-19, respectivement. L'orientation β du proton H-5 est établie sur la base des déplacements chimiques des carbones à δ_{C} 36,2 (C-5) ; 40,0 (C-9) ; 34,8 (C-10) (Mandal *et al.*, 2006).

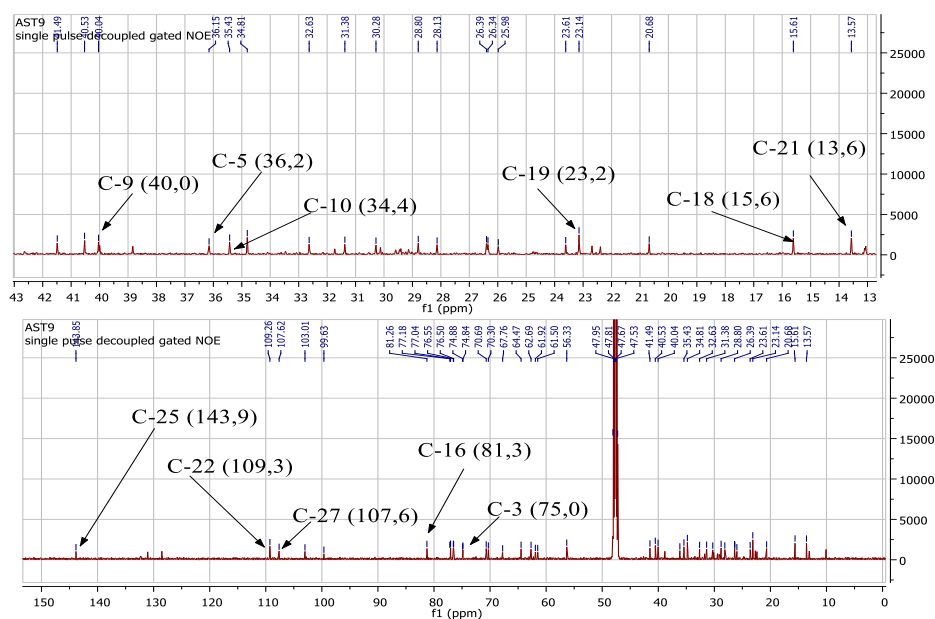


Figure 35 : Spectre de RMN ^{13}C (150 MHz, CD_3OD) du composé **AST9**

Le spectre HMBC (**Fig. 36**) permet de confirmer la nature de l'aglycone. En effet, il apparaît des corrélations entre le proton H-27 (δ_{H} 4,71) avec les carbone C-26 (δ_{C} 64,5) et C-24 (δ_{C} 28,1). Il indique également des corrélations entre les protons H-19 (δ_{H} 0,97) avec les carbones C-9 (δ_{C} 40,1), C-5 (δ_{C} 36,0) et C-1 (δ_{C} 30,0), H-18 (δ_{H} 0,77) avec les carbones C-14 (δ_{C} 56,3) et C-17 (δ_{C} 62,6) et H-21 (δ_{H} 0,92) avec les carbones C-17 (δ_{C} 62,6), C-20 (δ_{C} 41,5) et C-22 (δ_{C} 109,3).

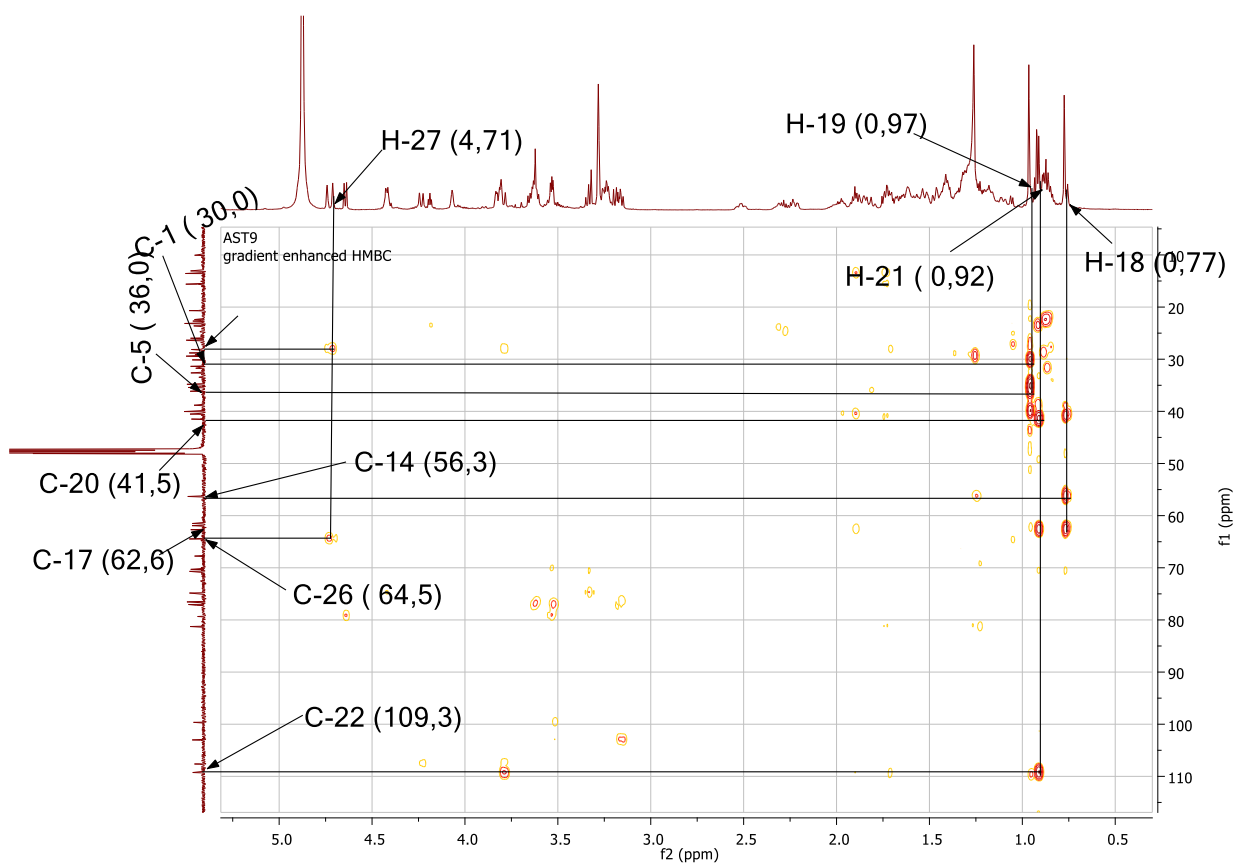


Figure 36 : Spectre HMBC du composé **AST9**

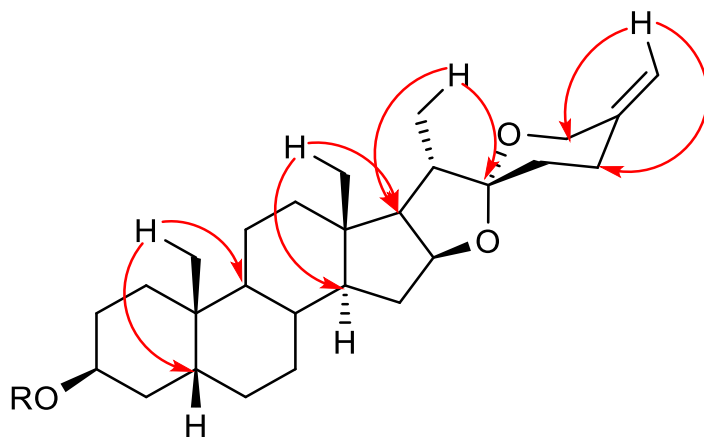


Schéma 11 : Corrélations HMBC du composé **AST9**

L'analyse des données des spectres de RMN 1D et RMN 2D et comparaison à celles de la littérature a permis d'identifier l'aglycone du composé **AST9** au 5 β -spirost-25(27)-én-3 β -ol (Hayes et *al.*, 2008).

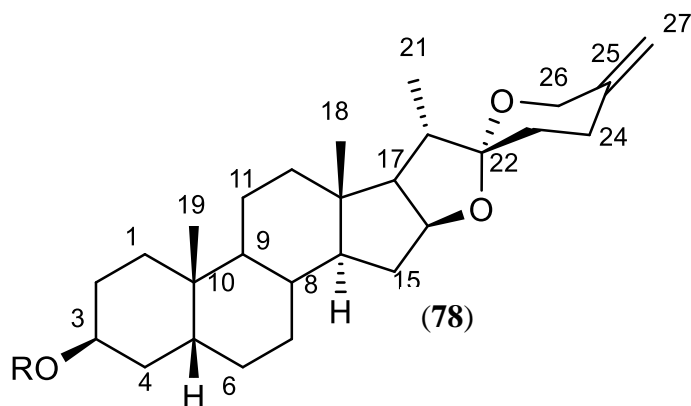


Tableau 14 : Données de RMN [^1H , 600 ^{13}C , 150 MHz), CD_3OD] de la partie aglycone de **AST9** par comparaison avec les données de la littérature

| N° | AST9 | |
|----|------------|---|
| | δ_C | δ_H (mult., J en Hz) |
| 1 | 30,3 | 1,45 (<i>dd</i> ; 11,9 et 2,4) |
| 2 | 26,4 | 1,16 (<i>m</i>)/1,88 (<i>m</i>) |
| 3 | 75,0 | 4,07 (<i>m</i>) |
| 4 | 31,4 | 1,23 (<i>m</i>)/1,96 (<i>m</i>) |
| 5 | 36,2 | 1,84 (<i>m</i>) |
| 6 | 26,0 | 1,42 (<i>m</i>)/1,62 (<i>m</i>) |
| 7 | 26,4 | 1,25 (<i>m</i>) |
| 8 | 35,4 | 1,60 (<i>m</i>) |
| 9 | 40,1 | 1,16 (<i>m</i>) |
| 10 | 34,8 | - |
| 11 | 20,7 | 1,40 (<i>m</i>) |
| 12 | 40,9 | 1,71 (<i>m</i>) |
| 13 | 40,5 | - |
| 14 | 56,3 | 1,22 (<i>m</i>) |
| 15 | 32,6 | 1,44 (<i>m</i>) |
| 16 | 81,3 | 4,42 (<i>dd</i> ; 12,0 et 6,8) |
| 17 | 62,7 | 1,73 (<i>dd</i> ; 13,7 et 6,8) |
| 18 | 15,6 | 0,77 (<i>s</i>) |
| 19 | 23,2 | 0,97 (<i>s</i>) |
| 20 | 41,5 | 1,90 (<i>dd</i> ; 13,7 et 7,1) |
| 21 | 13,6 | 0,92 (<i>d</i> ; 7,1) |
| 22 | 109,3 | - |
| 23 | 33,6 | 1,84 (<i>m</i>) |
| 24 | 28,1 | 2,21 (<i>m</i>)/2,50 (<i>m</i>) |
| 25 | 143,9 | - |
| 26 | 64,5 | 4,23 (<i>d</i> ; 12,0)/3,81 (<i>d</i> ; 12,0) |
| 27 | 107,6 | 4,70 (7,8)/4,73 (7,8) |

- **Nature des sucres et enchainement sur l'aglycone**

Les sucres de **AST9** ont été déterminés à deux monosaccharides à savoir deux D-Glc d'après l'analyse des spectres RMN 1D et 2D.

Le spectre de RMN ^1H (**Fig. 34**) du composé **AST9** permet de distinguer dans la zone des sucres deux signaux attribuables aux protons anomériques à δ_H 4,42 (d ; 7,1 Hz) et 4,64 (d ; 7,8 Hz) et qui corrèlent sur le spectre HMQC (**Fig. 37**) avec les carbones à δ_C 99,6 et 103,0, respectivement. Les protons des différentes unités osidiques ont été identifiés par une analyse approfondie des spectres COSY (**Fig. 38**) et HMBC élargi (**Fig. 39**). Les carbones correspondants ont été attribués sur la base des corrélations observées sur le spectre HMQC.

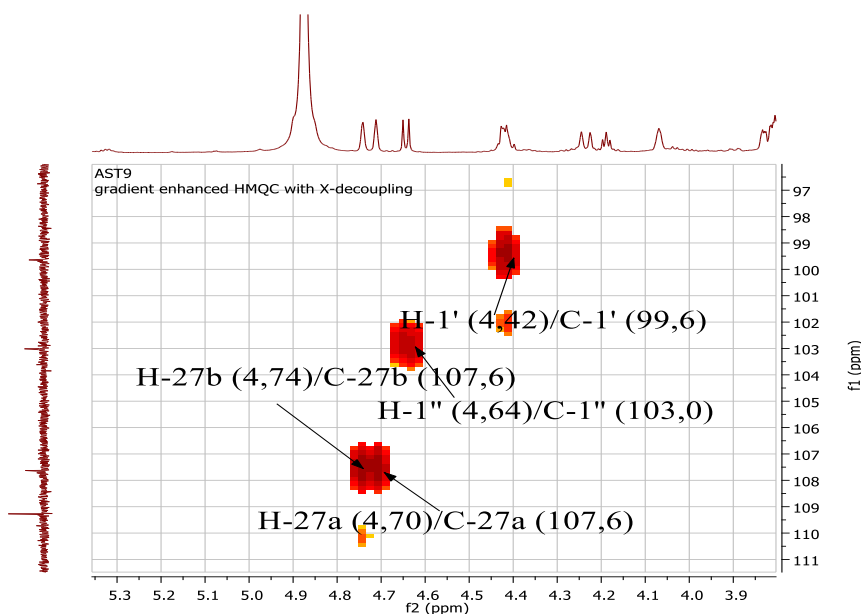


Figure 37 : Spectre HMQC du composé **AST9**

Le spectre COSY (**Fig. 38**) du composé **AST9** montre des corrélations entre les protons H-1' (δ_H 4,42) et H-2' (δ_H 3,53) du Glc I et H-1'' (δ_H 4,64) et H-2'' (δ_H 3,16) du Glc II.

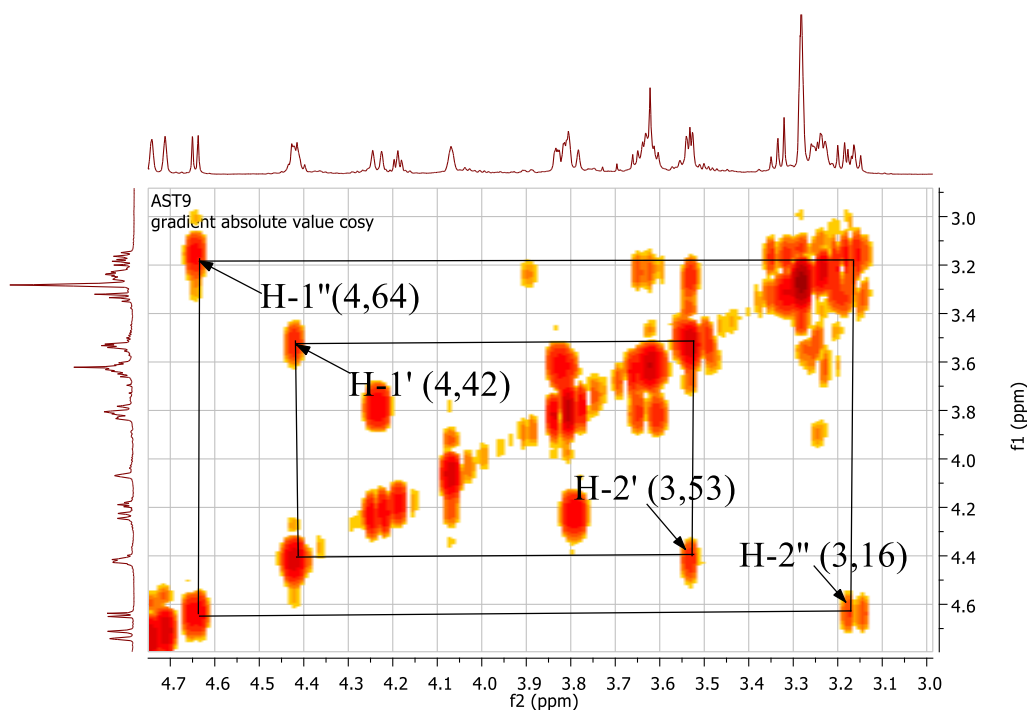


Figure 38 : Spectre COSY élargi du composé AST9

La détermination du site de fixation de la génine et l'enchaînement des oligosaccharides sont déterminés grâce à l'interprétation du spectre HMBC élargi (**Fig. 39**). Il est établi la corrélation entre le proton H-1' (δ_H 4,42) et le carbone C-3 (δ_C 74,9) suggérant que le Glc I est lié à la génine en position 3. Il apparaît également une corrélation entre le proton H-1'' (4,64) avec le carbone à δ_C 79,2 correspondant au carbone C-2'. Cette corrélation montre que le Glc II est lié au Glc I par une liaison (1→2).

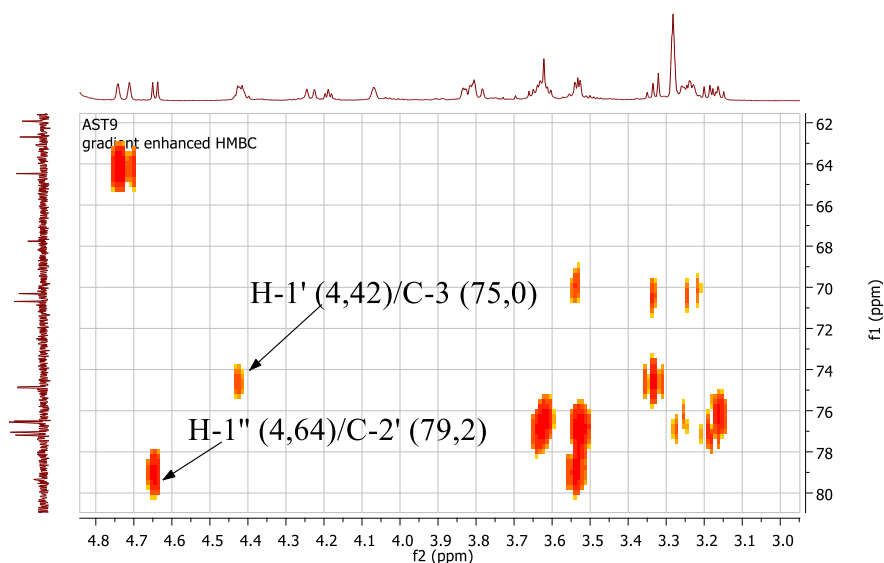


Figure 39 : Spectre HMBC élargi de la partie sucre du composé AST9

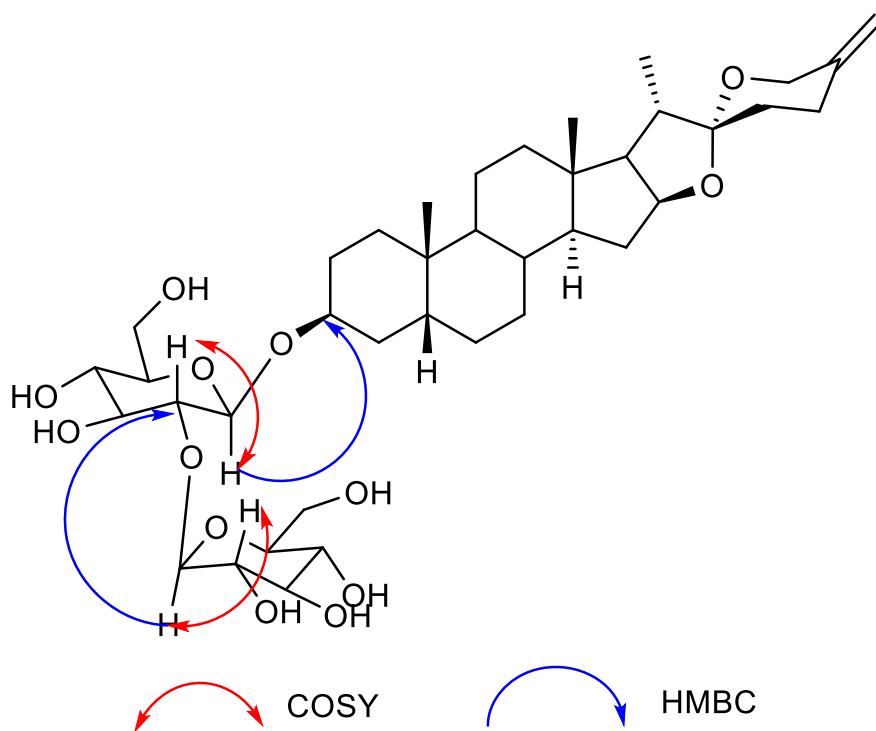


Schéma 12 : Corrélations COSY et HMBC-élargi du composé **AST9**

L'interprétation des données RMN 1D et 2D ont permis de déterminer la structure du composé **AST9** au 5β -spirost-25(27)-én-3 β -O-[[β -D-glucopyranosyl-(1 \rightarrow 2)- β -D-glucopyranoside]], un dérivé nouveau.

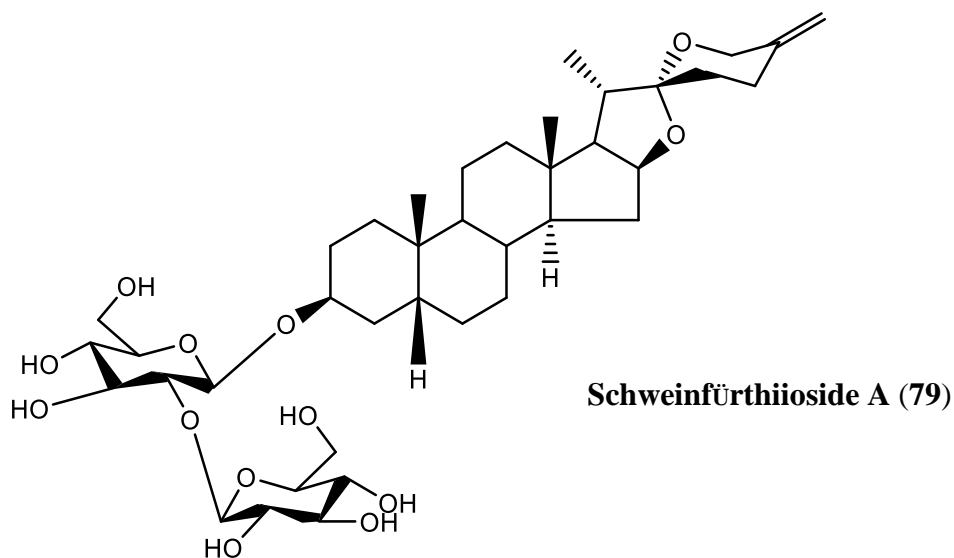


Tableau 15 : Données de RMN [^1H , 600 ^{13}C , 150 MHz), CD_3OD] de la partie osidique de **AST9**

| N° | AST9 | | | |
|----|---------------------|--|--------------------------------|--|
| | Glc I | | Glc II (1 \longrightarrow 2) | |
| | δ_{C} | δ_{H} (mult., J en Hz) | δ_{C} | δ_{H} (mult., J en Hz) |
| 1 | 99,6 | 4,42 (d ; 7,1) | 103,0 | 4,64 (d ; 7,8) |
| 2 | 79,2 | 3,53 | 74,9 | 3,16 |
| 3 | 77,1 | 3,54 | 76,6 | 3,34 |
| 4 | 70,3 | 3,27 | 70,7 | 3,19 |
| 5 | 77,2 | 3,24 | 76,5 | 3,24 |
| 6 | 61,5 | 3,85/3,64 | 61,9 | 3,60/3,82 |

I.1.2.7 Détermination de la structure du composé **AST5**

Le composé **AST5** se présente sous forme de poudre blanche amorphe. Il est soluble dans le méthanol et répond positif au test de Libermann-Bürchard en donnant une coloration bleu verdâtre suggérant sa nature stéroïdique et au test de Molisch caractéristique des sucres.

➤ Spectre de masse

Le composé **AST5** montre sur les spectres de masse TOF-HR-ESI (**Fig. 40**) en mode négatif et mode positif les pics d'ions pseudo-moléculaires $[\text{M}-\text{H}]^-$ à m/z 753,4071 et $[\text{M}+3\text{H}]^{3+}$ à m/z 757,4374 (valeur calculée 754,4140) en accord avec la formule brute $\text{C}_{39}\text{H}_{62}\text{O}_{14}$ possédant 9 degrés d'insaturations, respectivement. Le spectre de masse TOF-HRESI (**Fig. 41**) en mode positif indique deux ions fragments à m/z 595,3655 correspondant à la perte d'une unité d'hexose $[(\text{M}+\text{H})-162]^+$ et à m/z 431,3530 $[(\text{M}+\text{H})-162-162]^+$ qui correspond à la perte de deux unités d'hexose (Savarino et *al.*, 2021).

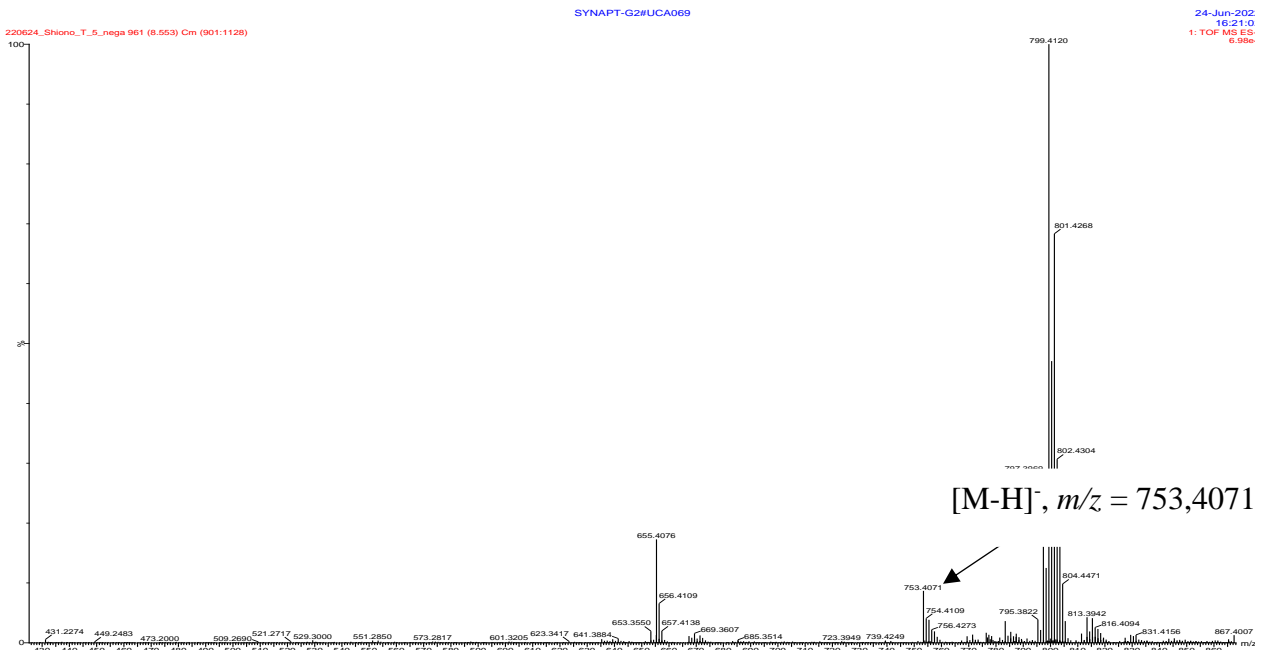


Figure 40 : Spectre de masse TOF-HR-ES (-) du composé **AST5**

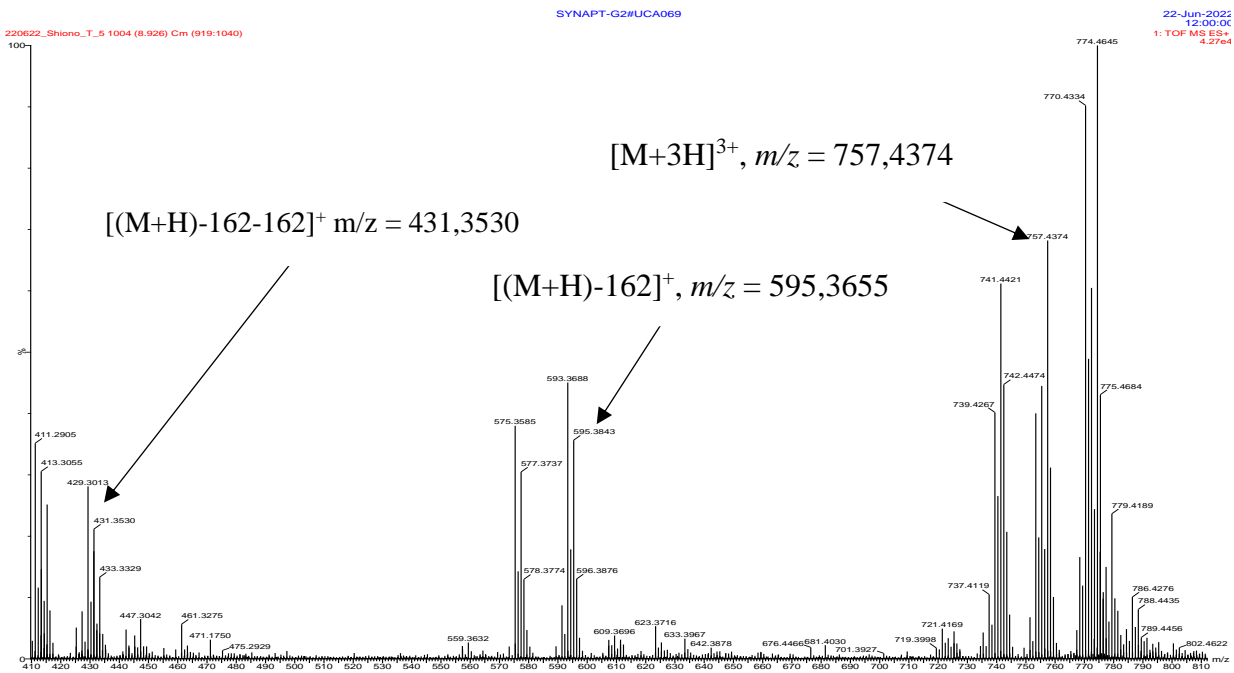


Figure 41 : Spectre de masse TOF-HRES (+) du composé **AST5**

Identification de l'aglycone

La comparaison des valeurs des déplacements chimiques observées pour l'aglycone de **AST5** avec celles obtenues pour le composé **AST9**, montre que ces composés ont le même aglycone, à savoir le 5 β -spirost-25(27)- \acute{e} n-3 β -ol (Hayes et *al.*, 2008). Cependant, le composé **AST5** présente quelques différences au niveau des cycles E et F. En effet, le spectre de RMN ¹³C (Fig. 42) du composé **AST5** montre des pics à δ_C 90,0 (C-17) ; 89,5 (C-16) ; 44,8 (C-20) ; 7,8 (C-21) et 109,7 (C-

22). Les différences significatives des carbones en C-17, et C-21 suggèrent la présence d'un groupe hydroxyle qui influence les déplacements chimiques des autres groupements.

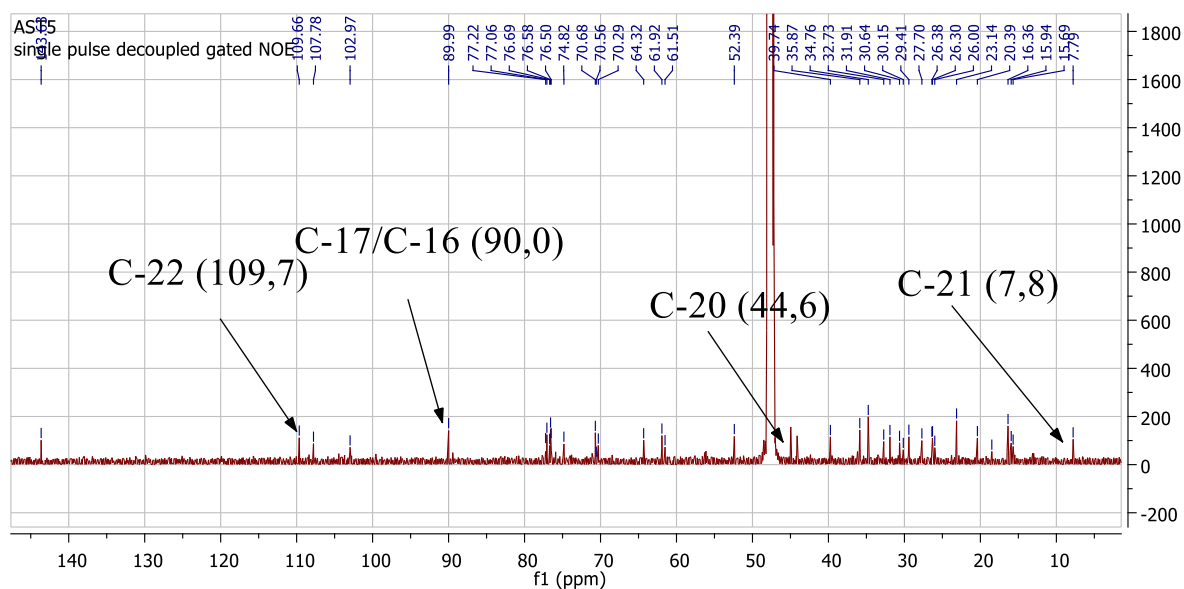


Figure 42 : Spectre RMN ^{13}C (150 MHz, CD_3OD) du composé **AST5**

Ces résultats ont permis d'établir l'aglycone de **AST5** au 17β -hydroxy- 5β -spirost-25(27)-én- 3β -ol (Hayes et *al.*, 2008).

La détermination du site de fixation de l'aglycone et la nature des sucres, établis grâce à l'interprétation du spectre HMBC (**Fig. 43**), sont identiques à ceux du composé **AST9** avec un enchainement de sucre lié en position C-3.

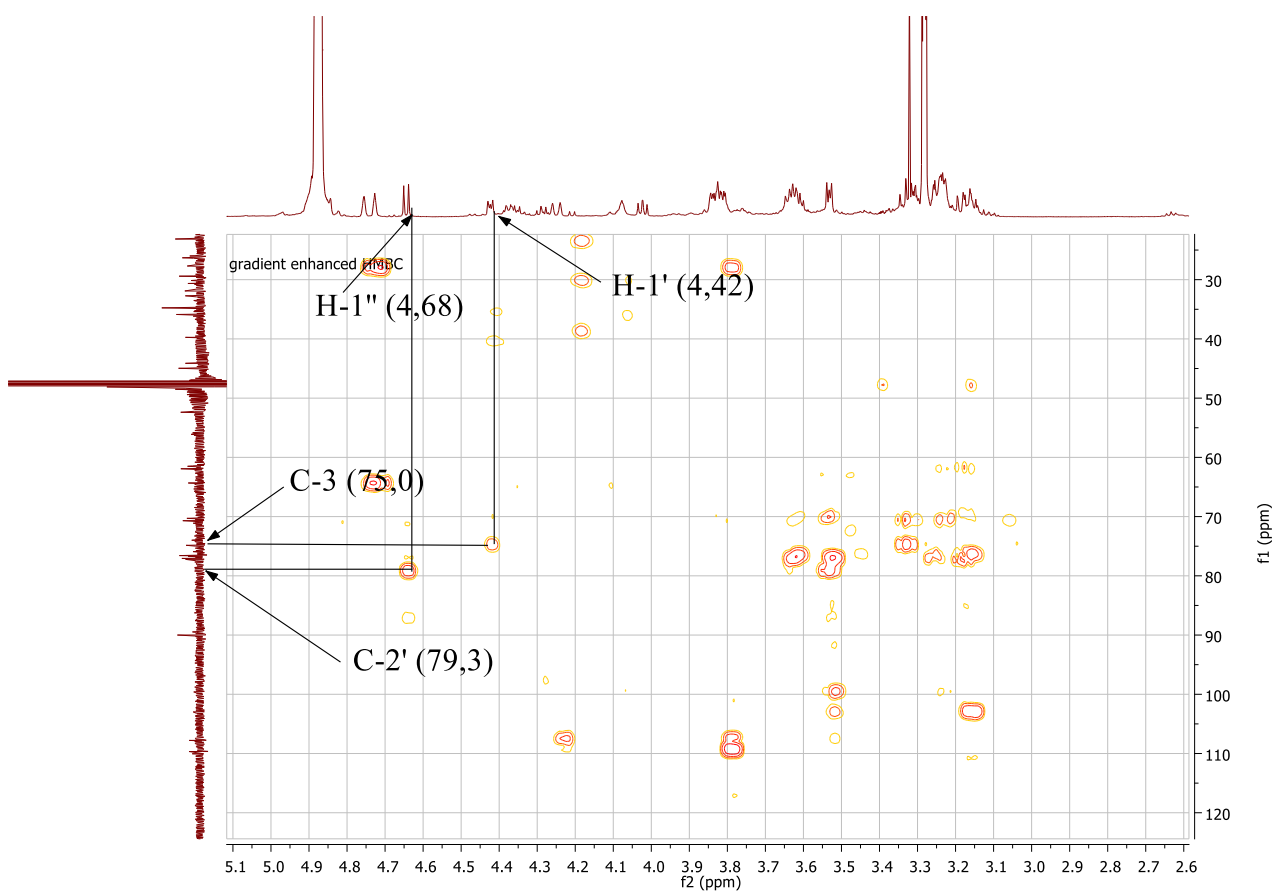


Figure 43 : Corrélations HMBC-élargi du composé AST5

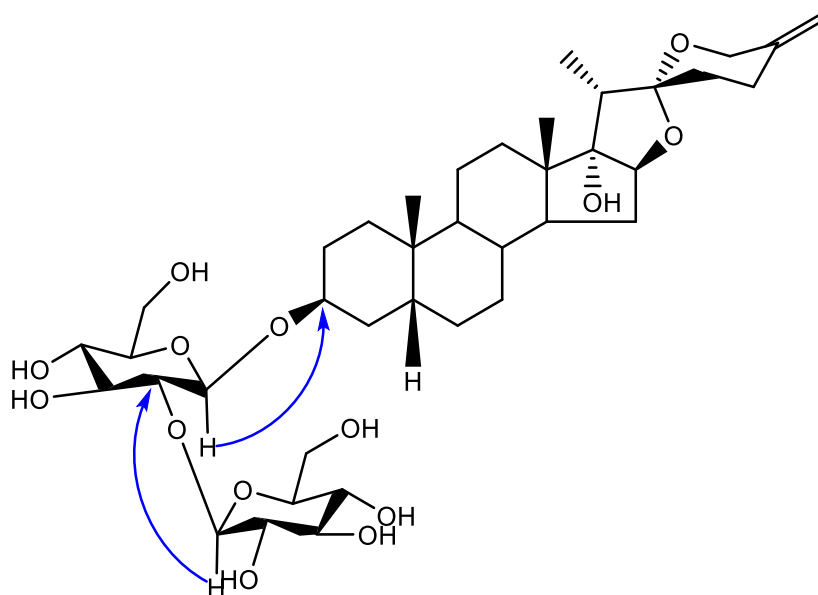


Schéma 13 : Corrélations HMBC-élargi du composé AST5

L'ensemble des données a permis de déterminer la structure du composé **AST5** au 5 β -spirost-25(27)-én-3 β ,17 α -diol-3 β -O- $\{[\beta$ -D-glucopyranosyl-(1 \rightarrow 2)- β -D-glucopyranoside] $\}$, un dérivé nouveau.

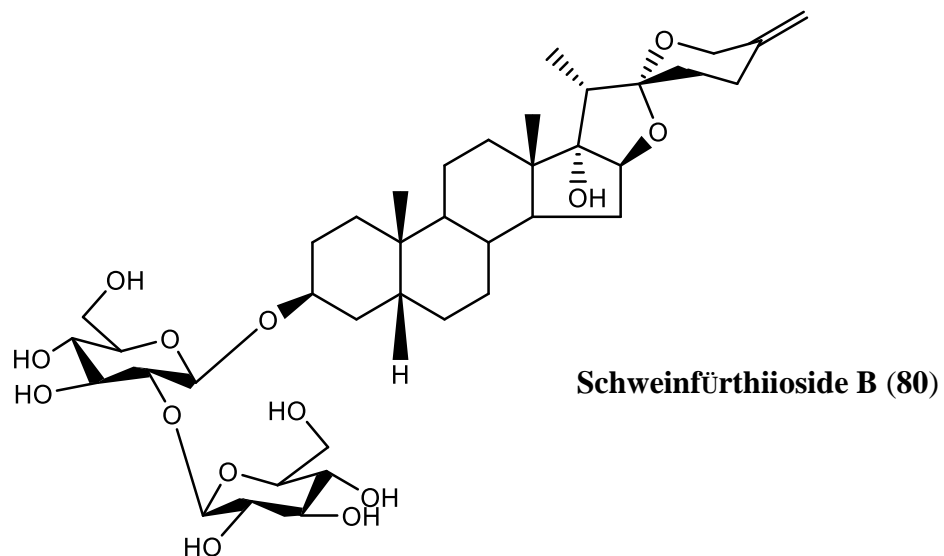


Tableau 16 : Déplacements chimiques RMN [^1H , 600 et ^{13}C , 150 MHz), CD_3OD] du composé de **AST5**

| N° | Aglycone | | Glc I | Sucre | |
|----|------------|---|-------|--------------------------------|-------------------------------|
| | δ_C | δ_H (mult., J en Hz) | | δ_C | δ_H (mult., J en Hz) |
| 1 | 30,2 | 1,47 (<i>dd</i> ; 6,9 et 2,8) | 1' | 99,6 | 4,42 |
| 2 | 26,3 | 1,65 (<i>m</i>)/1,90 (<i>m</i>) | 2' | 79,3 | 3,53 |
| 3 | 75,0 | 3,17 (<i>m</i>) | 3' | 77,1 | 3,54 |
| 4 | 30,7 | 1,94 (<i>m</i>)/2,04 (<i>m</i>) | 4' | 70,3 | 3,27 |
| 5 | 36,2 | 1,87 (<i>m</i>) | 5' | 77,2 | 3,24 |
| 6 | 29,6 | 1,84 (<i>m</i>) | 6' | 61,5 | 3,85/3,64 |
| 7 | 26,0 | 1,48 (<i>m</i>)/1,66 (<i>m</i>) | | Glc II (1 \longrightarrow 2) | |
| 8 | 35,9 | 1,29 (<i>m</i>) | 1'' | 103,0 | 4,64 |
| 9 | 39,7 | 1,40 (<i>m</i>) | 2'' | 74,9 | 3,16 |
| 10 | 34,8 | - | 3'' | 76,6 | 3,34 |
| 11 | 20,4 | 1,52 (<i>m</i>) | 4'' | 70,7 | 3,19 |
| 12 | 31,9 | 1,38 (<i>dd</i> ; 10,8 et 3,5)/1,65 (<i>dd</i> ; 7,9 et 3,5) | 5'' | 76,5 | 3,24 |
| 13 | 45,0 | - | 6'' | 61,9 | 3,60/3,82 |
| 14 | 52,4 | 1,77 (<i>m</i>) | | | |
| 15 | 32,7 | 1,68 (<i>m</i>) | | | |
| 16 | 89,5 | 4,03 (<i>m</i>) | | | |
| 17 | 90,0 | - | | | |
| 18 | 16,4 | 0,80 (<i>s</i>) | | | |
| 19 | 23,1 | 0,97 (<i>s</i>) | | | |
| 20 | 44,8 | 2,10 (<i>d</i> ; 7,2) | | | |
| 21 | 7,8 | 0,85 (<i>d</i> ; 7,2) | | | |
| 22 | 109,7 | - | | | |
| 23 | 26,4 | 1,17 (<i>m</i>) /1,89 (<i>m</i>) | | | |
| 24 | 27,7 | 2,23 (<i>m</i>) | | | |
| 25 | 143,6 | - | | | |
| 26 | 64,3 | 3,83 (<i>d</i> ; 12,3)/4,25 (<i>d</i> ; 12,3) | | | |
| 27 | 107,8 | 4,73 (<i>sl</i>)/4,76 (<i>sl</i>) | | | |

I.1.2.8 Détermination de la structure du composé AST6

Le composé **AST6** se présente sous forme de poudre blanche amorphe. Il est soluble dans le méthanol et répond positivement au test de Libermann-Bürchard en donnant une coloration bleu verdâtre suggérant sa nature stéroïdique et au test de Molisch caractéristique des sucres.

➤ Spectre de masse

Le composé **AST6** montre sur le spectre de masse TOF-HR-ESI (**Fig. 44**) en mode positif un pic d'ion pseudo-moléculaire $[M+H]^+$ à m/z 753,4064 (valeur calculée 752,3983) ; en accord avec la formule brute $C_{39}H_{60}O_{14}$ renfermant dix (10) degrés d'insaturation. Il révèle aussi deux ions fragments à m/z 591,3532 correspondant à la perte d'une unité osidique $[(M+H)-162]^+$ et à m/z 429,3007 $[(M+H)-162-162]^+$ correspondant à la perte de deux unités osidiques.

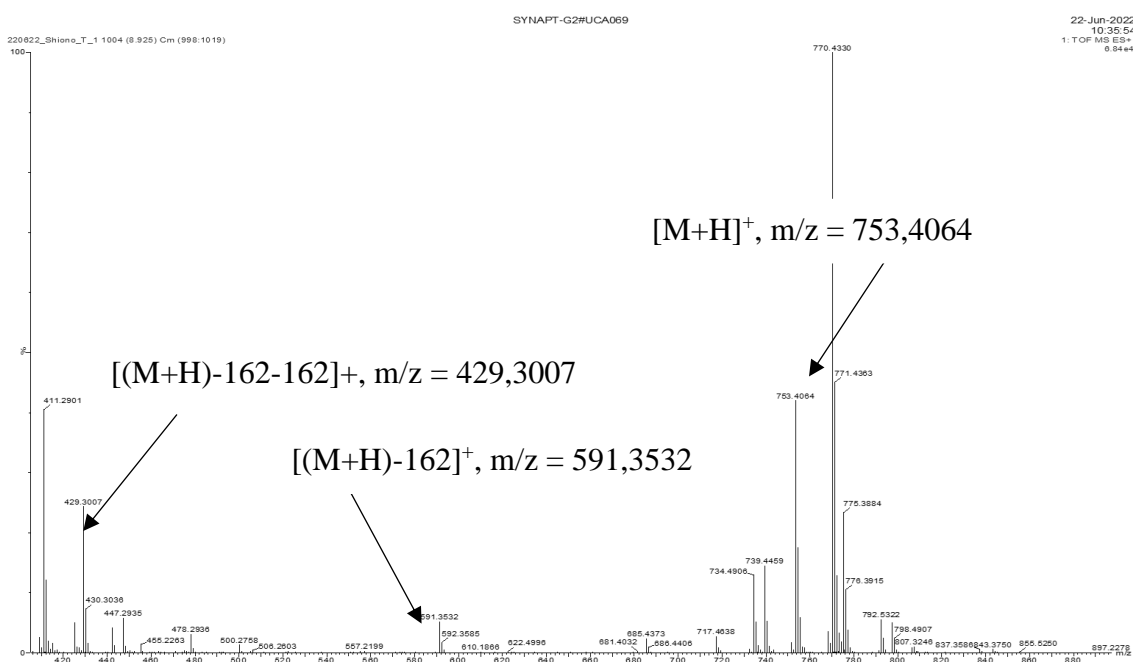


Figure 44 : Spectre de masse TOF-HR-ESI du composé **AST6**

Identification de l'aglycone de **AST6**

Les spectres de RMN ($^1H/^{13}C$)(**Fig. 45 et 46**) de **AST6** montrent les signaux de quatre méthyles parmi lesquels deux singulets à δ_H/δ_C 0,91 (s)/16,0 et 1,21 (s)/16,3 correspondant aux protons H₃-18 et H₃-19 et deux méthyles doublets à δ_H/δ_C 0,93 (d ; 7,0 Hz)/13,0 et 0,81 (d ; 6,6 Hz)/15,7 correspondant aux protons H₃-21 et H₃-27, respectivement, d'un carbone cétalique à δ_C 110,0 (C-22) et d'un oxyméthylène δ_H/δ_C (3,85 ;4,10)/65,4 (C-26), tous ces informations sont indicatrices d'un squelette de type spirostane. Ces spectres montrent également des signaux d'une cétone α,β -insaturée à δ_C 201,0 (C-3), $\delta_{H/C}$ 5,69/122,8 (H/C-4) et δ_C 173,8 (C-5). Le spectre de RMN 1H révèle deux signaux à δ_H 4,37 (m) et 3,66 (m) correspondant aux oxyméthines en C-16 et C-23.

Il apparaît sur le spectre de RMN ^{13}C un signal à δ_{C} 75,3 fortement déblindé correspondant au carbone C-23, trois signaux à δ_{C} 80,9 ; 35,3 et 13,0 correspondants aux carbones C-16, C-20 et C-21, respectivement. L'interprétation des déplacements chimiques des carbones C-16 ; C-20 et C-21 par comparaison à celles de la littérature suggère la configuration *S* en C-22 (Matsushita *et al.*, 2006).

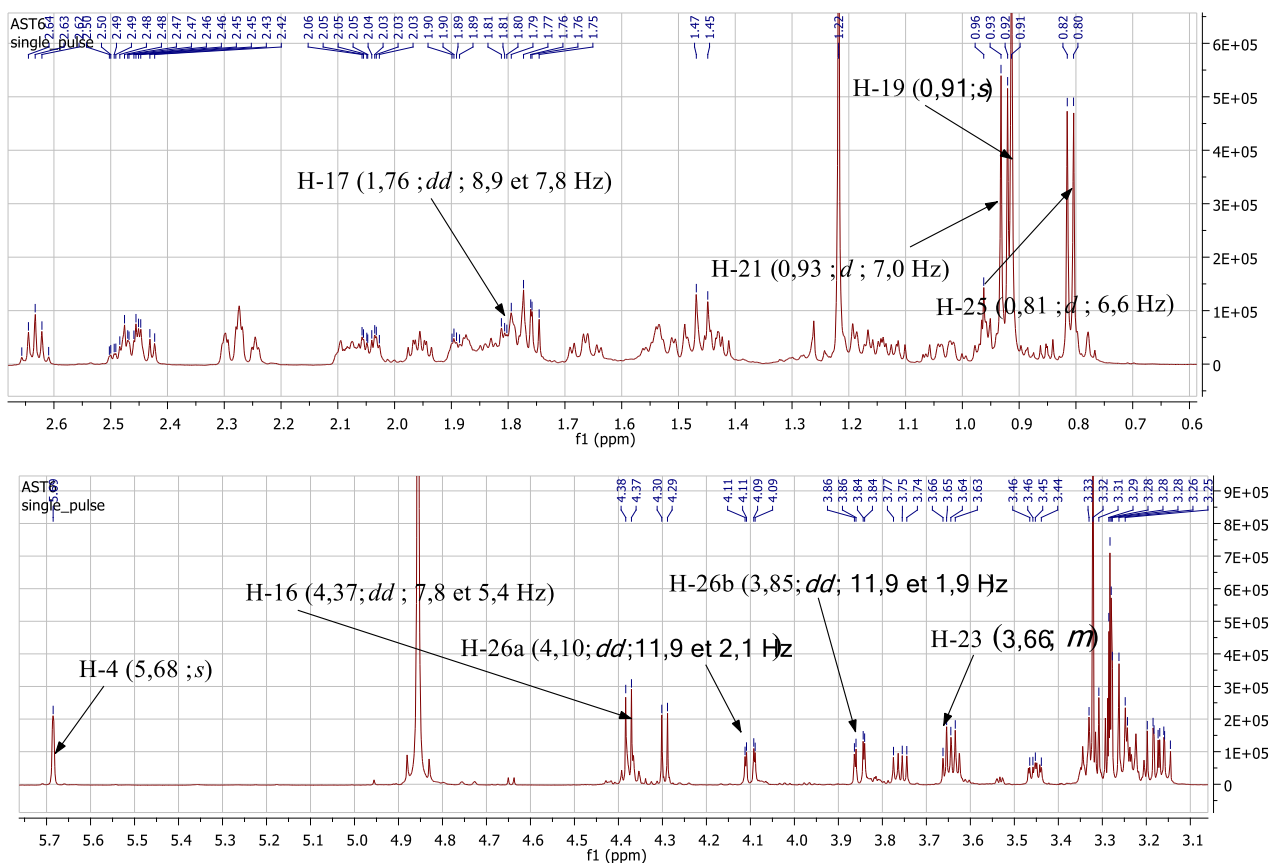


Figure 45 : Spectre de RMN ^1H (600 MHz, CD_3OD) du composé AST6

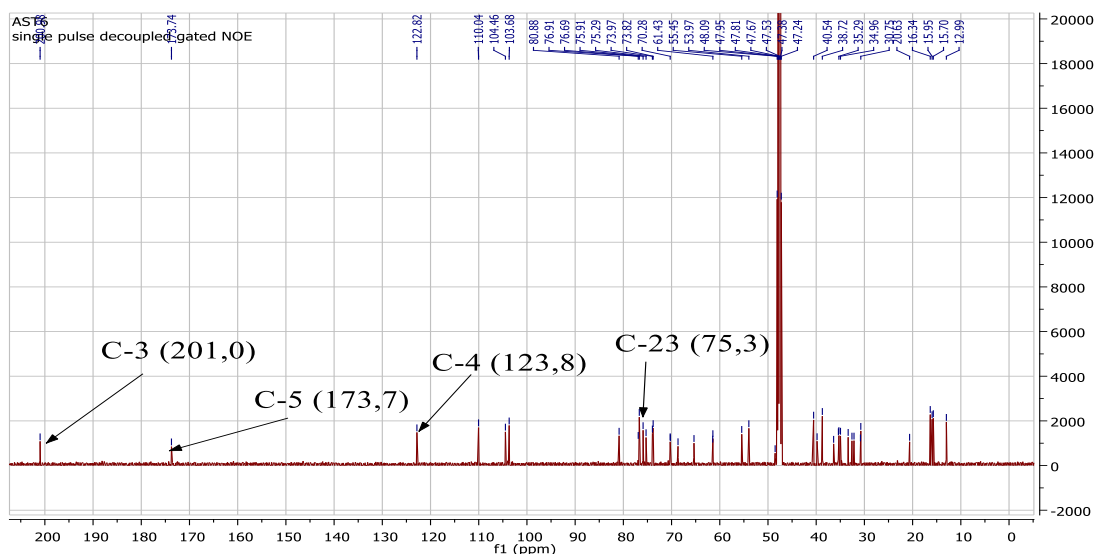


Figure 46 : Spectre de RMN ^{13}C (150 MHz, CD_3OD) découplé large bande du composé AST6

Le spectre HMBC (**Fig. 47**) permet de confirmer la nature de l'aglycone. En effet, il montre des corrélations des protons H₂-1 [δ_H 2,03 (m), 1,65 (*ddd*)] avec les carbones à δ_C 32,6 (C-2), 201,0 (C-3), 54,0 (C-9), 38,7 (C-10), et 16,3 (C-19); H₃-19 (δ_H 1,21) avec les carbones C-1 (δ_C 35,4), C-9 (δ_C 54,0), C-10 (δ_C 38,5) et le carbone quaternaire oléfinique à δ_C 173,8 (C-5) confirmant la présence du groupe céto α,β -conjugué assigné aux carbones C-3, C-4, et C-5 du cycle A, et le proton oléfinique H-4 (δ_H 5,69) avec les carbones C-2 (δ_C 32,6), C-6 (δ_C 33,4), et C-10 (δ_C 38,7). Il indique aussi les corrélations entre les protons H-18 (δ_H 0,93) avec les carbones C-13 (δ_C 40,5), C-14 (δ_C 55,5), et C-17 (δ_C 61,4) ; H-21 (δ_H 0,94) avec les carbones C-17 (δ_C 61,4) et C-22 (δ_C 110,0) et H-27 (δ_H 0,81) avec les carbones C-24 (δ_C 36,4), C-25 (δ_C 30,8) et C-26 (δ_C 65,4). Le même spectre montre des corrélations des protons H₂-24 (δ_H 2,08/1,47) avec les carbones C-25 (δ_C 30,8), C-26 (δ_C 65,4), C-23 (δ_C 75,3) et C-22 (δ_C 110,0), ce qui montre qu'il existe une substitution en C-23. De plus les spectres de RMN ¹H et ¹³C montrent un hydroxylation en C-23 confirmée sur le spectre HMBC qui indique des corrélations des protons H-20 (δ_H 2,64) avec les carbones C-13 (δ_C 40,5), C-17 (δ_C 61,4), C-21 (δ_C 13,0), C-22 (δ_C 110,0) et C-23 (δ_C 75,3) et H-23 (δ_H 3,66) avec le carbone C-22 (δ_C 110,0).

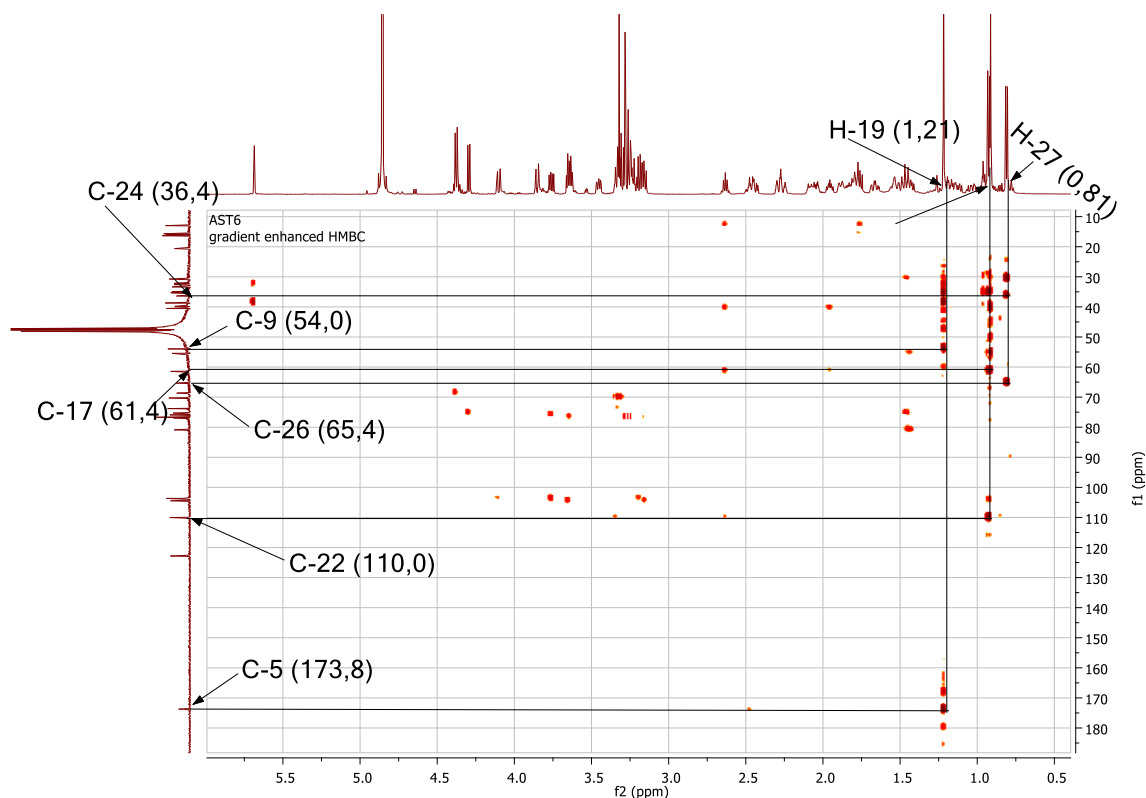


Figure 47 : Corrélations HMBC du composé AST6

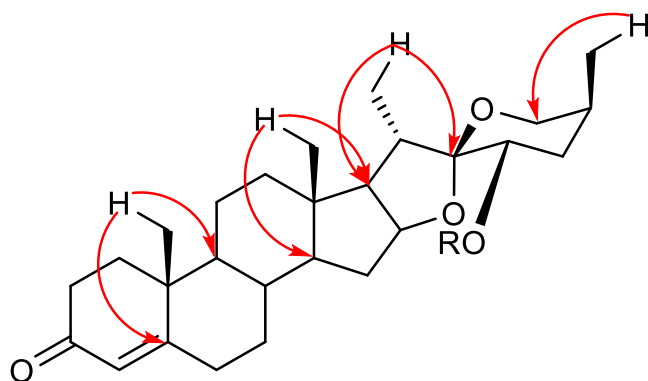


Schéma 14 : Corrélations COSY et HMBC du composé **AST6**

L'analyse des données spectres de RMN 1D et 2D et comparaison à celles de la littérature a permis d'identifier l'aglycone du composé **AST6** au (25R) spirost-4-én-3-one.

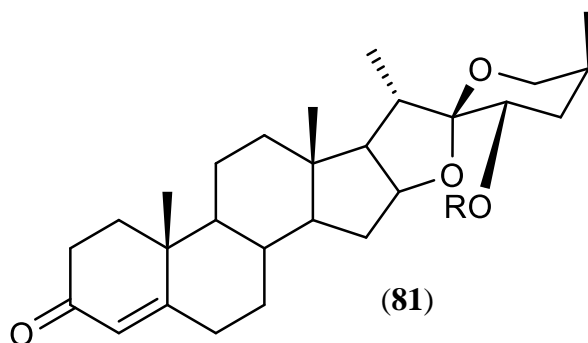


Tableau 17 : Données de RMN [^1H , 600 et ^{13}C , 150 MHz), CD_3OD] de la partie aglycone de **AST6**

| N° | AST6 | |
|----|------------|---|
| | δ_C | δ_H (mult., J en Hz) |
| 1 | 35,4 | 1,65 (<i>dd</i> ; 14,1 et 4,9) / 2,03 (<i>dd</i> ; 4,9 et 3,2) |
| 2 | 32,6 | 2,30 (<i>dd</i> ;) / 2,47 (<i>dd</i> ; 6,6 et 3,2) |
| 3 | 201,0 | - |
| 4 | 122,8 | 5,69 (<i>s</i>) |
| 5 | 173,8 | - |
| 6 | 33,4 | 2,26 (<i>m</i>) / 2,46 (<i>m</i>) |
| 7 | 32,2 | 1,03 (<i>m</i>) / 1,89 (<i>m</i>) |
| 8 | 35,0 | 1,81 (<i>m</i>) |
| 9 | 54,0 | 0,96 (<i>m</i>) |
| 10 | 38,7 | - |
| 11 | 20,6 | 1,54 (<i>m</i>) |
| 12 | 39,8 | 1,20 (<i>dd</i> ; 12,1 et 4,0) / 1,79 (<i>dd</i> ; 6,4 et 4,0) |
| 13 | 40,5 | - |
| 14 | 55,5 | 1,14 (<i>m</i>) |
| 15 | 30,8 | 1,44 (<i>m</i>) / 2,28 (<i>m</i>) |
| 16 | 80,9 | 4,37 (<i>dd</i> ; 7,8 et 5,4) |
| 17 | 61,4 | 1,76 (<i>dd</i> ; 8,9 et 7,8) |
| 18 | 16,0 | 0,91 (<i>s</i>) |
| 19 | 16,3 | 1,21 (<i>s</i>) |
| 20 | 35,3 | 2,64 (<i>dd</i> ; 7,0 et 8,9) |
| 21 | 13,0 | 0,93 (<i>d</i> ; 7,0) |
| 22 | 110,0 | - |
| 23 | 75,3 | 3,66 (<i>m</i>) |
| 24 | 36,4 | 1,47 (<i>m</i>) / 2,08 (<i>m</i>) |
| 25 | 30,8 | 1,84 (<i>m</i>) |
| 26 | 65,4 | 3,85 (<i>dd</i> ; 11,9 et 1,9) / 4,10 (<i>dd</i> ; 11,9 et 2,1) |
| 27 | 15,7 | 0,81 (<i>d</i> ; 6,6) |

- **Nature des sucres du composé AST6**

Le spectre de RMN ^1H (**Fig. 45**) du composé **AST6** permet de distinguer dans la zone des sucres deux signaux attribuables aux protons anomériques à δ_H 4,30 (d ; 7,8 Hz) et 4,38 (d ; 7,8 Hz) et qui corrént sur le spectre HMQC (**Fig. 48**) avec les carbones à δ_C 104,5 et 103,7, respectivement. L'orientation β des unités osidiques est établie sur la base des constantes de couplage (J) 7,8 Hz des protons anomériques et correspondants aux β -D-glucopyranosyles. Les protons des différentes unités osidiques ont été identifiés par une analyse approfondie des spectres COSY (**Fig. 49**) et HMBC-élargi (**Fig. 50**).

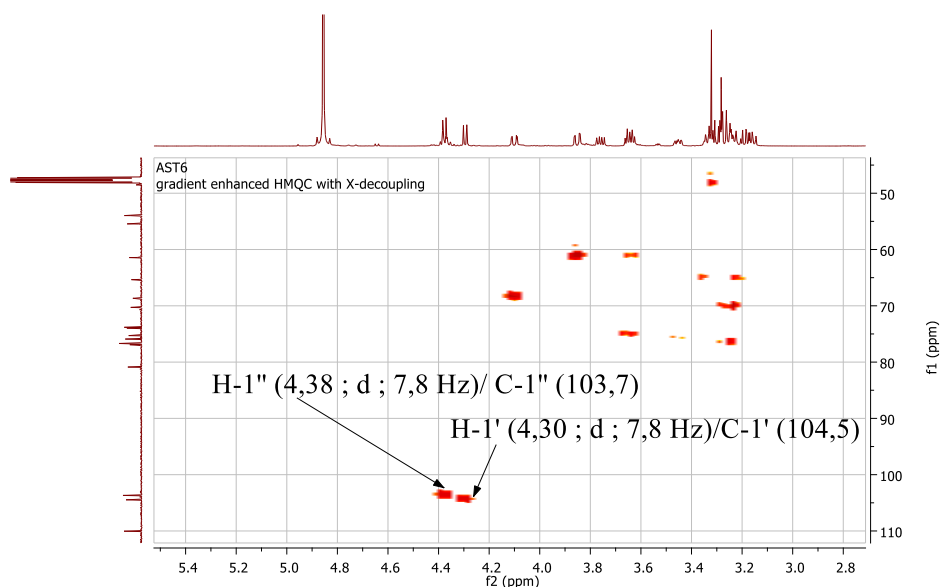


Figure 48 : Spectre HMQC élargi du composé **AST6**

Le spectre COSY (**Fig. 49**) de **AST6** permet de déterminer des corrélations (^1H - ^1H) spin-spin des protons portés soit par des carbones directement liés ou soit par un carbone secondaire se trouvant en α du carbone asymétrique. Il apparaît des corrélations entre les protons H-1' (δ_H 4,30) et H-2' (δ_H 3,15) de l'unité osidique Glc I et H-1'' (δ_H 4,38) et H-2'' (δ_H 3,20) du Glc II.

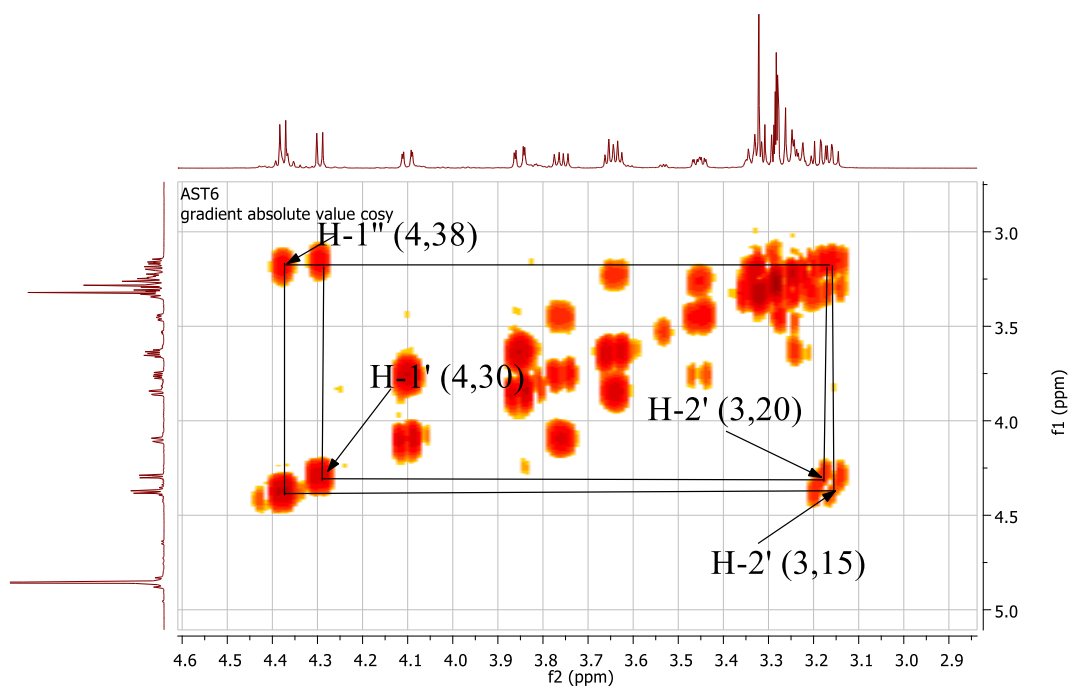


Figure 49 : Spectre COSY élargi de la partie osidique du composé **AST6**

La détermination du site de fixation de l'aglycone et l'enchaînement des oligosaccharides sont établis grâce à l'interprétation du spectre HMBC-élargi (**Fig. 50**). A cet effet, le spectre HMBC du composé **AST6** montre les corrélations entre le proton H-1' (δ_H 4,30) et le carbone C-23 (δ_C 75,3), et le proton H-1'' (δ_H 4,38) et le carbone à δ_C 68,5 correspondant au carbone C-6'. L'interprétation de ces données montre bel et bien que le Glc I est lié à la génine en position C-23 et le Glc II est lié au Glc I par une liaison (1 \rightarrow 6).

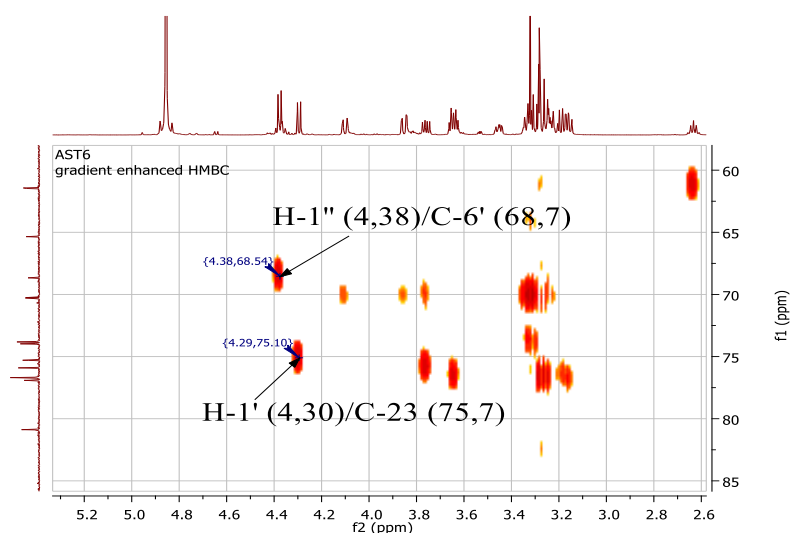


Figure 50 : Spectre HMBC élargi de la partie osidique du composé **AST6**

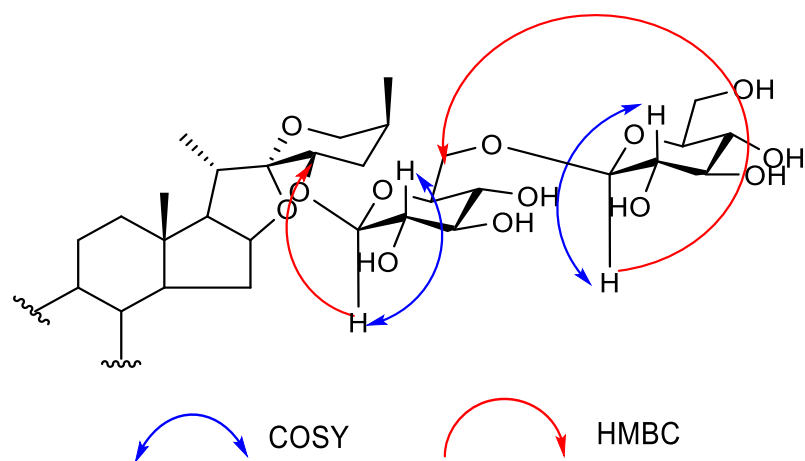


Schéma 15 : Corrélations COSY et HMBC-élargi du composé **AST6**

L'ensemble des données précédentes ont permis de déterminer la structure du composé **AST6** au (25*R*)-spirost-4-én-3-one-23β-*O*-{[β-D-glucopyranosyl-(1→6)-β-D-glucopyranoside]}, un dérivé nouveau.

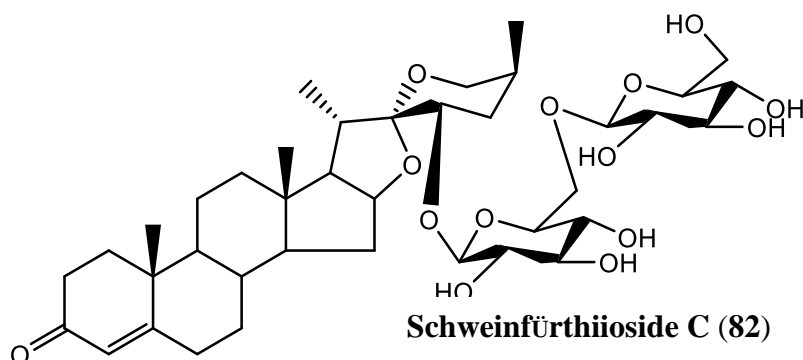


Tableau 18 : Données de RMN [¹H, 600 et ¹³C, 150 MHz), CD₃OD] de la partie osidique de **AST6**

| N° | AST6 | | | |
|----|----------------|--|----------------|--|
| | Glc I | | Glc II (1→6) | |
| | δ _C | δ _H (mult., <i>J</i> en Hz) | δ _C | δ _H (mult., <i>J</i> en Hz) |
| 1' | 104,5 | 4,30 (<i>d</i> ; 7,8) | 103,7 | 4,38 (<i>d</i> ; 7,8) |
| 2' | 74,0 | 3,15 | 73,8 | 3,20 |
| 3' | 76,9 | 3,25 | 76,7 | 3,35 |
| 4' | 70,3 | 3,24 | 70,3 | 3,24 |
| 5' | 75,9 | 3,45 | 76,7 | 3,24 |
| 6' | 68,7 | 4,11/3,76 | 61,5 | 3,64/3,85 |

I.1.2.9 Détermination de la structure du composé ASFC5B

➤ Spectre de masse

Le composé **ASFC5B** a été obtenu sous forme de poudre blanche amorphe. Il est soluble dans le méthanol et répond positivement au test de Libermann-Bürchard en donnant une coloration bleu verdâtre suggérant sa nature stéroïdique. Son spectre de masse TOF-HRESI (**Fig. 51**) en mode positif montre deux pics de l'ions pseudo-moléculaires $[M+H]^+$ à m/z 755,4224 (valeur calculée 754,4140) et 757,4371 (valeur calculée 756,4296) correspondants aux formules brutes $C_{39}H_{62}O_{14}$ et $C_{39}H_{64}O_{14}$ dans les proportions de 44,2 et 45,8 % et renfermant neuf (09) et huit (08) degrés d'insaturation, respectivement. Cette différence de deux unités observées sur le spectre montre qu'il y a eu la déshydrogénation sur l'un des deux composés et confirmant ainsi l'hypothèse de la double liaison. On observe sur le même spectre des ions fragments à m/z 593,3696 et 595,3843 correspondant à la perte d'une unité d'hexose $[(M+H)-162]^+$, et à m/z 431,0 et 433,3319 $[(M+H)-162-162]^+$ qui correspond à la perte d'une deuxième unité d'hexose suggérant que le composé **ASFC5B** en plus qu'il possède deux unités glucosidique, est un mélange de deux composés.

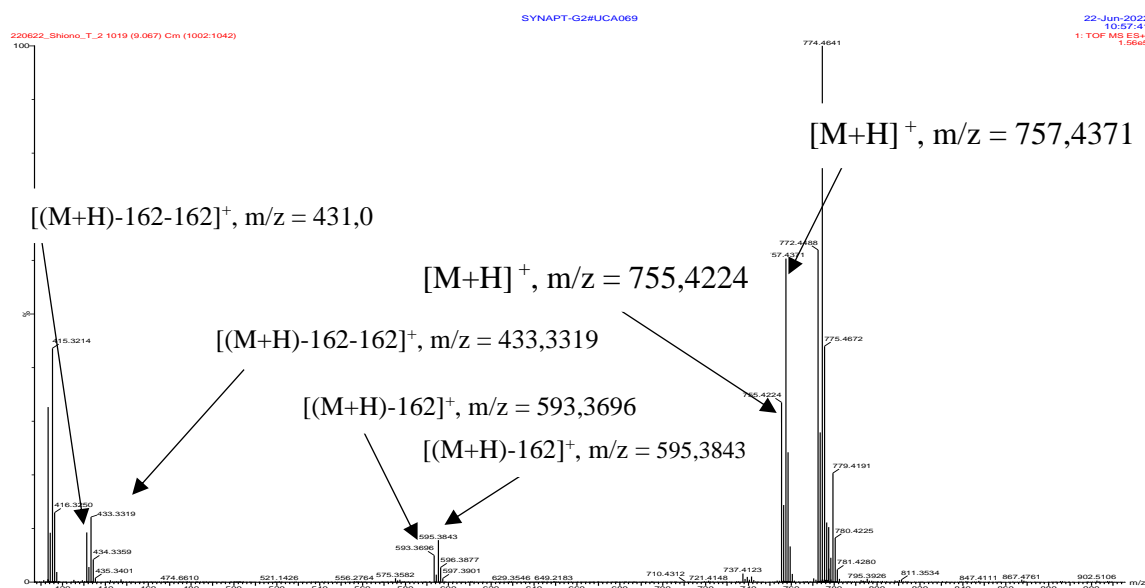


Figure 51 : Spectre de masse TOF-HR-ESI (+) du composé **ASFC5B**

➤ Identification de l'aglycone du composé ASFC5B

L'analyse du spectre de RMN 1H (**Fig. 52**) du composé **ASFC5B** montre des similitudes avec celui de AST6. Toutefois, il apparaît quelques différences au niveau du système A/B. A cet effet, il révèle un signal à 5,32 (s) correspondant au proton H-6 oléfinique, un pic à 1,11 correspondant au proton H-5' qui indique une transfusion entre le cycle A/B et deux signaux à 0,81 et 1,01 correspondants aux protons H-19' et H-19. Ce même spectre indique un signal à 3,28 correspondants au proton H-3 montrant ainsi que le carbonyle s'est réduit en alcool. Il indique également deux

signaux à δ_H 4,37 (m) et 3,66 (m) correspondant aux oxyméthines en C-16 et C-22. L'interprétation de ces données en accord avec celles observées sur le spectre de masse TOF-HRESI (+) confirme que **ASFC5B** est un mélange de deux composés.

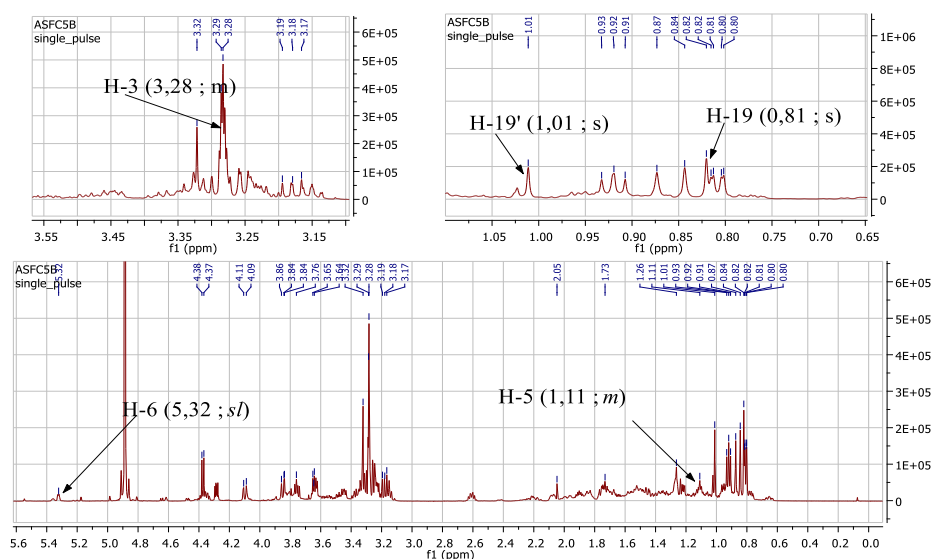


Figure 52 : Spectre RMN ^1H (600 MHz, CD_3OD) du composé **ASFC5B**

Le spectre de RMN ^{13}C (**Fig. 53**) montre d'une part des pics à δ_C 71,1 (C-3) ; 141,0 (C-5) et 121,0 (C-6) et d'autre part des signaux à δ_C 44,9 (C-5) et 54,5 (C-9), suggérant une *trans* fusion des noyaux A/B. La différence significative observée en C-3 montre qu'il s'est produit une réaction de réduction de carbonyle en alcool. Aussi la valeur du carbone en C-5 à 44,9 montre que le proton en C-5 est derrière le plan comparée aux données de la littérature qui stipule que lorsqu'on le proton H-5 est devant le plan son carbone apparait autour de 36,0 (Mandal D *et al.*, 2006).

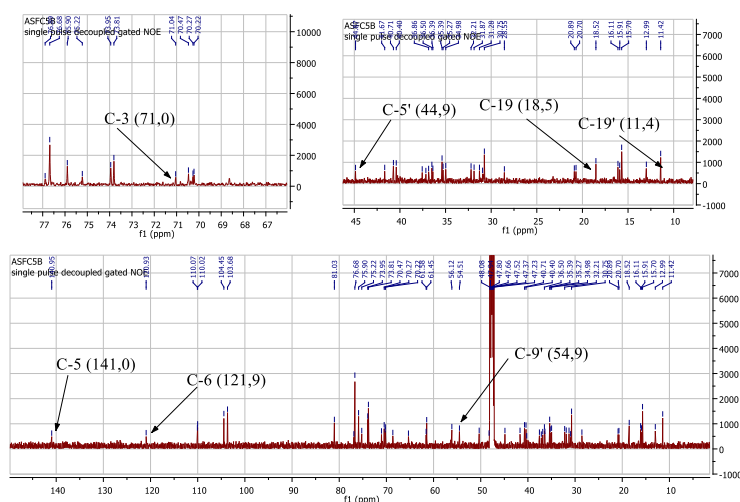


Figure 53 : Spectre RMN ^{13}C (150 MHz, CD_3OD) du composé **ASFC5B**

La détermination de l'aglycone est établie sur la base de l'interprétation du spectre HMBC (**Fig. 54**). Ainsi, il montre des corrélations entre le proton H-19 (δ_H 1,01) et les carbones C-1 (δ_C

37,2) ; C-9 (δ_C 50,3) et C-5 (δ_C 141,0) d'une part, d'autre part entre le proton H-19' (δ_H 0,81) avec les carbones C-1' (δ_C 36,9) ; C-5' (δ_C 44,9) et C-9' (δ_C 54,5). Il indique également des corrélations entre proton H-21 (δ_H 0,91) avec les carbones C-17 (δ_C 61,5) et C-22 (δ_C 110,1).

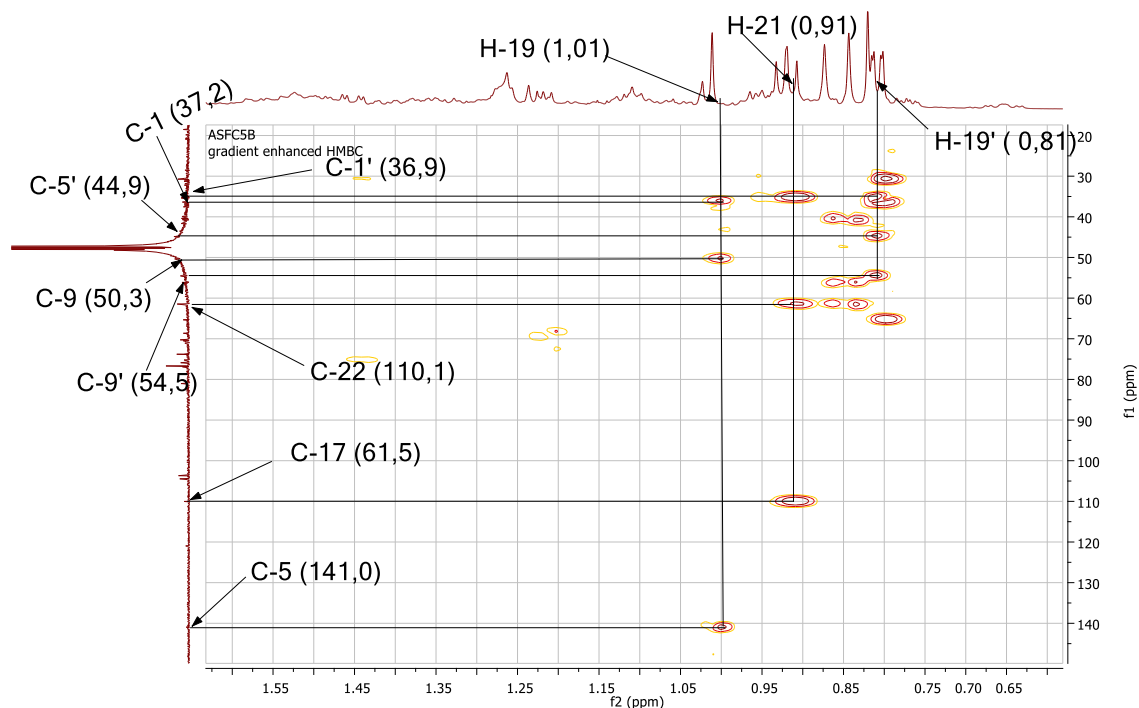


Figure 54 : Spectre HMBC élargi du composé ASFC5B

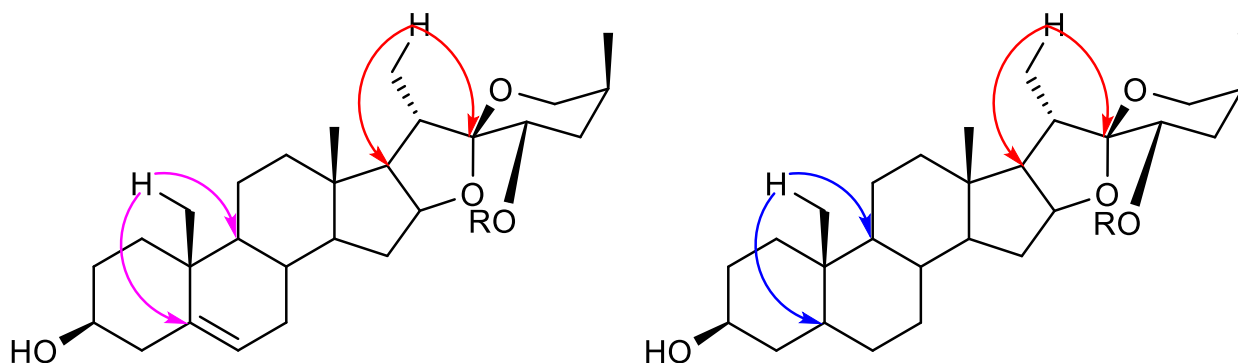


Schéma 16 : Corrélations HMBC du composé ASFC5B

L'analyse des données des spectres de RMN 1D et 2D et comparaison avec celles de la littérature a permis d'identifier l'aglycone de **ASF5B** à un mélange de (25*R*) 3-hydroxy-spirost-5-ène et du (25*R*) 3-hydroxy-spirostane.

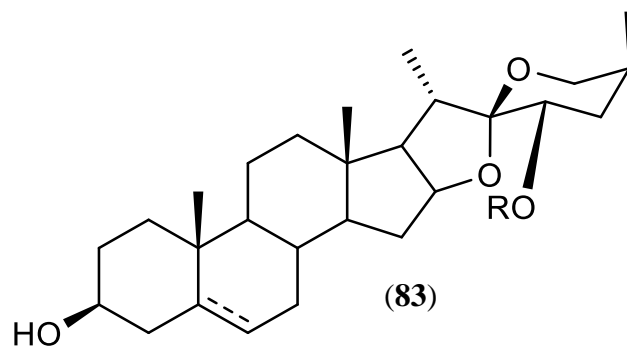


Tableau 19 : Données de RMN [^1H , 600 et ^{13}C , 150 MHz), CD_3OD] de la partie aglycone de ASFC5B

| N° | ASFC5B1 | | ASFC5B2 | |
|----|------------|--|------------|---|
| | δ_C | δ_H (mult., J en Hz) | δ_C | δ_H (mult., J en Hz) |
| 1 | 37,2 | 0,93/1,66 | 36,9 | 1,02/1,82 |
| 2 | 30,8 | 1,34 (<i>m</i>)/1,73 (<i>m</i>) | 28,6 | 1,25 (<i>m</i>) |
| 3 | 71,1 | 3,28 (<i>m</i>) | 71,1 | 3,28 (<i>m</i>) |
| 4 | 41,7 | 1,84 (<i>dd</i> ; 3,3 et 9,8 Hz)/2,21 (<i>dd</i> ; 3,3 et 5,2) | 35,4 | 2,59 (<i>m</i>) |
| 5 | 141,0 | - | 44,9 | 1,09 (<i>m</i>) |
| 6 | 120,9 | 5,32 (<i>sl</i> ; d ; 5,3) | 32,2 | |
| 7 | 31,9 | 1,96 (<i>m</i>) | 31,9 | 1,96 (<i>m</i>) |
| 8 | 31,3 | | 35,0 | |
| 9 | 50,3 | 0,94 | 54,4 | 0,94 |
| 10 | 36,5 | - | 36,5 | - |
| 11 | 20,9 | 1,32 (<i>m</i>)/1,53 (<i>m</i>) | 20,9 | 1,32 (<i>m</i>)/1,53 (<i>m</i>) |
| 12 | 40,0 | 1,12 (<i>m</i>)/1,69 (<i>m</i>) | 40,0 | 1,12 (<i>m</i>)/1,69 (<i>m</i>) |
| 13 | 40,4 | - | 40,7 | - |
| 14 | 56,1 | 1,10 (<i>ddd</i> ; 18,4 ; 12,6 et 6,6) | 56,1 | 1,10 (<i>ddd</i> ; 18,4 ; 12,6 et 6,6) |
| 15 | 32,2 | 1,65 (<i>m</i>) | 32,2 | 1,65 (<i>m</i>) |
| 16 | 81,0 | 4,35 (<i>dd</i> ; 6,7 et 2,3) | 81,0 | 4,34 (<i>dd</i> ; 7,5 et 2,4) |
| 17 | 61,5 | 1,74 (<i>dd</i> ; 6,5 et 2,3) | 61,5 | 1,74 (<i>dd</i> ; 6,5 et 2,4) |
| 18 | 15,9 | 0,84 (<i>s</i>) | 15,9 | 0,84 (<i>s</i>) |
| 19 | 18,5 | 1,01 (<i>s</i>) | 11,4 | 0,81 (<i>s</i>) |
| 20 | 35,4 | 2,60 (<i>dd</i> ; 6,5 et 7,1) | 35,4 | 2,60 (<i>dd</i> ; 6,5 et 7,1) |
| 21 | 13,0 | 0,91 (d ; 7,1) | 13,0 | 0,91 (d ; 7,1) |
| 22 | 110,1 | - | 110,1 | - |
| 23 | 75,2 | 3,64 (<i>dd</i> ; 11,8 et 3,4) | 75,2 | 3,64 (<i>dd</i> ; 11,8 et 3,4) |
| 24 | 36,4 | 1,45 (<i>m</i>)/2,10 (<i>m</i>) | 36,4 | 1,45 (<i>m</i>)/2,10 (<i>m</i>) |
| 25 | 30,8 | 1,90 (<i>m</i>) | 30,8 | 1,90 (<i>m</i>) |
| 26 | 65,3 | 3,20 (<i>dd</i> ; 5,7 et 3,4)/3,34 (5,7 et 2,4) | 65,3 | 3,20(<i>dd</i> ; 5,7 et 3,4)/3,34 (5,7 et 2,4) |
| 27 | 15,7 | 0,81(d ; 1,6 Hz) | 15,7 | 0,81(d ; 1,5 Hz) |

Nature des sucres de ASFC5B et séquençage

La détermination du site de fixation de l'aglycone et la nature des sucres, établis grâce à l'interprétation des spectres HMQC et HMBC de **ASFC5B**, sont identiques à ceux du composé **AST6** et avec un enchainement de sucre lié en position C-23.

L'ensemble des données a permis de déterminer les structures du composé **ASFC5B** au $(25R)$ -spirost-5-én- 3β -ol- 23β -O- $\{[\beta$ -D-glucopyranosyl-(1 \rightarrow 6)- β -D-glucopyranoside] $\}$ et $(25R)$ -spirostan- 3β -ol- 23β -O- $\{[\beta$ -D-glucopyranosyl-(1 \rightarrow 6)- β -D-glucopyranoside] $\}$, tous des dérivés nouveaux.

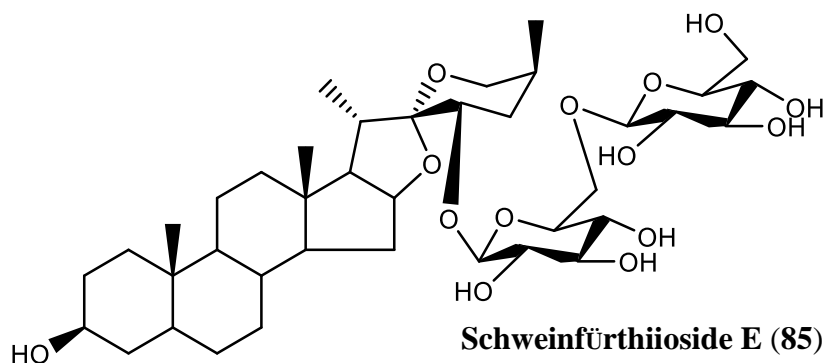
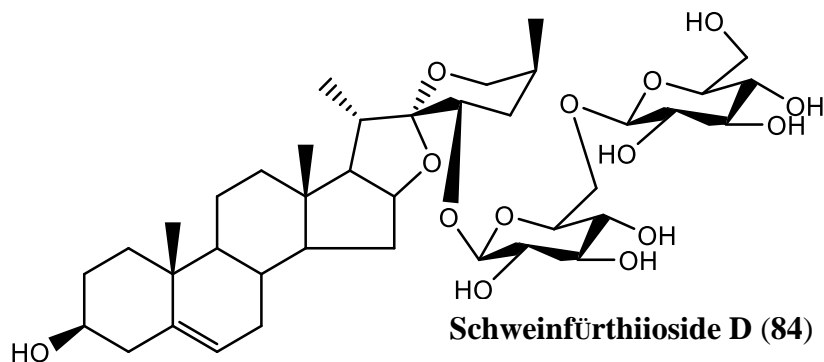


Tableau 20 : Données de RMN [^1H , 600 et ^{13}C , 150 MHz), CD_3OD] de la partie osidique de **ASFC5B**

| N° | ASFC5B | | | |
|----|------------|-----------------------------|--------------------------------|-----------------------------|
| | Glc I | | Glc II (1 \longrightarrow 6) | |
| | δ_C | δ_H (mult., J en Hz) | δ_C | δ_H (mult., J en Hz) |
| 1 | 104,5 | 4,28 | 103,7 | 4,36 |
| 2 | 74,0 | 3,16 | 73,8 | 3,18 |
| 3 | 76,9 | 3,22 | 76,7 | 3,34 |
| 4 | 70,3 | 3,24 | 70,2 | 3,24 |
| 5 | 75,9 | 3,44 | 76,7 | 3,24 |
| 6 | 68,6 | 4,10/3,76 | 61,6 | 3,63/3,84 |

I.1.2.10 Etude du mécanisme des fragmentations des saponines : cas spécifique de la masse ESI (+)

Il a été démontré que l'hydrolyse chimique ou enzymatique fournit des informations précieuses pour l'analyse des saponines (Savarino et *al.*, 2021). Les déterminations structurales des saponines présentent des défis en raison de la variété des sites potentiels de modification et qui peuvent inclure des espèces isomères et des composants mineurs hautement actifs (Costello, 1996).

Par conséquent, l'hydrolyse élimine la possibilité de confirmer la structure des saponines intacte puisque, par définition, seuls les pics de concentration sont identifiés. Ceci est d'autant plus inextricable que les hydrolyses sont souvent effectuées par des mélanges des saponines (Savarino et *al.*, 2021).

Les poids moléculaires des saponines intactes peuvent être facilement déterminés en utilisant les mesures de masse exacte sur les molécules protonées $[\text{M}+\text{H}]^+$, $[\text{M}+\text{H}]^-$ et/ou cationisées au sodium. Les réactions des fragmentations à la source se produisent à chaque liaison glycosidique par un réarrangement des protons du groupe partant vers l'oxygène inter glycosidique. Les ions fragments définissent la séquence glycosidique mais restent inefficaces pour différencier les hexoses isomères ou pour identifier le type de liaison entre les résidus de sucre (Adinolfi et *al.*, 1984).

Une dissociation du point de vue mécanistique des saponines de la liaison glycosidique a été proposée générant deux ions fragments. Une rétention de l'atome d'oxygène à partir de l'extrémité réductrice est la plupart du temps détecté à partir des ions précurseurs $[\text{M}+\text{H}]^+$ (Savarino et *al.*, 2021). La réaction de décomposition des ions $[\text{M}+\text{H}]^+$ en mode positif proposée implique la protonation de l'atome de la liaison glycosidique qui est rompue en donnant l'ion oxonium (schéma 17). Avant la

décomposition du complexe ionique transitoire, un transfert de proton peut se produire conduisant à la production des ions complémentaires (Savarino et *al.*, 2021).

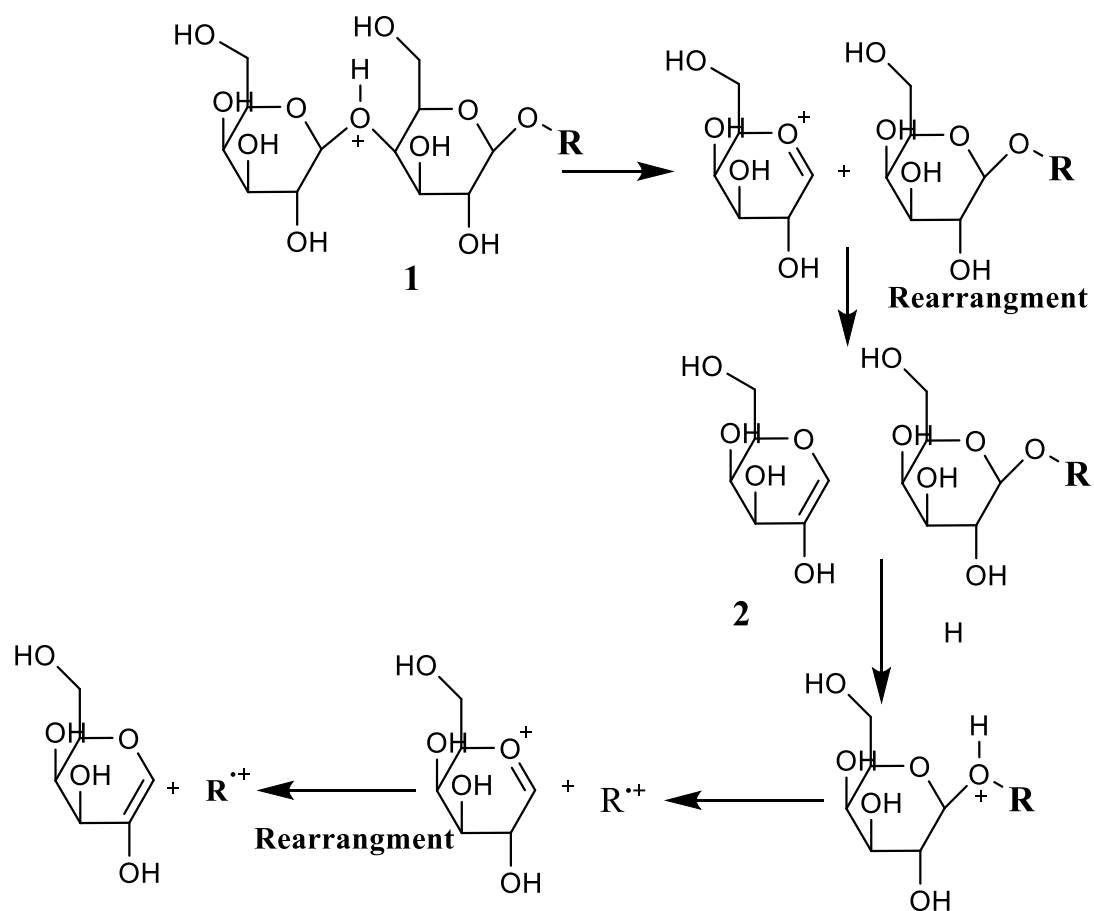


Schéma 17 : Production des ions fragments en mode positive induit par protonation de l'atome de l'oxygène de la liaison glycosidique

I.1.2.11 Détermination de la structure du composé ASP81

Le composé **ASP81** a été obtenu sous forme de poudre blanche. Il est soluble dans le DMSO et réagit positivement au test de Dräggendorf avec apparition de précipités rouges caractéristique des alcaloïdes. Le spectre de masse TOF-HR-ESI (**Fig. 55**) en mode positive montre le pic de l'ion pseudo-moléculaire $[M+H]^+$ à m/z 367,1646 (valeur calculée 366,1580) en accord avec la formule brute $C_{21}H_{22}N_2O_4$ renfermant 12 degrés d'insaturations

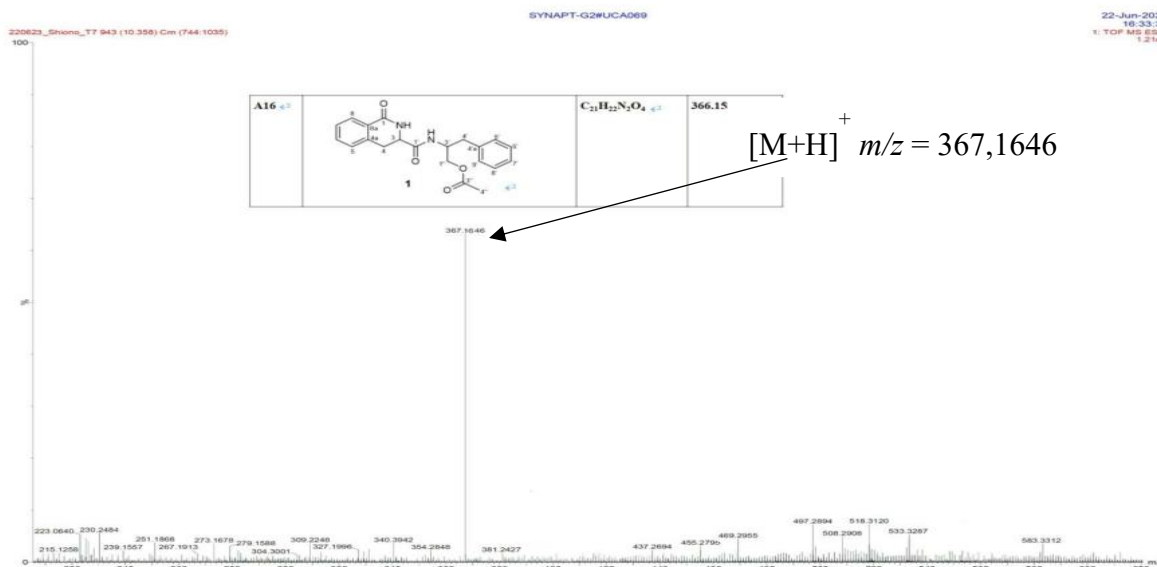
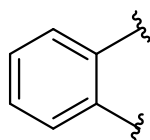
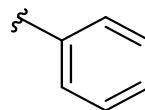


Figure 55 : Spectre de masse TOF-HR-ESI (+) de ASP81

Le spectre de RMN ^1H (**Fig. 56**) de **ASP81** montre quatre signaux à δ_{H} 7,32 (*d*; 7,3 Hz), 7,52 (*t*; 7,3 Hz), 7,45 (*t*; 7,3 Hz) et 7,80 (*d*; 6,9 Hz) correspondant aux protons d'un noyau aromatique orthodisubstitué, sous-structure **I**. Il apparaît également trois signaux à δ_{H} 7,26 (2H, *d*; 7,5 Hz); 7,24 (2H, *t*; 7,5 Hz) et 7,17 (*d*, 7,4 Hz) correspondant aux protons d'un noyau aromatique monosubstitué, sous-structure **II**.



I



II

Le même spectre indique des pics à δ_{H} 8,49 (*d*; 8,4 Hz) et 8,12 (*d*; 8,4 Hz), six signaux des protons diastéréotopiques à δ_{H} 3,01 (*dd*; 4,9 et 13,7 Hz) et 2,96 (*dd*; 10,1 et 13,7 Hz); 3,87 (*dd*; 6,7 et 11,0 Hz) et 4,02 (*dd*; 4,8 et 11,0 Hz) et en fin à δ_{H} 2,82 (*dd*; 6,6 et 14,3 Hz) et 2,77 (*dd*; 8,3 et 14,3 Hz) et un signal à δ_{H} 4,68 (*m*).

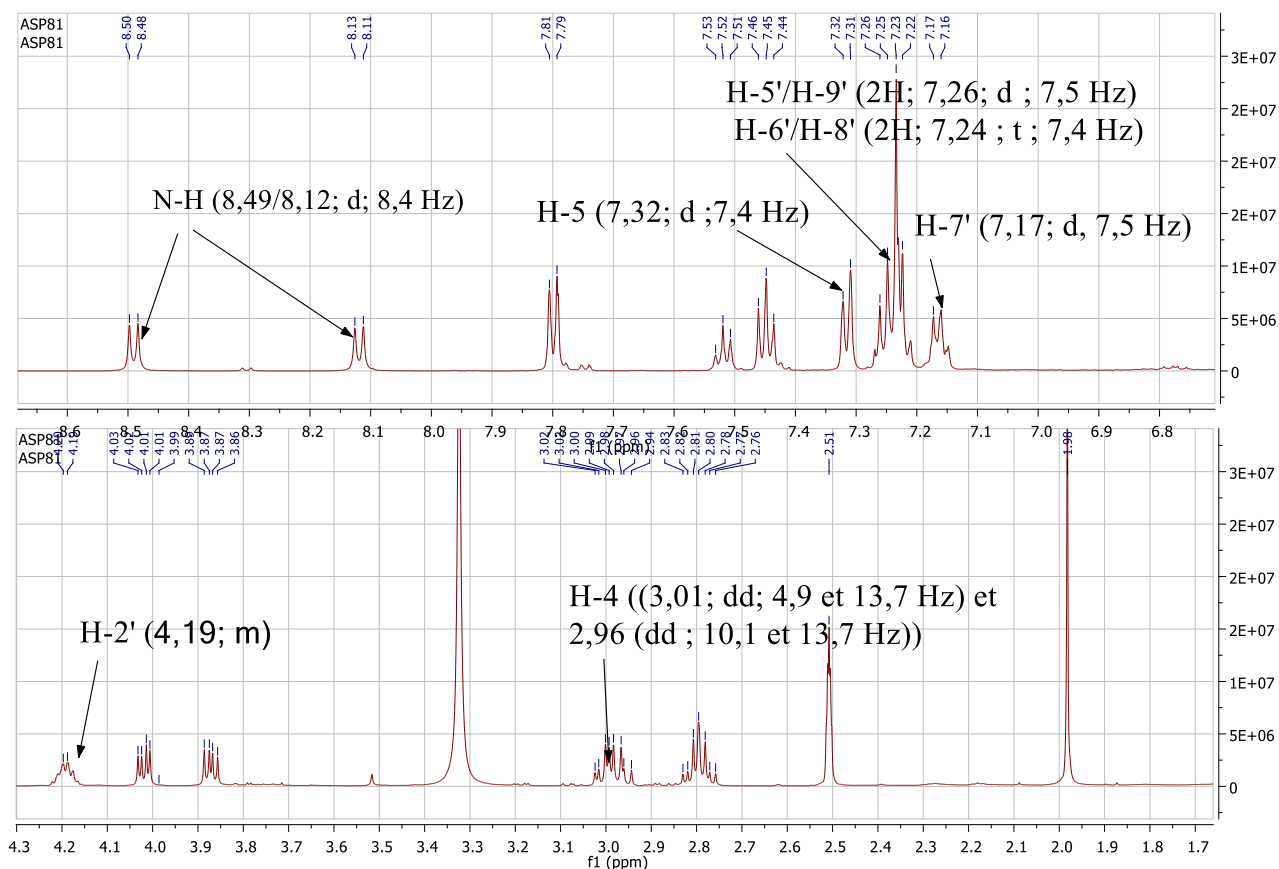


Figure 56 : Spectre de RMN ^1H (600 MHz, $\text{DMSO}-d_6$) du composé **ASP81**

Le spectre APT (**Fig. 57**) de **ASP81** montre 19 signaux correspondant à 21 atomes de carbone. Sur ce spectre il apparaît trois grandes zones de signaux. Une première zone qui indique des pics à δ_C 171,6 ; 170,7 et 166,6 attribuables aux carbonyles d'ester et d'amide, une seconde zone allant de δ_C 138,8 à 126,5 correspondants à 12 atomes de carbones aromatiques parmi lesquels trois quaternaires et une troisième zone allant de δ_C 65,5 à 21,1 renfermant un méthyle, trois méthylènes dont un oxygéné et deux méthines.

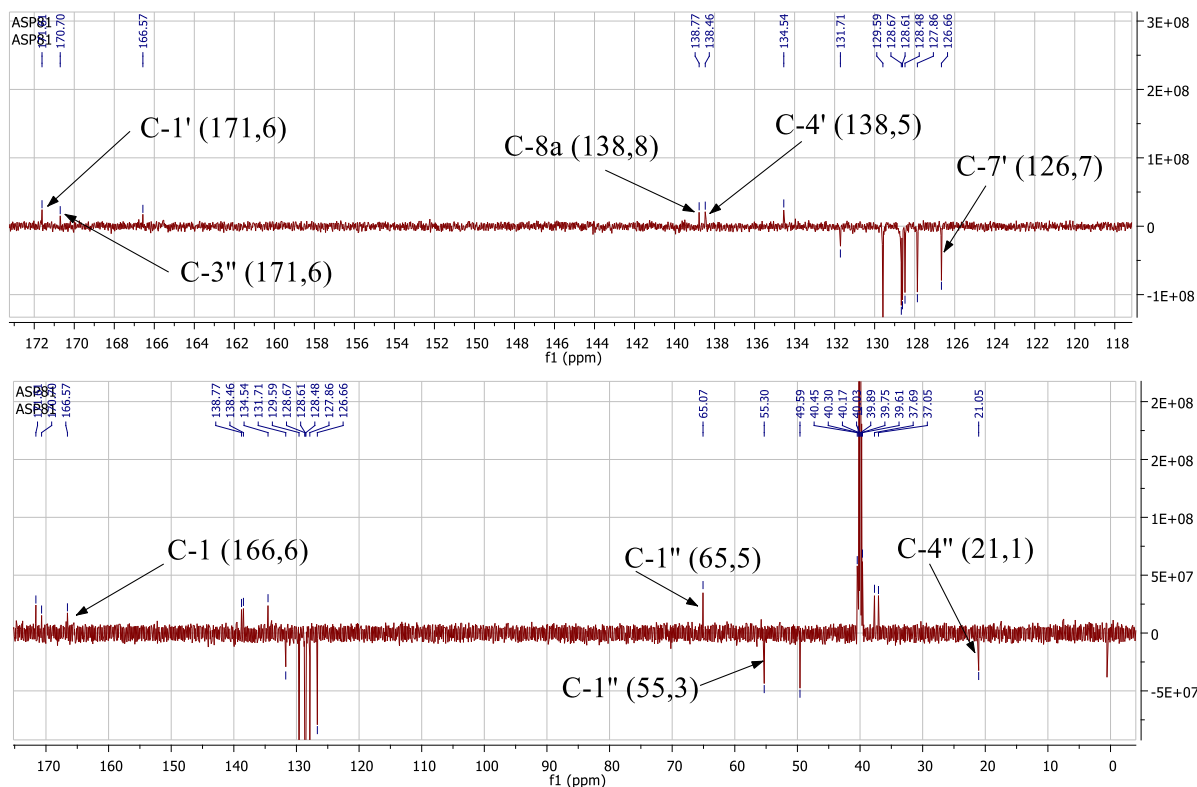


Figure 57 : Spectre de APT (150 MHz, DMSO- d_6) du composé **ASP81**

Le spectre COSY (**Fig. 58**) du composé **ASP81** montre des corrélations entre les protons à δ_H 4,68 avec les protons à δ_H 8,49 et 3,02/2,96. Il indique également les corrélations entre les protons à δ_H 4,19 avec les protons à δ_H 8,12, 3,87/4,02 et 2,82/2,77.

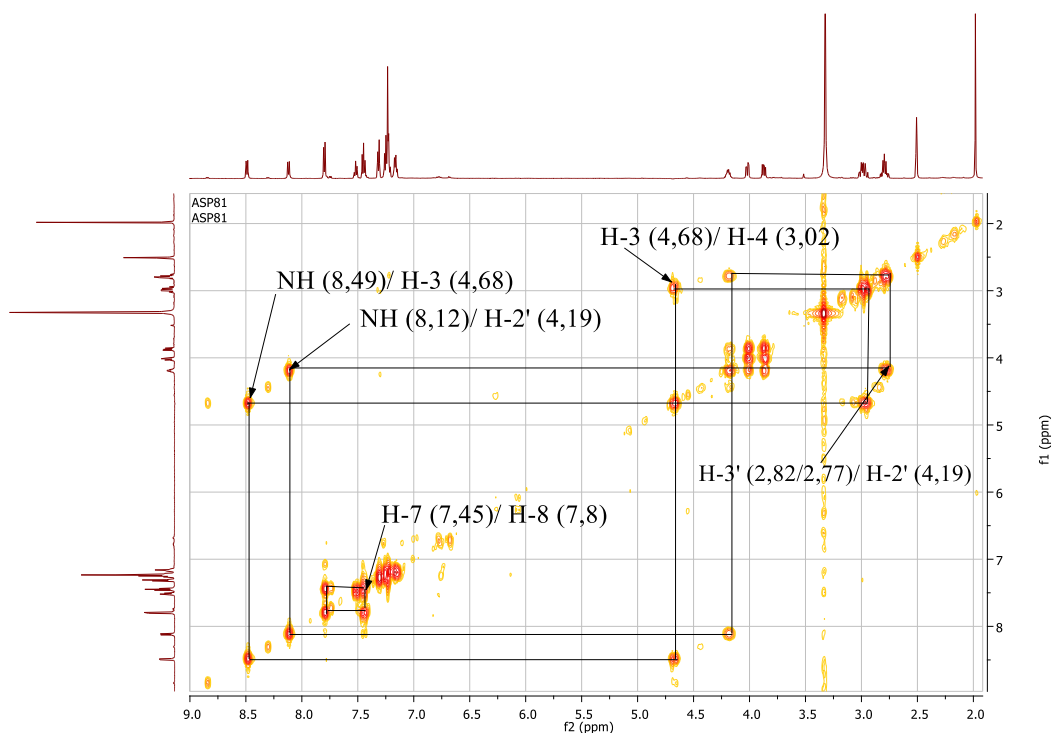


Figure 58 : Spectre COSY du composé **ASP81**

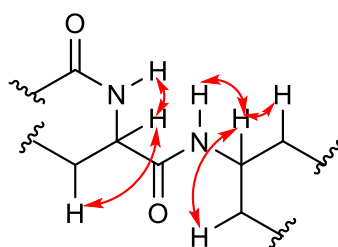


Schéma 18 : Corrélations COSY du composé **ASP81**

La détermination de la structure de **ASP81** fût établie grâce à l'interprétation des spectres de RMN 2D.

Son spectre HMQC (**Fig. 59**) montre des corrélations entre le proton à δ_H 2,04 et le carbone à δ_C 21,1. Il indique aussi des corrélations entre trois groupes des protons diastéréotopiques à δ_H 3,87 /4,02 avec le carbone à δ_C 65,5 ; 3,01/2,96 avec le carbone à δ_C 37,7 et 2,82/2,77 avec le carbone à δ_C 37,1. Ce spectre montre également des corrélations entre le proton à δ_H 4,19 et le carbone à δ_C 49,6. Le même spectre indique la corrélation entre le proton à δ_H 4,68 et le carbone à δ_C 55,3.

Cependant, l'absence des corrélations observées entre les protons à δ_H 8,49 et 8,12 et les carbones montre que ces deux protons sont liés aux atomes d'azote d'où les sous structure **III** et **IV**.



Ces sous-structures sont confirmées par le spectre HSQC-TOCSY (**Fig. 60**). Il montre les corrélations entre le proton à δ_H 8,49 (d ; 8,5) et les carbones à δ_C 55,3 (C-3) et 37,7 (C-4) d'une part et le proton à δ_H 8,12 (d ; 8,5) avec les carbones à δ_C 49,6 (C-2') et 37,1 (C-3').

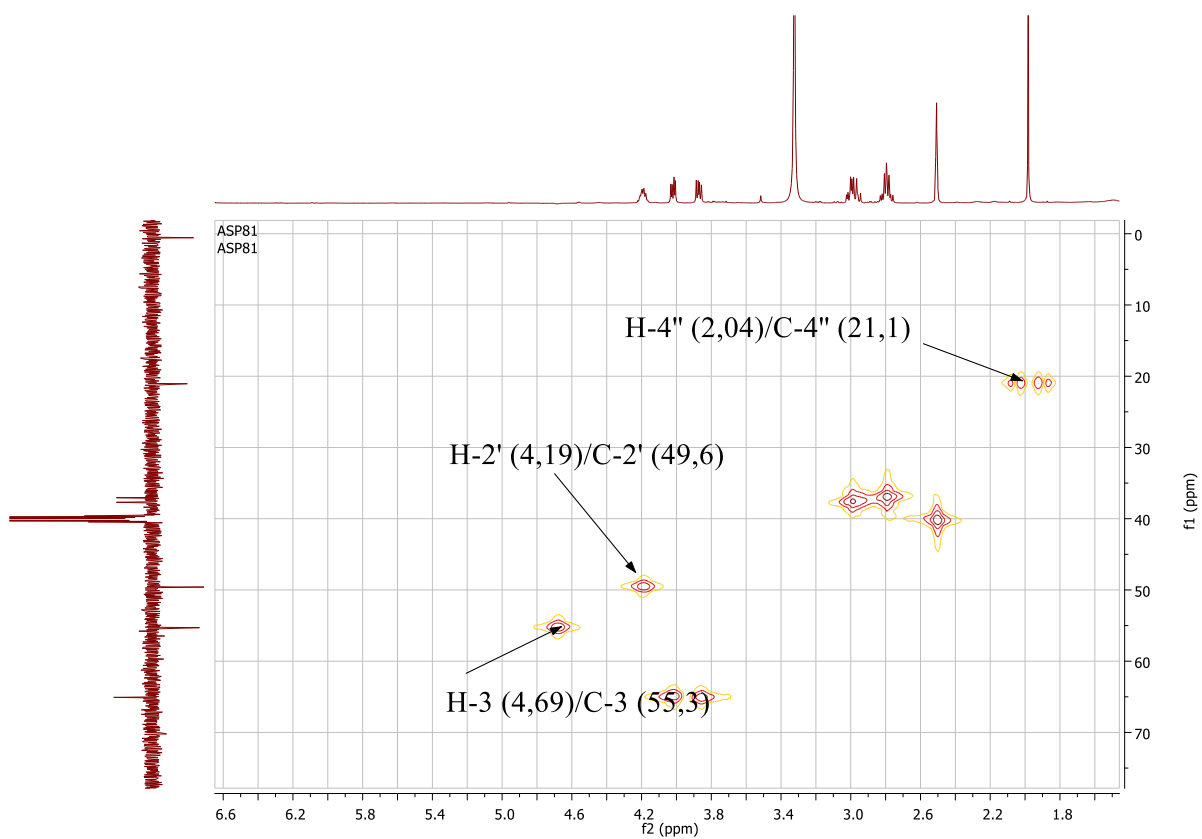


Figure 59 : Spectre HMQC du composé ASP81

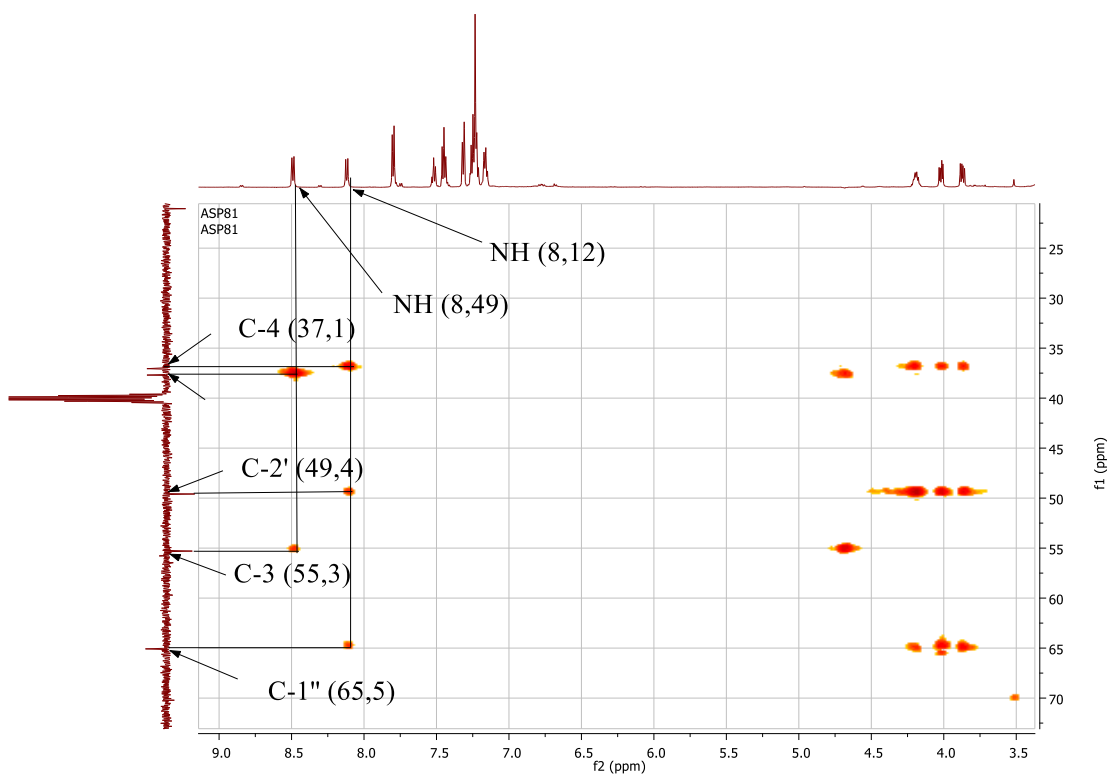


Figure 60 : Spectre HSQC-TOCSY du composé ASP81

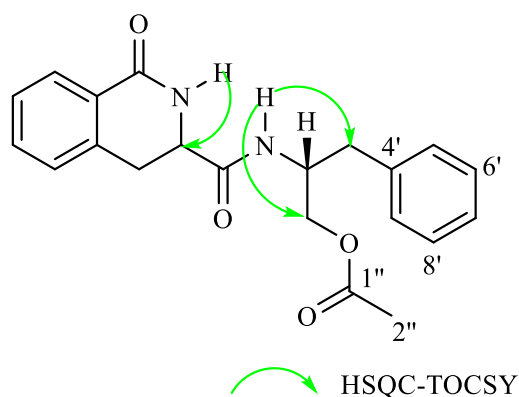


Schéma 19 : Corrélations et HSQC-TOCSY du composé **ASP81**

Pour relier les différentes sous-structures de **ASP81** le spectre HMBC (**Fig. 61**) a été utilisé car montre les connectivités hétéronucléaires longues distances entre les protons et carbone en 2J et 3J . A cet effet, il montre des corrélations entre les protons à δ_H 8,12 et les carbones δ_C 171,6 et 49,6 ; les protons à δ_H 3,87/4,02 avec le carbone à δ_C 170,7 et le proton à δ_H 2,82 avec les carbones à δ_C 65,5 et 138,6. Il apparaît également des corrélations entre le proton à δ_H 7,80 avec le carbone à δ_C 166,6 et les protons à δ_H 3,01/2,96 avec les carbones à δ_C 129,6 et 171,6.

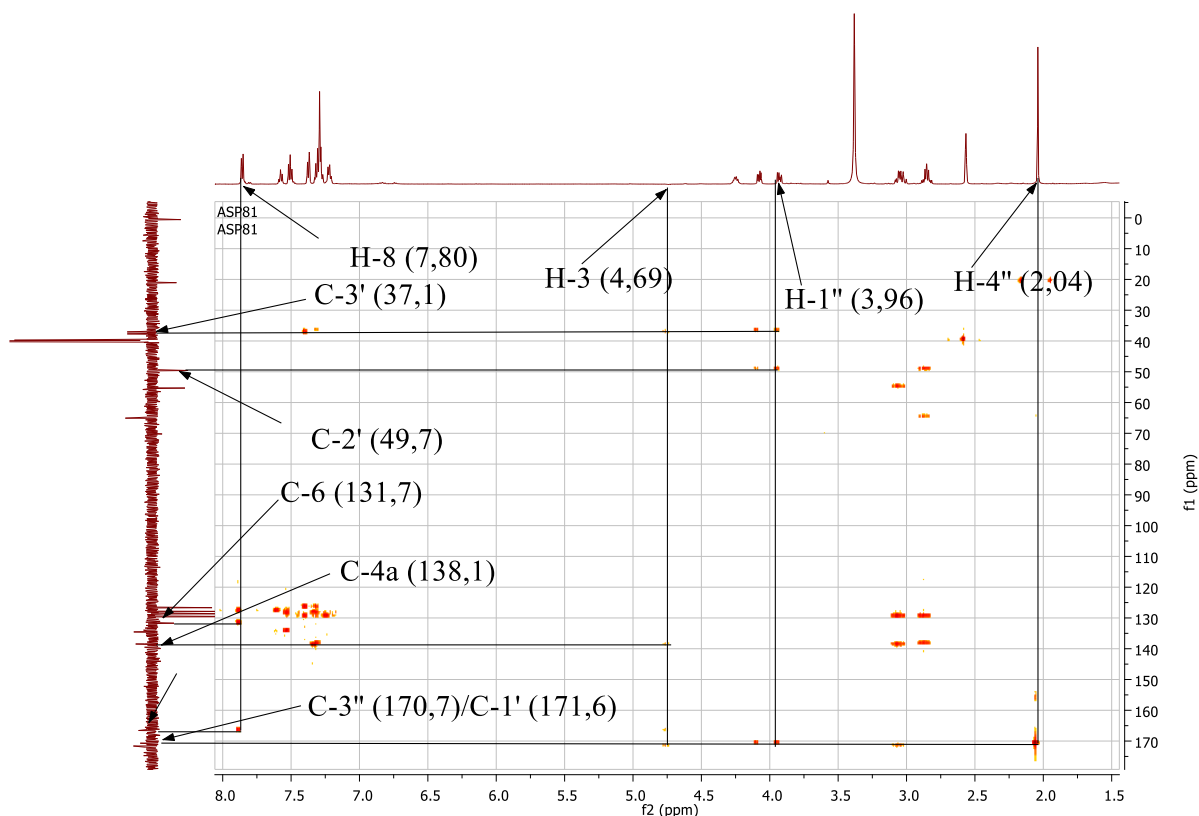


Figure 61 : Spectre HMBC du composé **ASP81**

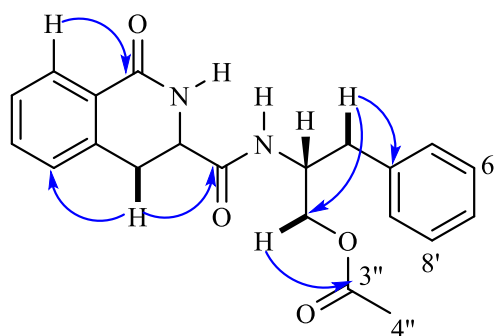
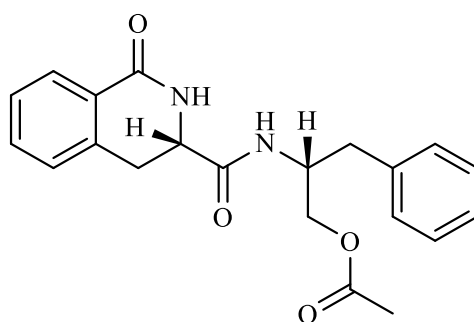


Schéma 20 : Corrélations HMBC du composé **ASP81**

En vue de déterminer la configuration absolue des stéréocentres des carbones C-3 et C-2' du composé **ASP81**, une méthode statistique nommée DP4+ a été utilisée, comparant une probabilité d'accord entre les déplacements chimiques ^{13}C et ^1H expérimentaux et calculés de façon théorique. Elle repose d'une part sur l'optimisation de la géométrie (B3LYP/6-311+G** (d, p)) et au calcul des déplacements chimiques de RMN (mPW1PW91/6-311+G** (d, p)), une théorie hybride.

Deux isomères des quatre attendus ont fait l'objet de notre discussion. Ainsi, les probabilités DP4+ sur les protons et carbones à 0,9702/0,9714 (^1H , **Fig. 62/ Fig. 63**) et 0,9978/0,4663 (^{13}C , **Fig. 62/ Fig. 63**) par ces deux méthodes B3LYP/6-311+G (d, p)/mPW1PW91/6-311+G (d, p) respectivement convergent vers l'isomère (**1**) de configuration 3*S*, 2'*R*. Aussi, les probabilités DP4+ sur les protons et carbones à 0,9343/0,9571 (^1H , **Fig. 64/ Fig. 65**) et 0,9983/0,9989 (^{13}C , **Fig. 64/ Fig. 65**) par ces deux méthodes B3LYP/6-311+G (d, p)/mPW1PW91/6-311+G (d, p) respectivement convergent vers l'isomère (**2**) de configuration 3*R*, 2'*R*. Une étude comparative des densités de probabilité des déplacements chimiques des carbones à 0,4663 pour l'isomère **1** et à 0,9983 pour l'isomère **2** par la méthode mPW1PW91/6-311+G (d, p) plaident en faveur de l'isomère **2** et qui ne diffère que par une orientation du proton en C-3 derrière le plan avec pour conséquence une inversion de configuration.



Isomère 1

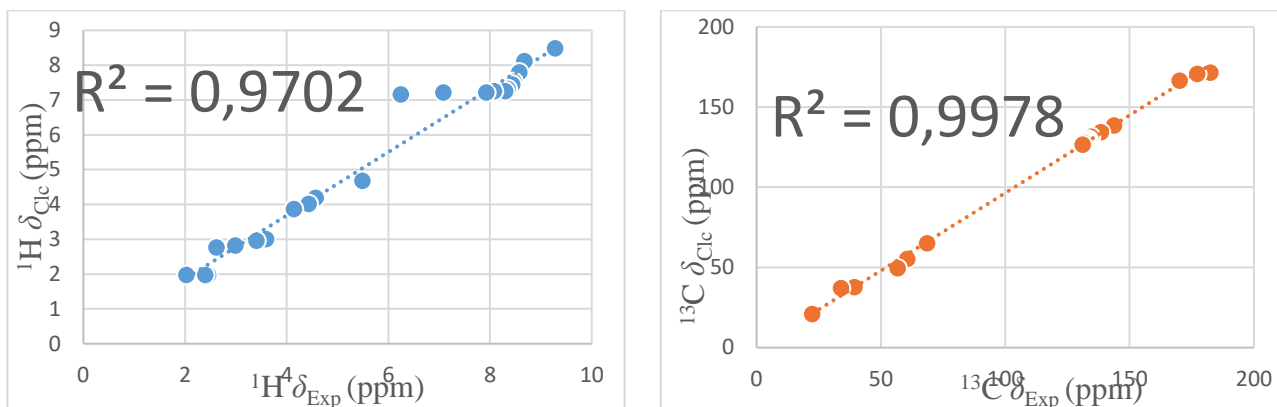


Figure 62 : Régression linéaire des déplacements chimiques des RMN (^1H et ^{13}C) expérimentales et calculées par B3LYP/6-311 + (d, p) dans le DMSO

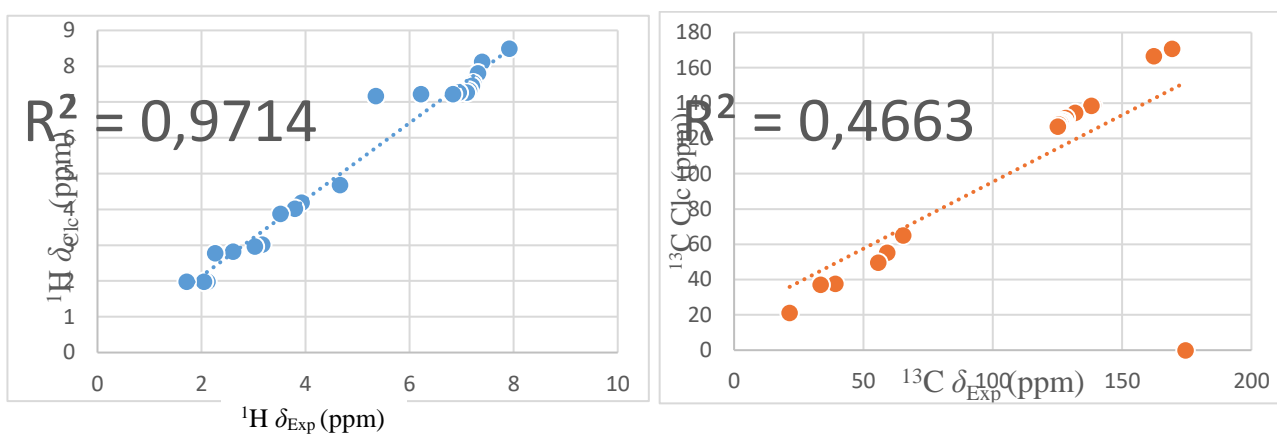
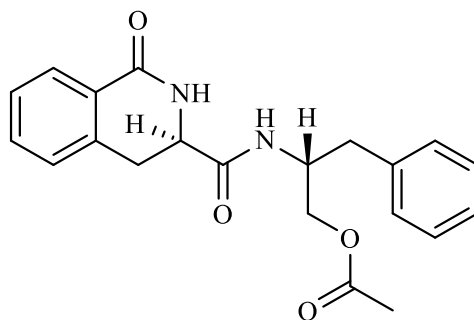


Figure 63 : Régression linéaire des déplacements chimiques des (^1H et ^{13}C) expérimentales et calculées par mPW1PW91/6-311+G (d, p) dans le DMSO



Isomère 2

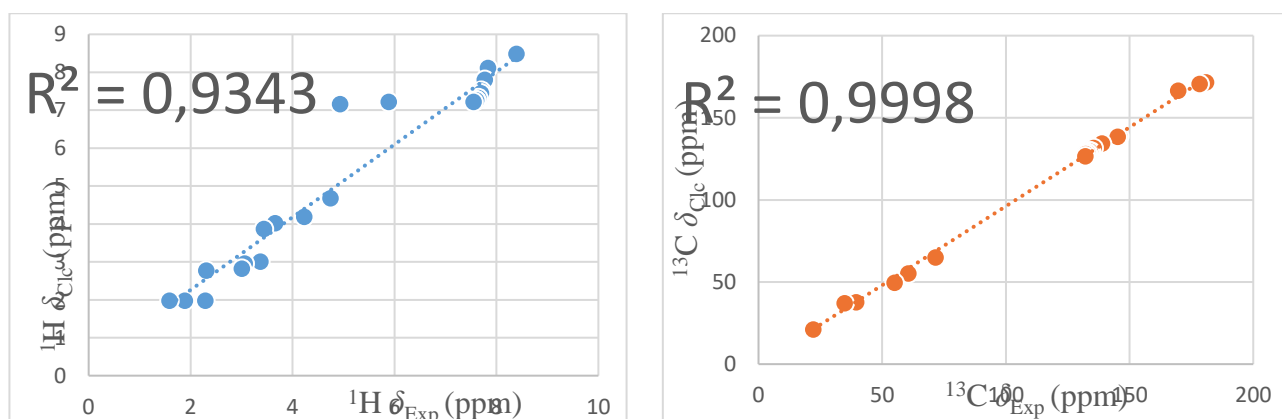


Figure 64 : Régression linéaire des déplacements chimiques des RMN (^1H et ^{13}C) expérimentales et calculées par B3LYP/6-311+(d, p) dans le DMSO

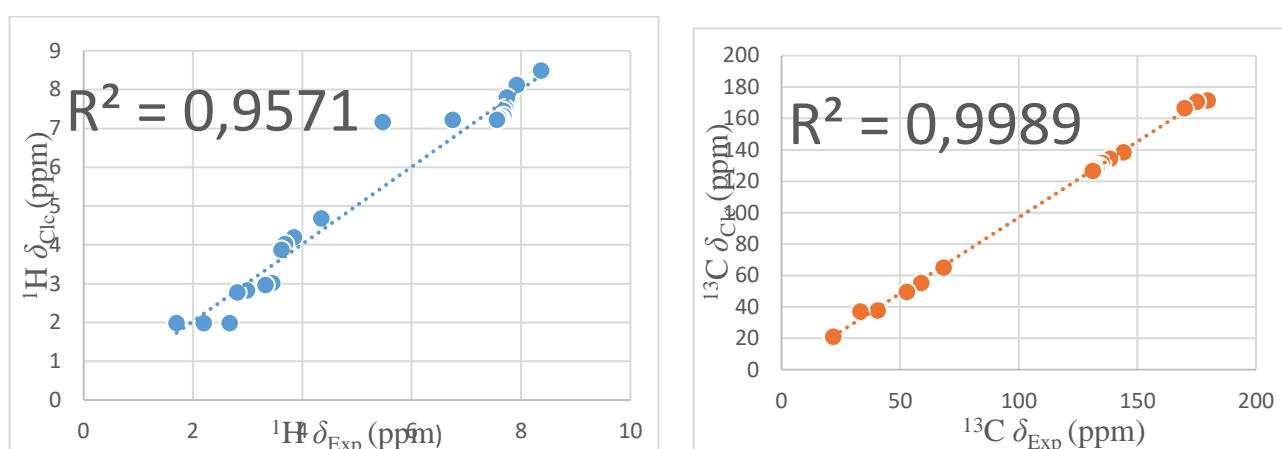


Figure 65 : Régression linéaire des déplacements chimiques des RMN (^1H et ^{13}C) expérimentales et calculées par mPW1PW91/6-311+G (d, p) dans le DMSO

L'analyse des données RMN 1D, 2D et la simulation des probabilités par les calculs DP4+ ont permis de déterminer la structure du composé **ASP81** (3R,2'R) - (1-oxo-1,2,3,4-tétrahydroisoquinoline-3-carboxamido) -3'-phenylacetate de propyle, un nouveau dérivé, auquel nous avons donné le nom trivial de schweinfurthiamide.

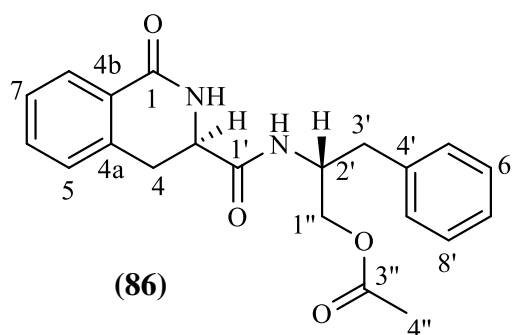


Tableau 21 : Déplacements chimiques de RMN [^1H , 600 et ^{13}C , 150 MHz), DMSO- d_6] de **ASP81**

| N° | ASP81 | |
|--------|------------|--|
| | δ_C | δ_H (mult., J en Hz) |
| 1 | 166,6 | - |
| 2-NH | - | 8,49 (d ; 8,5) |
| 3 | 55,3 | 4,69 (m) |
| 4 | 37,7 | 3,02 (dd ; 5,0 et 13,8) ; 2,96 (dd ; 10,0 et 13,8) |
| 4a | 138,8 | - |
| 5 | 129,6 | 7,32 (d ; 7,3) |
| 6 | 131,7 | 7,52 (t ; 7,3) |
| 7 | 127,9 | 7,45 (t ; 7,3) |
| 8 | 128,5 | 7,80 (d ; 6,9) |
| 8a | 134,5 | - |
| 1' | 171,6 | - |
| 2'a-NH | - | 8,12 (d ; 8,3) |
| 2' | 49,6 | 4,19 (m) |
| 3' | 37,1 | 2,82 (dd ; 6,4 et 13,8) et 2,77 (dd ; 7,8 et 13,8) |
| 4' | 138,5 | - |
| 5' | 129,6 | 7,26 |
| 6' | 128,5 | 7,22 |
| 7' | 126,7 | 7,16 |
| 8' | 128,6 | 7,22 |
| 9' | 129,6 | 7,26 |
| 1'' | 65,5 | 3,87 (dd ; 6,7 et 11,0) et 4,02 (dd ; 4,9 et 11,0) |
| 3'' | 170,7 | - |
| 4'' | 21,1 | 2,04 (s) |

I.1.2.12 Identification du composé AS4

Le spectre de RMN ^1H (**Fig. 66**) de **AS4** montre des signaux à δ_H 7,08 (2H ; d ; 7,5 Hz) et 6,71 (2H ; d ; 8,0 Hz) ; 6,98 (2H ; d ; 7,5 Hz) et 6,69 (2H ; d ; 7,5 Hz) caractéristiques de deux systèmes AA'BB' de deux noyaux aromatiques paradisubstitués. Le même spectre montre deux pics correspondants aux protons cis-éthyléniques à δ_H 6,44 (d ; 11,5 Hz, H-5) et 5,60 (dd ; 11,5 et 9,5 Hz, H-4), un groupe vinyl à δ_H 5,09 (dt ; 10,6 et 1,7 ; H-1a), 5,07 (dt ; 1,7 et 16,6, H-1b) et 5,98 (ddd ;

6,3 ; 10,6 et 16,6, H-2), un proton méthylène à δ_H 4,42 (*dd* ; 9,5 et 5,6 Hz, H-3) et un signal à δ_H 7,30 sous forme de singulet large correspondant au groupe hydroxyle.

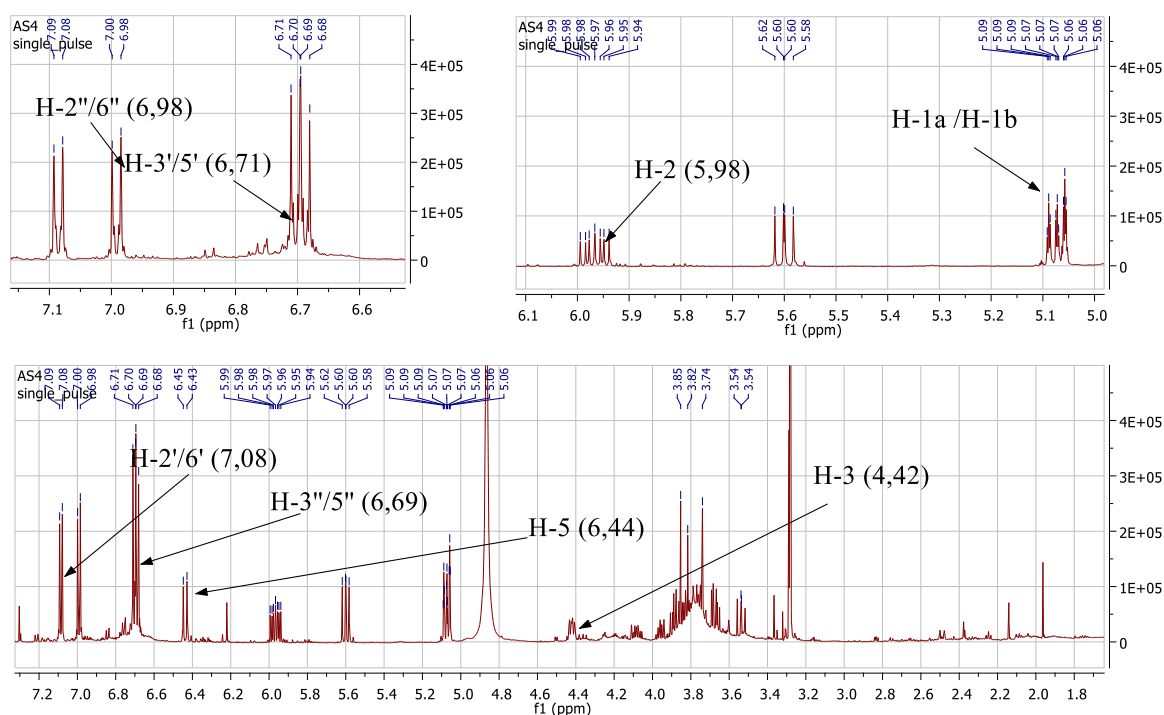


Figure 66 : Spectre de RMN ^1H (600 MHz, CD_3OD) du composé **AS4**

Le spectre de RMN ^{13}C (**Fig. 67**) indique 13 signaux correspondant à 17 atomes de carbones parmi lesquels :

- Deux carbones quaternaires aromatiques oxygénés à δ_C 156,3 (C-4') et 155,6 (C-4'').
- Huit carbones primaires (CH) aromatiques à δ_C 129,6 (C-2' et C-6') ; 114,6 (C-3' et C-5') ; 128,3 (C-2'' et C-6'') et 115,0 (C-3'' et C-5'') et qui sont en accord avec le système AA'BB'.
- Deux carbones quaternaires aromatiques résonnant à δ_C 128,6 (C-1') et 134,4 (C-1'').
- Quatre carbones éthyléniques résonnant à δ_C 113,6 (C-1) ; 141,4 (C-2) ; 131,1 (C-4) et 128,3 (C-5) suggérant la présence de deux doubles liaisons.
- Un carbone primaire (CH) à δ_C 47,1 (C-3).

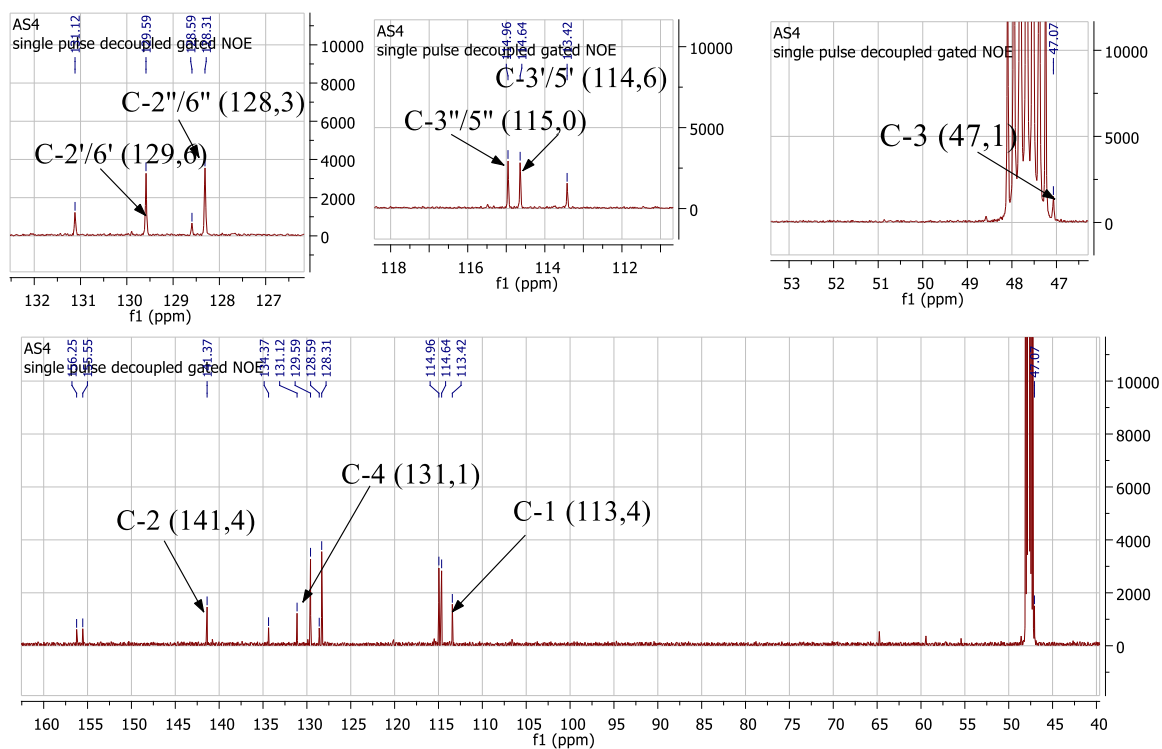


Figure 67 : Spectre de RMN ^{13}C (150 MHz, CD_3OD) du composé **AS4**

L'interprétation des données des spectres de RMN 1D et 2D et comparaison à celles de la littérature ont permis d'identifier **AS4** au (+) **-nyasol** (Oketch-Rabah H et al., **1997** ; Tsui W et al., **1996**).

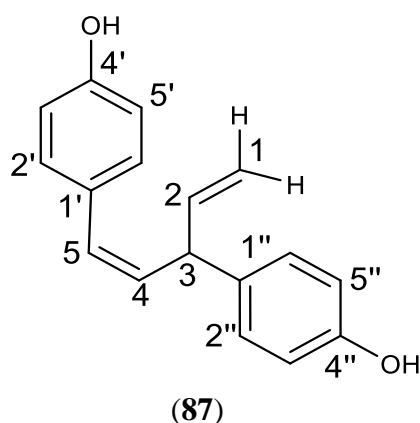


Tableau 22 : Données RMN [^1H , 600 et ^{13}C , 600 MHz), CD_3OD] du composé **AS4** et comparaison avec celles de la littérature

| N° | AS4 | | Oketch-Rabah et al., 1997 | |
|---------|------------|--|---------------------------|---|
| | δ_C | δ_H (mult., J en Hz) | δ_C | δ_H (mult., J en Hz) |
| 1 | 113,6 | 5,09 (<i>dt</i> ; 10, 6 et 1,7)/5,07 (<i>dt</i> ; 1,7 et 16,6) | 114,9 | 5,10 (<i>dt</i> ; 10,2 ; 1,7)/5,11 (<i>dt</i> ; 16,8 ; 1,7) |
| 2 | 141,4 | 5,98 (<i>ddd</i> ; 6,3 ; 10,6 et 16,6) | 142,7 | 6,00 (<i>ddd</i> ; 16,8 ; 10,2 ; 6,2) |
| 3 | 47,1 | 4,42 (<i>dd</i> ; 9,5 et 5,6) | 48,5 | 4,46 (<i>dd</i> ; 10,2 ; 6,2) |
| 4 | 131,1 | 5,60 (<i>dd</i> ; 11,5 et 9,5) | 132,4 | 5,64 (<i>dd</i> ; 11,5 ; 10,1) |
| 5 | 128,3 | 6,44 (<i>d</i> ; 11,5) | 129,7 | 6,48 (<i>d</i> ; 11,5) |
| 1' | 128,6 | - | 129,9 | - |
| 2'/6' | 129,6 | 7,08 (<i>d</i> ; 8,5) | 130,9 | 7,13 (<i>d</i> ; 8,4) |
| 3'/5' | 114,6 | 6,71 (<i>d</i> ; 8,5) | 116,0 | 6,74 (<i>d</i> ; 8,4) |
| 4' | 156,3 | - | 157,6 | - |
| 1'' | 134,4 | - | 135,7 | - |
| 2''/6'' | 128,3 | 6,98 (<i>d</i> ; 8,5) | 129,7 | 7,03 (<i>d</i> ; 8,4) |
| 3''/5'' | 115,0 | 6,69 (<i>d</i> ; 8,5) | 116,3 | 6,72 (<i>d</i> ; 8,4) |
| 4'' | 155,6 | - | 156,9 | - |

I.1.2.13 Identification du Composé AS2

Les signaux de spectre de RMN ^1H (**Fig. 68**) du composé **AS2** sont semblables à ceux du composé **AS4** à la seule différence qu'en plus de l'hydroxyle en C-4'', il y a un méthoxy en position 3''. Il montre également trois pics caractéristiques d'un cycle aromatique ABX trisubstitués résonnant à δ_H 6,81 (H-2'' ; *d* ; 2,0 Hz), 6,83 (H-5'' ; *d* ; 8,1 Hz) et 6,70 (H-6'' ; *d* ; 2,0 et 8,1 Hz) et un pic à δ_H 3,85 correspondant au groupe méthoxy et qui corrèle avec le carbone à δ_C 56,1 sur le spectre HMQC.

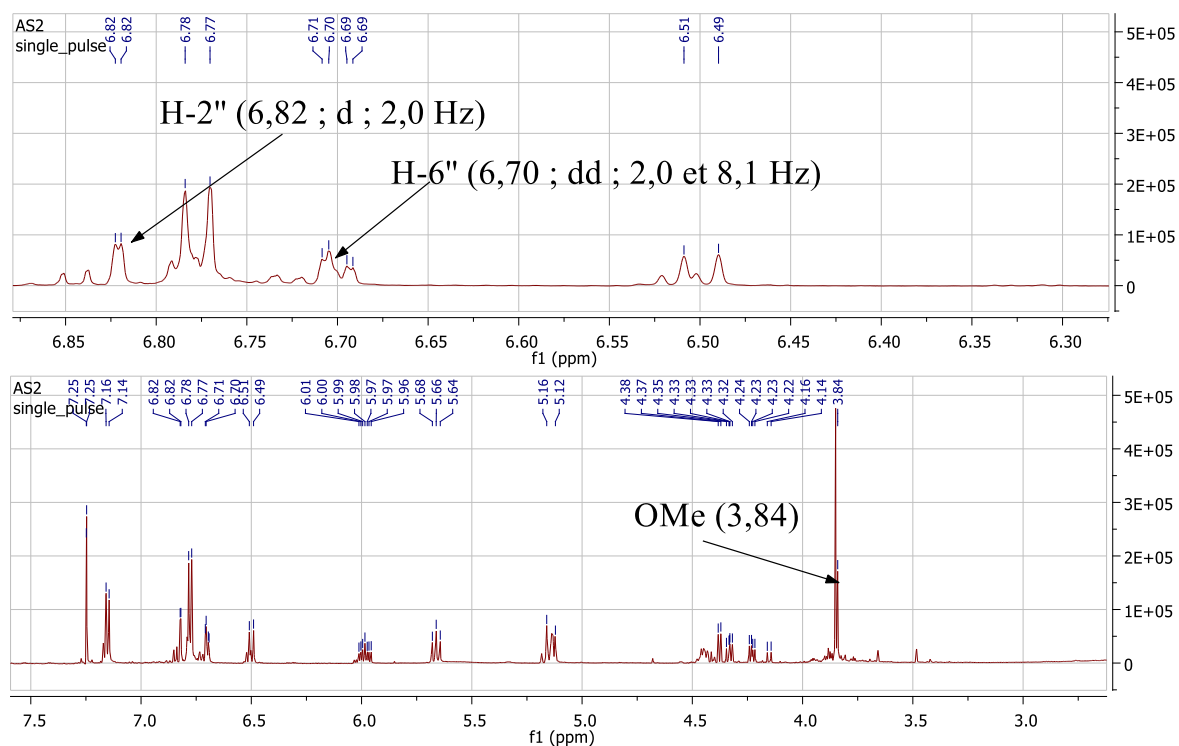


Figure 68 : Spectre de RMN ^1H (600 MHz, CD_3OD) du composé **AS2**

L'analyse conjointe des données des spectres de RMN 1D et comparaison à celles de la littérature ont permis d'identifier le composé **AS2** au **3''-methoxynyasol** (Yang *et al.*, 2004).

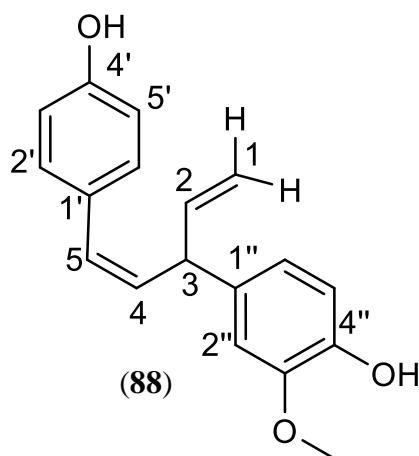


Tableau 23 : Données RMN [^1H , 600 et ^{13}C , 150 MHz), CD_3OD] du composé **AS2** et comparaison avec celles de la littérature

| N° | AS2 | | Yang et al., 2004 | |
|-------|------------|-------------------------------------|-------------------|---|
| | δ_C | δ_H (mult., J en Hz) | δ_C | δ_H (mult., J en Hz) |
| 1 | 115,2 | 5,13/6,76 | 114,9 | 5,11 (dt ; 10,2 ; 1,8)/5,13 (dt ; 17,1 ; 1,8) |
| 2 | 140,7 | 5,95 (ddd ; 10,8 ; 11,0 et 17,1) | 142,9 | 6,02 (ddd ; 16,7 ; 10,2 ; 6,2) |
| 3 | 47,1 | 4,42 | 48,5 | 4,46 (dd ; 10,1 ; 6,2) |
| 4 | 131,6 | 5,66 | 132,4 | 5,65 (dd ; 11,6 ; 10,1) |
| 5 | 128,7 | 6,49 | 129,7 | 6,48 (d ; 11,6) |
| 1' | 129,4 | - | 129,8 | - |
| 2'/6' | 130,1 | 7,15 (d ; 8,3) | 130,9 | 7,12 (d ; 8,6) |
| 3'/5' | 115,2 | 6,77 (d ; 8,3) | 116,0 | 6,74 (d ; 8,6) |
| 4' | 154,7 | - | 157,6 | - |
| 1'' | 136,6 | - | 136,5 | - |
| 2'' | 114,1 | 6,81 (d ; 2,0) | 112,5 | 6,75 (d ; 2,4) |
| 3'' | 145,1 | - | 149,0 | - |
| 4'' | 145,2 | - | 146,1 | - |
| 5'' | 114,1 | 6,83 (d ; 8,1) | 116,3 | 6,73 (d ; 8,6) |
| 6'' | 119,1 | 6,70 (dd ; 2,0 et 8,1) | 121,3 | 6,65 (dd ; 8,6 ; 2,4) |
| OMe | 56,1 | 3,84 (s) | 56,4 | 3,80 (s) |

I.2 Extraction, isolement et caractérisation des composés de *Allamanda cathartica*

I.2.1 Extraction et isolement des composés de *Allamanda cathartica*

La matière végétale a été récoltée à Yaoundé, Département du Mfoundi, Région du Centre Cameroun en février 2018. Identifiée par Mr NANA à l'herbier national, elle a été ensuite séchée à l'air libre et à l'abri de la lumière du soleil pendant 2 semaines puis broyée. La poudre (1Kg) a subi une extraction au méthanol à la température ambiante pendant 48 heures. Après filtration, concentration, un extrait brut de 62 g a été obtenu. 43g de cet extrait ont subi un fractionnement sur colonne de gel de silice avec les systèmes Hex/AE, puis AE/MeOH de polarité croissante. Au terme de ce processus, nous avons isolé et purifié cinq composés indexés AC₁, AC₂, AC₃, AC₄ et AC₅. Le schéma **21** ci-dessous illustre ce protocole.

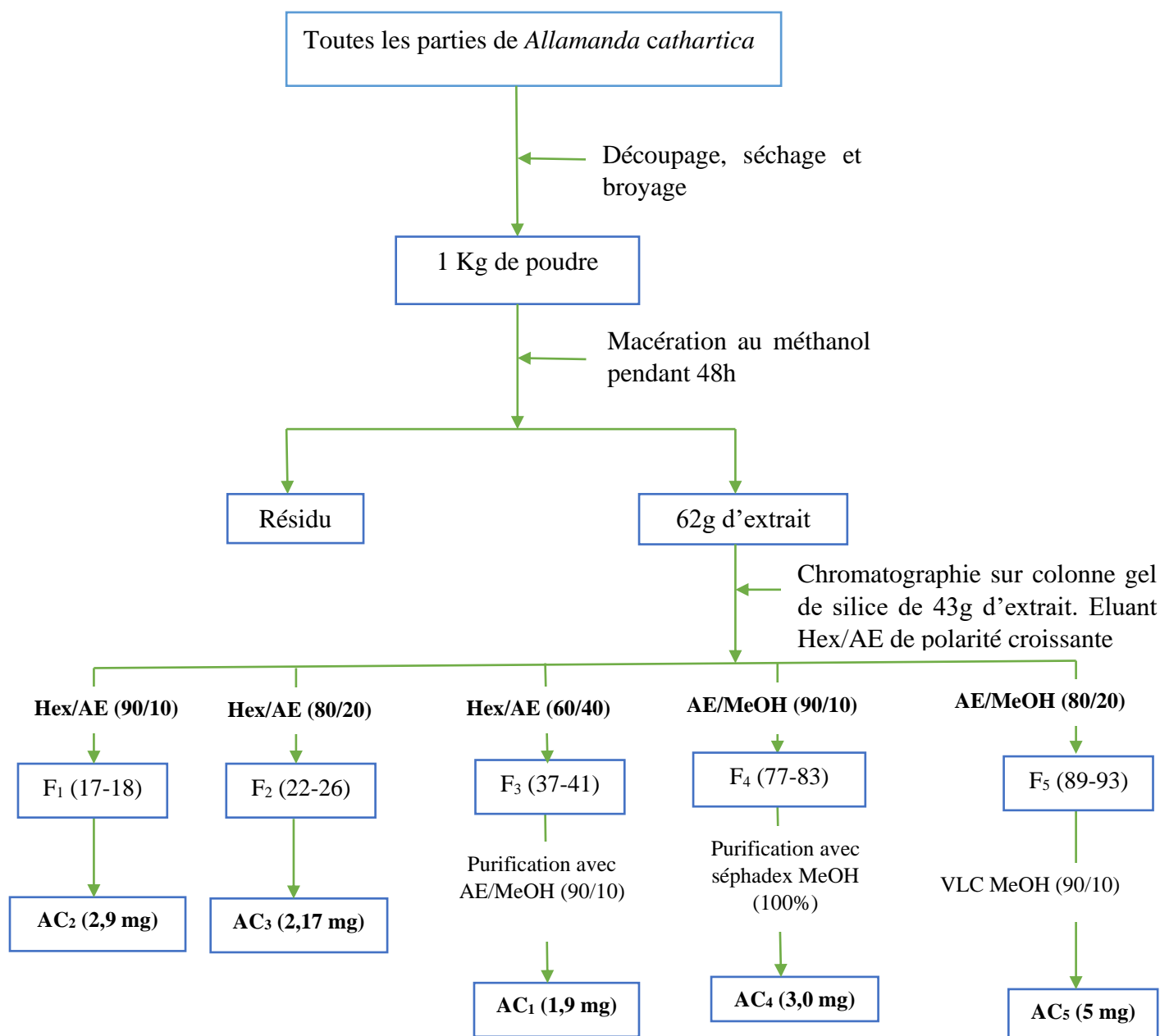


Schéma 21 : Protocole d'extraction et d'isolement des composés de *Allamanda cathartica*

I.2.2 Caractérisation structurale des composés isolés de *Allamanda cathartica*

La méthodologie employée repose essentiellement sur l'analyse des spectres de Résonance Magnétique Nucléaire (RMN) monodimensionnels ^1H et ^{13}C et à séquences multi-impulsionnelles à deux dimensions homo- et hétéronucléaires (COSY, HMQC et HMBC).

I.2.2.1 Identification du composé AC3

Le composé **AC3** a été isolé sous forme de cristaux verts. Il est soluble dans le méthanol et réagit positivement aux tests de chlorure ferrique et de Shinoda, ce qui suggère que **AC3** est une flavonoïde ayant en son sein des hydroxyles phénoliques libres (Mabry *et al.*, 2012). Sa formule brute

$C_{15}H_{10}O_6$ a été déduite de l'analyse combinée de ses spectres de RMN 1H (**Fig. 69**) et ^{13}C (**Fig. 70**) et renferme 11 degrés d'insaturations.

Le spectre de RMN 1H (**Fig. 69**) indique deux signaux doublets à δ_H 8,06 (2H ; d ; 6,9 Hz ; H-2'/H-6') et 6,88 (2H ; d ; 6,9 Hz ; H-3'/H-5') intégrant pour deux protons chacun et correspondants à un système AA'/BB' d'un noyau aromatique. Il montre également les signaux de deux protons méta couplé à δ_H 6,15 (1H ; d ; 2,1 Hz) et à δ_H 6,36 (1H ; d ; 2,1 Hz) attribuables respectivement aux protons H-6 et H-8 du cycle A des flavonoides. L'absence d'un proton singulet déblindé autour de δ_H 6,7 atteste que la position 3 du cycle C est substitué et nous renvoie à un flavonol.

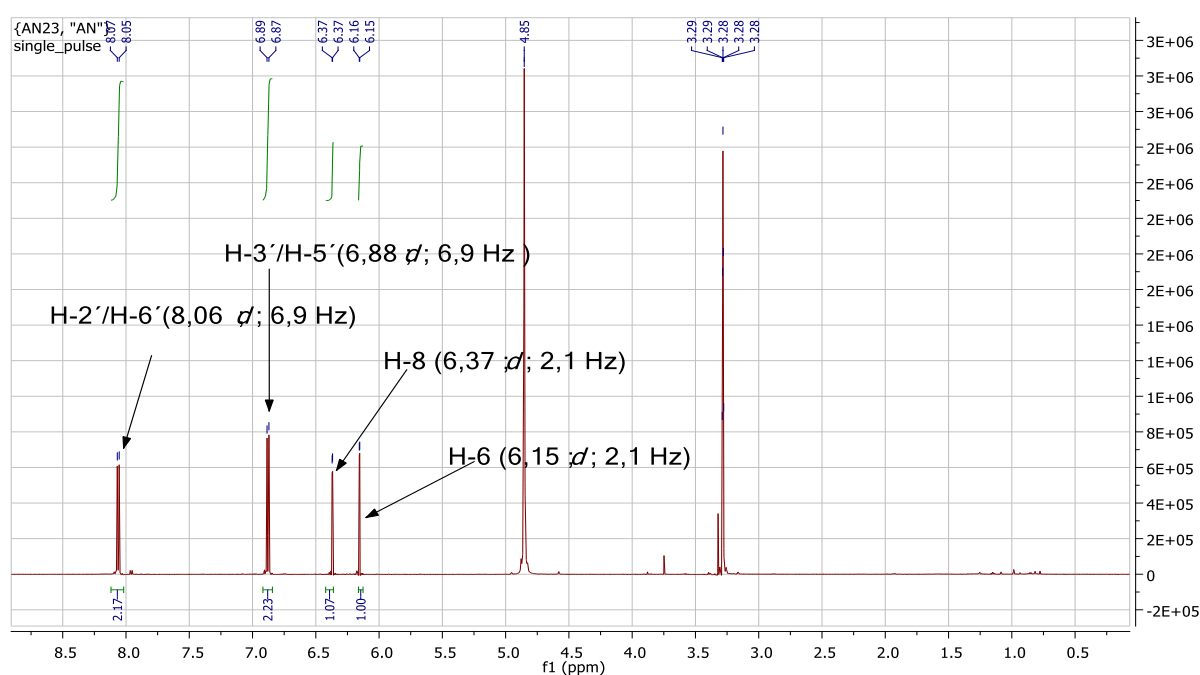


Figure 69 : Spectre RMN 1H (600 MHz, CD_3OD) de **AC3**

Le spectre de RMN ^{13}C (**Fig 70**) découplé large bande indique 15 signaux de carbones, parmi lesquelles six methines aromatiques à δ_C 97,9 (C-6) ; 93,1 (C-8) ; 129,0 (C-2' ; C-6') ; 115,0 (C-3' ; C-5') ; neuf carbones quaternaires dont le carbonyle conjugué à δ_C 176,1 ; six carbones sp^2 oxygénés apparaissant à δ_C 146,7 (C-2), 135,8 (C-3), 161,2 (C-5), 164,0 (C-7) ; 159,2 (C-9) et 156,9 (C-4') et deux carbones aromatiques à δ_C 103,2(C-10) et 122,4 (C-1').

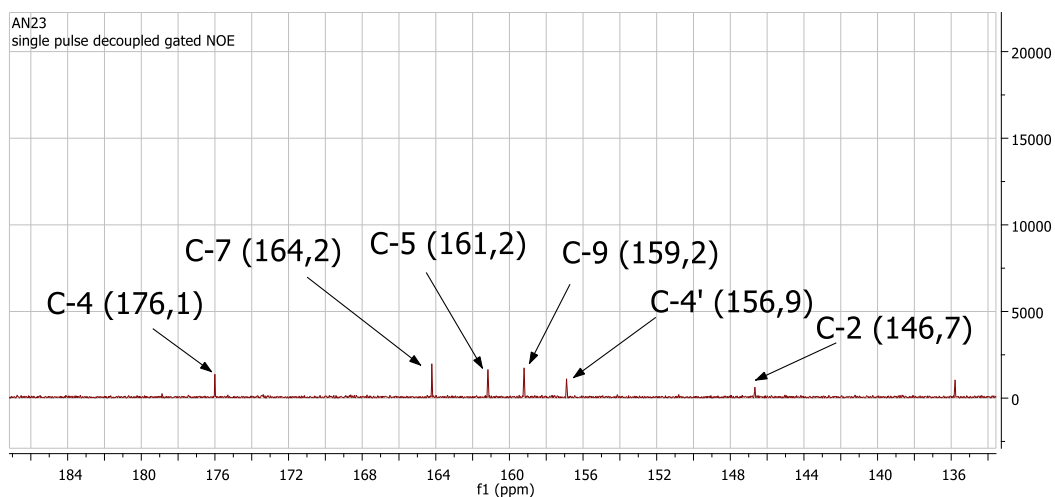


Figure 70 : Spectre RMN ^{13}C (150 MHz, CD_3OD) de **AC3**

Toutes ces données et par comparaison à celles de la littérature ont permis d'identifier **AC3** au **Kaempférol** qui a été précédemment décrite par *Anjana et al.*, **2019**.

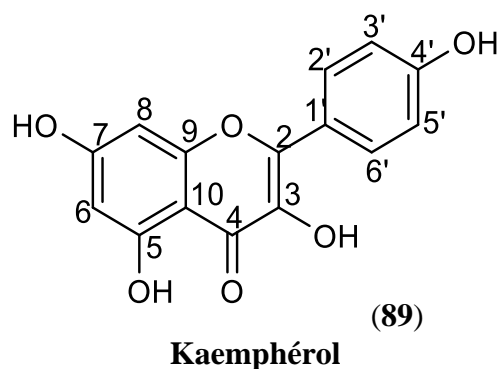


Tableau 24 : Données spectrales de RMN [^1H , 600 et ^{13}C , 150 MHz), CD_3OD] du composé **AC3** et comparaison avec celles de la littérature (CD_3OD , 125 MHz)

| N° | AC3 | Anjana <i>et al.</i> , 2019 | AC3 | Anjana <i>et al.</i> , 2019 |
|-------|----------------|-----------------------------|-----------------------------|-----------------------------|
| | δ_C (m) | δ_C (m) | δ_H (mult., J en Hz) | δ_H (mult., J en Hz) |
| 2 | 146,7 (C) | | - | - |
| 3 | 135,8 (C) | 135,9 (C) | - | - |
| 4 | 176,1 (C) | 176,3 (C) | - | - |
| 10 | 103,2 (C) | 103,2 (C) | - | - |
| 5 | 161,2 (C) | 160,8 (C) | - | - |
| 6 | 97,9 (CH) | 98,1 (CH) | 6,28 (1H ; <i>d</i> ; 1,8) | 6,28 (1H ; <i>d</i> ; 2,3) |
| 7 | 164,0 (C) | 163,8 (C) | - | - |
| 8 | 93,1 (CH) | 93,5 (CH) | 6,55 (1H ; <i>d</i> ; 1,8) | 6,96 (1H ; <i>d</i> ; 2,3) |
| 9 | 159,2 (C) | 159,6 (C) | - | - |
| 1' | 122,4 (C) | 121,6 (C) | - | - |
| 2'/6' | 129,3 (CH) | 129,5 (CH) | 8,17 (2H ; <i>d</i> ; 6,9) | 7,95 (2H ; <i>d</i> ; 8,6) |
| 3'/5' | 115,0 (CH) | 115,5 (CH) | 7,03 (2H ; <i>d</i> ; 6,9) | 7,07 (2H ; <i>d</i> ; 8,6) |
| 4' | 156,9 (C) | 156,3 (C) | - | - |

I.2.2.2 Identification du composé AC4

Le composé **AC4** a été isolé sous-forme de cristaux. Il est soluble dans le méthanol. Sa formule brute $\text{C}_{15}\text{H}_{14}\text{O}_6$ déduite de l'analyse combinée de ses spectres de RMN **1D** et **2D** renferme 9 degrés d'insaturation.

Le spectre de RMN ^1H (**Fig. 71**) montre deux signaux à δ_H 6,00 (dd ; 5,3 et 2,0 Hz ; H-6) et 5,72 (*d* ; 2,0 Hz ; H-7) caractéristiques de la double liaison *cis* disubstituée et un pic à 7,07 (*d* ; 7,2 Hz ; H-13) correspondant à une double liaison trisubstituée. Il apparaît également un pic à δ_H 7,52 (*dt* ; 7,6 et 1,7 Hz, H-3) caractéristique d'un ester α, β insaturé et deux signaux à δ_H 5,71 (*d* ; 5,9 Hz ; H-1) et 5,23 (*s*, H-10) correspondants aux protons acétalique et d'un méthine oxygéné, en accord à la formation d'un éther cyclique (Yamauchi *et al.*, 1981). Le même spectre indique un pic à δ_H 1,80 (*d* ; 7,2 Hz, H-14) correspondant au méthyle lié à une double liaison et à δ_H 3,63 (*s*) correspondant au méthyle de l'ester. De plus, il apparaît deux autres méthines à δ_H 3,47 (*dd* ; 9,4 et 5,9 Hz, H-9) et 3,92

(*dd* ; 9,4 et 1,5 Hz, H-5). Ces informations indiquent que le composé **AC4** et par comparaison à la littérature est un irridoïde.

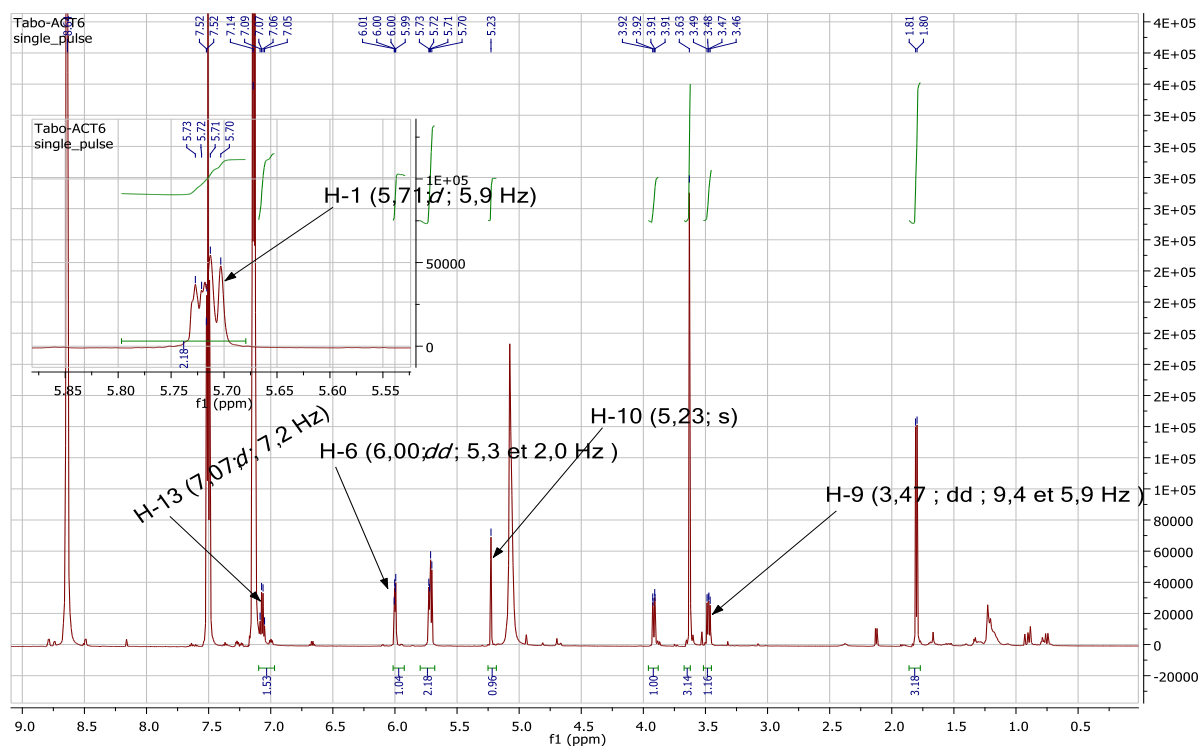
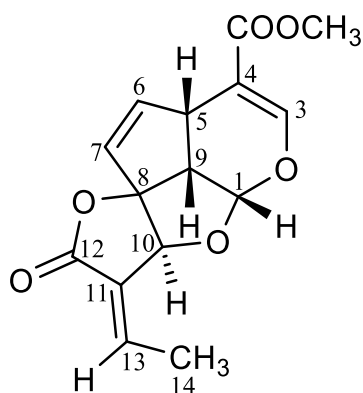


Figure 71 : Spectre de RMN ^1H (600 MHz, Pyr-d5) du composé **AC4**

Le spectre de RMN ^{13}C (**Fig. 72**) montre des résonances correspondantes à 15 atomes de carbone. En effet, il révèle un signal à δ_{C} 166,6 attribuable au carbonyle d'ester en C-15 et deux résonances des carbones quaternaires oléfinique à δ_{C} 109,4 et 128,2 correspondants respectivement aux carbones C-4 et C-11. Il apparaît quatre méthines oléfiniques à δ_{C} 127,1 ; 140,9 ; 144,6 et 152,9 correspondants aux carbones C-7, C-6, C-13 et C-3. Il indique également deux oxyméthines à δ_{C} 102,6 (C-1) et 80,4 (C-10) justifiant la présence d'un éther cyclique, deux groupes méthines à δ_{C}

38,7 (C-5) et 53,8 (C-9), un carbone quaternaire à δ_C 104,8 (C-8), un oxyméthyle à δ_C 51,2 et un méthyle à δ_C 15,7 (C-14). L'interprétation des données de spectre de RMN ^{13}C (**Fig. 71**) et comparaison à celles de la littérature sont en accord à celles de la Pluméricine (Yamauchi et *al.*, **1981**).

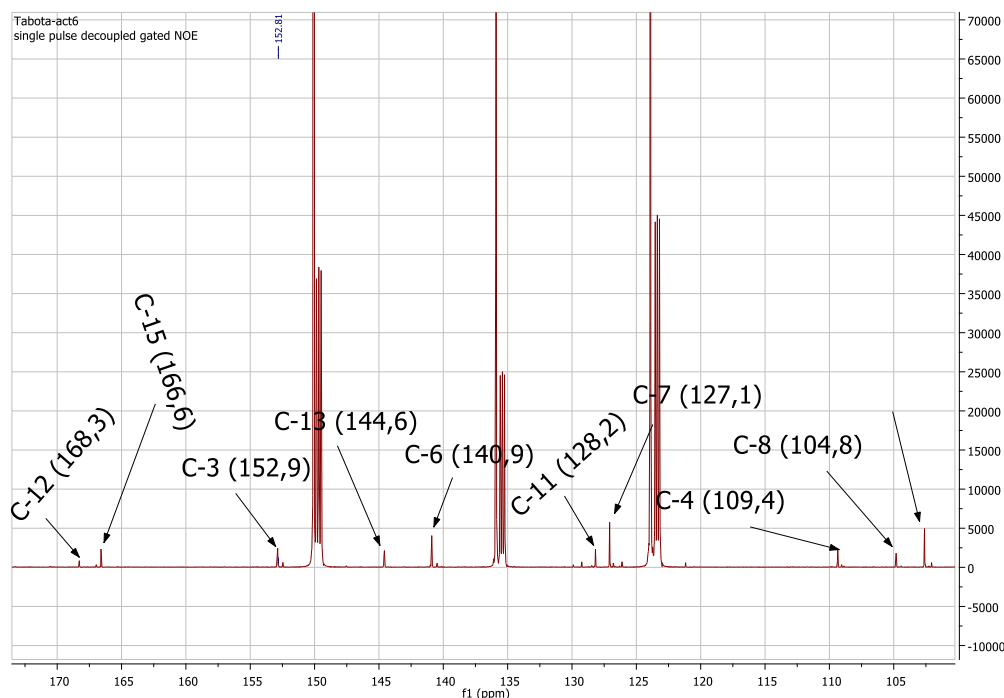


Figure 72 : Spectre de RMN ^{13}C (150 MHz, Pyr-d5) du composé **AC4**

Le spectre COSY (**Fig. 73**) du composé **AC4** montre la corrélation entre les protons H-5 (δ_H 3,91) et H-9 (δ_H 3,47), H-1 (δ_H 5,72) et H-9 (δ_H 3,47), H-6 (δ_H 6,00) et H-5 (δ_H 3,91) et enfin les protons H-6 (δ_H 6,00) et H-7 (δ_H 5,72). Ces informations nous permettent d'avoir la sous structure ci-contre.

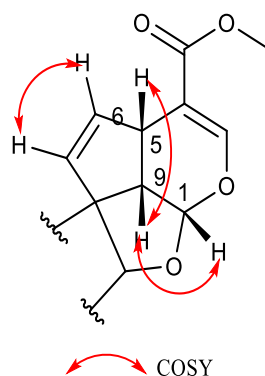


Schéma 22 : Corrélation COSY du composé **AC4**

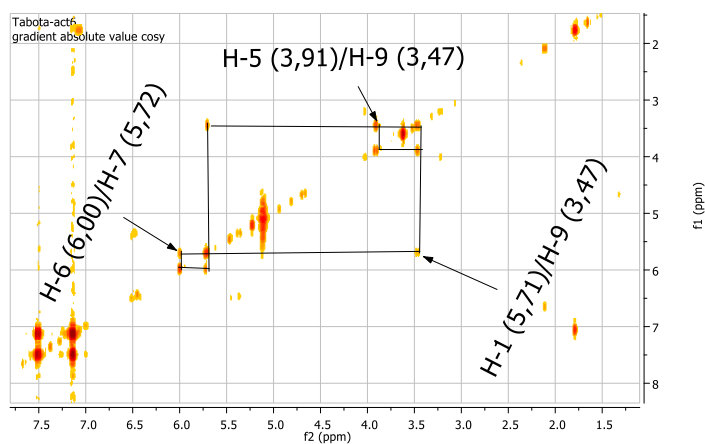


Figure 73 : Spectre COSY (Pyr-d5, 150 MHz) du composé **AC4**

Le spectre HMBC (**Fig. 74**) montre des corrélations entre le proton H₃₋₁₄ (δ_H 1,80) et les carbones C-13 (δ_C 144,6) et C-11 (δ_C 128,2). Il indique également des corrélations entre le proton H-7 (δ_H 5,72) et les carbones à C-6 (δ_C 140,9), C-10 (δ_C 80,4), C-9 (δ_C 53,8) et C-5 (δ_C 38,6). De plus, il apparaît des corrélations entre le proton H-10 (δ_H 5,23) et les carbones C-1 (δ_C 102,6), C-7 (δ_C 127,1), C-8 (δ_C 104,8), C-13 (δ_C 144,6), C-12 (δ_C 168,3) et le proton H-5 (δ_H 3,91) et les carbones C-1 (δ_C 102,6) ; C-6 (δ_C 140,9) ; C-7 (δ_C 127,1) ; C-4 (δ_C 109,4) et C-3 (δ_C 152,9).

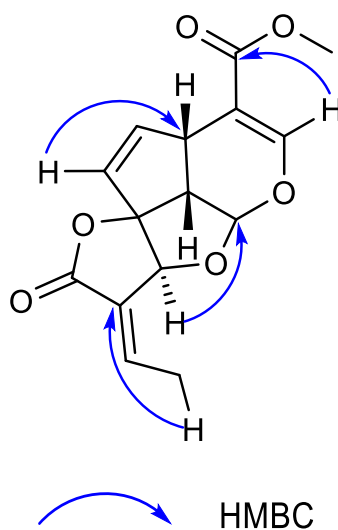


Schéma 23 : Corrélation HMBC du composé **AC4**

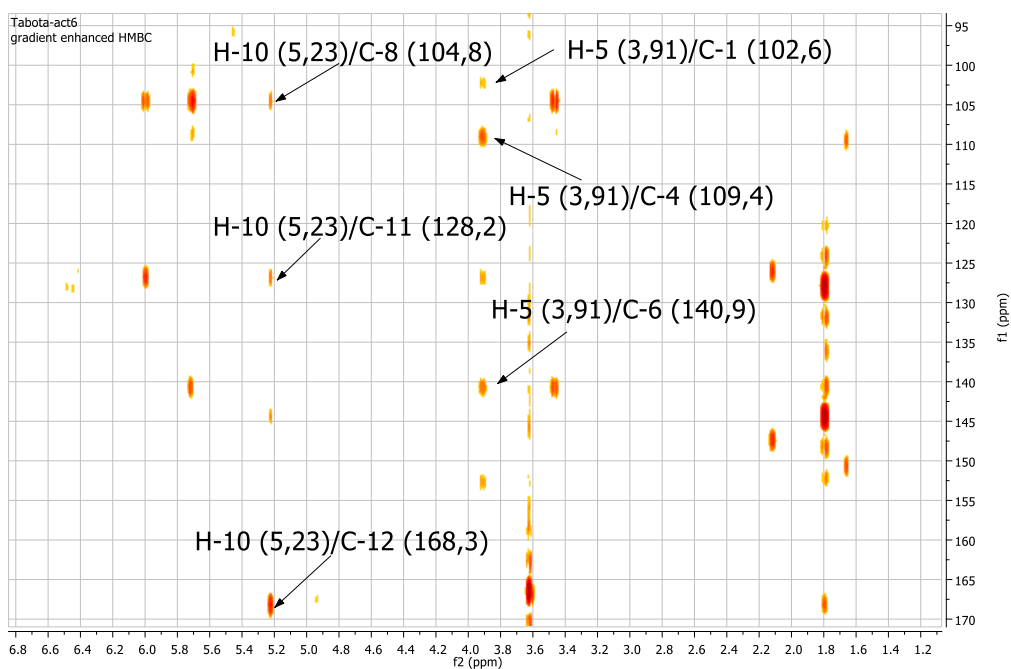


Figure 74 : Spectre HMBC (Pyr-d₅, 150 MHz) du composé **AC4**

Ainsi, l'analyse de toutes les données des spectres de RMN 1D et 2D et par comparaison à celles de la littérature ont permis d'identifier du composé **AC4** à la **Pluméricine** (Yamauchi *et al.*, 2010).

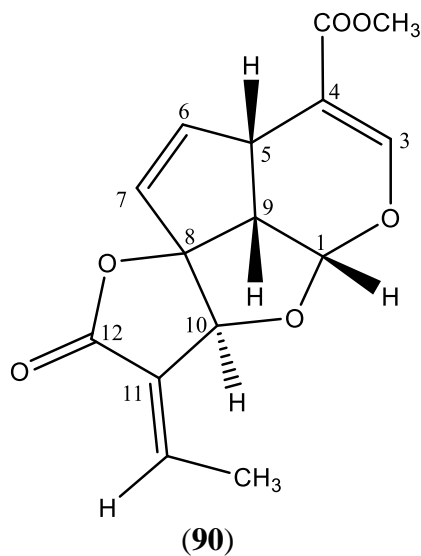


Tableau 25 : Données RMN [^1H , 600 et ^{13}C , 150 MHz), Pyr-d5] et comparaison avec celles de la littérature (Pyr-d5, 100 MHz) de **AC4**.

| N° | δ_C | δ_H (multi., J en Hz) | δ_C (Yamauchi <i>et al.</i> , 2010) |
|------------------|------------|--------------------------------|--|
| 1 | 102,6 | 5,71 (1H ; d ; 5,9) | 102,5 |
| 2 | // | // | // |
| 3 | 152,9 | 7,52 (1H ; d ; 1,8) | 153,0 |
| 4 | 109,4 | // | 110,0 |
| 5 | 38,7 | 3,92 (1H ; dd ; 9,4 et 2,0) | 38,8 |
| 6 | 140,9 | 6,00 (1H ; dd ; 5,3 et 2,0) | 141,0 |
| 7 | 127,1 | 5,72 (1H ; d ; 5,3 et 2,0) | 126,2 |
| 8 | 104,8 | // | 105,0 |
| 9 | 53,8 | 3,47 (1H ; dd ; 9,4 et 5,9) | 53,9 |
| 10 | 80,4 | 5,23 (1H ; s) | 80,5 |
| 11 | 128,2 | // | 128,3 |
| 12 | 168,3 | // | 177,7 |
| 13 | 144,6 | 7,07 (1H ; d ; 7,2) | 144,5 |
| 14 | 15,7 | 1,80 (3H ; d ; 7,2) | 15,9 |
| 15 | 166,6 | // | 168,4 |
| OCH ₃ | 51,2 | 3,63 (s) | 51,4 |

I.2.2.3 Identification du composé AC1

Le composé AC1 est obtenu sous forme de poudre blanche. Sa formule brute $\text{C}_{15}\text{H}_{14}\text{O}_6$ déduite de l'analyse combinée de ses spectres de RMN ^1H (**Fig. 75**) et ^{13}C (**Fig. 76**) renferme 9 insaturations.

La comparaison des données des spectres de RMN ^1H (**Fig. 75**) et ^{13}C (**Fig. 76**) du composé **AC1** avec celles du composé **AC4** montre que ces composés sont quasi identiques mais diffèrent par les déplacements chimiques des carbones C-11 ($\Delta\delta = 0,7$ ppm), C-13 ($\Delta\delta = 1,0$ ppm), C-14 ($\Delta\delta = 0,5$ ppm) et par l'orientation du méthyle en position 14. Cette différence et comparaison à la littérature indique des déplacements relatifs à δ_H 2,07 (d ; 7,2 Hz) de **AC1** et celui de **AC4** à δ_H 1,80 (d ; 7,2 Hz) correspondant aux protons H-14.

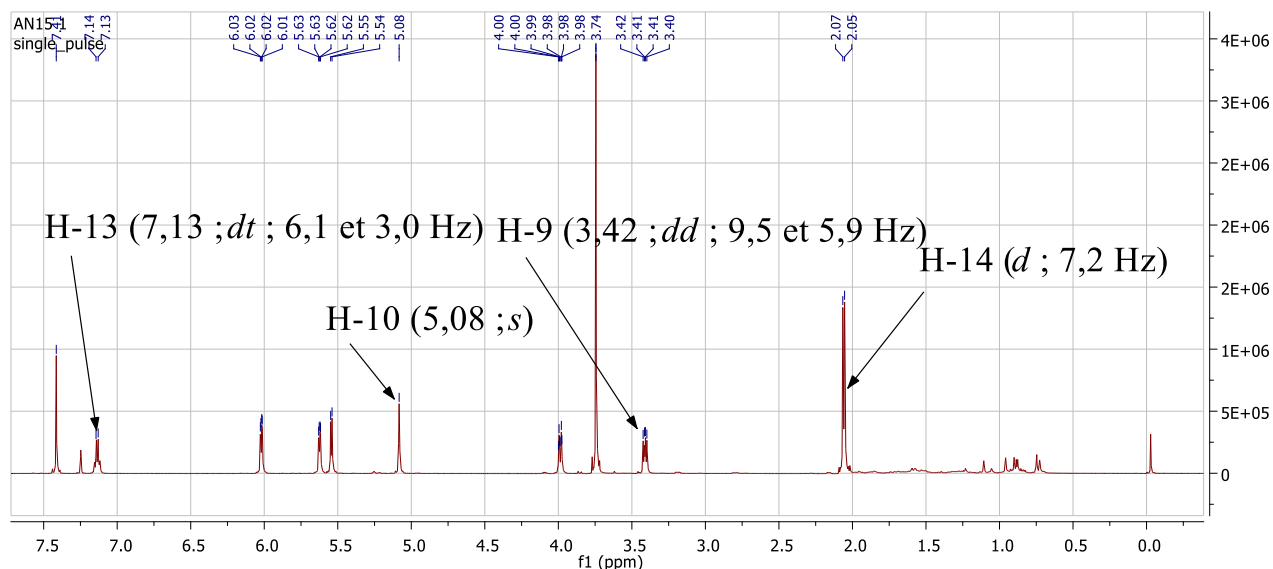


Figure 75 : Spectre RMN ^1H (600 MHz, CDCl_3) du composé **AC1**

Le spectre de RMN ^{13}C (**Fig. 76**) montre quinze pics correspondant à 15 atomes de carbone. En effet, il apparaît deux signaux à δ_{C} 168,6 et 166,6 correspondant aux carbonyles des esters C-12 et C-15. Il indique également deux résonnances des carbones quaternaires oléfiniques à δ_{C} 109,4 et 127,5 correspondant aux carbones C-4 et C-11, respectivement. Le spectre de RMN ^{13}C montre quatre signaux à δ_{C} 127,5 ; 141,2 ; 145,6 et 152,9 correspondant aux carbones des méthines oléfiniques C-7, C-6, C-13 et C-3, respectivement.

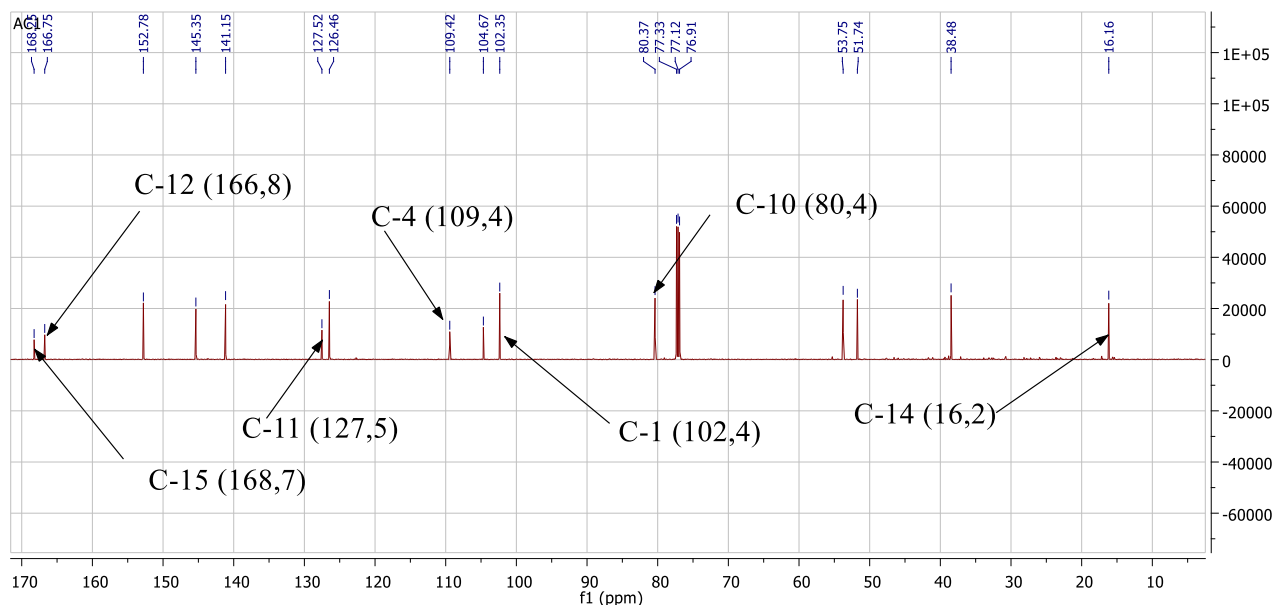
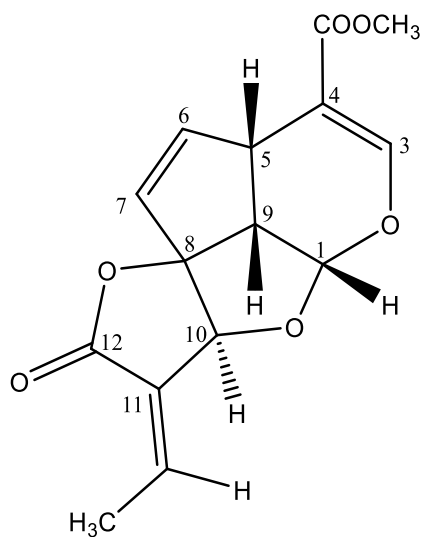


Figure 76 : Spectre de RMN ^{13}C (150 MHz, CDCl_3) du composé **AC1**

Les valeurs des déplacements chimiques des spectres de RMN ^1H (**Fig. 74**) et ^{13}C (**Fig. 75**) du composé **AC1** et par comparaison avec celles de la littérature ont permis de l'identifier à l'**Isopluméricine** (Tableau **26**).



Isopluméricine (91)

Tableau 26 : Données RMN [^1H , 600 et ^{13}C , 150 MHz), CDCl_3] du composé **AC1** et comparaison avec celles du composé **AC4**

| N° | AC1 | | AC4 | |
|------------------|------------|--------------------------------|------------|--------------------------------|
| | δ_C | δ_H (multi., J en Hz) | δ_C | δ_H (multi., J en Hz) |
| 1 | 102,4 | 5,55 (1H ; d ; 5,9) | 102,6 | 5,71 (1H ; d ; 5,9) |
| 2 | // | // | // | // |
| 3 | 152,8 | 7,42 (1H ; s) | 152,9 | 7,52 (1H ; d ; 1,8) |
| 4 | 109,4 | // | 109,4 | // |
| 5 | 38,5 | 4,00 (1H ; dt ; 9,5 et 2,2) | 38,6 | 3,92 (1H ; dd ; 9,4 et 2,0) |
| 6 | 141,2 | 6,03 (dd ; 5,5 et 2,2) | 140,9 | 6,00 (1H ; dd ; 5,3 et 2,0) |
| 7 | 126,6 | 5,63 (dd ; 5,5 et 2,2) | 127,1 | 5,72 (1H ; d ; 5,3 et 2,0) |
| 8 | 104,7 | // | 104,8 | // |
| 9 | 53,8 | 3,42 (1H ; dd ; 9,5 et 5,9) | 53,8 | 3,47 (1H ; dd ; 9,4 et 5,9) |
| 10 | 80,4 | 5,08 (1H ; s) | 80,4 | 5,23 (1H ; s) |
| 11 | 127,5 | // | 128,2 | // |
| 12 | 168,6 | // | // | // |
| 13 | 145,6 | 7,15 (1H ; d ; 7,2) | 144,6 | 7,07 (1H ; d ; 7,2) |
| 14 | 16,2 | 2,07 (3H ; d ; 7,2) | 15,7 | 1,80 (3H ; d ; 7,2) |
| 15 | 166,6 | // | 166,6 | // |
| OCH ₃ | 51,8 | 3,75 (s) | 51,2 | 3,63 (s) |

I.2.2.4 Identification du composé AC5

Le composé **AC5** a été isolé sous-forme de poudre jaune, il est soluble dans le méthanol. Sa formule brute $\text{C}_{21}\text{H}_{26}\text{O}_{12}$ a été déduite de l'analyse combinée de ses spectres RMN 1D et 2D renfermant 9 insaturations. Comparativement aux données de la littérature, **AC5** est un iridoïde de type allamandine.

Le spectre de RMN ^1H (**Fig. 77**) montre deux signaux à δ_H 6,35 (dd ; 2,2 et 5,5 Hz ; H-6) et 5,31 (ddd , 5,5 ; 2,2 et 1,3 Hz ; H-7) caractéristiques de la double liaison cis disubstituée et un pic à 7,84 (d ; 7,2 Hz ; H-10) d'une double liaison trisubstituée. Il apparaît également un pic à δ_H 7,52 (d ; 1,7 Hz, H-3) caractéristique d'un ester α , β insaturé et deux signaux à δ_H 5,53 (d ; 5,7 Hz ; H-1) et 4,89 (q ; 6,5 ; H-13) correspondants aux protons des méthines oxygénés. Le même spectre indique deux pics à δ_H 1,53 (d ; 6,5 Hz) et 3,63 (s) correspondants au méthyle H₃-14 et au méthyle de l'ester, respectivement. De plus, il apparaît deux autres méthines à δ_H 2,97 (dd ; 5,8 et 7,2 ; H-9) et 3,88

(*ddd* ; 7,2 ; 5,7 et 2,2 ; H-5). Ces informations indiquent que le composé **AC4** et par comparaison à la littérature est un irridoïde.

Outre les données caractéristiques du squelette de base, le spectre de RMN ^1H (**Fig. 77**) révèle des pics d'une unité osidique à δ_H 5,26 (*d* ; 7,9 Hz) correspondant au proton anomérique H-1', un signal à δ_H 4,31 (*dq* ; 2,4 et 12,0 Hz) correspondant aux protons H-6', et une bande large entre δ_H 3,91-4,38 (*m*) correspondant aux quatre groupes méthines de l'unité osidique. Ces données, à l'exception de l'unité osidique, sont hautement superposables à celles de allamandine (Yu et *al.*, 2010).

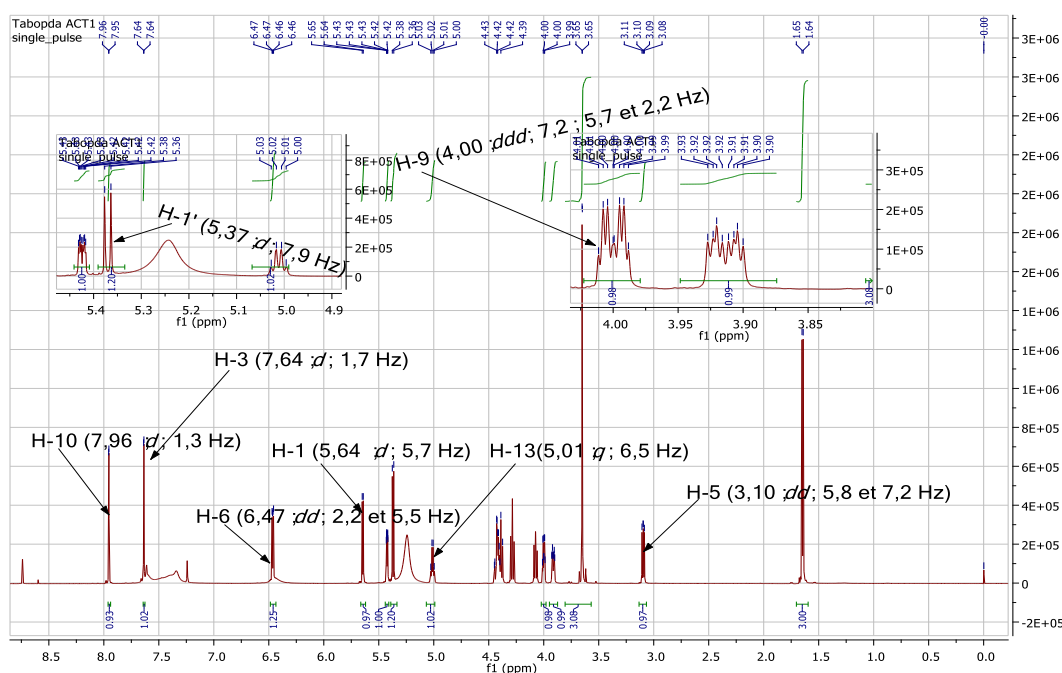


Figure 77 : Spectre de RMN ^1H (600 MHz, Pyr- d_5) du composé **AC5**

Le spectre de RMN ^{13}C (**Fig. 78**) indique des résonances à δ_C 171,3 et 166,6 correspondant aux carbonyles des esters en C-12 et C-15. Il apparaît deux pics à δ_C 109,3 (C-4) et 138,5 (C-11) correspondant aux carbones quaternaires oléfiniques, quatre signaux à δ_C 128,9 (C-7) ; 140,7(C-6) ; 149,0 (C-10) et 151,9 (C-3) correspondant aux méthines oléfiniques. De plus, il montre trois oxyméthines à δ_C 93,8 ; 100,6 et 62,5 correspondant aux carbones C-1, C-1' et C-13, respectivement ; deux groupes méthines à δ_C 39,9 (C-5) et 49,7 (C-9) un carbone quaternaire à δ_C 96,7 (C-8), un oxyméthyle à δ_C 51,1 et un méthyle à δ_C 22,8 (C-14).

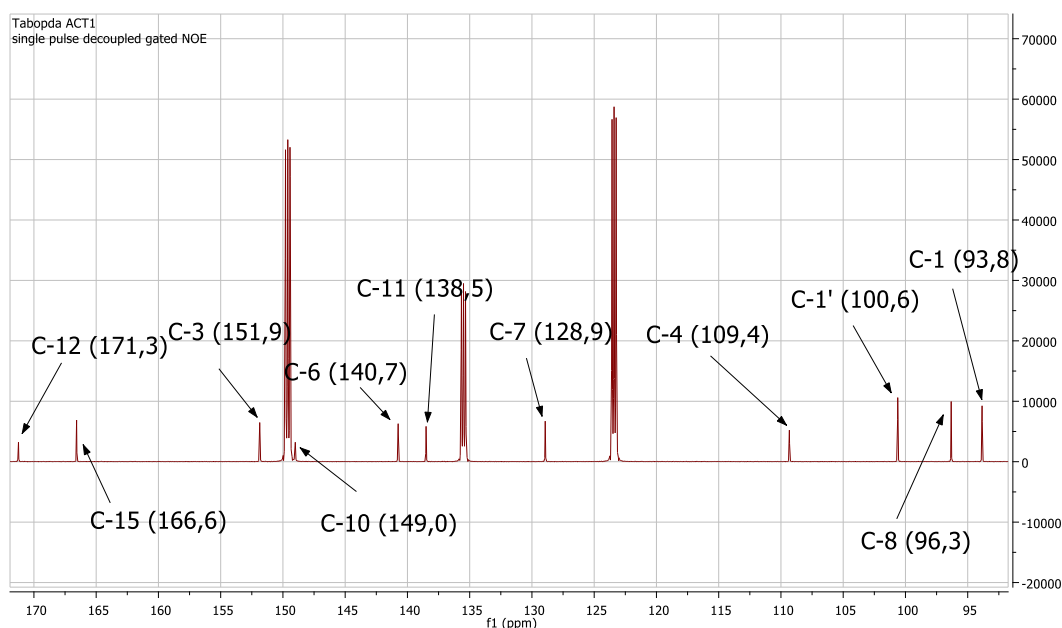


Figure 78 : Spectre de RMN ^{13}C (150 MHz, Pyr-d5) du composé **AC5**

Le spectre HMQC (**Fig. 79**) montre les corrélations entre H-3 (δ_H 7,52) et C-3 (δ_C 151,9) ; H-10 (δ_H 7,84) et C-10 (δ_C 149,0), H-6 (δ_H 6,35) et C-6 (δ_C 140,7) et H-7 (δ_H 5,31) et C-7 (δ_C 128,9). Il montre également des corrélations entre les protons et les carbones H-1' (δ_H 5,26) et C-1' (δ_C 100,6), H-1 (δ_H 5,53) et C-1 (δ_C 93,8), et H-13 (δ_H 4,89) et C-13 (δ_C 62,5)

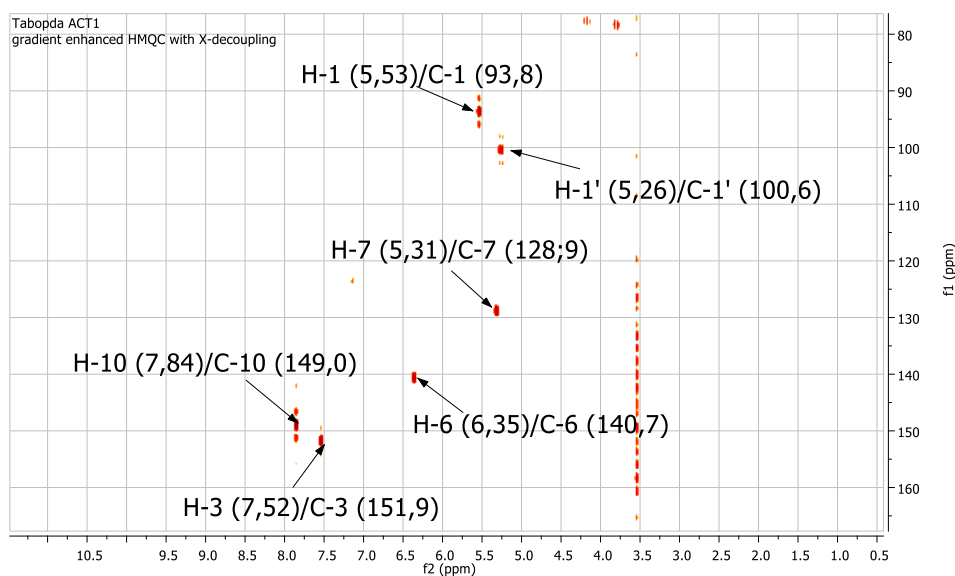


Figure 79 : Spectre HMQC du composé **AC5**

Le spectre COSY (**Fig. 80**) du composé **AC5** montre des corrélations entre les protons H-6 (δ_H 6,35) et H-7 (δ_H 5,31), H-1 (δ_H 5,53) et H-9 (δ_H 2,97). Il révèle également des corrélations entre les protons H-5 (δ_H 3,88) et H-9 (δ_H 2,97), H-13 (δ_H 4,89) et H-14 (δ_H 1,53), et H-1' (δ_H 5,26) et H-2' (δ_H 3,96).

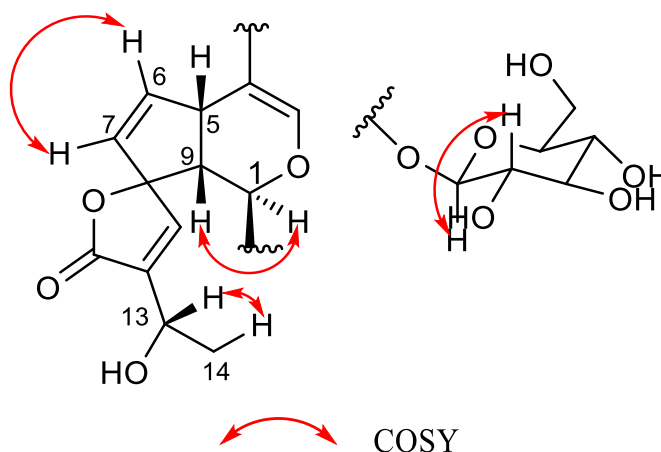


Schéma 24 : Corrélation COSY du composé **AC5**

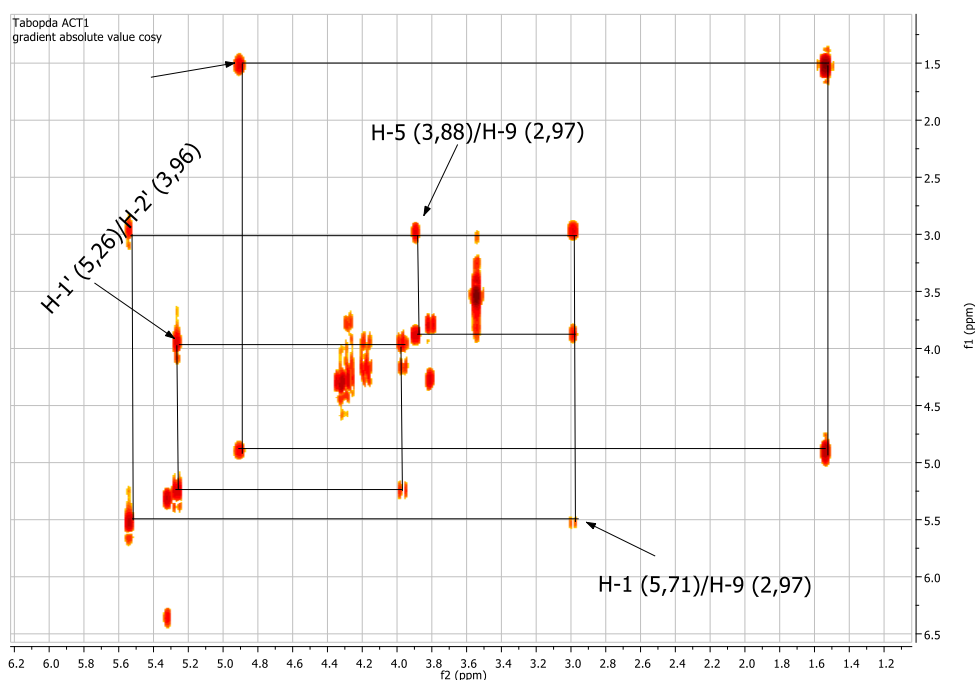


Figure 80 : Spectre COSY du composé **AC5**

Le spectre HMBC (**Fig. 81**) du composé **AC5** montre des corrélations entre le proton H-10 (δ_H 7,84) et les carbones C-12 (δ_C 171,3), C-11 (δ_C 138,5), C-8 (δ_C 96,3) et C-13 (δ_C 62,5). Il apparaît également des corrélations entre les protons H-9 (δ_H 2,97) avec les carbones C-4 (δ_C 109,3), C-8 (δ_C 96,3), C-1 (δ_C 93,4) et C-5 (δ_C 39,9) ; H-1 (δ_H 5,53) avec les carbones à C-1' (δ_C 100,6), C-3 (δ_C 151,9) et C-5 (δ_C 39,9) et H-5 (δ_H 3,88) avec les carbones à C-6 (δ_C 140,7), C-4 (δ_C 109,3) et C-7 (δ_C 128,8).

Sur la base des structures partielles ci-dessus, le cadre moléculaire a été construit par l'expérience HMBC (**Fig. 81**). Le spectre HMBC (**Fig. 81**) a établi la corrélation entre le proton anomérique à δ_H 5,26 de l'unité osidique et le carbone C-1 à δ_C 93,4 l'aglycone. La configuration relative du proton anomérique a été établie sur la base de sa constante de couplage à 5,7 Hz en accord

à une α -orientation. Ainsi, **AC5** présente la conformation équatoriale similaire à celle de la Plumiéride (Yu et al., 2010).

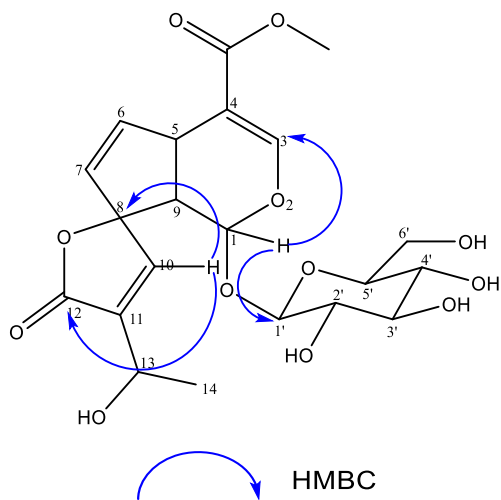


Schéma 25 : Corrélation HMBC du composé **AC5**

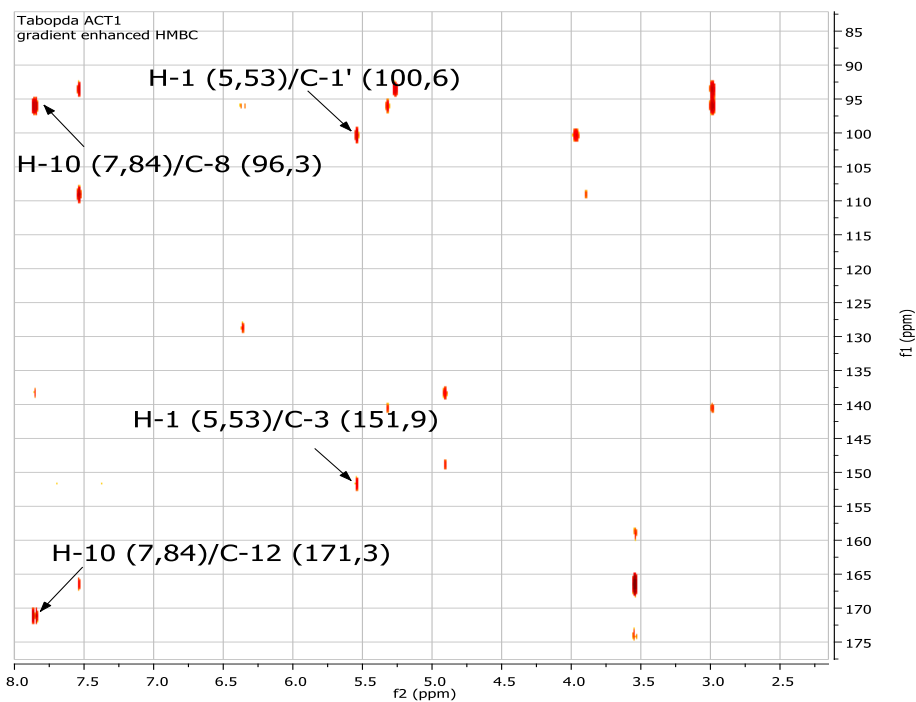
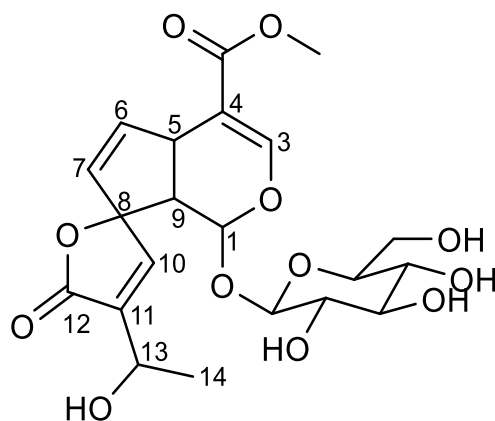


Figure 81 : Spectre HMBC du composé **AC5**

L'analyse de toutes ces données et par comparaison à celles de la littérature a permis d'identifier le composé **AC5** à la **Plumiéride** (Tableau 27).



Plumiéride

(92)

Tableau 27 : Données RMN [^1H , 600 et ^{13}C , 150 MHz), Pyr-d5] du composé **AC5** et comparaison avec celles de la littérature (Pyr-d5, 100 MHz).

| N° | δ_C | δ_H (multi., J en Hz) | δ_C (Yu et al., 2010) |
|------------------|------------|--------------------------------------|------------------------------|
| 1 | 93,8 | 5,53 (1H ; d ; 5,7) | 92,7 |
| 2 | // | // | // |
| 3 | 151,9 | 7,52 (1H ; d ; 1,7) | 152,5 |
| 4 | 109,3 | // | 109,2 |
| 5 | 39,9 | 3,88 (1H ; dd ; 5,8 et 7,2) | 39,4 |
| 6 | 140,7 | 6,35 (1H ; dd ; 2,2 et 5,5) | 140,4 |
| 7 | 149,0 | 5,31 (1H ; ddd ; 5,5 ; 2,2 et 1,3) | 148,7 |
| 8 | 96,3 | // | 96,7 |
| 9 | 49,7 | 2,97 (1H ; ddd ; 7,2 ; 5,7 et 2,2) | 51,5 |
| 10 | 128,9 | 7,84 (1H ; d ; 1,3) | 129,6 |
| 11 | 138,5 | // | 139,1 |
| 12 | 171,3 | // | 171,3 |
| 13 | 62,5 | 4,89 (1H ; q ; 6,5) | 62,8 |
| 14 | 22,8 | 1,53 (3H ; d ; 6,5) | 23,0 |
| 15 | 166,6 | // | 167,0 |
| OCH ₃ | 51,1 | 3,54 (s) | 51,1 |
| 1' | 100,6 | 5,26 (1H ; d ; 7,9) | 100,8 |
| 2' | 74,5 | 3,96 (1H ; m) | 74,7 |
| 3' | 78,0 | 4,16 (1H ; m) | 78,1 |
| 4' | 70,6 | 3,80-4,27 (4H ; m) | 70,7 |
| 5' | 78,6 | | 78,7 |
| 6' | 61,9 | 4,31 (2H ; dq ; 2,4 et 12,0) | 62,1 |

I.2.2.5 Identification du composé AC2

Le composé **AC2** été isolé sous forme de cristaux blancs. Il est soluble dans le méthanol et répond positivement au test de Libermann-Bürchard en donnant une coloration rouge violacée caractéristique des triterpènes. Sa formule brute $\text{C}_{30}\text{H}_{48}\text{O}_3$ a été déduite l'analyse des données de RMN ^1H et ^{13}C .

L'analyse du spectre de RMN ^1H (**Fig. 82**) montre des pics parmi lesquels cinq singulets à δ_H 0,75 (s) ; 0,82 (s) ; 0,93 (s) ; 0,95 (s) ; 1,09 (s) et deux doublets à δ_H 0,85 (d ; 6,5 Hz) et 0,94 (d ;

9,7 Hz) correspondants aux protons des sept méthyles des triterpènes en accord à la classe des ursènes. Il apparaît également un signal à δ_H 5,20 (t ; 3,6 Hz) correspondant au proton oléfinique H-12.

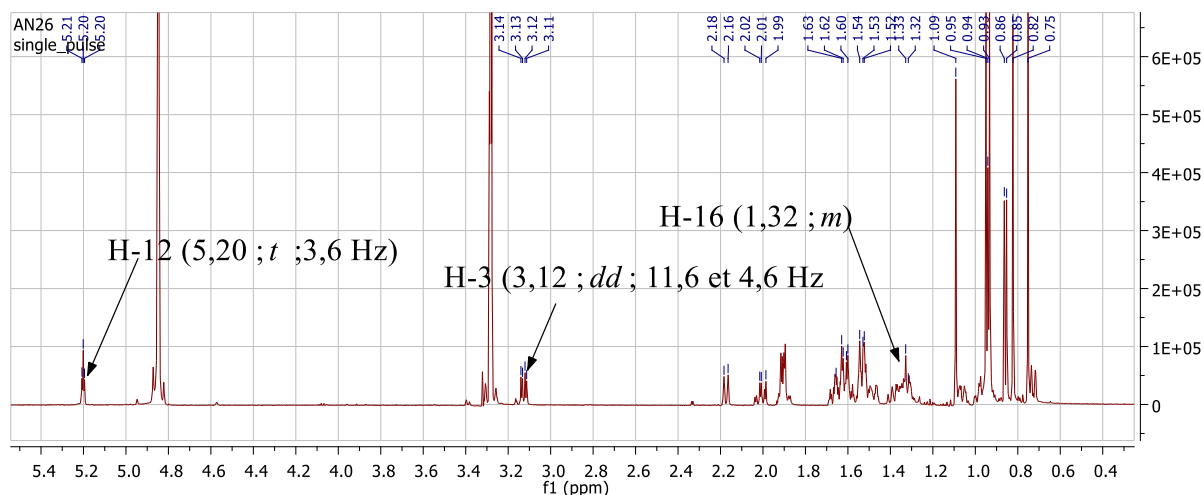


Figure 82 : Spectre RMN 1H (600 MHz, CD_3OD) du composé **AC2**

Les spectres RMN ^{13}C (**Fig. 83**) montre des signaux δ_C 125,5 (C-12) et 138,3 (C-13) confirmant ainsi qu'il s'agit un triterpène de type ursane (Mahato et *al.*, 1999). Un pic à δ_C 78,3 de l'oxyméthine en C-3 et un pic à δ_C 180,4 caractéristique d'un groupement acide en C-28.

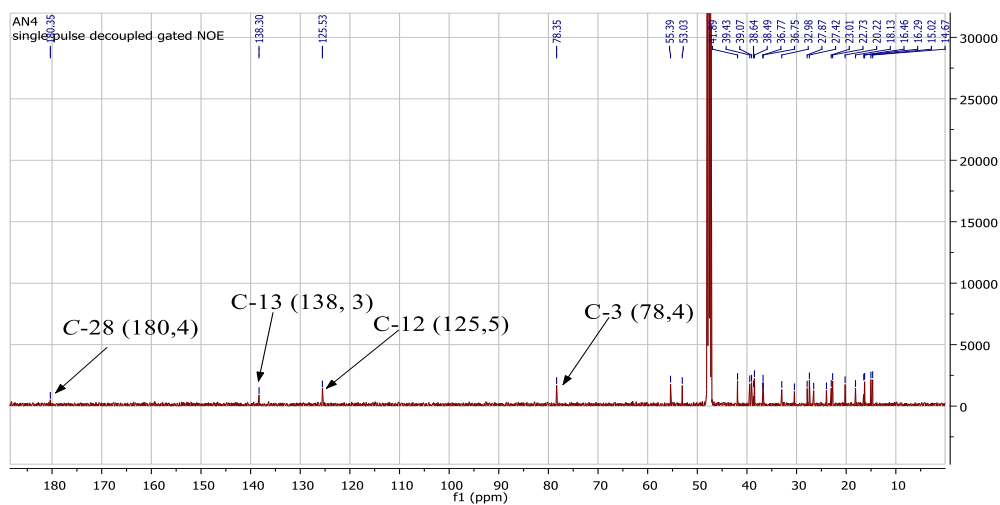
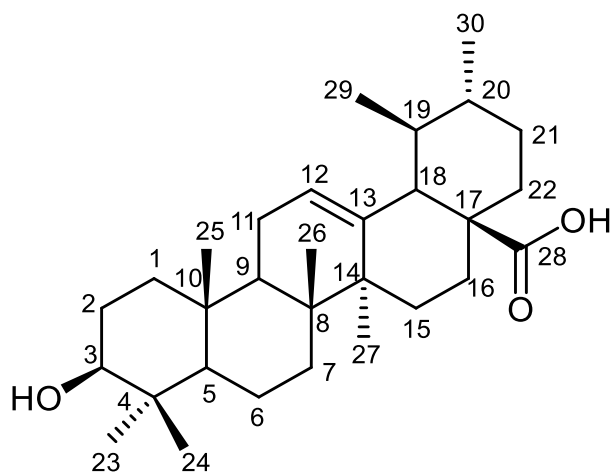


Figure 83 : Spectres RMN ^{13}C (150 MHz, CD_3OD) du composé **AC2**

Considérant l'ensemble des informations recueillies et analysées, et nous référant aux données de la littérature, le composé **AC2** a été identifié à l'**acide ursolique**.



L'acide ursolique (**93**)

Tableau 28 : Données RMN [^1H , 600 et ^{13}C , 150 MHz), CD_3OD] du composé **AC2** et comparaison avec celles de la littérature (CDCl_3 , 100 MHz).

| Position | δ_C | δ_H (multi., J en Hz) | δ_C (Daiane <i>et al.</i> , 2013) |
|----------|------------|---------------------------------|--|
| 1 | 38,5 | 1,53 (m) | 38,6 |
| 2 | 26,5 | 1,43 (m) | 28,2 |
| 3 | 78,3 | 3,12 (<i>dt</i> ; 11,6 et 4,6) | 78,7 |
| 4 | 39,1 | - | 38,5 |
| 5 | 55,4 | 0,72 (<i>brs</i>) | 55,2 |
| 6 | 18,1 | 1,61 (<i>m</i>) | 18,3 |
| 7 | 33,0 | 1,53 (<i>m</i>) | 32,9 |
| 8 | 39,4 | - | 39,5 |
| 9 | 47,2 | 1,62 (<i>m</i>) | 47,3 |
| 10 | 36,8 | - | 37,0 |
| 11 | 24,0 | 1,92 (<i>m</i>) | 23,7 |
| 12 | 125,5 | 5,20 (<i>t</i> , 3,6) | 125,9 |
| 13 | 138,3 | - | 137,9 |
| 14 | 41,9 | - | 42,0 |
| 15 | 27,4 | 1,79 (<i>m</i>) | 28,1 |
| 16 | 22,7 | 1,32 (<i>m</i>) | 25,0 |
| 17 | 46,8 | - | 48,1 |
| 18 | 53,0 | 2,17 (<i>d</i> , 11,27) | 53,8 |
| 19 | 38,6 | 1,30 (<i>m</i>) | 38,5 |
| 20 | 38,4 | 1,51 (<i>m</i>) | 38,5 |
| 21 | 30,4 | 1,42 (<i>m</i>) | 30,3 |
| 22 | 36,7 | 1,55 (<i>m</i>) | 37,4 |
| 23 | 27,9 | 0,95 (<i>s</i>) | 28,9 |
| 24 | 15,0 | 0,84 (<i>s</i>) | 15,6 |
| 25 | 14,7 | 0,75 (<i>s</i>) | 15,4 |
| 26 | 16,3 | 0,93 (<i>s</i>) | 17,1 |
| 27 | 23,0 | 1,09 (<i>s</i>) | 23,5 |
| 28 | 180,4 | - | 179,6 |
| 29 | 16,5 | 0,85 (<i>d</i> ; 6,5) | 17,0 |
| 30 | 20,2 | 0,94 (<i>d</i> ; 9,7) | 21,4 |

II. Evaluation des activités biologiques

II.1 Mise en évidence de l'activité cytotoxique *in vitro*

La cytotoxicité *in vitro* a été évaluée au Pakistan sur certains composés isolés de la fraction à l'acétate d'éthyle de *Asparagus schweinfürthii* en utilisant la méthode de fluorescence. Le milieu MEM a été utilisé pour les cellules MCF-7 (cancer de sein), RPMI-1640 pour les cellules Hela (cancer du col de l'utérus) et BJ (fibroblastes humains normaux), et le milieu d'Eagle modifié de Dulbecco's pour la cellule NCI-H460 (cancer du poumon). Après ensemencement des cultures cellulaires, les plaques ont été maintenues à 37 °C dans un incubateur humidifié à 5% de CO₂. Lorsque les plaques atteignent 80% de confluence, le milieu est remplacé par du MEM à 2% à différentes concentrations des échantillons testés allant de 0,1-20 µg.mL⁻¹. La quantification de la fluorescence a été réalisée à l'aide d'un lecteur de plaque de 96 puits de type spectra max M5 (*molecular Devices sunnyvale, CA, USA*) à des longueurs d'onde allant de 560 à 600 nm et la valeur CI₅₀ des composés a été calculée à l'aide d'EZ-Fit.

Tableau 29 : Valeurs des CI₅₀ de quelques composés isolés de la fraction à l'acétate d'éthyle testés sur les cellules cancéreuses MCF-7, NCI-H460, Hela et BJ

| Echantillons | MCF-7 (CI ₅₀ µM) | NCI-H460 (CI ₅₀ µM) | Hela (CI ₅₀ µM) | BJ (CI ₅₀ µM) |
|-------------------------------|-----------------------------|--------------------------------|----------------------------|--------------------------|
| ASF2 (71) | 22,12 ± 1,11 | 21,19± 1,06 | 28,39 ± 1,42 | 29,16 ± 1,50 |
| ASF4a/b (76/77) | 29,16 ± 1,50 | 25,48 ± 1,30 | 22,58 ± 1,14 | 23,18 ± 1,16 |
| ASF39 (73/74) | 26,37± 1,32 | 24,06± 1,20 | 34,87 ± 1,74 | 29,16 ± 1,50 |
| Schweinfürthamide (86) | 1,18 ± 0,02 | 2,25 ± 0,19 | 4,23 ± 0,26 | > 50 |
| AS4 (87) | > 50 | > 50 | > 50 | > 50 |
| AS2 (88) | > 50 | > 50 | > 50 | > 50 |
| Doxorubicine | 0,04 ± 0,02 | 0,23 ± 0,03 | 0,51 ± 0,10 | > 50 |

La plage d'activité pour les CI₅₀ est définie comme suit : non actif (> 100), faible (20-100), modéré (10-20), actif (5-10) et très actif (< 5) (Wibowo *et al.*, 2011)

Les données sont présentées comme des moyennes d'expériences au triplicata. CI₅₀ : concentration inhibitrice à 50%.

Un deuxième test de cytotoxicité *in vitro* a été évalué aux Etats-Unis sur certaines sous-fractions et quelques composés isolés de la fraction au n-BuOH de *Asparagus schweinfürthii* en utilisant la méthode de fluorescence. Le milieu DMEM a été utilisé pour les cellules H-125 (cancer du poumon), OVC-5 (cancer de l'ovaire), PANC-1 (cancer du pancréas), HepG2 (cancer du foie) et U251N (cancer du cerveau). Les échantillons, après avoir été dissouts dans le DMSO, séchés et placés

dans une boîte de pétri de 96 puits, sont incubés pendant 7 jours et examinés au stéréomicroscope (10X) inverse pour mesurer la zone d'inhibition mesurée depuis le bord du disque filtrant jusqu'au début de la formation des colonies de taille normale. Un diamètre du disque filtrant de 200 unités est considéré comme actif pour les composés purs et 300 unités pour les extraits.

Tableau 30 : Valeurs des diamètres d'inhibition (DI) des sous-fractions et quelques composés isolés de la fraction au n-BuOH testés sur les cellules cancéreuses H-125, OVC-5, PANC-1, HepG2, U251N, CEM et CFU

| Echantillons | H-125 (unités) | OVC-5 (unités) | PANC-1 (unités) | HepG2 (unités) | U251N (unités) | CEM (unités) | CFU-GM (unités) |
|----------------------------------|----------------|----------------|-----------------|----------------|----------------|--------------|-----------------|
| ASF3045 | 300 | 400 | 350 | 300 | 250 | 350 | 400 |
| ASF33B | 600 | 750 | 50 | 700 | / | 50 | 400 |
| ASFF | 200 | 300 | 300 | 200 | 150 | 250 | 300 |
| Schweinfürthioside A (79) | 200 | 250 | 200 | 200 | 100 | / | / |
| ASF33C1 (73) | 500 | 300 | / | 450 | / | 50 | 450 |
| ASF33C9A (74) | 400 | 450 | / | 250 | 50 | 350 | / |

II.2 Mise en évidence de l'activité antituberculeuse *in vitro*

L'activité antituberculeuse *in vitro* sur certains composés isolés de *Allamanda cathartica* est faite sur des microplaques de 96 puits par microdilution en bouillon qui utilise le réactif bleu Alamar (MABA) (Collins et Franzblau, 1997), suivi d'une période d'incubation de 24 heures à 37 °C. Cette méthode permet de déterminer, pour chaque échantillon, la concentration minimale inhibitrice (CMI) et pour la plus faible permettant l'inhibition totale de la croissance microbienne. La souche multirésistante de *Mycobacterium tuberculosis* H37Rv utilisée a été obtenue auprès de l'American Type Culture Collection (Rockville, Maryland). Les résultats des tests antituberculeux effectués sont consignés dans le tableau 31 suivant :

Tableau 31 : Concentrations minimales inhibitrices des composés testés

| | Pluméricine (90) | Isopluméricine (91) | Rifampine | Isoniazide | Linézolide | Moxifloxacine | Prétomanide |
|----------|------------------|---------------------|-----------|------------|------------|---------------|-------------|
| | CMI (µM) | CMI (µM) | CMI (µM) | CMI (µM) | CMI (µM) | CMI (µM) | CMI (µM) |
| MTB | 2,25 | 3,70 | 0,03 | 0,23 | 0,93 | 0,24 | 0,42 |
| H37Rv-MR | | | | | | | |

MTB H37Rv-MR: *Mycobacterium tuberculosis* H37Rv multirésistante

II.3 Discussion

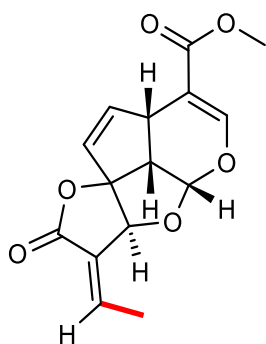
L'appréciation des résultats des activités biologiques a été effectuée sur la base d'une échelle relative en fonction du test effectué. Les résultats des tests révèlent des réponses variables en fonction des souches et du composé testé.

La cytotoxicité de certains composés isolés (**71**, **73/74**, **76/77**, **86**, **87** et **88**) de la fraction à l'acétate d'éthyle de *Asparagus schweinfurthii* a été évaluée contre trois cellules cancéreuses humaines (MCF-7 (cancer du sein), NCI-H460 (cancer du poumon), et Hela (cancer du col de l'utérus)) et la lignée cellulaire de fibroblastes humains normaux (BJ). L'activité de cytotoxicité de certaines sous-fractions ASF33B, ASFF et ASF3045 et quelques composés isolés (**73**, **74** et **79**) de la fraction au n-BuOH de *Asparagus schweinfurthii* a été évaluée contre cinq cellules cancéreuses humaines H-125 (cancer du poumon), OVC-5 (cancer de l'ovaire), PANC-1 (cancer du pancréas), HepG2 (cancer du foie), U251N (cancer du cerveau) et CEM (cellules lymphoblastiques) et les lignées cellulaires humaines normales (CFU-GM). La schweinfurthiamide (**86**) a montré une cytotoxicité significative contre les lignées cellulaires MCF-7 (cancer du sein), NCI-H460 (cancer du poumon) et Hela (cancer du col de l'utérus) avec des valeurs CI_{50} de $1,18 \pm 0,02$; $2,25 \pm 0,19$; et $4,23 \pm 0,26$ μM , respectivement. Ce composé n'a pas été toxique sur la cellule normale BJ (fibroblastes humains). Les composés **76/77**, **73/74** et **71** ont montré des activités marginales avec des CI_{50} de l'ordre de 20 – 40 μM , et les composés **87** et **88** étaient inactifs ($CI_{50} > 50$ μM). D'autre part la sous-fraction ASF33B a montré des activités cytotoxiques très significatives avec diamètres d'inhibition de 600, 750 et 700 unités contre les lignées cellulaires H-125, OVC-5 et HepG2, respectivement. Aussi, les composés **73** et **74** ont montré des activités cytotoxiques très significatives avec diamètres d'inhibition de 500, 300 et 450 unités ; et 400 et 450 unités contre les souches H-125, OVC-5 et HepG2, respectivement. De plus, les composés et fractions testés n'ont pas été toxiques sur les cellules normales CFU-GM.

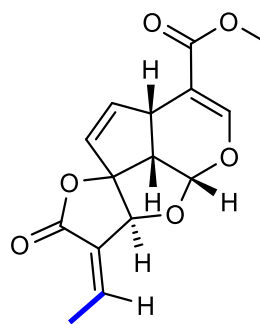
Les résultats significatifs de la schweinfurthiamide (**86**) seraient dûs d'une part à sa nature alcaloïdique, d'autre part à la présence du carbonyle au niveau du cycle A du noyau de l'isoquinoline et du noyau aromatique substitué, dont l'effet chelateur favoriserait son insertion dans les cellules cancéreuses comparativement à la (-)-stylopine qui n'a pas présenté des activités significatifs contre ces lignées cellulaires (Lee et al., 2005) et par comparaison au contrôle positif la doxorubicine. De plus, toutes les saponines testées ont eu de forts effets cytotoxiques sur des cellules normales. La position des chaînes glycosidiques et le nombre de chaînes de sucre des saponines stéroïdiques en particulier du type furostane serait à l'origine de leur forte activité sur les cellules tumorales (PANC et al., 2022 ; Xiang et al., 2022 ; Chien et al., 2022 ; Yang et al., 2021). Les composés **73** et **74** par comparaison à la 20 (S)-généoside Rg3 (**3**) auraient un effet positif sur la mort cellulaire des cellules cancéreuse. Ce potentiel d'action serait en partie lié à la régulation du facteur de transcription de la protéine homologue au niveau génomique (Kim et al., 2014). L'activité cytotoxique significative des composés **73** et **74**, par comparaison aux composés **71**, **76/77** et **79** serait due à la nature de son aglycone. Il en ressort que les saponines de type furostane (**73** et **74**) inhiberaient facilement les

lignées cellulaires comparativement aux saponines de type spirostane (**71**, **76/77** et **79**). Cette différence serait due à l'ouverture du cycle en C-26 et une probable glycosylation qui favoriserait l'insertion des furostanes dans les différentes lignées cellulaires. Ainsi, les composés **86**, **73** et **74** pourraient être de bons candidats anticancéreux et méritent par conséquent des recherches plus approfondies pour être développés comme médicaments contre les cancers du sein, du poumon et du col de l'utérus.

Le réactif *Tretrazolium Microplate Assay* (TEMA) a été utilisé pour la réalisation de l'activité antituberculeuse. Les CMI des agents antituberculeux ont été déterminés des lectures visuelles et fluorométriques. Ainsi, la pluméricine (**90**) et l'isopluméricine (**91**) ont montré une activité antituberculeuse très significative contre la souche *M. tuberculosis* H37Rv ATCC 25177 (H37Rv) multi-résistante (MR) avec des valeurs des CMI de 2,25 et 3,70 μ M, respectivement. En outre, la pluméricine et l'isopluméricine se sont avérées moins actives que les médicaments standards (la rifampine, l'isoniazide, la linézolide, la moxifloxacine et la prétomanide). De ces deux composés, la pluméricine (**90**) a présenté une activité antituberculeuse plus significative que l'isopluméricine contre H37Rv (sensible aux médicaments). L'orientation du groupe méthyle pourrait avoir influencé l'activité antituberculeuse de ces composés (Kumar et al., 2013).

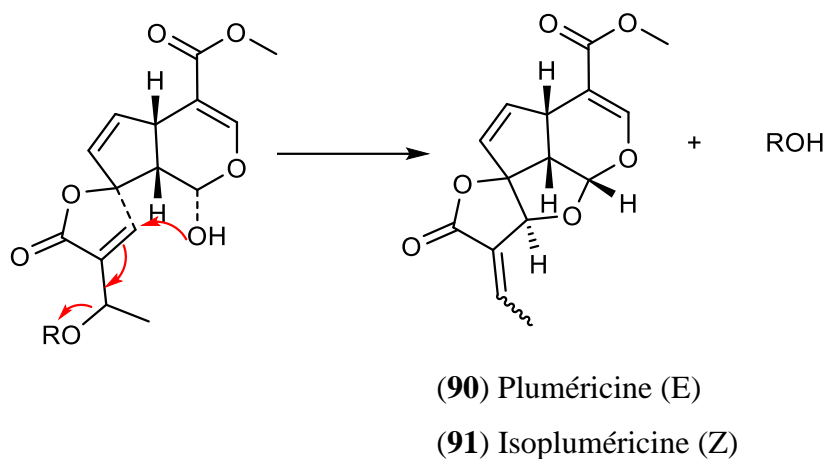


Pluméricine (**90**)



Isopluméricine (**91**)

La forte activité de la pluméricine, iridoïde tétracyclique, pourrait aussi s'expliquer par la présence d'un groupement α -méthine γ -lactone, susceptible de subir une addition de type Michaël des nucléophiles biologiques (Kupchan et al., 1970).



La démonstration des propriétés antituberculeuses de la pluméricine ajoute une autre facette au large éventail d'activités biologiques de ces iridoïdes, qui ont récemment été la cible de diverses approches de synthèse (Trost *et al.*, **1986**). Ainsi, ces résultats sont en accord avec ceux de Kumar *et al.*, **2013**, et montrent que la pluméricine (**90**) et l'isopluméricine (**91**) sont des potentiels agents antituberculeux. Pour valider l'activité de ces composés comme des nouveaux leaders anti-TB, il sera cependant nécessaire que des études *in vivo* soient menées.

CONCLUSION ET PERSPECTIVES

Le cancer est l'une des principales causes de décès aujourd'hui dans le monde. Il existe une demande constante de nouvelles thérapies pour traiter et prévenir cette maladie mortelle. La chimiothérapie, la méthode de choix pour le traitement des cancers, se heurte au phénomène de résistance des cellules cancéreuses. Le développement de la résistance aux anticancéreux l'est aussi pour d'autres médicaments de base utilisés contre la tuberculose, longtemps susceptible d'augmenter le risque du cancer pulmonaire. C'est ainsi que nous avons entrepris l'isolement et la caractérisation des métabolites secondaires de deux plantes médicinales camerounaises : *Asparagus schweinfürthii* Baker (Asparagaceae) et *Allamanda cathartica* L (Apocynaceae) et l'évaluation des activités cytotoxiques et de l'activité antibactérienne.

L'étude phytochimique de *Asparagus schweinfürthii* (racines) et *Allamanda cathartica* par les techniques chromatographiques (CC, VLC et CCM) a permis d'isoler dix-neuf (19) composés. Tous les composés ont été entièrement décrits grâce aux techniques spectroscopiques (RMN 1D et 2D) et spectrométriques HR-ESI-MS. De l'extrait au MeOH/H₂O de *Asparagus schweinfürthii*, nous avons obtenu quatorze composés, six ont été décrits pour la première fois parmi lesquels un alcaloïde : schweinfurthiamide (**86**) et cinq saponines : la schweinfurthioside A-E (**79**, **80**, **82**, **84** et **85**). Les huit (08) autres composés ont été identifiés à deux (02) saponines stéroïdiques de type furostane, quatre (04) saponines stéroïdiques de type spirostanes et deux norlignanes. La stéréochimie de la schweinfurthiamide (**86**) a été déterminée en utilisant la DP4+ par comparaison des déplacements chimiques de ¹³C et ¹H expérimentaux avec ceux calculés théoriquement. L'extrait au MeOH de *Allamanda cathartica* a conduit à l'isolement de cinq composés connus parmi lesquels trois (03) iridoïdes, une (01) flavonoïde et un (01) triterpène pentacyclique.

La partie biologique de ce travail a consisté à évaluer le potentiel anticancéreux de certaines sous fractions et quelques composés isolés de *Asparagus schweinfürthii* d'une part et l'activité antituberculeuse de la plumérine (**90**) et l'isopluméricine (**91**) isolés de *Allamanda cathartica*. L'activité cytotoxique a été faite sur certaines sous-fractions et quelques composés isolés de *Asparagus schweinfürthii* contre huit cellules cancéreuses humaines MCF-7 (cancer du sein), NCI-H460 et H-125 (cancer du poumon), Hela (cancer du col de l'utérus), OVC-5 (cancer de l'ovaire), PANC-1 (cancer du pancréas), HepG2 (cancer du foie) et U251N (cancer du cerveau). Par ailleurs, ces sous fraction et composés n'ont pas été toxique sur la lignée cellulaire de fibroblastes humains normaux (BJ) et les lignées cellulaires humaines normales CEM et CFU.

Les résultats de ces analyses indiquent que la schweinfurthiamide (**86**) a montré une cytotoxicité significative contre les lignées cellulaires MCF-7, NCI-H460 et Hela avec des valeurs CI₅₀ de 1,18 ± 0,02 ; 2,25 ± 0,19 ; et 4,23 ± 0,26 µM ; respectivement. Par contre, ce composé n'a pas été toxique sur la cellule normale BJ (fibroblastes humains). La sous-fraction ASF33B et les

composés **73** et **74** ont montré des activités cytotoxiques très significatives avec des diamètres d'inhibition de 600, 750 et 700 unités ; 500, 300 et 450 unités ; et 400 et 450 unités contre les souches H-125, OVC-5 et HepG2, respectivement. De plus, les composés et fractions testés n'ont pas été toxiques sur les cellules normales CFU-GM. En revanche, les activités antituberculeuses de la pluméricine (**90**) et l'isopluméricine (**91**) effectués contre la souche *M. tuberculosis* H37Ra ATCC 25177 (H37Rv) multi-résistante (MR) ont été très actifs avec des valeurs CMI de 2,25 et 3,70 μ M, respectivement. Ces résultats confirment l'utilisation de ces plantes en médecine traditionnelle dans le traitement de nombreuses infections parmi lesquels le cancer et la tuberculose.

Les résultats phytochimiques et biologiques obtenus, et qui ne cessent d'enrichir la littérature sur la caractérisation des métabolites secondaires ne peuvent qu'encourager à poursuivre nos investigations. Nous envisageons pour la suite de nos travaux :

- Poursuivre les activités cytotoxiques des saponines nouvellement isolées ;
- Faire des tests supplémentaires nécessaires pour produire des alicaments qui peuvent être utilisés contre les cancers ;
- Explorer les voies de mécanismes de signalisation cellulaire dans la progression des cancers ;
- Faire des activités in vivo de la pluméricine (**90**) et l'isopluméricine (**91**), des nouveaux leaders anti-TB ;
- Développer un système de culture à titre conservatif des plantes étudiées.

MATERIELS ET METHODES

I Matériels et méthodes

I.1 Matériel chromatographique

I.1.1 Chromatographie sur couche mince (CCM)

La CCM est une méthode analytique employée pour la recherche du système de solvant avant d'entreprendre une étape de séparation, et pour le suivi de la présence et de la pureté des produits isolés à chaque étape d'extraction, de fractionnement et de purification. Les CCM sont réalisées en phase normale ou inverse sur des plaques Merk, en aluminium recouvertes de silice :

- En phase normale : gel de silice 60 F254
- En phase inverse : gel de silice 60 RP-18 F254S

Le développement des plaques s'effectue dans des cuves en verre saturées avec l'éluant approprié. Cette phase mobile est généralement constituée d'un mélange binaire ou ternaire de solvants selon le type de séparation souhaitée.

Après migration, la plaque est séchée à l'aide d'un sèche-cheveux puis observée à l'aide d'une lampe UV à deux longueurs d'onde (254 nm et 366 nm). Les taches apparentes ont été notées au crayon mine pour chaque longueur d'onde. Ensuite, la plaque est soumise à une pulvérisation d'une solution de vanilline sulfurique (une solution composée de 6 g de vanilline dilués dans 100 ml d'éthanol avec ajout de 1ml d'acide sulfurique concentré) ou d'acide sulfurique dilué à 50% dans l'eau.

I.1.2 Chromatographie liquide sous vide (CLV)

Elle permet de réaliser un premier fractionnement grossier d'extraits bruts. La CLV est réalisée en utilisant un verre fritté conditionné avec de la silice en phase normale au 2/3 du verre ou avec de la silice greffée Lichroprep. En phase inverse, est déposé le mélange à purifier en utilisant la RP-18 Merck (25-40 μ m). L'ensemble est élué sous vide par un gradient de solvant de polarité croissante. C'est une technique rapide qui nécessite moins de solvants que les techniques classiques.

✓ Si la phase stationnaire est la silice en phase inverse (RP-18) alors la phase mobile utilisée est : H₂O (100%), MeOH/H₂O (50/50) et MeOH (100%). Cette phase stationnaire permet d'éliminer les sucres dans l'eau ; les saponines, les glycosides de farnésol et autres composés étant élués dans les solutions méthanolique.

✓ Si la phase stationnaire est la silice en phase normale (15-40 μ m ou 40-63 μ m), alors la phase mobile utilisée est : CH₂Cl₂/MeOH/H₂O (80/20/2, 70/30/5, 65/35/10).

I.1.3 Chromatographie sous colonne ouverte (CC)

C'est une technique qui utilise une colonne ouverte en verre dont la taille et le diamètre sont choisis en fonction de la quantité d'échantillon à purifier et de la résolution souhaitée. Plusieurs types des phases stationnaires peuvent être employées à savoir :

- La phase stationnaire utilisée est la silice en phase normale de fabrication NORMASIL et de granulométrie 63-200 μm . L'élution est réalisée par gravité. La quantité de silice est généralement 3 à 5 fois supérieur à la quantité de l'échantillon disposé. L'extrait à fractionner est absorbé sur une quantité de silice correspondant à deux fois sa masse environ et le dépôt sur une quantité de silice. Les fractions recueillies sont regroupées selon les résultats de l'analyse par CCM.

- L'autre phase stationnaire que nous avons utilisée est une résine Diaion HP-20 (Supleco 0,37mm) que nous avons trempé dans de l'eau et laisser reposer pendant 30 minutes afin que la résine soit correctement tassée et imbibée. La quantité est généralement 30 à 40 fois supérieure à la quantité d'échantillon déposé. La résine HP-20 est une résine absorbante poly-aromatique qui capture les composés hydrophobes. L'échantillon solubilisé dans de l'eau est ensuite déposé à la surface de la phase stationnaire puis une élution par palier est réalisée avec le mélange de solvants MeOH/H₂O (0/100, 25/75, 50/50, 75/25, 100/0). Ainsi les composés les plus polaires ont une affinité pour l'eau et les apolaires sont rattachés à la résine et ont une affinité pour le MeOH.

I.1.4 Chromatographie sur gel perméable

C'est une technique qui nous aide à séparer les composés d'un mélange en fonction de leur taille et leur forme. On utilise les granules de gel poreux séphadex LH-20. Les premières molécules à sortir de la colonne remplie du gel sont les grosses molécules au diamètre supérieur au pores du gel. Les petites molécules quant à elles, vont donc sortir les derniers car inclure dans le gel.

I.1.5 Chromatographie sur colonne flash (CCF)

La CCF permet de réaliser des séparations et purifications de façon automatisée, ce qui apporte à l'utilisation un gain de temps, une économie de solvant et une meilleure reproductibilité. L'appareil utilisé Grace Reveleris est muni d'un détecteur DDL/ELSD, d'un système de pompage à gradient ternaire avec pompe double piston. La phase stationnaire est contenue dans de cartouches en plastiques de différents diamètres contenant de la silice ou greffée. Le volume de la fraction est de 3 à 25 mL et le débit de 5 à 250 mL/mn.

I.1.6 Chromatographie liquide à moyenne pression

La chromatographie liquide à moyenne pression permet, en une analyse, la séparation des composés d'un mélange à pression moyenne avec une résolution convenable. Les composés se séparent en fonction de leurs affinités respectives pour la phase stationnaire et la phase mobile. La phase stationnaire peut être une phase normale (polaire de type silice) ou une phase inverse (apolaire de type silice greffée en C18), et est contenue dans une cartouche plastique qui est généralement à usage unique. La phase mobile ou éluant est classiquement constituée par un mélange de solvants dont la composition peut varier au cours du temps, notamment lors de l'utilisation d'un gradient. Ce type de séparation nécessite une mise au point et une optimisation. Ainsi, l'éluant est déterminé après différents essais à la fois sur CCM et sur l'appareil, afin d'obtenir les conditions idéales de séparations. Plusieurs paramètres sont ainsi définis comme : le débit, le temps d'analyse et le gradient.

I.2 Méthodes physico-chimiques

I.2.1 Spectroscopie de masse (SM)

La réalisation des spectres de masse à haute résolution s'est effectuée en electrospray mode positif et négatif, sur un appareil micro masse ESI-MS-TOF (SYNAT-G2//UCA069).

I.2.2 Spectroscopie Ultra-violette-visible (UV)

Les spectre UV des échantillons dissous dans le chloroforme ou méthanol sont mesurés à partir d'un spectrophotomètre de type shimadzu UV/Vis U-2450, double faisceau permettant des lectures directes contre témoin. Les mesures sont effectuées dans les cuves en quartz contenant 2 ml de solution.

I.2.3 Spectroscopie de Résonance Magnétique Nucléaire (RMN)

Les spectres de RMN ^1H et ^{13}C ont été enregistrés à 600 et 150 MHz, respectivement, en routine sur un appareil Bruker Avance DRX-600 équipé d'une cryoplateforme, lorsque les quantités étaient inférieures à 2 mg. Les microprogrammes Bruker et le logiciel de traitement des données Top Spin 4.0.6 sont exploités. Les solvant deutéré dans laquelle les échantillons ont été solubilisés dans les tubes analytiques de 5 mm de diamètre et 203 mm de longueur sont précisés à chaque fois. Les solvants utilisés pour ces analyses sont le méthanol deutéré (CD_3OD) qui a pour déplacement chimique des protons à δ_H 3,31 ppm et le carbone à δ_C 49,0 ppm et le diméthylsulfoxyde deutéré (DMSO-d_6) qui a pour déplacement chimique des protons à δ_H 2,50 ppm et le carbone à δ_C 39,52 ppm. Les déplacements chimiques (δ) sont exprimés en ppm par rapport au tétraméthylsilane (TMS) et les constantes de couplage sont exprimées en Hz. Les programmes de séquences impulsionsnelles standard fournis par Brüker ont permis de réaliser

les expériences bidimensionnelles : COSY ^1H - ^1H courte distance (^2J , ^3J), HMQC ^1H - ^{13}C direct (^1J), HMBC ^1H - ^{13}C longue distance (^2J , ^3J , ^4J), NOESY ^1H - ^1H (couplage à travers l'espace).

I.3 Détermination de la configuration absolue par la méthode DP4+

I.3.1 Principe de la probabilité DP4+

La détermination de la stéréochimie d'une molécule se fait, très souvent, par l'analyse d'expériences RMN basées sur les effets NOEs (NOESY et ROESY). Les erreurs lors de la caractérisation structurale de produits naturels ne sont pas rares malgré les avancées dans la spectroscopie par RMN (Suyama T. L. *et al.*, **2011**). Ces erreurs sont dues soit à une grande complexité moléculaire, soit à des erreurs humaines, soit à une ambiguïté entre les signaux ou encore à la présence d'impuretés. Il en résulte des révisions des centaines de structures publiées ces dernières décennies. Ces corrections peuvent aller d'une rectification structurale à une révision de la stéréochimie de la molécule. Le développement de la chimie théorique peut contribuer à prévenir de ces erreurs. En effet, l'utilisation de celle-ci afin de générer des spectres de RMN théoriques se vulgarise et peut participer à l'attribution ou la réattribution de signaux des molécules (Andernach L. *et al.*, **2016**). L'introduction de la probabilité DP4+ constitue l'une des avancées majeures pour ce type de méthodologie utilisée ces dernières années (Smith S. G., et Goodman J. M., **2010** ; Grimblat N. *et al.*, **2015**). Elle repose d'une part à l'optimisation de la géométrie (B3LYP/6-311+G** (d, p)), une théorie plus élevée et du calcul des déplacements chimiques de RMN (mPW1PW91/6-311+G** (d, p)), une théorie hybride, et d'autre part de la prise en compte des effets du solvant par le modèle de continuum de polarisation.

I.3.2 Méthodologie et détails des calculs DP4+

Au cours de cette étude, a été prise en compte des conformères ayant une population significative à température ambiante (298 K) dans le calcul du spectre de RMN théorique. Les différents isomères possibles ont été générés et optimisés par une fonctionnelle de densité hybride avec la prise en compte des effets du solvant. Les déplacements chimiques de RMN de chacun des isomères (conformères) ont été calculés avec la méthode fonctionnelle hybride (mPW1PW91) et avec la prise en compte des effets du solvant (Grimblat N. *et al.*, **2015**). L'ensemble des résultats, pondéré selon Boltzmann, a permis d'obtenir des spectres de RMN ^1H et ^{13}C théoriques. Les déplacements chimiques ^{13}C et ^1H expérimentaux ont alors été comparés aux déplacements chimiques ^{13}C et ^1H théoriques de chaque diastéréoisomère avec la méthode DP4+ ; ce qui permet d'obtenir un pourcentage de probabilité de correspondance entre les valeurs expérimentales et les valeurs théoriques. La correspondance est considérée comme concluante si la probabilité sur les protons et la probabilité sur les carbones

indiquent le même diastéréoisomère et si la probabilité globale est supérieure à 95% pour ce diastéréoisomère.

I.4 Matériel végétal

Les racines de *Asparagus schweinfürthii* ont été récoltées à 40 km de Maroua, Région de l'Extrême-Nord du Cameroun, en avril 2019 et identifiées par Mr Tapsou, botaniste à l'institut de Recherche Agricole pour le Développement et un spécimen de référence n° 49880 a été déposé à l'Herbier National du Cameroun.

I.4.1 Extraction et isolement

La technique d'extraction communément employée au sein de notre laboratoire est la macération. Elle se fait soit séquentiellement avec l'hexane, l'acétate d'éthyle et le méthanol, soit avec un solvant (MeOH) ou un mélange de solvant (CH₂Cl₂/MeOH, 1 : 1) ; (MeOH/H₂O, 8 : 2) ; (EtOH/H₂O, 7 : 3) ; (CH₂Cl₂/MeOH/H₂O, 1 : 2 : 1), suivi de la partition à l'hexane, à l'acétate d'éthyle et au n-BuOH. La quantité de solvant utilisées est en moyenne 1L pour 100 g de poudre.

I.4.2 Extraction et isolement des composés de *Asparagus schweinfürthii*

Les racines découpées, séchées à l'air libre et à l'abri de la lumière du soleil pendant 2 semaines puis broyé (200 g) ont été incorporées dans un mélange méthanol/eau (80 : 20) à une température ambiante pendant 72 heures. Après filtration, la solution hydrométhanolique à 80% est concentrée à sec pour donner 37 g de résidu. Ce résidu a été dissout dans l'eau (1L) et partitionné successivement avec l'hexane (3 x 1 L), de l'acétate d'éthyle (3 x 1 L) et du n-butanol (3 x 1 L). Après concentration à l'évaporateur rotatif, les phases organiques ont donné 5 g ; 8 g et 17 g d'extrait respectivement. La phase aqueuse résiduelle a été évaporée et séchée et a donné 4 g.

La fraction à l'acétate d'éthyle (4 g) a été fractionnée sur chromatographie sur colonne (CC) ouverte sur gel de silice (200 g) avec pour système d'élution CH₂Cl₂-MeOH-H₂O 80-20-2 ; 70-30-5 et 65-35-10 (en phase inférieure) et conduit à l'obtention de 13 fractions. Les différentes fractions, regroupées sur la base de leur CCM, nous a permis d'avoir trois fractions indexés F₁₋₄ (720 mg), F₆₋₈ (533 mg) et F₈₋₁₂ (933 mg). Les traitements de ces fractions par des méthodes chromatographiques (CC (ODs), MPLC (phase normale) et MPLC (Lichropep-RP-18) et des purifications au Sephadex-LH20 plusieurs fois ont permis d'obtenir neuf composés indexés AS2, AS4, ASP81, ASF4a/b, ASF39_{1/2}, ASF2 et ASF3.

Tableau 32 : Chromatogramme de la fraction à l'acétate d'éthyle des racines de *Asparagus schweinfürthii*

| Système d'élution | Sous-Fractions | Observations |
|--|-------------------|-----------------------------|
| CC (ODs)-MeOH-H ₂ O (30/70-100/0, v/v) | F ₁₋₄ | Trois tâches et des traînés |
| CC (ODs)- CH ₂ Cl ₂ -MeOH (60-40) MPLC (phase normale), CH ₂ Cl ₂ -MeOH- H ₂ O (80-20-2 et 70-30-5) | F ₆₋₈ | Une tâche et des traînés |
| MPLC (Lichropep-RP-18), MeOH- H ₂ O (75-25) CH ₂ Cl ₂ -MeOH (100-2) MeOH (100) | F ₉₋₁₂ | Trois tâches et des traînés |

- Traitement des sous-fractions issues de F₁₋₄

Après regroupement et purification au Sephadex (LH-20), trois composés purs ont été obtenus indexés

AS2 (3,8 mg), AS4 (27,2 mg) et ASF4a/b (15,0 mg).

- Traitement des sous-fractions issues de F₆₋₈

Après regroupement et purification au Sephadex (LH-20), un composé pur a été obtenu et indexé ASF39mix (12,8 mg).

- Traitement des sous-fractions issues de F₉₋₁₂

Après regroupement et purification au Sephadex (LH-20), trois composés purs ont été obtenus indexés ASP81 (57,8 mg), ASF2 (16,8 mg) et ASF3 (4,2 mg).

De l'extrait au n-Butanol, au moyen des techniques chromatographiques, nous avons isolés onze composés, indexés AS43, ASF33C1, ASF33C9A, ASFC5A, ASFC4DMSOa/b, AST6, AST9, AST5, ASFC5B1/2.

La fraction au n-Butanol (soit 17 g) a été fractionnée par chromatographie sur colonne (CC) sur gel de silice (500 g) avec comme éluant le mélange de CH₂Cl₂/MeOH/H₂O, 80/20/2 ; 70/30/5 et 65/35/10 (en phase inférieure). Un total de 123 fractions de 100 ml chacune ont été collectés et regroupés en 43 sous fractions sur la base des CCM.

Tableau 33 : Chromatogramme de la fraction au n-BuOH des racines de *Asparagus schweinfürthii*

| Eluant | Sous-Fractions | Observations |
|---|------------------------|-----------------------------------|
| CH ₂ Cl ₂ /MeOH/H ₂ O : 80-20-2 | F ₃ (18-20) | Une tâche très instance et traîné |
| CH ₂ Cl ₂ /MeOH/H ₂ O : 70/30/5 | F ₅ (46-47) | Plusieurs tâches distantes |
| CH ₂ Cl ₂ /MeOH/H ₂ O : 65/35/10 | F ₆ (73-83) | Plusieurs tâches et des traînés |
| | F ₇ (92-97) | Plusieurs tâches et des traînés |

- **Traitement de la sous-fraction F₃ (18-20)**

La fraction F₃ a été passées sur une colonne de RP-18 avec MeOH/H₂O 60%, 70% et 100%. De cette colonne, nous avons obtenu 60 flacons et les flacons 51 à 53 sont passées plusieurs fois sur séphadex et éluées avec le méthanol. Ainsi nous avons obtenu un composé indexé **AS43 (17,7 mg)**.

- **Traitement de la sous-fraction F₅ (46-47)**

La fraction F₅ a subi une purification et de cette purification on a obtenu les composés indexés **AST6 (15,7mg)**, **AST9 (17,1mg)** et **AST5 (3,5 mg)**.

- **Traitement de la sous-fraction F₆ (78-83)**

Sur une colonne de RP-18 on a obtenu des fractions, après plusieurs passages dans le séphadex, on a obtenu des sous-fractions qui ont été purifier avec le Diaion. De ces colonnes de purification nous avons isolé les composés **ASF33C1(25,2mg)** et obtenu la sous-fraction ASF33C9. Une autre purification de ASF33C9 dans le séphadex avec le CH₂Cl₂/MeOH (20, 30, 35 %) a conduit à un composé indexé **ASF33C9A (2,6 mg)** et un mélange de deux composés **ASFC5B1/2 (3,7 mg)**

- **Traitement de la sous-fraction F₇ (92-97)**

De la fraction F₇ a été filtré un composé indexé ASFC5. Par solubilité différentielle et en lavant avec le méthanol le filtrat est séché et chromatographie sur colonne VLC SNAP avec le mélange CH₂Cl₂/MeOH 90/10, 85/140 et 80/20 et on a obtenu un composé indexé **ASFC5A (40,9 mg)** et ASFC4 qui est un mélange de deux composés elle se dissout dans le DMSO et on l'a nommé **ASFC4DMSOa/b (7,4 mg)**.

I.4.3 Caractéristiques physiques et spectroscopiques des composés isolés de *Asparagus schweinfürthii*

Les caractéristiques physico-chimiques des composés isolés de *Asparagus schweinfürthii* Baker sont consignés dans le tableau 34 suivant.

Tableau 34 : Données physiques et spectroscopiques des composés isolés de *Asparagus schweinfürthii*

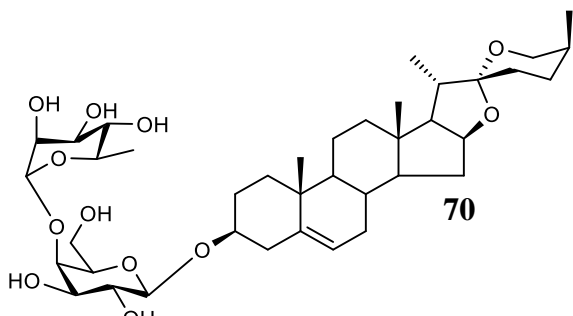
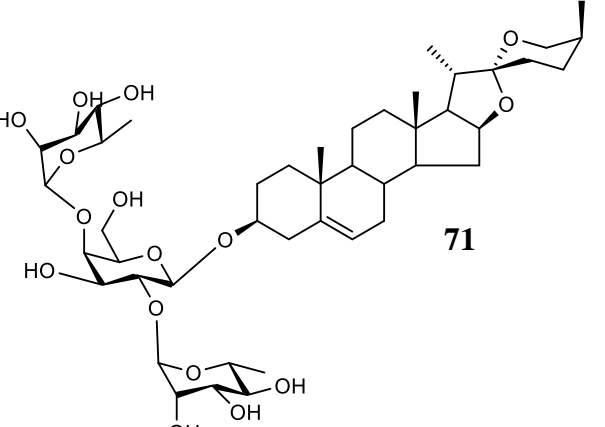
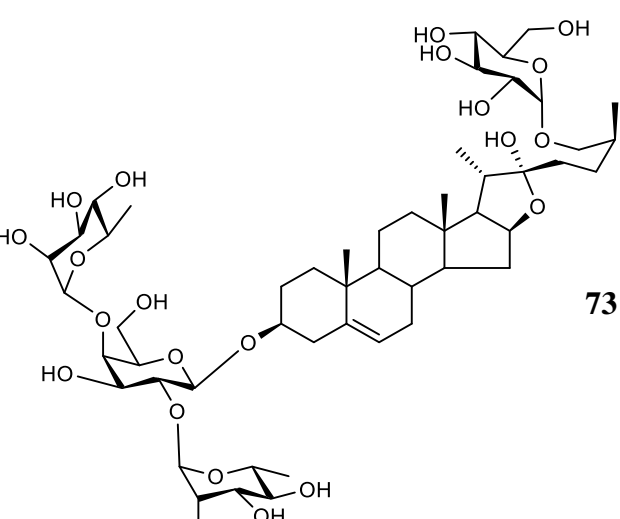
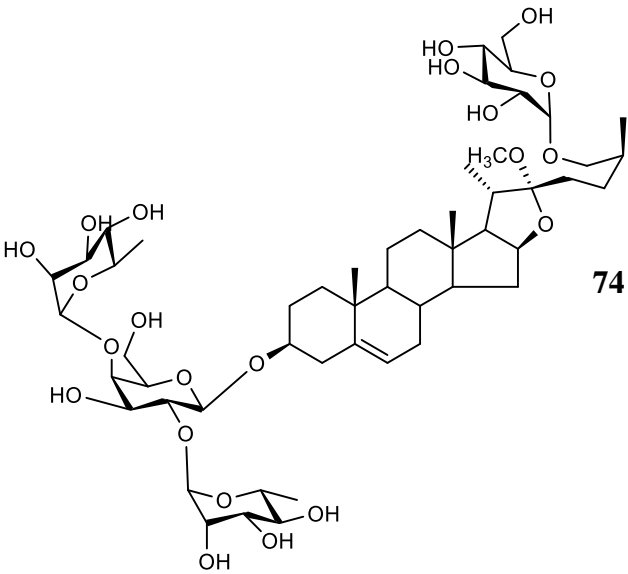
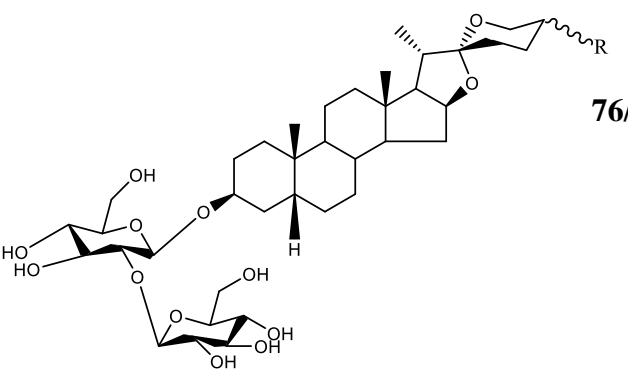
| | |
|---|--|
| <p><i>diosgénine-3-O-α-L-rhamnopyranosyl-(1\rightarrow4)-β-D-galactopyranoside</i></p>  <p style="text-align: right;">70</p> | <p>Formule brute : C₃₉H₆₂O₁₂</p> <p>RMN ¹H (600 MHz, CD₃OD) et ¹³C (150 MHz, CD₃OD) voir tableaux 6/7 pages 52 et 5</p> <p>Aspect physique : poudre amorphe blanche</p> <p>Test de Libermann Bürchard : positif</p> <p>Test de Molish : positif</p> |
| <p><i>diosgénine-3-O-α-L-rhamnopyranosyl-(1\rightarrow2)-[α-L-rhamnopyranosyl-(1\rightarrow4)]-β-D-galactopyranosyle</i></p>  <p style="text-align: right;">71</p> | <p>Formule brute : C₄₅H₇₂O₁₆</p> <p>RMN ¹H (600 MHz, CD₃OD) et ¹³C (150 MHz, CD₃OD) voir tableaux 8/9 pages 57 et 6</p> <p>Aspect physique : poudre amorphe blanche</p> <p>Test de Libermann Bürchard : positif</p> <p>Test de Molish : positif</p> |
| <p>(25<i>S</i>) furost-5-én-3β,22α,26-triol-3-<i>O</i>-([α-L-rhamnopyranosyle-(1\rightarrow2)]-[α-L-rhamnopyranosyle-(1\rightarrow4)]-β-D-glucopyranoside)-26-<i>O</i>-β-D-glucopyranosyle</p>  <p style="text-align: right;">73</p> | <p>Formule brute : C₅₁H₈₄O₂₂</p> <p>RMN ¹H (600 MHz, CD₃OD) et ¹³C (150 MHz, CD₃OD) voir tableaux 10/11 pages 65 et 69</p> <p>Aspect physique : poudre amorphe blanche</p> <p>Test de Libermann Bürchard : positif</p> <p>Test de Molish : positif</p> |

Tableau 34 : Données physiques et spectroscopiques des composés isolés de *Asparagus schweinfürthii*

(suite)

| | |
|--|---|
| <p>(25<i>S</i>) 22-méthoxyfurost-5-én-3β,22α,26-triol-3-<i>O</i>-([α-<i>L</i>-rhamnopyranosyle-(1→2)]-[α-<i>L</i>-rhamnopyranosyle-(1→4)-β-<i>D</i>-glucopyranoside)-26-<i>O</i>-β-<i>D</i>-glucopyranosyle</p>  <p style="text-align: right;">74</p> | <p>Formule brute : C₅₂H₈₆O₂₂</p> <p>RMN ¹H (600 MHz, CD₃OD) et ¹³C (150 MHz, CD₃OD) voir tableau 12 page 72</p> <p>Aspect physique : poudre amorphe blanche</p> <p>Test de Libermann Bürchard : positif</p> <p>Test de Molish : positif</p> |
| <p>(20<i>S</i>, 22<i>R</i>, 25<i>R</i>) 5β-spirost-3β-<i>O</i>-glucopyranosyl-(1→2)-β-<i>D</i>-glucopyranosyle et (20<i>S</i>, 22<i>R</i>, 25<i>S</i>) 5β-spirost-3β-<i>O</i>-glucopyranosyl-(1→2)-β-<i>D</i>-glucopyranosyle</p>  <p style="text-align: right;">76/77</p> | <p>Formule brute : C₃₉H₆₄O₁₃</p> <p>RMN ¹H (600 MHz, DMSO-<i>d</i>₆) et ¹³C (150 MHz, DMSO-<i>d</i>₆) voir tableau 13 page 77</p> <p>Aspect physique : poudre amorphe blanche</p> <p>Test de Libermann Bürchard : positif</p> <p>Test de Molish : positif</p> |

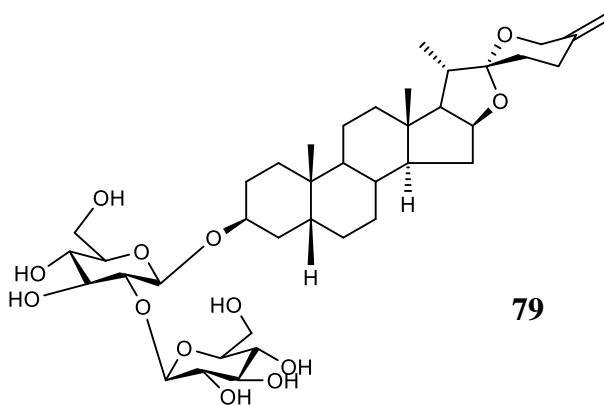
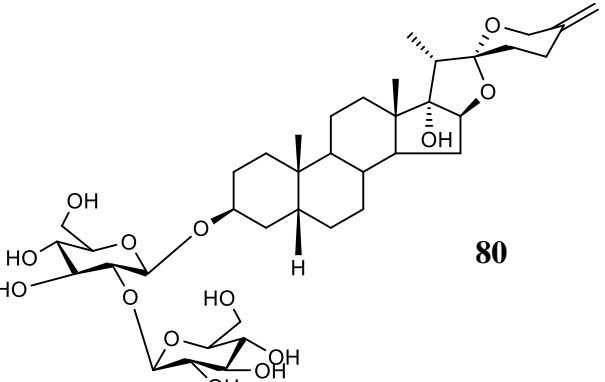
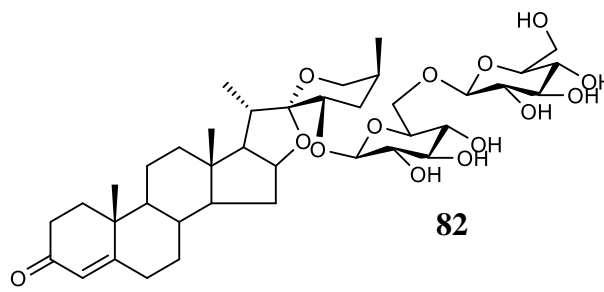
| | |
|--|---|
| <p style="text-align: center;">Schweinfürthioside A</p>  <p style="text-align: right;">79</p> | <p>ESI-TOF en mode positif : pic de l'ion pseudo-moléculaire $[M+2H+Na]^{2+}$ à m/z 738,4177</p> <p>Formule brute : $C_{39}H_{62}O_{13}$</p> <p>RMN 1H (600 MHz, CD_3OD) et ^{13}C (150 MHz, CD_3OD) voir tableaux 14/15 pages 82 et 86</p> <p>Aspect physique : poudre amorphe blanche</p> <p>Test de Libermann Bürchard : positif</p> <p>Test de Molish : positif</p> |
|--|---|

Tableau 34 : Données physiques et spectroscopiques des composés isolés de *Asparagus schweinfürthii* (suite)

| | |
|--|--|
| <p style="text-align: center;">Schweinfürthioside B</p>  <p style="text-align: right;">80</p> | <p>ESI-TOF en mode positif : pic de l'ion pseudo-moléculaire $[M+3H]^{3+}$ à m/z 757,4374</p> <p>Formule brute : $C_{39}H_{62}O_{14}$</p> <p>RMN 1H (600 MHz, CD_3OD) et ^{13}C (150 MHz, CD_3OD) voir tableau 17 page 16</p> <p>Aspect physique : poudre amorphe blanche</p> <p>Test de Libermann Bürchard : positif</p> <p>Test de Molish : positif</p> |
| <p style="text-align: center;">Schweinfürthioside C</p>  <p style="text-align: right;">82</p> | <p>ESI-TOF en mode positif : pic de l'ion pseudo-moléculaire $[M+H]^+$ à m/z 753,4064</p> <p>Formule brute : $C_{39}H_{62}O_{14}$</p> <p>RMN 1H (600 MHz, CD_3OD) et ^{13}C (150 MHz, CD_3OD) voir tableaux 17/18 pages 95 et 98</p> <p>Aspect physique : poudre amorphe blanche</p> <p>Test de Libermann Bürchard : positif</p> <p>Test de Molish : positif</p> |

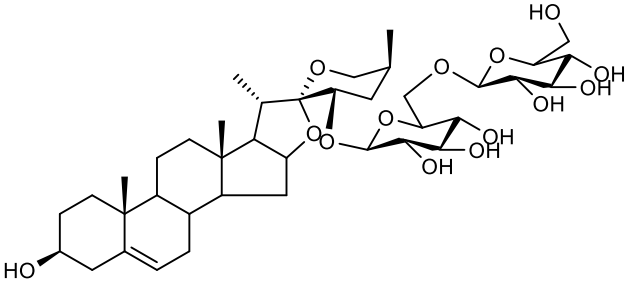
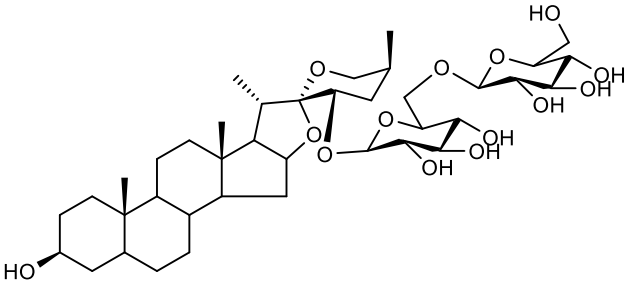
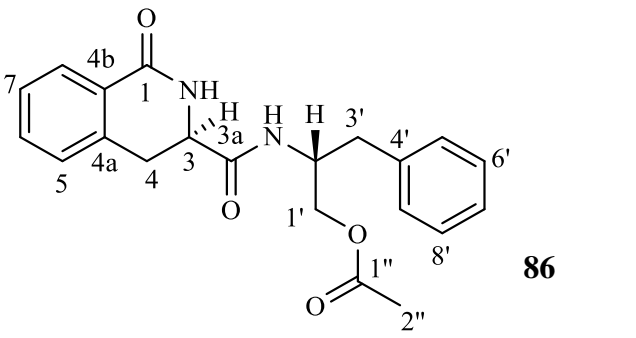
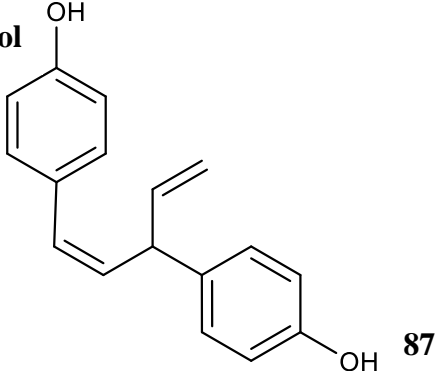
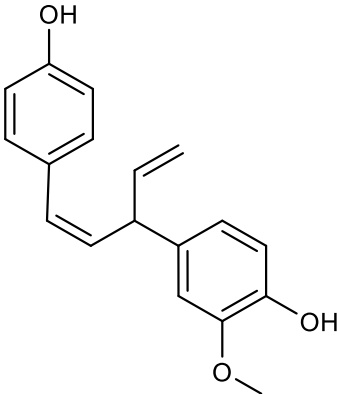
| | |
|---|--|
| <p>Schweinfürthioside D</p>  <p>et Schweinfürthioside E</p>  <p>84 et 85</p> | <p>ESI-TOF en mode positif : pics des ion pseudo-moléculaires $[M+H]^+$ à m/z 755,4224/755,4224</p> <p>Formules brutes : $C_{39}H_{62}O_{14}$</p> <p>RMN 1H (600 MHz, CD_3OD) et ^{13}C (150 MHz, CD_3OD) voir tableaux 19/20 pages 103 et 104</p> <p>Aspect physique : poudre amorphe blanche</p> <p>Test de Libermann Bürchard : positif</p> <p>Test de Molish : positif</p> |
|---|--|

Tableau 34 : Données physiques et spectroscopiques des composés isolés de *Asparagus schweinfürthii* (suite et fin)

| | |
|---|---|
| <p>Schweinfürthiamide</p>  <p>86</p> | <p>ESI-TOF en mode positif : pic de l'ion pseudo-moléculaire $[M+H]^+$ à m/z 367,1646</p> <p>Formule de brute : $C_{21}H_{22}N_2O_4$</p> <p>RMN 1H (600 MHz, $DMSO-d_6$) et ^{13}C (150 MHz, $DMSO-d_6$) voir tableau 21 page 115</p> <p>Aspect physique : poudre blanche</p> <p>Test de Dragendorff : positif</p> |
| <p>(+) -nyasol</p>  <p>87</p> | <p>Formule de brute : $C_{17}H_{16}O_2$</p> <p>RMN 1H (600 MHz, CD_3OD) et ^{13}C (150 MHz, CD_3OD) voir tableau 22 page 118</p> <p>Aspect physique : poudre amorphe blanche</p> <p>Test au $FeCl_3$: positif</p> |

| | |
|---|--|
| <p>3''-méthoxynyasol</p>  <p style="text-align: right;">88</p> | <p>Formule de brute : C₁₈H₁₈O₃</p> <p>RMN ¹H (CD₃OD, 600 MHz) et ¹³C (CD₃OD, 150 MHz) voir tableau 23 page 120</p> <p>Aspect physique :</p> <p>Test au FeCl₃ : positif</p> |
|---|--|

I.4.4 Extraction et isolement des composés de *Allamanda cathartica*

La matière végétale de *Allamanda Cathartica* a été récoltée à Yaoundé, Région du Centre Cameroun, en Février 2018 ; échantillon identifié en comparaison avec le matériel de Daniel Dang n° 294 du specimen de la collection d'Herbier n° 25589/SR/Cam par Mr NANA Victor, botaniste à l'institut de Recherche Agricole pour le Développement.

La matière végétale découpée, séchée à l'air libre et à l'abri de la lumière du soleil pendant 2 semaines puis broyée (1 Kg) a été incorporée dans le méthanol à une température ambiante pendant 48 heures. Après filtration, la solution méthanolique est concentrée à sec pour donner 62 g de résidu. 43g de cet extrait ont subi un fractionnement sur colonne de gel de silice avec les systèmes Hex/AE, puis AE/MeOH de polarité croissante pour donner cinq fraction (F₁ à F₅).

De ces fractions, j'ai isolé, au moyen des techniques chromatographiques, cinq composés indexés AC₁, AC₂, AC₃, AC₄ et AC₅.

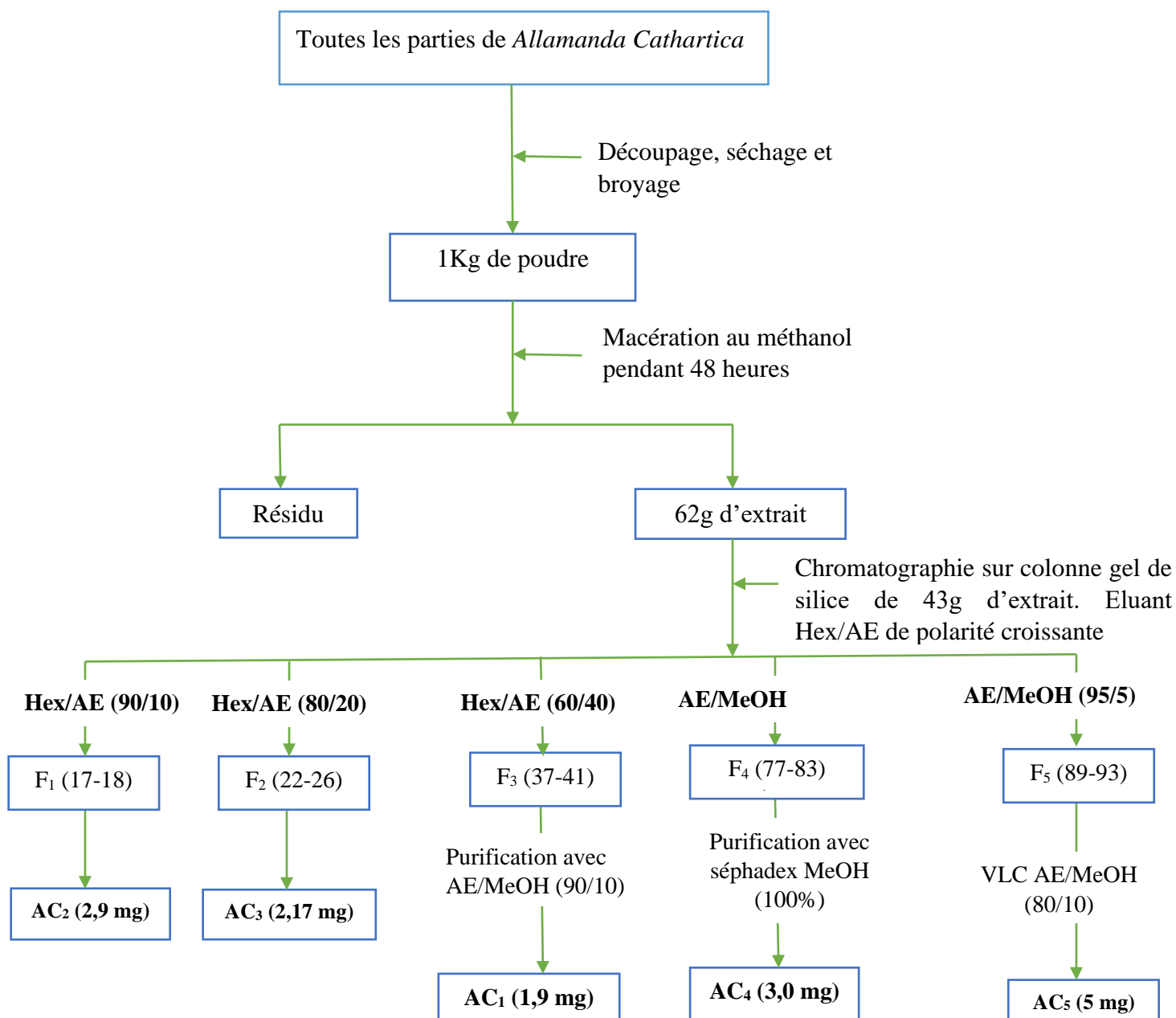


Schéma 21 : Protocole d'extraction et d'isolement des composés de *Allamanda cathartica*

- **Traitement de la fraction 1**

La fraction 1, obtenue dans le système Hex/AE (90/10) après CCM, on a observé une tâche et les traînés. Dans cette fraction, on a observé les cristaux de couleur maronne. Après filtration, on a rincé avec de l'acétone et nous avons obtenu le composé indexé **AC2** qui est l'acide ursolique.

- **Traitement de la fraction 2**

Obtenu dans le système Hex/AE (80/20) la fraction 2 a permis l'isolement d'un composé sous forme de cristaux blancs indexé **AC3** que nous avons identifié comme étant le kaempférol.

- **Traitement de la fraction 3**

La fraction 3, obtenue dans le système Hex/AE (60/40) a été rechromatographiée sur colonne de gel de silice avec le système AE/MeOH (90/10), ce qui nous a donné 22 flacons. Sur CCM, les flacons 12-17 contenaient un composé majoritaire qu'on a indexé **AC1** de couleur jaune et identifié comme étant le l'isopluméricine.

- **Traitement de la fraction 4**

La fraction 4 obtenu dans le système AE/MeOH (90/10) a été traitée sur colonne de séphadex avec le méthanol et on a obtenu un composé indexé **AC4** et identifier au pluméricine.

- **Traitement de la fraction 5**

AC5 que nous avons identifié comme étant la plumièride a été obtenu dans le système AE/MeOH (95/5) et purifier avec une colonne VLC dans le système AE/MeOH (80/10).

I.4.5 Caractéristiques physiques et spectroscopiques des composés isolés de *Allamanda cathartica*

Les caractéristiques physico-chimiques des composés isolés de *Allamanda cathartica* L sont consignés dans le tableau suivant

Tableau 35 : Données physiques et spectroscopiques des composés isolés de *Allamanda cathartica*

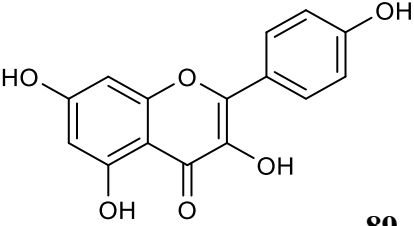
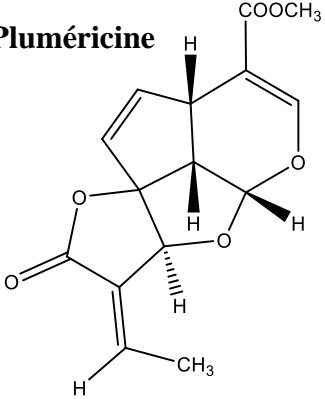
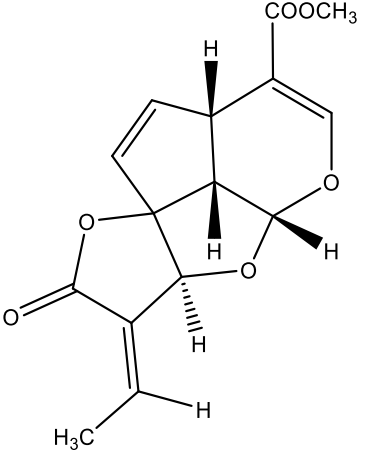
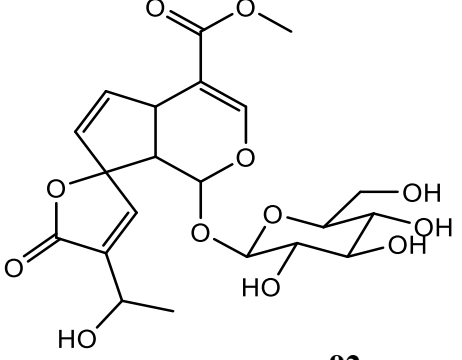
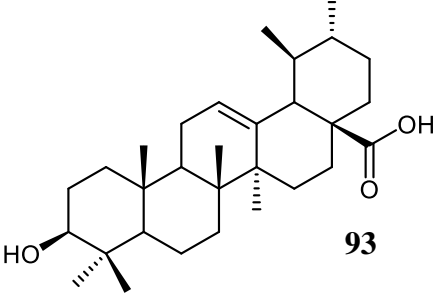
| | |
|---|---|
| <p>Kaempférol</p>  <p style="text-align: right;">89</p> | <p>Formule de brute : C₁₅H₁₀O₆ RMN ¹H (CD₃OD, 600 MHz) et ¹³C (CD₃OD, 150 MHz) voir tableau 24 page 123 Aspect physique : Cristaux jaune Test au FeCl₃ et de Shinoda : positif</p> |
| <p>Pluméricine</p>  <p style="text-align: right;">90</p> | <p>Formule de brute : C₁₅H₁₄O₆ RMN ¹H (CD₃OD, 600 MHz) et ¹³C (CD₃OD, 150 MHz) voir tableau 25 page 127 Aspect physique : poudre blanche Test au FeCl₃ : positif</p> |

Tableau 35 : Données physiques et spectroscopiques des composés isolés de *Allamanda cathartica* (suite et fin).

| | |
|--|---|
| <p>L'isopluméricine</p>  <p style="text-align: right;">91</p> | <p>Formule de brute : C₁₅H₁₄O₆</p> <p>RMN ¹H (CD₃OD, 600 MHz) et ¹³C (CD₃OD, 150 MHz)</p> <p>voir tableau 26 page 130</p> <p>Aspect physique : cristaux maron</p> <p>Test au FeCl₃ : positif</p> |
| <p>Plumièride</p>  <p style="text-align: right;">92</p> | <p>Formule de brute : C₂₁H₂₆O₁₂</p> <p>RMN ¹H (CD₃OD, 600 MHz) et ¹³C (CD₃OD, 150 MHz)</p> <p>voir tableau 27 page 136</p> <p>Aspect physique : poudre blanche</p> <p>Test au FeCl₃ : positif</p> |
| <p>L'acide ursolique</p>  <p style="text-align: right;">93</p> | <p>Formule de brute : C₁₈H₁₈O₃</p> <p>RMN ¹H (CD₃OD, 600 MHz) et ¹³C (CD₃OD, 150 MHz)</p> <p>voir tableau 28 page 139</p> <p>Aspect physique : cristaux blancs</p> <p>Test de Libermann Bürchard : positif</p> |

II. Evaluation des activités biologiques

II.1 Evaluation de l'activité cytotoxique in vitro

II.1.1 Préparation de la solution mère

Les extraits et les composés ont été pondérés à l'aide d'une balance analytique standard (*OHAMS, model A560, S/N, 2162-USA*) et dissous dans le DMSO, à une concentration finale de solution mère de 1mg.mL^{-1} .

II.1.2 Dilution de la solution mère

Les dilutions de la solution mère ont été réalisées dans un milieu de culture cellulaire, en utilisant le milieu essentiel minimum (MEM) alpha pour MCF-7, le milieu *Eagle* modifié de *Dulbecco's* pour NCI-H460 tandis que pour les cellules Hela, le milieu RPMI-1640 développé par Roswell Park Memorial Institute a été utilisé. Tous les supports contenant du rouge de phénol et 2% de sérum de bovin fœtal (FBS), 1% de L-glutamine (2mM), 1% de pyruvate de sodium (1mM) 1% d'antibiotiques de pénicilline (5000 U.mL^{-1}) et streptomycine (2500 U.mL^{-1}), ont été utilisés comme des suppléments. Les différentes dilutions des solutions mères faites de façon logarithmique entre 20 et $0,1\text{ }\mu\text{g.mL}^{-1}$ ont été conservées à $4\text{ }^{\circ}\text{C}$. Après avoir ajusté le pH à 7,3 en utilisant du NaOH 5N, les solutions sont filtrées à l'aide d'un filtre de pores de $0,2\text{ }\mu\text{m}$ et stockées à $-20\text{ }^{\circ}\text{C}$ jusqu'à leurs utilisations.

II.1.3 Culture cellulaire

Les cellules de cancer de sein (MCF-7) ont été cultivées dans un milieu essentiel minimum (MEM) alpha, les cellules humaines du cancer du col de l'utérus (Hela) ont été cultivées dans du milieu RPMI-1640 (1x) et la rhabdomyosarcome humaine, cancer du poumon (NCI-H460) a été cultivée dans le système modifié de *Dulbecco's*. Le milieu d'Eagle (DMEM) contenant du rouge de phénol additionné à 10% de sérum de bovin fœtal (FBS), 1% de L-glutamine (2mM), 1% de pyruvate de sodium (1mM) 1% d'antibiotiques de pénicilline (5000 U. mL^{-1}) et streptomycine (2500 U.mL^{-1}) ont tous été achetés aux USA (*Gibco, Invitrogen, California*). Les cellules maintenues dans des milieux à $37\text{ }^{\circ}\text{C}$ dans de CO_2 , incubateur humidifié, ont été soumises à un niveau de confluence de 80% et les milieux ont été complètement échangés tous les 2 à 3 jours.

Les lignées cellulaires H-125, OVC-5 (RPMI-1640), PANC-1, HepG2 (U251N) et les cellules normales (CEM et CFU) ont été prélevées dans la biobanque de cultures cellulaires (PCMD, ICCBS, USA). La culture a été faite comme décrit précédemment.

II.1.4 Test de cytotoxicité in vitro

Pour les tests de cytotoxicité, les cellules MCF-7, NCI-H460 et Hela ont étéensemencées à une concentration de 10000 cellules par puits dans des plaques de culture cellulaire polystyrène de 96 puits (*COSTAR-3596, Corning Incorporation*) pendant 24 à 48 heures avant les expériences dans 200 μL du milieu de culture. Les plaques maintenues à 37 °C dans un incubateur humidifié à 5% de CO_2 et après avoir atteintes 80% de confluence, les milieux de culture sont remplacés par du milieu MEM 2% contenant différents échantillons à des concentrations allant de 0,1 à 20 $\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$. Elles ont été conservées à nouveau à 37 °C pendant 7 heures au maximum dans un incubateur humidifié à 5% de CO_2 . Après incubation, la cytotoxicité a été évaluée au moyen du test de viabilité cellulaire *Presto Blue*. Des expériences ont été faites au *triplicata*.

Une deuxième méthode, pour évaluer la cytotoxicité des quelques sous-fractions et composés isolés de la fraction au n-BuOH, a été utilisée par Hamman aux Etats-Unis. Chaque échantillon après être lyophilisé est solubilisé dans 0,5 mL du DMSO. 15 μL de chaque échantillon sont appliqués sur un disque filtrant de 6,5 mm, séché pendant 24 heures puis placé dans une boîte à pétri de 96 puits. Les plaques sont incubées pendant 7 jours et examinées au stéréomicroscope (10 \times) inverse pour mesurer la zone d'inhibition mesurée depuis le bord du disque filtrant jusqu'au début de la formation des colonies de taille normale. Le diamètre du disque filtrant est arbitrairement pris comme 200 unités. Une zone inférieure à 300 unités définit un extrait défavorable pour présenter un intérêt supplémentaire une différence de zones entre les cellules tumorales et les cellules normales supérieures à 250 unités définissent les échantillons selectifs pour les tumeurs solides. Si le matériel testé est excessivement toxique au premier dosage, il est retesté à des dilutions jusqu'au $\frac{1}{4}$ contre les mêmes tumeurs. A une quelconque dilution, une certaine cytoxicité quantifiable est observée. Les résultats sont exprimés par exemple PANC1-CFU égal 450, ce qui indique qu'il existe un différentiel de zone de 450 unités entre la lignée cellulaire pancréatique humaine PANC-1 et le CFU normal favorable pour d'autres études biologiques.

II.1.5 Test de viabilité des cellules Presto Blue

La viabilité cellulaire a été déterminée à l'aide du test métabolique Presto Blue (*Presto Blue-TM, Invitrogen, Frederick, USA*). Le milieu rouge de phénol a été ajouté à chaque puits de plaques de 96 puits pour le calcul de viabilité. Les plaques ont été incubées à 37 °C dans un incubateur pendant 60 à 90 min. seules les cellules métaboliquement actives provoquent un changement de couleur du bleu au violet. La quantification de la fluorescence a été réalisée à l'aide d'une plaque de 96 puits

lecteur spectra max M5 (*Molecular Devices, Sunnyvale, CA, USA*) à des longueurs d'onde comprises entre 560 et 600 nm. La viabilité est défini par la relation :

$$viabilité (\%) = \frac{fluorescence\ moyenne\ des\ cellules\ traitées}{fluorescence\ moyenne\ des\ cellules\ témoins} \times 100$$

La plage d'activité pour les CI₅₀ est définie comme suit : non actif (> 100), faible (20-100), modéré (10-20), actif (5-10) et très actif (< 5) (Wibowo *et al.*, 2011)

II.2 Evaluation de l'activité antituberculeux in vitro

II.2.1 Préparation des solutions mères inhibitrices

Des solutions mères des composés (2 µg/mL) ont été préparées dans le DMSO à 100 %. La rifampine, l'isoniazide, la linézolide, la moxifloxacine, la prétomanide ont été préparés aussi à 10 µM dans le DMSO concentré à 100% et dans l'eau distillée stérilisée respectivement.

II.2.2 Culture des inocula

La souche de *M. tuberculosis* H37Rv TMC-102 a été cultivé selon le protocole défini par Singh *et al.*, 2007 et utilisé au cours de cette étude. La sensibilité de cette souche MDR aux médicaments de première ligne (La rifampine, l'isoniazide, la linézolide, la moxifloxacine et la prétomanide) a été réalisée à l'aide de BACTEC MGIT 960 conformément aux instructions du fabricant (*Becton, Dickinson and Company*, Etats-Unis) ainsi que des méthodes de gélose proportionnelle.

II.2.3 Evaluation de l'activité antituberculeux in vitro

L'évaluation de l'activité anti-mycobactérienne a été réalisée à l'aide du *Tetrazolium Microplate Assay* (TEMA). Les composés, la pluméricine et l'isopluméricine, ont été dissous dans du diméthylsulfoxyde (DMSO), puis dilué dans du bouillon de 7H9GC (pas de Tween 80) dans les microplaques de 96 puits. La suspension bactérienne (1,5×10⁸ cellules/mL) a été ajoutée à chaque puits et les deux derniers ont été laissés sans médicaments pour chaque microplaque pour servir de témoins pour observer la croissance de l'inoculum. Les plaques ont été incubées à 37°C. pendant 4 jours. Le 4^{ème} jour, 50 µL du colorant de tétrazolium (bromure de tétrazolium [bromure de 3-(4,5 diméthylthiazol-2-yl)-2,5-diphényl-tétrazolium]) on été ajoutés uniquement à la moitié de la plaque et la plaque a été incubé à 37 ° C entre 12 et 24 h. La CMI a été interprétée visuellement par un changement de couleur du bleu au rose et les résultats ont été confirmés par la lecture de l'absorbance à 590 nm et corrélés avec le contrôle de croissance.

REFERENCES

Acevedo-Rodriguez P., (2005). Vines and Climbing plants of Puerto and Rico and the Virgin Islands. *Contributions from the United States of National Herbarium* 51: 1-483.

ACS (American Cancer Society), (2011). Cancer Fact and Figures. *Atlanta : American Cancer Society*.

Adinolfi M., Mangoni L., Marino G., Parrilli M., Self R., (1984). Fast atom bombardment mass spectrometry of the muscarosides. An aid to the glycoside sequence determination. *Biomedical mass Spectrometry*, 11 (6) : 310-314.

Agrawal P. K., (1992). NMR spectroscopy in the structural elucidation of oligosaccharides and glycosides. *Phytochemistry*, 31 (10) : 3307-3330.

Agrawal P. K., (2003). Stereochemistry of spirostane-type steroidol saponins and steroidal saponins via chemical shift of geminal protons of ring-F. *Magnetic Resonance Chemistry*, 41 : 965-968.

Agrawal P. K., Jain D. C., Gupta R. K., Thakur R. S., (1985). Carbon-13 NMR spectroscopy of steroidal saponins and steroidal saponins. *Phytochemistry*, 24 (11) : 2479-2496.

Agrawal P. K., Pathak A. K., (1996). Nuclear magnetic resonance spectroscopic approaches for the determination of interglycosidic linkage and sequence in oligosaccharides. *Phytochemical Analysis*, 7 (3) : 113-130.

Ahmad S., Ahmad S., Jain P. C., (1991). Chemical examination of Shatavari (*Asparagus racemosus*). *Bulletin Medico-Ethnobotanical Research*, 12 (3-4) : 4.

Aiyaambo, D. (2010). Traditional uses of certain members of the family Apocynaceae in Namibie. Ministry of Agriculture, Water and Forests, Windsock.

Akah P. A., Offiah V. N., (1992). Gastrointestinal effects of *Allamanda cathartica* leaf extracts. *International Journal of Pharmacognosy*, 30 (3) : 213-217.

Amon J. J., Nedsuwan S., Chanta S., Bell B. P., Dowell S. F., Olsen S. J., Wasley A., (2005). Trends in liver cancer, Sa Kaeo Province Thailand. *Asian Pacific Journal of Cancer Preventive*, 6 (3) : 382-386.

Andernach L., Sandjo L. P., Liermann J. C., Schlämann R., Richter J.-P., Schwalbe H., Schüffler A., Thines E., Opatz T., (2016). Terphenyl derivatives from *Allantophomopsis Lycopodina*. *Journal of Natural Products*, 79 (10) : 2718-2725.

Anjana A-D., Amina I D., Ayumi K., Kazuki T., and Hari P. D., (2019). Extaction and isolation of 177teroidal glycosides from the leaves and twigs of *Lindera neesiana*. *Separations*, 6 (1) : 10.

Arthur H. R., Hui W. H., (1954). Products from some plants of Hong Kong. *Journal of Chemical Society* : 2782-2784.

Asch S., Leake B., Anderson R., Gelberg L., (1998). Why do symptomatic patients delay obtain care for tuberculosis? *American Journal of Respiratory and Critical Care Medicine*, 157 (4) : 1244-1248.

Assob N. J. C., Ngowe N. M., Mkamjio S., Jelil N. A., Kamga H. L., (2013). Facteurs influençant la prevalence et le traitement de la tuberculose à Douala. *Africa journal of integrated Health*, 2 (1) : 13-19

Augustus G. D. P. S., Seiler G. J., (2011). Phytochemicals of selected plant species of the Apocynaceae and Asclepiadaceae from Western Ghats, Tamil Nadu, India. *Biomass and Bioenergy*, 35 (7) : 3012-3017.

Bährle-Rapp M., (2007). Saponins. Springer Lexikon Kosmetik und Körperpflege, *Springer Berlin Heidelberg* : 490-490.

Bai C., Yang X., Zou K., He H., Wang J., Qin H., Yu X., Liu C., Zheng J., Cheng F., Cheng J., (2016). Anti-proliferative effect of RCE-14 from *Reineckia Carnea* on human cervical cancer Hela cells by inhibiting the PI3K/Akt/Mtor signaling pathway and NF-Kb activation. *Naunyun Schmiedeberg Arch. Pharmacol.*, 389: 573-584.

Befeler A. S., and Bisceglie A. M., (2002). Hepatocellular carcinoma : Diagnosis and treatment. *Gastroenterology*, 122 (6) : 1609-1619.

Belhouchet Z., Sautour M., Miyamoto T., and Lacaille-Dubois M-A., (2008). Steroidal saponins from the roots *Smilax aspera subsp. Mauritanica*. *Chemical and Pharmaceutical Bulletin*, 56 (9) : 1324-1327.

Bennani M.-A., Boukhari S.-A., Chahraoui S., Kebbati S., Guermaz M., (2017). Association cancer bronchique et tuberculose pulmonaire. *Revue Des Maladies Respiratoires*, 34, A84.

Bharath K. R., Asha S., Babu B. S., (2014). A note on phytodiversity and aromaticity of important plant species of Vignan University Campus, Vadlamudi, Andhra Pradesh. *International. Journal Pharmacy and Biological sciences* 5 : 373-386.

Bhat P., Hegde G. and Hegde G. R. (2012). Ethno medicinal practices for many communities in Uttara Karnnada district of Karnataka for treatment of wounds. *Journal of Ethnopharmacology*, 143 (2) : 501-514.

Bianchi A., (2015). The Mediterranean aromatic plants and their culinary use. *Natural Products Research*, 29 (3) : 201-206.

Bloom B. R., et Murray C. J. L., (1992). Tuberculosis: commentary on a reemergent killer. *Science* 257 (5073) : 1055-1064.

Boeing T., De Souza P., Bonomini T. J., Mariano L. N. B., Somensi L. B., Lucinda R. M., Malheiros A., Da Silva L. M., Andrade S. F., (2018). Antioxidant and anti-inflammatory effect of

plumieride in dextran sulfate sodium-induced colitis in mice. *Biomedicine and Pharmacotherapy* 99 : 697-703.

Bonomini T. J., Holzmann I., Thiesen L. C., Fratoni E., Muller A. F. F., Lucinda-Silva R. M., Yunes R. A., Malheiros A., Gonçalves A. E., Dalmagro A. P., (2017). Neuropharmacological and acute toxicological evaluation of ethanolic extract of *Allamanda cathartica* Lin. Flowers and plumieride. *Regulatory Toxicology and Pharmacology*, 91 : 9-19.

Boveri T., (1914). Zur frage der entsehung maligner tumoren. *Gustav Fischer*, 1-64.

Bruix J., and Sherman M., (2011). Management of hepatocellular carcinoma: An update. *Hepatology*, 53 (3) : 1020-1022.

Bruneton J., (2009). Pharmacognosie – Phytochimie, Plantes médicinales. Edition. Tec & Doc

Cathie M., (2012). Bactériologie des mycobactéries responsables d'infection respiratoire. *Elsevier Masson*. 1-17.

Cha J., and Kim P., (2017). Biomimetic strategies for the glioblastoma microenvironment. *Frontiers in Materials*, 4 : 45.

Chaithra Amin B., Satish S., Abhishek N., Ajay Kumar K., (2017). An investigation on anti-diabetic activity in aqueous extract of aerial parts of *Allamanda cathartica* Linn in streptozotocin induced diabetic rats. *International Journal of Pharmaceutical and Chemistry Research*, 3 : 242-247.

Chatterjee, M., Verma, R., Lakshmi, V., Sengupta, S., Verma, A. K., Mahdi, A. A., Palit, G. (2013). Anxiolytic effects of *Plumeria rubra* var. *acutifolia* (Poiret) L. flower extracts in the elevated plus-maze model of anxiety in mice. *Asian Journal of Psychiatry*, 6 (2) : 113–118.

Chauhan S., Singh R., Gokhale Y., Ihouvum G., Basu A. R., (2011). Medicinal plant wealth of India, a comprehensive review of selected species, published by 'The Energy and Resources Institute (TERI), prepared for National medicinal plants board. Government of India: Ministry of health & Family Welfare.

Chawla A., Chawla P., Mangalesh R., (2011). *Asparagus racemosus* (Wild): Biological Activities and its Active Principles. *Indo-Global Journal Pharmaceutical Sciences*, 2 : 113-120.

Che D., Comolet T., Trébucq A., antoine D., (2013). Epidémiologie de la tuberculose et politique de lutte contre la tuberculose. *EMC-Pneumologie*, 10 (2) : 1-10.

Chien H. J., Liu C. J., Ying T. H., Wu P. J., Wang J. W., Ting Y. H., Hsieh Y. H., Wang S. C., (2022). Timosaponin AIII inhibits migration and invasion abilities in human cervical cancer cells through inactivation of p38 MAPK-Mediated uPA expression in vitro and in vivo. *Cancers*, 15: 37.

Cho R. K., and Shih I-M., (2009). Ovarian cancer. *Annual Review Pathology : Mechanisms Disease*, 4 : 287-313.

Chomsky N., (2012) : What is Special About Language? SBS Lecture Series : Noam Chomsky, University of Arizona.

CIRC, (2018). Dernières données mondiales sur le cancer : le fardeau du cancer atteint 18.1 millions de nouveaux cas et 9,6 millions de décès par cancer en 2018. OMS, Communiqué de presse N° 263.

CIRC, (2018). Dernières données mondiales sur le cancer : le fardeau du cancer atteint 18,1 million de nouveaux cas et 9,6 millions de décès par cancer en 2018. OMS, Communiqué de Presse N° 263.

Connolly J. D., Hill R. A., (1991). In: Dictionary of Terpenoids. *Chapman and Hall*, 2 : 1121–1415.

Connolly J. D., Hill R. A., (2000). Triterpenoids. *Natural Products Reports*. 17, 463–482.

Conrad O. A., Dike I. P., Agbara U., (2013). In vivo antioxidant assessment of two antimalarial plants *Allamanda cathartica* and *Bixa 180teroida*. *Asian Pacific Journal of Tropical Biomedicine* 3 (5) : 388-394.

Corea G., Fattorusso E., and Lanzotti V., (2003). Saponins and flavonoids of *Allium triquetrum*. *Journal of Natural Products*, 66 (11) : 1405–1411.

Costello C. E., (1996). Application of tandem mass spectral approaches to structural determinations of saponins. *Saponins used in Food and Agriculture*, 317-330.

Cragg G. M., and Newman D. J., (2005). Plants as a source of anti-cancer agents. *Journal of Ethnopharmacology*, 100 (1-2) : 72-79.

Craig W-J., (1999). Health-promoting properties of common herbs. *The American Journal of Clinical Nutrition*, 70 (3) : 491-499.

Cui A., Liu H., Liu X., Zhang M., Xiao B., Wang B., Yang J., (2024). Steroidal saponins : Natural compounds with the potential to reverse tumor drug resistance (Review). *Oncology Letters*, 28: 585.

Daiane M., Lillian L. C., Daniela F R., Kahlil S. S., Almeida da Silva P. E., Barison A., and Nunez C. V., Cecilia V. N., (2013). Triterpenes and the antimycobacterial activity of *Duroia macrophylla* Huber (Rubiaceae). *BioMed Research International*.

Dartsch P. C., (2008). The Potential of Asparagus-P to Inactivate Reactive Oxygen Radicals. *Phytotherapy Research*, 22 (2) : 217-222.

David W. N., (1997). Poisonous plants and animals of Florida and the Caribbean. *Pineapple Press Inc, Florida*, 27: 74.

De Hoffmann E., Charrette J., Stroobant V., (1994). Spectrométrie de masse. *Masson*.

Devon T. K., Scott I. A., (1972). Handbook of naturally occurring compounds: Terpenes. *Academic Press*, 2 : 281-478.

Dorman D. E., Bauer D., Roberts J. D., (1975). Nuclear magnetic resonance spectroscopy. Carbon-13 chemical and Carbon-13 proton couplings in some esters and ethers. *The Journal of Organic Chemistry*, 40 (5) : 3729-3735.

Du S-H., Liu W-Y., Fu T-J., Xia B-G., and Xia C-D., (2002). Isolation and identification of 181 teroidal saponins in total saponin from *Dioscorea nipponica* Makino. *Acta Pharmaceutica Sinica*, 37 (4) : 267-270.

Eav S., Dufour P., Taisant D., Ra C., Bunda P., (2012). Oncology in Cambodia. *Oncology* 82 (5), 269-274.

Espejo O., Liavot J. C., Jung H., Giral F., (1982). Spirostanic diosgenin precursors from *Dioscorea* composite tubes. *Phytochemistry*, 21 (2): 413-416.

Espey D. K., Wu X. C., Swan J., (2007). Annual report to the nation on the status of cancer, 1975-2004, featuring cancer in Americans Indians and Alaska Natives. *Cancer : Interdisciplinary International Journal of the American Cancer Society*, 110 (10) : 2119-2152.

Fartyal M., Kumar P., (2016). Evaluation of antimicrobial efficacy of alkaloids, flavonoids and steroids of *Allamanda cathartica* Linn. Against some pathogenic bacteria. *International journal in advances Pharmaceutical Biological and. Chemistry*, 5 : 303-313.

Fasola T. R., Iyamah P. C., (2015). The use of ethnobotanicals in the management of inflammation in Nigeria: A review. *International Journal of Environment*, 4 (2) : 1-18.

Ferenci P., Fried M., Labrecque D., Bruix J., Sherman M., Omata M., Heathcote J., Piratsivuth T., Kew M., Otegbayo J. A., Zheng S. S., Sarin S., Hamid S., Modavi S. B., Fleig W., Fedail S., Thomson A., Khan A., Malfertheiner P., Lau G., Carillo F. J., Krabshuis J., Le Mair A., (2010). World Gastroenterology Organisation Guideline. Hepatocellular carcinoma (HCC): A global perspective. *Journal of Gastrointest Liver Disease*, 19 (3): 311-317.

Ferlay J., Seorjomatarm I., Dikshit R., Eser S., Mthers C., (2015). Cancer incidence and mortality Worldwide: sources, methods and major patterns in GLOBOCAN 2012. *International Journal of Cancer*, 136 (5): 359-386.

Francis J. K., (2000). Wild terrestrial shrubs of United States and its territories: Thamnic description. General technical reports-international institute of tropical forestry.

Franke, M. F., Appleton, S. C., Bayona, J., Arteaga, F., Palacios, E., Llaro, K., ... Mitnick, C. D. (2008). Risk Factors and Mortality Associated with Default from Multidrug-Resistant Tuberculosis Treatment. *Clinical Infectious Diseases*, 46 (12), 1844–1851.

Getahun H., Gunneberg C., Granich, R., Nunn P., (2010). HIV Infection-Associated Tuberculosis: The Epidemiology and the Response. *Clinical Infectious Diseases* 50 (3) : 201-207.

Goel R., Sairam K., (2002). Anti-ulcer drugs from indigenous sources with emphasis on *Musa sapientum*, tamrahbasma, *Asparagus racemosus* and *Zingiber officinale*. *Indian Journal of Pharmacology*, 34 (2) : 100-110.

Gomase V. S., Sherkhane A. S., (2010). Isolation, structure elucidation and biotransformation studies on secondary metabolites from *Asparagus racemosus*. *International Journal of Microbiology Research*, 2 (1): 07-09.

Greenlee R.T., Murray T., Bolden S., and Wingo P., (2000). Cancer statistics. *Cancer Journal Clinical*, 50 : 7-33.

Grenby T. H., (1991). Intense sweeteners for the food industry: an overview. *Trends in Food Sciences and Technology*, 2 : 2-6.

Grimblat N., Zanardi M. M., Sarotti A. M., (2015). Beyond DP4 : an improved probability for the stereochemical assignment of isomeric compounds using quantum chemical calculations of NMR shifts. *Journal of Organic Chemistry*, 80 (24), 12526-12534.

Grisebach A. H. R., (1864). Flora of the British West Isles, London and UK Lovell Reeve and Co., 806.

Günther H., (1996). La spectroscopie de RMN : principe de base, concepts et application de la spectroscopie de résonance magnétique nucléaire du proton et du carbone 13 en Chimie. *Edition Masson*.

Gupta R. S., Bhatnager A. K., Joshi Y. C., Sharma R., Sharma A., (2004). Effects of plumieride, an iridoid on spermatogenesis in male albino rats. *Phytomedicine*, 11 (2-3) : 169–174.

Gurib-Fakim A., Gueho J., Sewraj-Bissoondoyal M., (2008). The medicinal plants of Mauritius. *International Journal of Pharamacognosy*, 35 (4): 237-254

Haddad M., Miyamoto T., Laurens V., Lacaille-Dubois M-A. (2003). Two new biologically active triterpenoidal saponins acylated with salicylic acid from *Albizzia adianthifolia*. *Journal of Natural Products*, 66 (2) : 372-377.

Hannahan D., and Weinberg R., (2000). The Hallmarks of cancer. *Cell*, 100 (1): 57-70.

Hara S., Okabe H., Mihashi K., (1987). Gas-liquid chromatography separation of aldose enantiomers as trimethylilyl ethers of methyl 2-(polyhydroxyalkyl)-thiazolidine-4I-carbohydrates. *Chemical and Pharmaceutical Bulletin*, 35 (2): 501-506.

Hayes Y. P., Jahidin A. H., Lehmann R., Penman K., Kitching W., De Voss J. J., (2006). Asparinins, asparosides, curillins, curillosides and shavatarins: structural clarification with the isolation of

shatavarin V, a new steroidal saponin from the root of *Asparagus racemosus*. *Tetrahedron Letters*, 47 (49) : 8683-8687.

Hayes Y. P., Jahidin H. A., Lehmann R., Pnman K., Kitching W., and De Voss J. J., (2008). Steroidal saponins from the roots of *Asparagus racemonus*. *Phytochemistry*, 69 (3) : 796-804.

Hema K., (2014). In vitro anti-inflammatory activity of quercitrin isolated from *Allamanda cathartica*. *International of Journal Pharma and Bio science*, 5 : 440-445.

Hema K., Sukumar D., (2013). Isolation and phytochemical studies of quercetin and quercetin 3-O-rhamnoside. *International journal of Pharma and Bio science*, 4 (4) : 519-524.

Heng M. Y., Tan S. N., Yong J. W. H., Ong E. S., (2013). Emerging green technologies for the chemical standardization of botanicals and herbal preparations. *Trends in Analytical Chemistry*, 50 : 1-10.

Holstein S. A., Hohl R. J., (2004). Isoprenoids: Remarkable diversity of form and function. *Lipids*, 39 (4) : 293-309.

Hostettmann K., Hostettmann M., Marston A., (1991). Saponins. *Methods in Plants Biochemistry*, 7 : 435-471.

Huang H. L., Liu R. H., Shao F., (2009). Structural determination of two new steroidal saponins from *Smilax china*. *Magnetic Resonance in Chemistry*, 47 (9) : 741-745.

Hussain A., Ahmad M. P., Wahab S., Sarfaraj H. M., Ali M., (2011). A Review on Pharmacological and Phytochemical Profile of *Asparagus racemosus*. *Pharmacology*, 3 : 1353-1364.

IARC, (2020). Global cancer observatory.

IARC, (2021). Monographs on the identification of carcinogenic hazards to humans. <https://monographsiarcwho.int/list-of-classifications>.

Islam M. R., Ahamed R., Rahman M. O., Akbar M. A., Al-Amin M., Alam K. D., Lyzu F., (2010). In vitro antimicrobial activities of four medicinally important plants in Bangladesh. *European. Journal of Scientific Research*, 39 (2) : 199-206.

Jemal A., Bray F., Center M. M., Ferlay J., ward E., Forman D., (2011). Global cancer statistics. *A cancer journal for Clinicians*, 61 (2) : 69-90.

Jetée, (2013). Pacific Island ecosystems at risk. Honolulu, Hawaiï, United sates : HEAR, University d'Hawaiï.

Jiangsu New Medical College, (1986). The Dictionary of Traditional Chinese Medicine. *Shanghai Science and Technology Press, Shanghai* : 860.

Joselin J., Brintha T. S. S., Florence A. R., Jeeva S., (2012). Selection of selected ornamental flowers from the Apocynaceae family for phytochemical constituents. *Asian Pacific Journal of Tropical Disease*, 2 : 260-264.

Judd W. S., Campbell C. S., Kellogg E. A., Stevens P., (2002). Botanique Systématique : perspective phylogénétique. *De Boeck Supérieur*.

Jussieu A. L., (1789). *Genera Plantarum secundum ordines naturales disposita : juxta methodum in horto regio Parisiensi exaratum, anno 1774. Veuve Herissant*

Kahn A. F., Minion J., Pai M., Royce S., Burman W., Harries D. A., Menzies D., (2010). Treatment of active tuberculosis in HIV-coinfected patients: a systematic review and meta-analysis. *Clinical Infectious Disease* 50 (9) : 1288-1299.

Kala C. P., (2009). Aboriginal uses and management of ethnobotanical species in deciduous forests of Chhattisgarh state in India. *Journal of Ethnobiology and Ethnomedicine*, 5 (1) : 1-9.

Kamernitskii A. V., Abubakirov N. K., Gorovits M. B., Vollerner Y. E., Voishvillo N. E., Reschetova I. G., Paseshnichenko V. A., (1986). Chemistry of Spirostanols; Nauka: Moscow, USSR

Kantarjian M. H., O'Brien S., Huang X., Garcia-Manero G., Ravandi F., Cortes J., Shan J., Davisson J., Bueso-Ramos E. C., and Issa J-P., (2007). Survival advantage with decitabine versus intensive chemotherapy in patients with higher risk myelodysplastic syndrome. *Cancer : Interdisciplinary International Journal of the American Cancer Society* 109 (6) : 1133-1137.

Kent, T. P.; Kubica P. G. (1985). Public health mycobacteriology. A guide for the level III laboratory. Atlanta, Georgia : Centers for Disease Control.

Kim D. G., Jung K. H., Lee D. G., Yoon J. H., Choi K. S., Kwon S. W., Shen H. M., Morgan M. J., Hong S. S., Kim Y. S., (2014). 20(S)-Ginsenoside Rg3 is a novel inhibitor of autophagy and sensitizes hepatocellular carcinoma to doxorubicin. *Oncotarget* 5: 4438-4451.

Kitagawa I., (2002). Licorice root. A natural sweetener and an important ingredient in Chinese medicine. *Pure and Applied Chemistry*, 74 (7) : 1189-1198.

Kostova I. D., Rentsch D., Dimitrov G. H., Ivanov A. V., (2002). Two new sulphated furostanol saponins from *Tribulus terrestris*. *Zeitschrift Für Naturforsch C*, 57 (1-2) : 33-38.

Kougan, G. B., Miyamoto, T., Tanaka, C., Paululat, T., Mirjolet, J.-F., Duchamp, O., Sondengam, B. L., and Lacaille-Dubois, M-A., (2010). Steroidal saponins from two species of dracaena. *Journal of Natural Products*, 73 (7) :1266-1270.

Kulshreshtha M. J., Kulshreshtha D. K., Rastogi R. P., (1972). The triterpenoids. *Phytochemistry* 11 (8) : 2369-2381.

Kumar P., Singh A., Sharma U., Singh D., Dobhal M. P., Singh S (2013). Anti-mycobacterial activity of plumericin and isoplumericin against MDR Mycobacterium tuberculosis. *Pulmonary Pharmacology and Therapeutics* 26 : 332-335.

Kupchan S. M., Dessertine A. L., Blaylock B. T., Bryan R. F., (1974). Isolation and structural elucidation of allamandin, an antileukemic iridoid lactone from *Allamanda cathartica*. *The Journal of Organic Chemistry*, 39 (17) : 2477-2482.

Kupchan, S. M.; Giacobbe, T. J.; Krull, I. S.; Thomas, S. M.; Eakin, M. A.; Fessler, D. C. (1970). Tumor inhibitors. LVII. Reaction of endocyclic α,β -unsaturated γ -lactones with thiols. *The Journal of Organic Chemistry*, 35 (10), 3539–3543.

Kurman R. J., Ellenson L. H., Ronnett M. B., (2011). Blaustein's pathology of the female genital tract. *Springer*.

Lawn S. D., Afful B., Acheampong J, W. (1998). Pulmonary tuberculosis: diagnostic delay in Ghanaian adults. *International Journal of Tuberculosis and Lung Disease*, 2 (8) : 635-640.

Lee C. L., Hwang T. L., He W. J., Tsai Y. H., Yen C. T., Yen H. F., Chen C. J., Chang W. Y., Wu Y. C. (2013). Anti-neutrophilic inflammatory steroidal glycosides from *Solanum torvum*. *Phytochemistry*, 95 : 315-321.

Lee J., Yae S. M., Sik J. D., Joung H. T., Woo H. S., Hae N. S., Seo E-K., Hun P. K., Suk Y. M., (2005). Cytotoxic isoquinolin alkaloids from *Chelidonium majus* var. *asiaticum*. *Agr. Chem. Biotechnol.*, 48(4), 198-201.

Liberman F., (2017). Glioblastoma update: molecular biology, diagnosis, treatment, response assessment and translational clinical trials. *F1000Research*, 6.

Lin X., Chongsuvivatwong V., Lin L., Geater A., Lijuan R., (2008). Dose-response relationship between treatment delay of smear-positive tuberculosis patients and intra-household transmission: a cross-sectional study. *Transactions of the Royal Society of Tropical Medicine Hygiene*, 102 (8) : 797-804.

Louis D. N., Perry A., and Reifenberger G., (2016). The 2016 World Health Organization classification of tumors of the central nervous system: a summary. *Acta Neuropathologica*, 131 : 803-820.

Mabry T. J., Markham K. M., Thomas M. B., (2012). The systematic identification of flavonoids. *Springer Science and Business Media*.

Mabry T., Markham R. k., Thomas B. M., (2012). The systematic identification of flavonoids. *Springer and Business Media*.

Mahato S. B., and Kundu A, P., (1994). ^{13}C NMR spectra of pentacyclic triterpenoids-A compilation and some solvent features. *Phytochemistry*, 37 (6) : 1517-75.

Mahato S. B., Sen S., (1997). Review article number 118. Advances in triterpenoid research, 1990-1994. *Phytochemistry* 44 (7) : 1185-1236.

Mahbubur Rahman A. H. M., and Akter M., (2016). Taxonomic study and traditional medicinal practices on important angiosperm plant species in and around Rajshahi metropolitan city. *International Journal of Botany Study*, 1 (3) : 33-39.

Mahmood T., Meer F., Munir F., Nazar N., and Naveed I., (2011). Genetic diversity of Apocynaceae species selected on the basis of the 186romatic186186t gene rps11. *Journal of Medicinal Plant Research*, 5 (17) : 4382-4387.

Maia J. G. S., Das Zoghbi M. G. B., Andrade E. H. A., Carriera L. M. M., (2000). Volatile Flowers of *Thevetia peruviana* (Pers.) K. Shum. And *Allamanda cathartica* Linn. (Apocynacées). *Journal of Essential Oil Research*, 12 (3) : 322-324.

Malvezzi M., Bertuccio P., Levi F., Vecchia C. L., Negri E. (2013). European cancer mortality predictions for the year 2013. *Annals of Onchology*, 24 : 792-800.

Mandal D., Banerjee S., Mondal B. N., Chakravarty K. A., and Sahu P. N., (2006). Steroidal saponins from the fruits of *Asparagus racemonus*. *Phytochemistry*, 67 (13) : 1316-1321.

Mangle M., Jolly S. C. I., (1998). HPTLC studies on *Tribulis terrestris*. *Indian Drugs* 35 (4) : 189-194.

Marker R E., Lopez J., (1947). Steroid sapogenins. N163. The biogenesis of steroidal sapogenins in plants. *Journal of American Chemical Society*, 69 (10) : 2383-2385.

Marston A., Wolfender J L., Hostettmann K., (2000). Analysis and isolation of saponins from plant material. *Saponins in Food, Feedstuffs and Medicinal Plants* : 1-12.

Massiot G., Lavaud C., (1995). Structural elucidation of saponin. *Studies of N products Chemistry* 15 : 187-224.

Mathew S., Sreekumar S., Biju C. K., (2016). Identification of lead compounds against human hepatitis B viral capsid protein in three medicinal plants through in silico method. *IOSR Journal of Pharmacy and Biological Sciences* 11 (3) : 1-6.

Matsushita S., Yanai Y., Fusyuku A., Ikedi T., ONO M., and Nohara T., (2007). Distinction of absolute configuration at C-22 of C-23-hydroxyspirosolane glycosides. *Chemical and Pharmaceutical Bulletin*, 55 (7) : 2079-1081.

May T., (2005). Aspects cliniques actuels de la tuberculose. *EMC-Radiology*, 2 (1) :116-120.

Mazumdar B. C., and Mukhopadhyay P. M., (2006). Principles and practices of herbal garden. 1st ed. delhi : daya Publishing house ; p. 225.

Mehta S., Roy S., Chowdhary A., (2017). Use of rapid fluorescent focus inhibition test (RFFIT) for in vitro evaluation of anti-rabies activity. *Virus Disease*, 28 (2) : 127-132.

Monroy-Ortiz C., and Monroy R., (2006). *Las Plantas, Compañeras de Siempre : La Experiencia en Morelos ; UAEM, Centro de Investigaciones Biológicas de la CONABIO CONANP : Cuernavaca, Mexique, 582p.*

Muir A. D., Ballantyne K. D., Hall T. W., (2000). LC-MS and LC-MS/MS analysis of saponins and sapogenins comparison of ionization techniques and their usefulness in compound identification. In *Saponins in food, feedstuffs and medicinal plants: 35-42.*

Mukherjee K., and Ray L. N., (1986). Phytochemical screening of some Indian medicinal plant species part II. *International Journal of Crude Drug Research*, 24 (4) : 187-205.

Munafa J. P., Ramanathan A., Jimenez L. S., and Gianfagna T. J., (2010). Isolation and structural determination of steroidal glycosides from the bulbs of easter lily (*Lilium longiflorum* 187roma.). *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 58 (15) : 8806-8813.

Nakano, K., Murakimi, K., Takaishi, Y., Tomimatsu, T., and Nohara, T., (1989). Studies on the Constituents of *Heloniopsis orientalis* (THUNB.) C. Tanaka. *Chemical and Pharmaceutical Bulletin*, 37 (1) : 116-118.

Negi J. S., Singh P., Joshi G. P., Rawat M. S., Bisht V. K., (2010). Chemical constituents of *Asparagus*. *Pharmacognosy Reviews* 4 : 215.

Newman D. J., Cragg, G.M., (2020). Natural Products as Sources of New Drugs over the Nearly Four Decades from 01/1981 to 09/2019. *Journal of Natural Products*, 83 (3) : 770-803.

Newton M. S., Lau C., Wtigh W. C., (2000). A review of antimycobacterial natural products. *Phytotherapy Research*, 14 (5) : 333-322.

Nguyen Q. T., Luu T. T., Bai Y., Nguyen G. K. T., Pervushin K., and Tam J. P., (2015). Allotides: Proline-rich cysteine knot alpha-amylase inhibitors from *Allamanda cathartica*. *Journal of Natural Products*, 78 (4) : 695-704.

Noeske J., Nana Y. A., and Abena F. J. L., (2016). Epidémiologie de la tuberculose au Cameroun telle qu'elle est reflétée dans les données de notification, 2006-2014. 2016. *International Journal of Tuberculosis and Lung Disease*, 20 (11) : 1489-1494.

Nwambie I. A., and Akah P. A., (1993). Preliminary studies on some Nigerian herbal purgative recipes. *International Journal of Pharmacognosy*, 31 (4) : 278-282.

Oda K., Matsuda H., Murakami T., Katayama S., Ohgitani T., Yoshikawa M., (2000). Adjuvant and haemolytic activities of 47 saponins derived from medicinal and food plants. *Biological Chemistry*. 381 (1) : 67-74.

Oketch-Rabah H. A., Dossaji S. F., Christensen S. B., Frydenvang K., Lemmich E., Cornett C., Olsen C. E., Chen M., Kharazmi A., Theander T., (1997) Antiprotozoal compounds from *Asparagus africanus*. *Journal of Natural Products* 60 (10) : 1017-1022.

Okur E., Yilmaz A., Saygi A., Selvi A., Sungun F., Ozturk E., et al. (2006). Patterns of delays in diagnosis amongst patients with smear-positive pulmonary tuberculosis at a teaching hospital in Turkey. *Clinic Microbiological and Infection*, 12 (1) : 90-92.

Oleszek W., and Stochmal A., (2002). Triterpene saponins and flavonoids in the seeds of *Trifolium* species. *Phytochemistry*, 61 (2) : 165-170.

OMS, (2013). Rapport sur la lutte contre la tuberculose dans le monde.

Osborn E. M., (1943). On the occurrence of antibacterial substances in green plants. *British Journal of Experimental Pathology*, 24 (6) : 227.

Palama I. E., D'Amone S., Ratano P., Donatelli A., Liscio A., Antonacci G., Testini M., Angelantonio S. D., Rogozzino D., and Cortese B., (2019). Mechanical durotactic environment enhances specific glioblastoma cell responses. *Cancers*, 11 (5) : 643-662.

PANC X., Cong Y., Yu H-S., Kang L-P., Feng B., Han B-X., Zhao Y., Xiong C-Q., Tan D-W., Song W., Liu B., Cong Y-W., and Ma B-P. (2012). Spirostanol saponins derivated from the seeds of *Trigonella foenum-graecum* by β -glucosidase hydrolysis and their inhibitory effects on rat platelet aggregation. *Planta medica*, 78 (03) : 276-285.

PANC X., Wan L. F., Yang J., Bai P. Y., Zhang J., Chen X. J., Yan X. L., Ma B. P., (2022). Steroidal saponins from *Trillium tschonoskii* rhizome repress cancer stemness and proliferation of intrahepatic cholan-giocarcinoma. *Bioorg Chem* 121: 105679.

Pantel K., Alix-Panabières C., and Riethdorf S., (2009). Cancer micrometastases. *Nature Reviews Clinical oncology*, 6 (6) : 339-351.

Pantel K., Brakenhoff R. H., and Brandt B., (2008). Detection, clinical relevance and specific biological properties of disseminating tumour cells. *Nature Reviews Cancer*, 8 (5) : 329-340.

Pathak N., Fatima K., Singh S., Mishra D., Gupta C. A., Kumar Y., Chanda D., Bawankule U. D., Shanker K., Kahn F., Luqman S., and Negi S. A., (2019). Bivalent forestene carbamates as antiproliferative and antiinflammatory agents. *The Journal of Steroid Biochemistry and Molecular Biology*, 194 : 105457.

Pease C., Amaratunga K. R., Alvarez G. G., (2017). Un schema thérapeutique plus court qui s'annonce prometteur pour le traitement de l'infection tuberculeuse chez les canadiens à risque. *Résumé des maladies transmissibles au Canada*, 43 (3) : 73-78

Petit P. R., Sauvaire Y. D., Hillaire-Buys D. M., Leconte O. M., Baissac Y. G., Posin G. R., Ribes G. R., (1995). Steroid saponins from fenugreek seeds: extraction, purification, and pharmacological investigation on feeding behaviour and plasma cholesterol. *Steroids*, 60 (10) : 674-680.

Pharmacopoeia I., (2007). The Indian pharmacopoeia commission. Central Indian Pharmacopoeia Laboratory, Ministry of Health and Family Welfare, Govt of India, Sector. 23.

PNLT, (2022). Rapport annuel de mise en œuvre des activités du programme national de lutte contre la tuberculose, Cameroun 2022.

Potduang B., Meeploy M., Giwanon R., Benmart Y., Kaewduang M., Supatanakul W., (2008). Biological activities of *Asparagus racemosus*. *African Journal of Traditional, Complementary and Alternative Medicines*, 5 (3) : 230-237.

Prabhadevi V., Sahaya S. S., Johnson M., Venkatramani B., Janakiraman N., (2012). Phytochemical studies on *Allamanda cathartica* Lin. Using GC-MS. *Asian Pacific Journal of Tropical Biomedicine* 2 (2) : S550-S554.

Price K. R., Johnson I. T., Fenwick G. R., (1987). The chemistry and biological significance of saponins in foods and feedstuffs. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, 26 (1) : 27-135.

Radford D. J., Cheung K., Urech R., Gollogly J. R., Duffy P., (1994). Immunological detection of cardiac glycosides in plants. *Australian Veterinary Journal*, 71(8) : 236-238.

Randall R. P., (2012). A global compendium of weeds. Perth, Australia : Department of agriculture and Food of Western Australia, 1124.

Rapport Cancers (2022). Diagnostiques dans les principaux services d'anatomopathologie et d'hémo-oncologie du Cameroun.

Rasool, S. N.; Jaherrunnisa S.; Chita, S. K.; Jayaveera, K. N. (2008). Antimicrobial activities of *Plumeria acutifolia*. *Journal of Medicinal Plants* 2 : 77-80.

Rawat D. S., Singh R., (2013). Plant derived secondary metabolites as anti-cancer agents. *Anti-cancer agents in medicinal chemistry*, 13 (10) : 1551.

Rinaldi M., Cauchi C., and Gridelli C., (2006). First line chemotherapy in advanced or metastatic NSCLC. *Annals of Oncology*, 17 (5) : 64-67.

Sahoo N., Manchikanti P., and Dey S., (2010). Herbal drugs: standards and regulation. *Fitoterapia*, 81 (6) : 462-471.

Sahu M., Gupta S., and Srivastava P., (2002). Effect of *Renalka syrup* in urinary Tract Infection. *Indian Practice*, 55 : 101-106.

Sanchez-Contreras D-L. A. M., and Bernabe M., (2000). Four new triterpenoid saponins from roots of *Bupleurum rigidum*. *Journal of natural products*, 63 (11) : 1479-1482.

Sanchez-Contreras D-L. A. M., Faure B. O., and Bernabe M., (1998). A 190romatic190 saponin from *Bupleurum rigidum*. *Journal of natural products* 61 (11) : 1383-1385.

Sang S., Lao A., Wang H., and Chen Z., (1999). Two new spirostanol saponins from *Allium tuberosum*. *Journal of natural products*, 62 (7) : 1028-1029.

Sarker R., Sharmin T., Chowdhury S R., Islam F., (2012). Thrombolytic activity and preliminary cytotoxicity of five different fractions of methanol extract of *Allamanda cathartica* leaf. *Journal of applied pharmaceutical science*, 2 (7) : 129-132.

Sarker R., Sharmin T., Islam F., Chowdhury S. R., (2014). In vitro antioxidant, total phenolic, membrane stabilizing and antimicrobial activity of *Allamanda cathartica* L.: A medicinal plant of Bangladesh. *Journal of Medicinal Plants Research*, 8 (1) : 63-67.

Sasmakov S. A., Putieva J. M., Saatov Z., Lindequist U., (2003). A new triterpene glycoside from *Zygophyllum eichwaldii*. *International Journal of Pharmaceutical Sciences*, 58 (8) : 602-603.

Savarino P., Demeyer M., Decroo C., Colson E., and Gerbaux P., (2021). Mass spectrometry analysis of saponins. *Willey review*.

Savithamma N., Linga Rao M., Suhurulatha D., (2013). Qualitative and quantification analysis of phytochemicals from leaf aqueous extract of *Allamanda cathartica* L. and *Terminalia paniculata* Roth. *International Journal*, 1 : 821-825.

Schöpke T., (2000). Non-NMR methods for structure elucidation of saponins, feedstuffs and medicinal plants. Marston A. and Oleszek W., Ed. Dordrecht : Kluwer Academic Publisher, 95-106.

Setzer W. N., and Setzer M. C., (2003). Plant-derived triterpenoids as potential antineoplastic agents. *Mini Review Medicinal Chemotherapy*, 3 : 540-556.

Shaker K. H., Bernhardt M., Elgamal M. H. A., Seifert K., (2000). Sulfonated triterpenoid saponins from *Fagonia indica*. *Zeitschrift Für Naturforsch*, 55c : 520-523.

Shao Y., Poobrasert O., Kennelly E. J., Chin C. K., Ho C. T., Huang M. T., Garrison S. A., Cordell G. A., (1997). Steroidal saponins from *Asparagus officinalis* and their cytotoxic activity. *Planta Medica*, 63 : 258-262.

Sharma M., Sharma A., Kumar A., (2012). Vital medicine *Asparagus racemosus* wild. *Current Trends in Biotechnology and Pharmacy*, 6 (2) : 210-221.

Singh A., Singh SK., (2008). Reversible Antifertility Effect of Aqueous Leaf Extract of *Allamanda cathartica* L. in Male Laboratory Mice. *Andrologia*, 40 (6) : 337-45.

Singh R. P., Dhanalakshmi S., and Agarwal R., (2002). Phytochemicals as cell cycle modulators- a less to approach in halting human cancers. *Cell Cycleic*, 1 : 156-161.

Singh R., Geetanjali., Chauhan S. M. S., (2004). 9,10-Anthraquinones and other biologically active compounds from the genus *Rubia*. *Chemistry and Biodiversity*, 1 : 1241-1264.

Singh, S.; Sankar, M. M.; Gopinath, K. (2007). High rate of extensively drug-resistant tuberculosis in Indian AIDS patients. *AIDS*, 21 (17), 2345–2347.

Smith S. G., Goodman J. M., (2010). Assigning stereochemistry to single diastereoisomers by GIAO NMR calculation : the DP4 probability. *Journal of the American Chemical Society*, 132 (37), 12946-12959.

Soini Y., Napankangas U., and Jarvinen K., (2001). Expression of γ -glutamyl cysteine synthetase in nonsmal cell lung carcinoma. *Cancer : Interdisciplinary International Journal of the American Cancer Society* 92 (11) : 2911-2919.

Sparg S. G., Light M. E., van Staden J., (2004). “Biological activities and distribution of plant saponins.” *Journal of Ethnopharmacology*, 94 (23) : 219-243.

Staerk D., Chapagain B. P., Lindin T., Wiesman Z., and Jaroszewski J. W., (2006). Structural analysis of complex saponins of *Balanites aegyptiaca* by 800 MHz ^1H NMR spectroscopy. *Magnetic Resonance in Chemistry*, 44 (10) : 923-928

Steward B. W., and Wild C. P., (2014). World Cancer Report 2014. International Agency for Research on Cancer (IARC), Lyon, France.

Storla D. G., Yimer S., Bjune G.A., (2008). A systematic review of delay in the diagnosis and treatment of tuberculosis. *BioMedCentral Public Health*, 8 (15) : 1-9

Stratton R. M., Campbell J. P., and Futreal A., (2009). The cancer genome. *Nature*, 458 (7239) : 719-724.

Sung H., Ferlay J., Siegel R. L., Laversanne M., Soerjomataram I., Jemal A., and Bray F. (2021). Global Cancer Statistics 2020: GLOBOCAN estimates of incidence and mortality worldwide for 36 cancers in 185 countries. *A Cancer Journal for Clinicians*, 71 (8) : 209-249.

Sung T. V., Adam G., (1991). Sulphated triterpenoid saponins from *Schefflera octaphylla*. *Phytochemistry*, 30 (8) : 2717-2720.

Suprapta D. N., Khalimi K., (2012). Anti-fungal activities of selected tropical plants from Bali Island. *Phytopharmacology*, 2 (2) : 265-270.

Suyama T. L., Gerwick W. H., Mc Phail K. L., (2011). Survey of marine natural product structure revisions: a synergy of spectroscopy and chemical synthesis. *Bioorganic and Medicinal Chemistry*, 19 (22), 6675-6701.

Tan N., Zhou J., Zhao S., (1999). Advances in structural elucidation of glucuronide oleanane type triterpene carboxylic acid 3, 28-*O*-bisdesmosides (1962–1997). *Phytochemistry*, 52 (2) : 153– 192.

TchouPANC N. E., Reder C., Ateba B. S., Zehl M., Kählig H., Njamen D., Höller F., Glasl-Tazreiter S., Krenn L., (2017). Acetylated furostane glycoside from *Solanum gilo* fruits. *Planta Medica*, 83 (14/15) : 1227-1232.

Terui Y., Tori K., and Tsuji N., (1976). Esterification shifts in carbon-13 NMR spectra of alcohols. *Tetrahedron Letters*, 17 (8) : 621-622.

Thomas V., (1992). Structure and biology of floral nectary in *Allamanda cathartica* L. (Apocynaceae). *Feddes Repertorium*, 103 (5-6) : 357-361.

Tinoi J., Rakariyatham N., Deming R. L., (2006). Determination of major carotenoid constituents in petal extracts of eight selected flowering plants in the north of Thailand. *Chiang Mai Journal of Science*, 33 (2) : 327-334.

Torre L. A., Bray F., Siegel R. L., Ferlay J., Lortet-Tieulent J., Jemal A., (2015). Global cancer statistics, 2012. *A cancer Journal for Clinicians*, 65 (2) : 87-108.

Trost, B. M., Mao, M. K. T., Balkovec, J. M., Buhlmyer, P. (1986). A total synthesis of plumericin, allamcin, and allamandin. Part 1. Basic strategy. *Journal of the American Chemical Society*, 108 (16), 4965–4973.

Tschesche R., Wulf G., (1972). Chemistry and biology of saponins. *Progress in the Chemistry of Organic Natural Products*, 461-606.

Tsui W. Y., Brown G. D., (1996). (+)-Nyasol from *Asparagus cochinchinensis*. *Phytochemistry*, 43 (6) : 1413-1415.

Tyler N. J., Gusta L. V., Fowler D. B., (1981). “The influence of nitrogen, phosphorus and potassium on the cold acclimation of winter wheat (*Triticum aestivum* L.)” *Canadian Journal of Plant Science*, 61 (4) : 879-885.

Venkatesan N., Thiyagarajan V., Narayanan S., Arul A., Raja S., Gurusamy S., (2005). Anti-diarrhoeal potential of *Asparagus racemosus* wild root extracts in laboratory animals. *Journal of Pharmacy and Pharmaceutical Sciences*, 8 (1) : 39-46.

Véronique V., (2013). Diagnostic bactériologique de la tuberculose. *Revue Francophone Des Laboratoires Elsevier Masson* ; 449 BIS : 38-43.

Victor O. N., Emeka A. G., Chukwuka A. J., Victor A. O., Simeon E. I., Victor A. C., Patience O. N., (2015). Preliminary *in vitro* assessment of some phytochemical constituents and radical scavenging activity of methanol extracts of five flowers varieties. *Annual Research and Review in Biology*, 357-365.

Vincken J P., Heng L., de Groot A., Gruppen H., (2007). Saponins, classification and occurrence in the plant kingdom. *Phytochemistry*, 68 (3) : 275-297.

Visavadiya N. P., and Narasimhacharya A., (2009). *Asparagus* root regulates cholesterol metabolism and improves antioxidant status in hypercholesteremic rats. *Evidence-Based Complementary Alternative Medicines*, 6 (2) : 219-226.

Von Hansemann D., (1890). Ueber sasymmetrische Zelltheilung in epithel Krebsen und deren biologische bedeutung. *Arch. Path. Anat.*, 119 : 299.

Wang G., Reed E., and Li C. Q., (2004). Molecular basis of cellular response to cisplatin cancer. *Oncology Reports*, 12 (5) : 955-965.

Whelana A. O., Wright D., Chambersa C., Singhc M., Hewinsona M., Vordermeiera RG., Martin H., (2008). Evidence for enhanced central memory priming by live *Mycobacterium bovis* BCG vaccine in comparison with killed BCG formulations. *Vaccine*, 26 (2) : 166-173.

WHO, (2009). Global tuberculosis control: epidemiology, strategy, financing: WHO report 2009. World Health Organization, Geneva.

WHO, (2017). Global tuberculosis report 2016. Geneva, Switzerland: World Health Organization; 2016.

Wiboonpun N., Phuwapraisirisan P., and Tip-pyang S., (2004). Identification of antioxidant compound from *Asparagus racemosus*. *Phytotherapy Research : An International Journal Devoted to Pharmacological and Toxicological Evaluation of Natural Products Derivatives*, 18 (9) : 771-773.

Wibowo A. N., Ahmat A. S., Hamzah A. S., Sufian N. H., Ismail R., Ahmad F. M., Jaafar, Takayama H., (2011). Malaysiabol A, a new trimer resveratrol oligomer from the stem bark of *Dryobalanops* 193romatic. *Fitoterapia*, 82 : 676-681.

Wong K. F., and Taha R. M., (2012). The effect of 2,4-dichlorophenoxyacetic acid and 6 benzylaminopurine on callus induction and regeneration of *Allamanda cathartica*. A valuable medicinal plant. *Research Journal of Biotechnology*, 7 (3) : 75-80.

Xiang Y. C., Peng P., Liu X. W., Jin X., Shen J., Zhang T., Zhang L., Wan F., Ren Y. L., Yu Q. Q., (2022). Paris saponin VII, a Hippo pathway activator, induces autophagy and exhibits therapeutic potential against human breast cancer cells. *Acta Pharmacol Sin* 43: 1568-1580.

Xu R., Fazio G C., Matsuda P T. (2004) On the origins of triterpenoid skeletal diversity. *Phytochemistry*. 65, 261–291.

Yamauchi T., Abe F., and Taki M., (1981). Protoplumericin, an Iridoid Bis-glucoside in *Allamanda neriifolia*. *Chemical and Pharmaceutical Bulletin*, 29 (10) : 3051-3055.

Yang C-X., Huang, S-S., Yang, X-P., Jia, Z-J., (2004). Nor-lignans and steroidal saponins from *Asparagus gobicus*. *Planta Medica*, 70 (05) : 446-451.

Yang J., Cao L., Li Y., Liu H., Zhang M., Ma H., Wang B., Yuan X., Liu Q., (2021). Gracillin isolated from *reineckia carnea* induces apoptosis of A549 cells via the mitochondrial pathway. *Drug Des Devel Ther* 15: 233-243.

Young L. C., Campling B. G., and Cole S. P., (2001). Multidrug resistance proteins MRP3, MRP1, and MRP2 in lung cancer: correlation of protein levels with drug response and messenger RNA levels. *Clinical Cancer Research*, 7 (6) : 1798-1804

Yu L. Y., Li X., Ke Q. C., Tang P. C., Yang Z. X., Li Q. X., and Ye Y., (2010). Iridoid glucosides from *Allamanda neriifolia*. *Chinese Chemical Letters*, 21 (6) : 709-7011.

Yu M. W., Hsu F. C., Sheen I. S., Chu C. M., Lin D. Y., Chen C. J., Liaw Y. F., (1997). Prospective study of hepatocellular carcinoma and liver cirrhosis in asymptomatic chronic hepatitis B virus carriers. *American Journal of Epidemiology*, 145 (11): 1039-1047.

Zach O., and Lutz D., (2006). Tumor cell detection in peripheral blood and bone marrow. *Current Opinion Oncology*, 18 (1) : 48-56.

Zhang H., Xu J., Wang M., Xia X., Dai R., and Zaho Y., (2020). Steroidal saponins and sapogenins from fenugreek and their inhibitory activity against α -glucoside. *Steroids*, 161 (108690) : 1-7.

Zhang H-J., Sydara K., Tan G. T., Ma C., Southavong B., Soejarto D. D., Pezzuto M. J., and Fong S. H. H. (2004) Bioactive constituents from *Asparagus cochinchinensis*. *Journal of Natural Products*, 67(2) : 167-2000.

Zhao Y. Z., Han H., Fan R. P., Hu Y., Zhong L., Kou J. P., Yu B. Y., (2018). Advances in the antitumor activities and mechanisms of action of steroidal saponins. *Chin. J. Nat. Med.*, 16 : 732-748.

Zhou X., He X., Wang G., Gao H., Zhou G., Ye W., and Ya X., (2006). Steroidal saponins from *Solanum nigrum*. *Journal of Natural Products*, 69 : 1158-1163.

ANNEXE

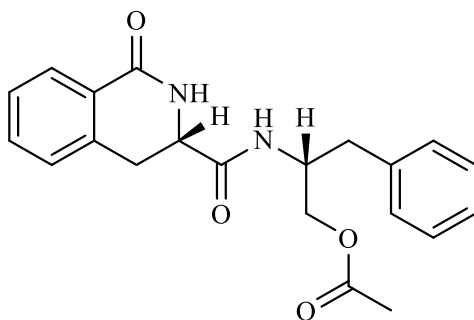
➤ ¹H

| No. | 1 | 2 | 3 | 4 | Average | Exp |
|----------|--------|--------|--------|--------|----------|------|
| 1 | 8,3176 | 8,2968 | 8,2844 | 8,4902 | 7,92128 | 8,49 |
| 2 | 7,8041 | 7,7545 | 7,7353 | 7,8728 | 7,394035 | 8,12 |
| 3 | 7,7024 | 7,6921 | 7,6417 | 7,778 | 7,31614 | 7,8 |
| 4 | 7,6742 | 7,6277 | 7,6408 | 7,4561 | 7,22159 | 7,52 |
| 5 | 7,6567 | 7,6122 | 7,6072 | 7,42 | 7,198825 | 7,45 |
| 6 | 7,6413 | 7,5556 | 7,508 | 7,3627 | 7,142575 | 7,32 |
| 7 | 7,6279 | 7,5308 | 7,4754 | 7,2447 | 7,100525 | 7,26 |
| 8 | 7,5918 | 7,5147 | 7,4031 | 6,5922 | 6,94371 | 7,26 |
| 9 | 7,5682 | 7,3858 | 7,3829 | 6,3557 | 6,83727 | 7,22 |
| 10 | 6,1594 | 7,278 | 5,9774 | 5,9587 | 6,22233 | 7,22 |
| 11 | 5,9138 | 5,4556 | 5,7683 | 5,6409 | 5,35115 | 7,16 |
| 12 | 5,0024 | 4,699 | 5,3203 | 4,8494 | 4,6639 | 4,68 |
| 13 | 4,2984 | 4,0242 | 4,2253 | 4,1143 | 3,92236 | 4,19 |
| 14 | 4,1706 | 3,9227 | 4,1457 | 3,8684 | 3,79749 | 4,02 |
| 15 | 3,3583 | 3,7351 | 3,7606 | 3,8332 | 3,516545 | 3,87 |
| 16 | 3,177 | 3,5104 | 3,0615 | 3,383 | 3,16961 | 3,01 |
| 17 | 3,1237 | 3,3882 | 2,7966 | 3,2174 | 3,026635 | 2,96 |
| 18 | 2,9271 | 2,7424 | 2,7147 | 2,656 | 2,610165 | 2,82 |
| 19 | 2,8257 | 2,1689 | 2,6163 | 2,2328 | 2,261235 | 2,77 |
| 20 | 2,4047 | 2,1094 | 2,3668 | 2,1863 | 2,115085 | 1,98 |
| 21 | 2,3977 | 2,0112 | 2,323 | 2,113 | 2,051335 | 1,98 |
| 22 | 2,0034 | 1,7162 | 1,9658 | 1,6819 | 1,71653 | 1,98 |
| Boltzman | 0,15 | 0,4 | 0,2 | 0,2 | | |

¹H

| N° | ¹ H | Average | Exp |
|----------|----------------|---------|------|
| 1 | 8,3962 | 8,3962 | 8,49 |
| 2 | 7,8339 | 7,8339 | 8,12 |
| 3 | 7,7749 | 7,7749 | 7,8 |
| 4 | 7,7006 | 7,7006 | 7,52 |
| 5 | 7,6983 | 7,6983 | 7,45 |
| 6 | 7,6462 | 7,6462 | 7,32 |
| 7 | 7,6113 | 7,6113 | 7,26 |
| 8 | 7,6036 | 7,6036 | 7,26 |
| 9 | 7,5549 | 7,5549 | 7,22 |
| 10 | 5,8864 | 5,8864 | 7,22 |
| 11 | 4,9372 | 4,9372 | 7,16 |
| 12 | 4,7434 | 4,7434 | 4,68 |
| 13 | 4,2339 | 4,2339 | 4,19 |
| 14 | 3,6594 | 3,6594 | 4,02 |
| 15 | 3,4377 | 3,4377 | 3,87 |
| 16 | 3,3679 | 3,3679 | 3,01 |
| 17 | 3,0648 | 3,0648 | 2,96 |
| 18 | 3,0075 | 3,0075 | 2,82 |
| 19 | 2,3111 | 2,3111 | 2,77 |
| 20 | 2,2916 | 2,2916 | 1,98 |
| 21 | 1,8878 | 1,8878 | 1,98 |
| 22 | 1,5864 | 1,5864 | 1,98 |
| Boltzman | 100 | | |

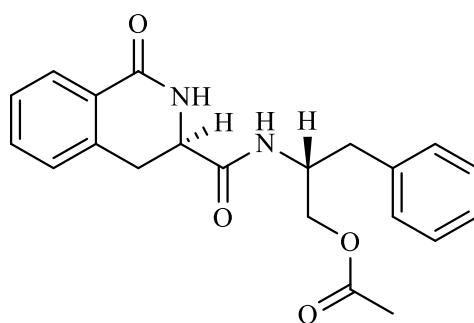
La théorie hybride par calcul des déplacements chimiques de RMN (mPW1PW91/6-311+G** (d, p)) : ¹³C et ¹H



| N° | 1 | 2 | 3 | Average | Exp. |
|----------|----------|----------|----------|------------|-------|
| 1 | 182,8605 | 182,7611 | 181,7876 | 182,531846 | 171,6 |
| 2 | 176,669 | 177,7803 | 176,7831 | 177,254316 | 170,7 |
| 3 | 168,6343 | 171,5855 | 168,6733 | 170,12004 | 166,6 |
| 4 | 144,4248 | 145,0394 | 143,8841 | 144,591518 | 138,8 |
| 5 | 143,9915 | 143,7998 | 143,6317 | 143,802102 | 138,5 |
| 6 | 138,2291 | 138,3697 | 138,7464 | 138,433898 | 134,5 |
| 7 | 134,3514 | 134,7744 | 134,1796 | 134,518232 | 131,7 |
| 8 | 133,8622 | 133,4826 | 133,7874 | 133,652952 | 129,6 |
| 9 | 133,4328 | 133,4215 | 133,0156 | 133,318678 | 129,6 |
| 10 | 133,2525 | 132,7524 | 132,9667 | 132,928142 | 129,6 |
| 11 | 132,7685 | 132,7086 | 132,8705 | 132,76507 | 128,6 |
| 12 | 132,6556 | 132,1861 | 132,5955 | 132,405224 | 128,5 |
| 13 | 132,4401 | 131,7296 | 132,0371 | 131,98007 | 128,5 |
| 14 | 131,5422 | 131,6196 | 131,8217 | 131,65357 | 127,9 |
| 15 | 131,4376 | 131,3761 | 130,4992 | 131,162866 | 126,7 |
| 16 | 66,4253 | 69,2823 | 69,1679 | 68,566876 | 65,1 |
| 17 | 59,4449 | 62,0326 | 58,78 | 60,565876 | 55,3 |
| 18 | 58,171 | 56,0244 | 56,8457 | 56,753122 | 49,6 |
| 19 | 40,8133 | 38,5826 | 39,5243 | 39,36281 | 37,7 |
| 20 | 32,7067 | 35,2169 | 32,7272 | 33,96713 | 37,1 |
| 21 | 22,4002 | 22,4845 | 22,2917 | 22,41414 | 21,1 |
| Boltzman | 0,24 | 0,5 | 0,26 | | |

➤ ¹H

| | 1 | 2 | 3 | Average | Exp |
|----------|--------|--------|--------|----------|------|
| 1 | 8,3997 | 8,3835 | 8,5912 | 9,28136 | 8,49 |
| 2 | 7,8713 | 7,852 | 7,9893 | 8,67946 | 8,12 |
| 3 | 7,7926 | 7,7472 | 7,8873 | 8,573782 | 7,8 |
| 4 | 7,7313 | 7,7463 | 7,5595 | 8,467262 | 7,52 |
| 5 | 7,7196 | 7,713 | 7,5217 | 8,436806 | 7,45 |
| 6 | 7,6568 | 7,6136 | 7,4548 | 8,34836 | 7,32 |
| 7 | 7,6365 | 7,5798 | 7,3468 | 8,296478 | 7,26 |
| 8 | 7,6202 | 7,5049 | 6,6741 | 8,078584 | 7,26 |
| 9 | 7,4026 | 7,4816 | 6,4295 | 7,929354 | 7,22 |
| 10 | 7,3801 | 6,0254 | 6,0104 | 7,084638 | 7,22 |
| 11 | 5,5062 | 5,7927 | 5,6786 | 6,244894 | 7,16 |
| 12 | 4,6818 | 5,2931 | 4,8279 | 5,493616 | 4,68 |
| 13 | 4,0517 | 4,2454 | 4,1327 | 4,57478 | 4,19 |
| 14 | 3,9417 | 4,1682 | 3,8867 | 4,43482 | 4,02 |
| 15 | 3,7526 | 3,7536 | 3,8148 | 4,144532 | 3,87 |
| 16 | 3,4781 | 3,075 | 3,3715 | 3,596644 | 3,01 |
| 17 | 3,3922 | 2,8303 | 3,2266 | 3,407414 | 2,96 |
| 18 | 2,7293 | 2,7366 | 2,6657 | 2,989344 | 2,82 |
| 19 | 2,1527 | 2,6042 | 2,2575 | 2,620968 | 2,77 |
| 20 | 2,0974 | 2,3517 | 2,1725 | 2,453816 | 1,98 |
| 21 | 2,0528 | 2,3177 | 2,097 | 2,402022 | 1,98 |
| 22 | 1,7393 | 1,9868 | 1,7049 | 2,028036 | 1,98 |
| Boltzman | 0,34 | 0,5 | 0,26 | | |

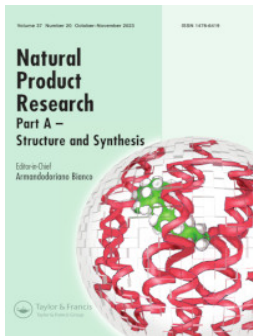


➤ ^{13}C

| No | 1 | 2 | 3 | 4 | Average | Exp |
|----------|----------|----------|----------|----------|------------|-------|
| 1 | 182,7929 | 179,0211 | 178,9372 | 178,9372 | 179,612805 | 171,6 |
| 2 | 176,8017 | 174,6782 | 174,7588 | 174,7588 | 175,086749 | 170,7 |
| 3 | 168,1067 | 170,2598 | 170,2282 | 170,2281 | 169,875096 | 166,6 |
| 4 | 144,9429 | 144,1935 | 144,8733 | 144,8732 | 144,721947 | 138,8 |
| 5 | 144,0174 | 144,0752 | 144,2054 | 144,2054 | 144,142192 | 138,5 |
| 6 | 138,0514 | 138,6569 | 138,5828 | 138,5828 | 138,510246 | 134,5 |
| 7 | 134,7195 | 134,8833 | 135,2366 | 135,2365 | 135,063868 | 131,7 |
| 8 | 134,222 | 134,2132 | 133,7689 | 133,7689 | 133,952559 | 129,6 |
| 9 | 133,3782 | 133,529 | 132,9508 | 132,9507 | 133,162193 | 129,6 |
| 10 | 133,0382 | 133,2826 | 132,9262 | 132,9262 | 133,030776 | 129,6 |
| 11 | 132,7958 | 132,9449 | 132,8751 | 132,8752 | 132,878404 | 128,6 |
| 12 | 132,6666 | 132,8578 | 132,6567 | 132,6567 | 132,706647 | 128,5 |
| 13 | 132,448 | 131,6903 | 131,614 | 131,6139 | 131,774059 | 128,5 |
| 14 | 131,5162 | 131,5372 | 131,5759 | 131,576 | 131,556496 | 127,9 |
| 15 | 131,221 | 131,4447 | 131,114 | 131,114 | 131,211558 | 126,7 |
| 16 | 67,9393 | 65,0569 | 69,7079 | 69,7079 | 68,290998 | 65,1 |
| 17 | 59,1139 | 59,2655 | 58,5488 | 58,5488 | 58,816875 | 55,3 |
| 18 | 58,071 | 52,1816 | 51,4631 | 51,4628 | 52,758784 | 49,6 |
| 19 | 36,7881 | 41,1867 | 41,324 | 41,3239 | 40,519912 | 37,7 |
| 20 | 32,8129 | 33,7688 | 33,207 | 33,207 | 33,274835 | 37,1 |
| 21 | 22,2238 | 21,6593 | 21,6134 | 21,6134 | 21,728184 | 21,1 |
| Boltzman | 0,17 | 0,24 | 0,26 | 0,33 | | |

➤ ¹H

| No | 1 | 2 | 3 | 4 | Average | Exp |
|----------|--------|--------|--------|--------|----------|------|
| 1 | 8,5097 | 8,3442 | 8,3329 | 8,3329 | 8,365668 | 8,49 |
| 2 | 8,3342 | 7,8571 | 7,8365 | 7,8365 | 7,926053 | 8,12 |
| 3 | 7,8563 | 7,7266 | 7,7193 | 7,7194 | 7,744375 | 7,8 |
| 4 | 7,7879 | 7,715 | 7,6902 | 7,6902 | 7,712761 | 7,52 |
| 5 | 7,7151 | 7,6774 | 7,6716 | 7,6716 | 7,680387 | 7,45 |
| 6 | 7,7136 | 7,671 | 7,6672 | 7,6672 | 7,676 | 7,32 |
| 7 | 7,6993 | 7,6292 | 7,613 | 7,613 | 7,631559 | 7,26 |
| 8 | 7,6943 | 7,6127 | 7,5602 | 7,5602 | 7,595597 | 7,26 |
| 9 | 7,6443 | 7,5336 | 7,5472 | 7,5472 | 7,560443 | 7,22 |
| 10 | 7,6314 | 6,8253 | 6,4723 | 6,4722 | 6,754034 | 7,22 |
| 11 | 5,4974 | 5,5478 | 5,4286 | 5,4285 | 5,468871 | 7,16 |
| 12 | 4,2277 | 4,2084 | 4,4354 | 4,4355 | 4,345644 | 4,68 |
| 13 | 4,1683 | 3,9895 | 3,7023 | 3,7023 | 3,850448 | 4,19 |
| 14 | 3,7879 | 3,5846 | 3,6966 | 3,6965 | 3,685208 | 4,02 |
| 15 | 3,5587 | 3,4977 | 3,6871 | 3,6871 | 3,619816 | 3,87 |
| 16 | 3,53 | 3,4252 | 3,4372 | 3,4372 | 3,450096 | 3,01 |
| 17 | 3,3701 | 3,4083 | 3,279 | 3,279 | 3,325519 | 2,96 |
| 18 | 3,2647 | 2,874 | 2,9493 | 2,9494 | 2,984879 | 2,82 |
| 19 | 2,6077 | 2,8521 | 2,8538 | 2,8538 | 2,811555 | 2,77 |
| 20 | 2,4145 | 2,714 | 2,7308 | 2,7308 | 2,672997 | 1,98 |
| 21 | 2,3381 | 2,187 | 2,1587 | 2,1587 | 2,19599 | 1,98 |
| 22 | 1,8661 | 1,6818 | 1,6617 | 1,6617 | 1,701272 | 1,98 |
| Boltzman | 0,17 | 0,24 | 0,26 | 0,33 | | |






Schweinfurthamide, a new alkaloid isolated from the tuber roots of *Asparagus flagellaris* Baker (Liliaceae)

Elodie Nguelami Kamdeu, Adèle Nicaise Menye Nomo, Abdou Tchoukoua, Orleans Ngomo, Pascal Djimeli Douanla, Marguerite Hortence Tchuendem Kenmogne, Yoshihito Shiono & Turibio Kuate Tabopda

To cite this article: Elodie Nguelami Kamdeu, Adèle Nicaise Menye Nomo, Abdou Tchoukoua, Orleans Ngomo, Pascal Djimeli Douanla, Marguerite Hortence Tchuendem Kenmogne, Yoshihito Shiono & Turibio Kuate Tabopda (18 Sep 2023): Schweinfurthamide, a new alkaloid isolated from the tuber roots of *Asparagus flagellaris* Baker (Liliaceae), Natural Product Research, DOI: [10.1080/14786419.2023.2257358](https://doi.org/10.1080/14786419.2023.2257358)

To link to this article: <https://doi.org/10.1080/14786419.2023.2257358>

 View supplementary material 

 Published online: 18 Sep 2023.


 Submit your article to this journal 

 View related articles 

 View Crossmark data 



Schweinfurthamide, a new alkaloid isolated from the tuber roots of *Asparagus flagellaris* Baker (Liliaceae)

Elodie Nguelami Kamdeu^a, Adèle Nicaise Menye Nomo^a, Abdou Tchoukoua^b, Orleans Ngomo^a, Pascal Djimeli Douanla^a, Marguerite Hortense Tchuendem Kenmogne^a, Yoshihito Shiono^c and Turibio Kuiate Tabopda^{a,c} 

^aDepartment of Organic Chemistry, Faculty of Sciences, University of Yaounde 1, Yaounde, Cameroon; ^bDepartment of Chemistry, Faculty of Science, University of Maroua, Maroua, Cameroon; ^cDepartment of Food, Life, and Environmental Science, Faculty of Agriculture, Yamagata University, Tsuruoka, Yamagata, Japan

ABSTRACT

The phytochemical investigations of the tuber roots of *Asparagus flagellaris* led to the isolation of a new alkaloid, schweinfurthamide (**1**) and eight known compounds. The structures of the isolated compounds were elucidated using spectroscopic techniques 1D and 2D NMR (¹H, ¹³C, COSY, HMBC, HMQC, HSQC-TOCSY). The absolute configuration of **1** was unambiguously determined using DP4+ calculations. Compound **1** showed significant cytotoxicity against MCF-7 (breast cancer), NCI-H460 (lung cancer), and Hela (cervical cancer) cancer cell lines with IC₅₀ values of 1.18 ± 0.02 μM, 2.25 ± 0.19 μM, and 4.23 ± 0.26 μM, respectively and no toxicity against normal human fibroblast (BJ).

ARTICLE HISTORY

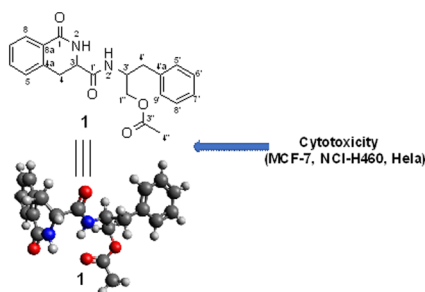
Received 8 May 2023
Accepted 5 September 2023

KEYWORDS

Asparagus flagellaris;
alkaloid; DP4+
calculation; cytotoxicity




Asparagus flagellaris



1. Introduction

The genus *Asparagus* (Asparagaceae) comprises about 300 species around the World. The plants of this genus have been used by local people as vegetables and medicines

CONTACT Turibio Kuiate Tabopda  ttabopda@yahoo.fr

 Supplemental data for this article can be accessed online at <https://doi.org/10.1080/14786419.2023.2257358>.

© 2023 Informa UK Limited, trading as Taylor & Francis Group

due to their soothing flavour and health-beneficial properties (Chauhan et al. 2011). In some countries, they have been used as an anticancer herbal medicine for a long time. Pharmacological studies on this plant have demonstrated anti-inflammatory, antispasmodic, cytotoxic, diuretic, antimutagenic, aphrodisiac, galactogogue, and anti-fungal activities (Xuefeng and Lingyi 2006; Chauhan et al. 2011). A considerable number of chemical constituents, including flavonoids, oligosaccharides, amino acid derivatives, phenolic compounds, and steroidal saponins, etc. (Mandal et al. 2006; Xuefeng and Lingyi 2006) have been isolated from its roots and shoots. *Asparagus flagellaris* (synonym *Asparagus schweinfurhii*) is a plant of the Asparagaceae family native to Africa. It is commonly found in tropical and subtropical regions around the World. *A. flagellaris* is used in traditional medicine to treat eyesight troubles, stitch, Guinea worm, diabetes, throat troubles, haematuria, schistosomiasis, syphilis, gonorrhoea, and other sexually transmitted diseases (Ruffo et al. 2002; Zhang et al. 2004; Mandal et al. 2006). Various biological and pharmacological activities of *A. flagellaris* extracts have been reported, such as anti-inflammatory, anticancer, antidiabetic, anti-tussive, antimutagenic, cardiovascular, and antifungal activities (Shimoyamada et al. 1990; Shao et al. 1997; Tang and Gao 2001; Jang et al. 2004; Mishra and Verma 2017; Pooja and Anurag 2017). Previous phytochemical investigations of different parts of *A. flagellaris* led to reports of different constituent classes, including flavonoids, oligosaccharides, amino acid derivatives, steroids, phenolic compounds, norlignans, and steroidal saponins (Zhang et al. 2004; Tantapakul et al. 2020). Steroidal saponins were shown to be the major components and suggested to be responsible for the biological activities of this plant. We reported herein the isolation and structure elucidation of a new alkaloid, schweinfurthiamide (**1**), along with eight known compounds.

2. Results and discussion

The EtOAc fraction of the MeOH–H₂O (80:20) extract of the tuber roots of *Asparagus flagellaris* was submitted to vacuum liquid chromatography (VLC) and then fractionated by repeated medium-pressure liquid chromatography (MPLC) over normal and reversed-phase (RP-18) silica gel yielding a new alkaloid called schweinfurthiamide (**1**), together with eight known compounds (**2–9**). The structure of the new compounds was established mainly by spectroscopic 1D and 2D NMR experiments (¹H, ¹³C, COSY, HMQC, HMBC, see Table S1), HR-TOF-MS, and DP4+ calculations. The known compounds **2–9** were identified by comparison of their spectral data with those reported in the literature as 3-*O*- α -L-rhamnopyranosyl-(1 \rightarrow 4)- β -D-galactopyranoside diosgenine (**2**) (Espejo et al. 1982), 3-*O*- α -L-rhamnopyranosyl-(1 \rightarrow 2)-[α -L-rhamnopyranosyl-(1 \rightarrow 3)]- β -D-galactopyranosyl diosgenine (**3**) (Du et al. 2002), (25S) furost-5-en-3 β ,22 α ,26-triol-3-*O*-([α -L-rhamnopyranosyle-(1 \rightarrow 2)]-[α -L-rhamnopyranosyle-(1 \rightarrow 4)]- β -D-glucopyranoside)-26-*O*- β -D-glucopyranosyle (Shao et al. 1997; Huang et al. 2009) (**4**), (25S) 22-methoxyfurost-5-en-3 β ,22 α ,26-triol-3-*O*-([α -L-rhamnopyranosyle-(1 \rightarrow 2)]-[α -L-rhamnopyranosyle-(1 \rightarrow 4)]- β -D-glucopyranoside)-26-*O*- β -D-glucopyranosyle (**5**) (Shao et al. 1997; Huang et al. 2009), (20S, 22R, 25R) 5 β -spirost-3 β -*O*-glucopyranosyl-(1 \rightarrow 2)- β -D-glucopyranosyle (**6**) (Zhang et al. 2004), (20S, 22R, 25S) 5 β -spirost-3 β -*O*-glucopyranosyl-(1 \rightarrow 2)- β -D-glucopyranosyle (**7**) (Zhang et al. 2004), (+)-nyasol (**8**) (Oketch-Rabah et al. 1997; Tsui and Brown 1996), and

3''-methoxynyasol (**9**) (Yang et al. 2004). Compounds **5/6** and **7/8** were obtained as mixtures.

Compound **1** was isolated as a white powder. It exhibited a pseudo-molecular ion peak (positive-ion HR-TOF-MS) at m/z 367.1646 ($[M+H]^+$) (calculated for $C_{21}H_{23}N_2O_4^+$: 367.1652). The 1H NMR spectrum (Table S1) revealed the presence of a 1,2-disubstituted benzene ring at δ_H 7.32 (1H, d, 7.3Hz, H-5), 7.52 (1H, t, 7.3Hz, H-6), 7.45 (1H, t, 7.3Hz, H-7), and 7.80 (1H, d, 6.9Hz, H-5); a monosubstituted benzene ring at δ_H 7.16–7.26 (5H). The ^{13}C NMR spectrum (Table S1) confirmed the presence of two aromatic rings with eight aromatic carbons signal at δ_C 126.7 (C-7'), 127.9 (C-7), 128.5 (C-6', C-8, C-8'), 129.6 (C-5, C-5', C-9'), 131.7 (C-6), 134.5 (C-8a), 138.5 (4'a), and 138.8 (4a), three of which are quaternary carbons (δ_C 134.5, 138.5, and 138.8). The other signals were attributed to two amide carbonyls at δ_C 166.6 (C-1) and 171.6 (C-1'), an acetyl group at δ_C 21.1 (C-4'') and 170.7 (C-3''), an oxygenated methylene at δ_C 65.1 (C-1''), two deshielded methine at δ_C 49.6 (C-3') and 55.3 (C-3), and two methylene carbons linked to a benzene ring at δ_C/δ_H 37.1/2.82 dd (6.4, 13.8) and 2.77 dd (7.8, 13.8) and δ_C/δ_H 37.7/2.96 dd (10.0, 13.8) and 3.01 dd (5.0, 13.8) assigned to C-4'/H-4' and C-4/H-4, respectively. The 1H NMR spectrum of **1** also showed two protons linked to nitrogen atoms at δ_H 8.12 d (8.3) and 8.49 d (8.5Hz). The structure of **1** was established using the combination of 1D and 2D NMR spectra. In the HMBC spectrum (Figure S4), important correlations from H-3 to C-1, C-4a, and C-1', H-3' to C-1', C-3', C-4', and C-1'' and H-4' (δ_H 2.82, 2.77) to C-3', C-4'a, C-5'/C-9', C-1'', N-H (δ_H 8.12) to C-1' and C-3' suggested the presence of two amide groups. The presence of two NH protons was confirmed by the HSQC-TOCSY correlations between 2-N-H (δ_H 8.49) and carbon atoms at δ_C 55.3 (C-3) and 37.7 (C-4), and 2'-N-H (δ_H 8.12) and carbon atoms at δ_C 49.6 (C-3'), 37.1 (C-4'), and 65.1 (C-1''). The COSY correlations of H-3 (δ_H 4.68) with 2-N-H (δ_H 8.49) and H-4 (δ_H 2.96); H-3' (δ_H 4.19) with 2'-N-H (δ_H 8.12), H-1'' (δ_H 3.87), and H-4' (δ_H 2.82) strongly supported the proposed structure. 1H and ^{13}C NMR chemical shift calculations (gas phase) were performed to determine the configuration of **1**. The DP4+ calculation of epimer labelled compounds **1a** (3S*,3'S) and **1b** (3R*,3'S*) were performed using the gauge-independent atom orbital (GIAO) method at the B3LYP/6-311+G(d,p) and mPW1PW91/6-311+G(d,p) theoretical level methods. Comparison of the chemical shifts of **1a** and **1b** with the experimental values (Figures S12–S15) was performed using the fitting correlation coefficients (R^2) and DP4+ method. The R^2 values of 1H and ^{13}C NMR were 0.9702 (**1a**: 1H), 0.9343 (**1b**: 1H), 0.9978 (**1a**: ^{13}C), and 0.9998 (**1b**: ^{13}C) from B3LYP/6-311+G(d,p) at DMSO calculations, while the R^2 values of 1H and ^{13}C NMR were 0.9714 (**1a**: 1H), 0.9571 (**1b**: 1H), 0.4663 (**1a**: ^{13}C), and 0.9989 (**1b**: ^{13}C) from mp1pw91/6-311+G(d,p) at DMSO calculations. The DP4+ (H data, C data, and all data) calculated data matched with **1b** isomer data in both mPW1PW91 and B3LYP cases (probability of 100%). Hence, compound **1b** was established as (3R,3'R)-(1-oxo-1,2,3,4-tetrahydroisoquinoline-3-carboxamido)-3-phenylpropyl acetate, a new alkaloid named schweinfurthamide.

2.1. Biological evaluation

The cytotoxicity of the some isolated compounds (**1 – 3**, **5/6**, **7/8**, **9**) was evaluated against three human cancer cells ((MCF-7 (breast cancer), NCI-H460 (lung cancer), and Hela (cervical cancer)) and normal human fibroblast (BJ) cell line. Among them,

compound **1** showed significant cytotoxicity against MCF-7 (breast cancer), NCI-H460 (lung cancer), and HeLa (cervical cancer) cancer cell lines with IC_{50} values of $1.18 \pm 0.02 \mu\text{M}$, $2.25 \pm 0.19 \mu\text{M}$, and $4.23 \pm 0.26 \mu\text{M}$, respectively. Compounds **5/6**, **7/8**, and **9** showed marginal activities with IC_{50} in the range of 20–40 μM , and compounds **2** and **3** were inactive ($IC_{50} > 50 \mu\text{M}$). Compound **4** was not evaluated because of lack of material.

3. Experimental section

3.1. General experimental procedures

The 1D and 2D NMR spectra were recorded with a JEOL JNM-ECZ600R/S1 600 MHz NMR spectrometer (600 MHz for ^1H and 150 MHz for ^{13}C NMR spectra). Conventional pulse sequences were used for COSY, HMQC, HSQC-TOCSY, and HMBC. The ^1H (600 MHz) and ^{13}C (150 MHz) chemical shifts were referenced to the residual and are given in ppm (δ), relative to TMS as internal standard while the coupling constants expressed in Hz. Column chromatography (CC) was performed with silica gel 60 (40–63 μm), 70–230 mesh particle size (Darmstadt, Germany), as the adsorbent. Visualisation of the TLC was achieved on Merck precoated aluminium silica gel 60 F254 sheets at 254 nm and compounds were detected using vanillin spray reagent after heating.

3.2. Plant materials

Asparagus flagellaris tuber roots (Liliaceae) were collected at 40 km in the south of Maroua (10°35'N, 14°19'E, Alt 406 m), Far North Region of Cameroon and identified by Mr. Tapsou, botanist at the Institute of Agricultural Research for Development in April 2019 and a specimen was deposited at the National Herbarium of Cameroon at reference number N° 49880 HNC.

3.3. Extraction and isolation

The air-dried and powdered tuber roots of *Asparagus flagellaris* (200 g) were extracted with MeOH/H₂O (80/20) at room temperature. After filtration and evaporation procedures, 37 g of crude extract was obtained. The crude extract was dissolved in H₂O (200 mL), and successively partitioned with hexane (3 × 200 mL, 5 g), EtOAc (3 × 200 mL, 8 g), and n-BuOH (3 × 200 mL, 17 g) saturated with H₂O. Part of the EtOAc fraction (4 g), was subjected to repeated CC over silica gel and eluted with CH₂Cl₂-MeOH-H₂O (80:20:2, 70:30:5, 65:35:10, 60:32:8) to give 13 fractions (F1–F13). Fr. 1–4 (720 mg) was subjected to ODS CC, eluted with stepwise MeOH/H₂O (30/70–100/0, v/v; each 20 mL) followed by purification with sephadex LH-20 to afford compounds **4** (3.8 mg), **5/6** (15.0 mg), **9** (27.2 mg). Likewise, Fr. 6–8 (533 mg) was eluted with an isocratic gradient MeOH/H₂O (6:4) on ODS, followed by successive MPLC normal phase (stepwise gradient CHCl₃: MeOH: H₂O 80:20:2 and 70:30:5) column chromatography to afford **7/8** (12.8 mg). Fr. 9–12 (933 mg) were subjected to successive MPLC on a LiChroprep RP-18 column chromatography over sephadex LH-20 (MeOH/H₂O 75/25), CH₂Cl₂/MeOH (100/2) and

sephadex LH-20 (MeOH) to afford compound **1** (58.7 mg), **2** (16.8 mg), and **3** (4.2 mg). All the compounds were further purified using sephadex LH-20.

3.3.1. Schweinfurthiamide

White powder; $[\alpha]_D^{25} +18.7^\circ$ (c 0.35, CD₃OD); HR-TOF-MS (positive-ion mode) m/z 367.1646 $[M+H]^+$ calcd for C₂₁H₂₃N₂O₄⁺: 367.1652. ¹H NMR (DMSO-d₆, 600 MHz): δ_H 8.49 (d, $J=8.5$ Hz, 1H, 2-NH), 8.12 (d, $J=8.3$ Hz, 1H, 2'-NH), 7.80 (d, $J=6.9$ Hz, 1H, H-8), 7.52 (t, $J=7.52$ Hz, 1H, H-6), 7.45 (t, $J=7.3$ Hz, 1H, H-7), 7.32 (d, $J=7.3$ Hz, 1H, H-5), 7.26 (m, 2H, H-5' and H-9'), 7.22 (m, 2H, H-6' and H-8'), 7.16 (m, 1H, H-7'), 4.68 (m, 1H, H-3), 4.19 (m, 1H, H-3'), 4.02 (dd, $J=4.9, 11.0$ Hz, 1H, H-1''b), 3.87 (dd, $J=6.7, 11.0$ Hz, 1H, H-1''a), 3.01 (dd, $J=5.0, 13.8$ Hz, 1H, H-4a), 2.96 (dd, $J=10.0, 13.8$ Hz, 1H, H-4b), 2.82 (dd, $J=6.4, 13.8$ Hz, 1H, H-4'a), 2.77 (dd, $J=7.8, 13.8$ Hz, 1H, H-4'b), 2.04 (s, 3H, H3-4''); ¹³C NMR (DMSO-d₆, 600 MHz): δ_C 171.6 (C, C-1'), 170.7 (C, C-3''), 166.6 (C, C-1), 138.8 (C, C-4a), 138.5 (C, C-4'a), 134.5 (C, C-8a), 131.7 (CH, C-6), 129.6 (3 x CH, C-5, C-5', and C-9'), 128.5 (3 x CH, C-8, C-6', and C-8'), 127.9 (CH, C-7), 126.7 (CH, C-7'), 65.1 (CH₂, C-1''), 55.3 (CH, C-3), 49.6 (CH, C-3'), 37.7 (CH₂, C-4), 37.1 (CH₂, C-4'), 21.1 (CH₃, C-4'').

3.4. Calculated ¹³C NMR data of **1**

Conformational analyses were performed by random searching with an energy cutoff of 3.5 kcal/mol using the GMMX program software. The MMFF94S force field was employed. The conformers were reoptimized in the gas phase at the DFT/B3LYP/6-311+G(d) and DFT/mPW1PW91/6-311+G(d) levels using the Gaussian 16 program. The ¹H and ¹³C NMR shielding constants of **1** were calculated by the GIAO method at the B3LYP/6-311+G(d) level of theory in gas phase. The computational ¹H, ¹³C and (¹H and ¹³C NMR data) were obtained by linear regression. The ¹H and ¹³C NMR chemical shift of tetramethylsilane was calculated at the same level and used as reference. The calculated NMR data of these conformers were averaged according to the Boltzmann distribution theory. Boltzmann distributions were estimated from the B3LYP and mPW1PW91 energies. The linear correlation coefficient (R^2) and RSME were calculated for evaluation of the deviations between the experimental and calculated results.

3.4.1. Cytotoxicity

Cell lines MCF-7, NCI-H460, and HeLa and BJ (normal human fibroblast) were collected from cell culture biobank (PCMD, ICCBS). DMEM medium was used for MCF-7, HeLa, and BJ, and RPMI (ATCC-modified medium) was used for NCI-H460. The media was supplemented with 10% FBS, 100 IU/mL of penicillin, and 100 μ g/mL of streptomycin, and kept at 37°C in a 5% CO₂ incubator. The inhibition was investigated by MTT assay. Briefly, 100 μ L/well of cell solutions (10 \times 10⁴ cells/mL MCF-7 cells, 5 \times 10⁴ cells/mL NCI-H460 cells, 6 \times 10⁴ cells/mL HeLa cells, or 5 \times 10⁴ cells/mL BJ cells), were added into 96-well plate and incubated for 24 h at 37°C, before treatment with positive control doxorubicin and tested compounds 6.25–50 μ M, or negative control DMSO for 48 h. After this, 20 μ L of MTT (5 mg/mL) was added to each well and then

incubated for 4 h at 37 °C. Then 100 µL DMSO was added to each well to dissolve the purple formazan crystal. The absorbance was analysed at 570 nm (for MCF-7, NCI-H460, and HeLa) and 550 nm (for BJ) using an ELISA plate reader. The IC₅₀ value of active compounds was calculated using the EZ-Fit.

Acknowledgments

The authors are grateful to JSPS for the JSPS invitational fellowship (Fellowship ID : L20520) to Turibio Tabopda Kuate.

Disclosure statement

No potential conflict of interest was reported by the author(s)

Funding

The author(s) reported there is no funding associated with the work featured in this article.

ORCID

Turibio Kuate Tabopda  <http://orcid.org/0000-0002-2542-362X>

References

- Chauhan S, Singh R, Gokhale Y, Lhouvum G, Basu AR. 2011. Medicinal plant wealth of India, a comprehensive review of selected species, published by 'The Energy and Resources Institute (TERI), Prepared for National medicinal plants board. Government of India, Ministry of Health & Family Welfare.
- Du SH, Liu WY, Fu TJ, Xia BG, Xia CD. 2002. Isolation and identification of saponins in total saponin from *Dioscorea nipponica* Makino. Yao Xue Xue Bao. 37(4):267–270.
- Espejo O, Llavot JC, Jung H, Giral F. 1982. Spirostanic diosgenin precursors from *Dioscorea composite* tubes. Phytochemistry. 21(2):413–416. doi:10.1016/S0031-9422(00)95278-6.
- Huang HL, Liu RH, Shao F. 2009. Structural determination of two new steroidal saponins from *Smilax China*. Magn Reson Chem. 47(9):741–745. doi:10.1002/mrc.2455.
- Jang DS, Cuendet M, Fong HHS, Pezzuto JM, Kinghorn AD. 2004. Constituents of *Asparagus officinalis* evaluated for inhibitory activity against cyclooxygenase-2. J Agric Food Chem. 52(8):2218–2222. doi:10.1021/jf0305229.
- Mandal D, Banerjee S, Mondal NB, Chakravarty AK, Sahu NP. 2006. Steroidal saponins from the fruits of *Asparagus racemosus*. Phytochemistry. 67(13):1316–1321. doi:10.1016/j.phytochem.2006.04.005.
- Mishra JN, Verma NK. 2017. *Asparagus racemosus*: chemical constituents and pharmacological activities: a review. Eur J Biomed Pharmaceut Sci. 4:207–213.
- Oketch-Rabah HA, Dossaji SF, Christensen SB, Frydenvang K, Lemmich E, Cornett C, Olsen CE, Chen M, Kharazmi A, Theander T. 1997. Antiprotozoal compounds from *Asparagus africanus*. J Nat Prod. 60(10):1017–1022. doi:10.1021/np970217f.
- Ruffo CK, Birnie A, Tengnas B. 2002. Edible wild plants of Tanzania. In Technical Handbook No 27. Regional Land Management Unit/SIDA, Nairobi, Kenya; p. 766.
- Pooja S, Anurag B. 2017. Pharmacological profile of *Asparagus racemosus*: a review. Int J Curr Microbiol App Sci. 6(11):1215–1223.

- Shao Y, Poobrasert O, Kennelly EJ, Chin CK, Ho CT, Huang MT, Garrison SA, Cordell GA. 1997. Steroidal saponins from *Asparagus officinalis* and their cytotoxic activity. *Planta Med.* 63(3):258–262. doi:[10.1055/s-2006-957667](https://doi.org/10.1055/s-2006-957667).
- Shimoyamada M, Suzuki M, Sonta H, Maruyama M, Okubo K. 1990. Antifungal activity of the saponin fraction obtained from *Asparagus officinalis* L. and its active principle. *Agric Biol Chem.* 54(10):2553–2557. doi:[10.1080/00021369.1990.10870343](https://doi.org/10.1080/00021369.1990.10870343).
- Tang XH, Gao J. 2001. Inhibitory effects of juice from *Asparagus officinalis* L. on cyclophosphamide (CTX)-induced mutagenic activities in mice. *J Nanjing Univ (Nat Sci.)* 37:569–573.
- Tantapakul C, Chaiyosang B, Promgool T, Somteds A, Suthiphasilp V, Kanokmedhakul K, Laphookhieo S, Andersen RJ, Patrick BO, Kanokmedhakul S. 2020. Spirosteroids and α -glucosidase inhibitory norlignans from *Asparagus racemosus* Willd. *Roots. Phytochemistry.* 177:112439. doi:[10.1016/j.phytochem.2020.112439](https://doi.org/10.1016/j.phytochem.2020.112439).
- Tsui WY, Brown GD. 1996. (+)-Nyasol from *Asparagus cochinchinensis*. *Phytochemistry.* 43(6):1413–1415. doi:[10.1016/S0031-9422\(96\)00442-6](https://doi.org/10.1016/S0031-9422(96)00442-6).
- Xuefeng H, Lingyi K. 2006. Steroidal saponins from roots of *Asparagus officinalis*. *Steroids.* 71:171–176.
- Yang C-X, Huang S-S, Yang X-P, Jia Z-J. 2004. Norlignans and steroidal saponins from *Asparagus gobicus*. *Planta Med.* 70(5):446–451.
- Zhang H-J, Sydara K, Tan GT, Ma C, Southavong B, Soejarto DD, Pezzuto MJ, Fong SHH. 2004. Bioactive constituents from *Asparagus cochinchinensis*. *J Nat Prod.* 67(2):194–200. doi:[10.1021/np030370b](https://doi.org/10.1021/np030370b).