

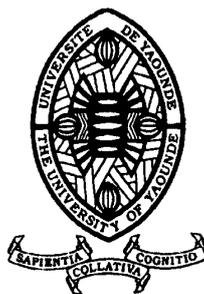
REPUBLIQUE DU CAMEROUN

*Paix – Travail – Patrie*

\*\*\*\*\*

UNIVERSITE DE YAOUNDE I  
ECOLE NORMALE SUPERIEURE  
DEPARTEMENT DE CHIMIE

\*\*\*\*\*



REPUBLIC OF CAMEROUN

*Peace – Work – Fatherland*

\*\*\*\*\*

UNIVERSITY OF YAOUNDE I  
HIGHER TEACHER TRAINING COLLEGE  
DEPARTMENT OF CHEMISTRY

\*\*\*\*\*

## **Métabolites secondaires des fruits de Macaranga hurifolia (Euphorbiaceae) : isolement et structure.**

Mémoire présenté et soutenu en exigence des conditions requises pour  
l'obtention du Diplôme de Professeur de l'Enseignement Secondaire de 2ème  
grade ( D.I.P.E.S II)

Par :

**KENGNE KITIO Nelly Laure**  
**Licenciée ès sciences**

Sous la direction  
**Marlyse Blandine OUAHOUE**  
**Chargée de Cours**

Année Académique  
2015-2016





## AVERTISSEMENT

Ce document est le fruit d'un long travail approuvé par le jury de soutenance et mis à disposition de l'ensemble de la communauté universitaire de Yaoundé I. Il est soumis à la propriété intellectuelle de l'auteur. Ceci implique une obligation de citation et de référencement lors de l'utilisation de ce document.

D'autre part, toute contrefaçon, plagiat, reproduction illicite encourt une poursuite pénale.

Contact : [biblio.centrale.uyi@gmail.com](mailto:biblio.centrale.uyi@gmail.com)

## WARNING

This document is the fruit of an intense hard work defended and accepted before a jury and made available to the entire University of Yaounde I community. All intellectual property rights are reserved to the author. This implies proper citation and referencing when using this document.

On the other hand, any unlawful act, plagiarism, unauthorized duplication will lead to Penal pursuits.

Contact: [biblio.centrale.uyi@gmail.com](mailto:biblio.centrale.uyi@gmail.com)

## CERTIFICATION

Je soussignée, OUAHOUE WACHE Blandine M., Chargé de Cours certifie que les travaux effectués par l'étudiant KENGNE KITIO Nelly Laure matricule 10T0150, portant sur "Métabolites secondaires des fruits de *Macaranga hurifolia* (Euphorbiaceae) : isolement et caractérisation, sont ses propres travaux et ont été effectués sous ma direction et dans le respect de l'art scientifique.

En foi de quoi, le présent certificat lui est délivré pour servir et valoir ce que droit.

Dr OUAHOUE Blandine

# DEDICACES

*A*

*Mes très chers parents*

*KENGNE RAPHAEL*

*À*

*MAWAMBA KITIO ZEPHIRINE,*

*Je dédie tendrement ce travail.*

# REMERCIEMENTS

Les travaux de ce mémoire ont été réalisés dans le laboratoire de substances naturelles et valorisation de l'Université de Yaoundé I et n'auraient pas pu aboutir n'eut été la contribution de nombreuses personnes qui me soit permis de les remercier ici. Je pense particulièrement :

Au Pr NKENGFACK Augustin Ephrem à qui je tiens à remercier très vivement pour avoir bien voulu m'accepter dans son équipe de recherche ;

Au Dr OUAHOUB Blandine pour m'avoir donné l'opportunité de réaliser ce mémoire et l'intérêt qu'elle a bien voulu porter à ce travail en acceptant de le diriger en dépit de ses nombreuses occupations ;

Au Dr MKOUNGA Pierre, Chargé de Cours à l'Université de Yaoundé I, pour ses conseils et sa participation active quant à l'effectivité de ce mémoire ;

Au Pr FON ABI Charles chef de département de chimie de l'Ecole Normale Supérieure pour son professionnalisme et ses qualités humaines incontestables ;

A tous les enseignants du département de Chimie l'Ecole Normale Supérieure de Yaoundé I pour la formation qu'ils m'ont donnés, pour leurs conseils et pour leur assistance qu'ils m'ont donnés et pour laquelle j'exprime ma gratitude ;

A mes aînés de laboratoire TYON Lydie, MAZA Hermine, NANGMO Pamela, MFIFEN Aristide, CHOUNDA Gwladys pour les conseils et les encouragements reçus tout au long de ce travail ;

A KHONDE Laurent Brice Roland pour son soutien dans les moments difficiles et les encouragements fourni tout au long de la réalisation de ce travail ;

A MANEGUIM Natacha Dolores pour son assistance et à qui j'exprime ma reconnaissance ;

A tous mes camarades de promotion ;

A mes parents pour l'amour, les encouragements, les multiples sacrifices et le soutien qu'ils m'ont toujours accordés. Je vous aime.

A mes grand-mères YEMELE Régine et ZAMBOU Hélène pour les multiples conseils et l'aide qu'ils m'ont toujours apporté et pour m'avoir soutenu et encouragé dans de nombreux moments de doute ;

A ma tante KITIO Alince pour son soutien affectif et moral et pour qui j'exprime ma profonde reconnaissance ;

A mes frères et sœurs Borel KANA, Falone KENGNE, Clavel CHOUMELE et Wally TEMGOUA. Qu'ils trouvent en ce mémoire le fruit de leurs efforts déployés pour ma vie académique et l'expression de ma sincère reconnaissance ;

A mes cousins et cousines pour leurs encouragements et toute leur affection.

# SOMMAIRE

DEDICACES .....	i
REMERCIEMENTS.....	ii
SOMMAIRE .....	iv
RESUME.....	vi
ABSTRACT .....	vii
LISTE DES ABREVIATIONS .....	viii
LISTE DES FIGURES.....	ix
LISTE DES TABLEAUX .....	x
INTRODUCTION.....	1
CHAPITRE I : REVUE DE LA LITTERATURE.....	5
I.1. APERÇU BOTANIQUE.....	6
I.1.1. Place de <i>Macaranga hurifolia</i> dans la systématique moderne.....	6
I.1.2. Généralités sur la famille des Euphorbiaceae.....	6
I.2. GÉNÉRALITÉS SUR LE GENRE <i>MACARANGA</i> .....	9
I.2.1. Description botanique du genre <i>Macaranga</i> .....	9
I.2.2. Répartition géographique des espèces du genre <i>Macaranga</i> dans le monde. ....	10
I.2.3. Répartition géographique des espèces du genre <i>Macaranga</i> au Cameroun. ....	10
I.3. GÉNÉRALITÉS SUR L'ESPÈCE <i>MACARANGA HURIFOLIA</i> .....	12
I.3.1. Noms vernaculaires .....	12
I.3.2. Caractères remarquables et description.....	12
I.3.2. Intérêts et usages des plantes du genre <i>Macaranga</i> .....	12
I.3.2.1. Usages sur le plan économique.....	13
I.3.2.2. Usages thérapeutiques.....	13
I.4. TRAVAUX CHIMIQUES ANTÉRIEURS ET ACTIVITÉS BIOLOGIQUES.....	14
I.4.1. Travaux chimiques antérieurs .....	14
I.4.1.1. Les mégastigmanes .....	14
I.4.1.2. Les flavonoïdes .....	15
I.4.1.2.1. Définition .....	15
I.4.1.2.2. Biosynthèse des flavonoïdes .....	16
I.4.1.2.3. Classification structurale .....	18

---

I.4.1.2.4. Flavonoïdes de Macaranga.....	20
I.4.1.2.5. Intérêt biologique des flavonoïdes .....	23
I.5. ACTIVITÉS BIOLOGIQUES DES MÉTABOLITES SECONDAIRES ISOLÉES DU GENRE <i>MACARANGA</i> .....	24
<b>CHAPITRE II : RESULTATS ET DISCUSSION.....</b>	<b>25</b>
II.1. EXTRACTION ET ISOLEMENT DES COMPOSES.....	26
II.2. ELUCIDATION DES STRUCTURES DES COMPOSES ISOLES .....	28
II.1.2. Identification du composé FMH <sub>1</sub> .....	28
II.1.3. Identification du composé FMH <sub>2</sub> .....	32
<b>INTERET PEDAGOGIQUE .....</b>	<b>37</b>
<b>CONCLUSION ET PERSPECTIVES .....</b>	<b>39</b>
<b>CHAPITRE III : PARTIE EXPERIMENTALE .....</b>	<b>41</b>
III.1. APPAREILLAGE ET MATÉRIEL VÉGÉTAL.....	42
III.1.1. Appareillage .....	42
III.1.2. Matériel végétal.....	43
III.2. EXTRACTION.....	43
III.2.1. Isolement des produits .....	43
III.2.1.1. Traitement de la fraction F <sub>3</sub> .....	44
III.2.1.3. Traitement de la fraction F <sub>4</sub> .....	45
III.2.1.4. Traitement de la fraction F <sub>6</sub> .....	46
III.3. CARACTÉRISTIQUES PHYSICO-CHIMIQUES DES COMPOSÉS ISOLÉS .....	48
<b>REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES .....</b>	<b>49</b>

## RESUME

Le présent travail porte sur l'extraction, l'isolement, la purification et la caractérisation des métabolites secondaires des fruits de *Macaranga Hurifolia*, une plante médicinale Camerounaise de la famille des Euphorbiaceae qui est utilisée en médecine traditionnelle dans le traitement de certaines maladies comme le rhumatisme, la sciatique, les douleurs lombaires.

C'est ainsi que de l'extrait au méthanol des fruits de cette plante, ont été isolés à l'aide des méthodes chromatographiques en phase liquide et sur gel de silice, quatre composés. De ces quatre composés, deux d'entre eux ont été entièrement caractérisés et identifiés respectivement à un mélange de stigmatérol et de  $\beta$ -sitostérol ainsi que l'épicatéchine. Leurs structures ont été déterminées sur la base de leurs données spectrales en particulier la résonance magnétique nucléaire à une et à deux dimensions (RMN<sup>1</sup>H, RMN<sup>13</sup>C et COSY) ainsi que la spectrométrie de masse.

**Mots clés :** Euphorbiaceae, *Macaranga hurifolia*, stigmatérol,  $\beta$ -sitostérol, épicatéchine.

# ABSTRACT

The present work deals with the extraction, the isolation, the purification and the characterization of secondary metabolites from the methanol extract of the fruits of *Macaranga Hurifolia*, a Cameroonian medicinal plant belonging of Euphorbiaceae family. This plant is used in traditional medicine for the treatment of various ailments such as the rheumatism, the sciatica, the lumbar pains.

Thus from the methanolic extract of the fruits of this plant, have been isolated using chromatographic methods in liquid phase, four compounds, two of them were entirely characterized and identified as: a mixture of stigmaterol and  $\beta$ -sitosterol and epicatechin.

The structures of these compounds have been determined by details analysis of their one and two dimension NMR (NMR  $^1\text{H}$ , NMR  $^{13}\text{C}$  and COSY) as well as ESI data and by comparison of their spectroscopic data with the previously published data.

**Key words:** Euphorbiaceae, *Macaranga hurifolia*, stigmaterol,  $\beta$ -sitosterol and epicatechin.

# LISTE DES ABREVIATIONS ET SYMBOLES

CCM : Chromatographie sur Couche Mince

CC : Chromatographie sur Colonne

M.H : *Macaranga Hurifolia*

ppm : Partie Par Million

RMN <sup>1</sup>H : Résonance Magnétique du proton

RMN <sup>13</sup>C : Résonance Magnétique Nucléaire du Carbone 13

Calc. : calculé

Int. Rel. : intensité relative

δ : Echelle de Déplacement chimique

J : Constante de couplage

MHz : Méga Hertz

Hz : Hertz

Hex : Hexane

UV : Ultra Violet

COSY : Correlation Spectroscopy

s : singulet

d : doublet

t : triplet

# LISTE DES FIGURES

Figure 1: Photo des tiges des plantes cactiformes ( <i>Euphorbia</i> ) (Judd S., 2001).....	7
Figure 2 : Feuilles de <i>Aleurites moluccana</i> (Judd S., 2001) .....	8
Figure 3: Fleur de <i>Euphorbia obesa</i> (Judd S., 2001) .....	8
Figure 4 : Tronc de <i>Macaranga hurifolia</i> (Tyon, 2014) .....	12
Figure 6 : protocole d'extraction et d'isolement des composés à partir des Fruits de <i>Macaranga hurifolia</i> .....	27
Figure 7: Spectre de RMN $^1\text{H}$ (400 MHz ; $\text{CDCl}_3$ ) de $\text{FMH}_1$ .....	30
Figure 8: Spectre de RMN $^1\text{H}$ élargi (400 MHz ; $\text{CDCl}_3$ ) de $\text{FMH}_1$ .....	30
Figure 9 : Spectre élargi de RMN $^{13}\text{C}$ (DEPT 135 ; $\text{CDCl}_3$ ) de $\text{FMH}_1$ .....	31
Figure 10 : Spectre de RMN $^{13}\text{C}$ (DEPT 135; $\text{CDCl}_3$ ) de $\text{FMH}_1$ .....	31
Figure 11: Spectre COSY de $\text{FMH}_1$ .....	32
Figure 12 : spectre de RMN $^{13}\text{C}$ de $\text{FMH}_2$ ( $\text{CDCl}_3$ ; 100 MHz) .....	33
Figure 13 : Spectre de RMN $^1\text{H}$ de $\text{FMH}_2$ ( $\text{CDCl}_3$ ; 400 MHz).....	34
Figure 14 : Spectre élargi de RMN $^1\text{H}$ ( $\text{CDCl}_3$ ; 400 MHz) de $\text{FMH}_2$ .....	35

# LISTE DES TABLEAUX

Tableau 1 : Position systématique du <i>Macaranga hurifolia</i> .....	6
Tableau 2 : Répartition géographique des espèces du genre <i>Macaranga</i> .....	10
Tableau 3 : Répartition géographique de <i>Macaranga hurifolia</i> au Cameroun .....	11
Tableau 4: Squelette de base de quelques flavonoïdes.....	18
Tableau 5 : Quelques flavonoïdes isolés du genre <i>Macaranga</i> .....	21
Tableau 8 : Chromatogramme du « flash » .....	44
Tableau 9 : Chromatogramme de la fraction F <sub>3</sub> .....	45
Tableau 10 : Chromatogramme de la fraction F <sub>4</sub> .....	46
Tableau 11 : Chromatogramme de la fraction F <sub>6</sub> .....	47

# INTRODUCTION

## **INTRODUCTION GENERALE**

Au cours de ces dernières années, les recherches scientifiques modernes n'ont fait que confirmer le bien fondé des vertus thérapeutiques des plantes. Dans les pays en voie de développement comme le Cameroun, bon nombre de maladies constituent de nos jours des fléaux qui causent chaque jour un grand nombre de décès.

Les ravages causés par ces infections se manifestent avec beaucoup d'acuité dans les pays en voie de développement tel que le Cameroun en raison des coûts élevés des médicaments conventionnels utilisés en thérapeutique, d'une part, et le manque de moyen financier par la majeure partie de la population qui vit en zone rurale, d'autre part.

Le développement des médicaments antiparasitaires en général, et antibiotique en particulier représente l'un des progrès thérapeutiques les plus importants dans la mesure où un traitement efficace des infections graves a amélioré la qualité de vie et permis les progrès dans de nombreux autres domaines de la médecine. A titre d'exemple, la chimiothérapie anticancéreuse, la transplantation d'organes et la chirurgie majeure dépendent presque entièrement de la disponibilité d'antibiotiques. Il est heureux que la plupart des antibiotiques soient non toxiques. Cependant, tous ont des effets indésirables (par exemple peuvent entraîner des réactions allergiques ou présenter des effets sur la flore bactérienne normale) qui peuvent être gênants ou quelques fois même mettre la vie du patient en danger.

Outre ces effets secondaires indésirables, on assiste de plus en plus, en ce qui concerne l'antibiothérapie, au développement des formes de résistance par les agents pathogènes vis-à-vis des médicaments conventionnels usuels. Du fait de ces chimiorésistances, la recherche de nouveaux agents chimio thérapeutiques de moindre coût non toxiques et présentant de faibles effets indésirables constitue un défi à relever par la communauté scientifique.

A cet égard, les plantes médicinales, les organismes marins, les microorganismes constituent une solution alternative. En effet, le règne végétal en raison de la diversité des structures chimiques qu'il dispose sont des sources potentielles des nouvelles molécules biologiquement actives susceptibles d'être

utilisées tel qu'elle en thérapeutique ou servir de tête de série pour la synthèse de nouvelles molécules bioactives. L'investigation des plantes du règne végétal constituerait donc un espoir dans la découverte de nouvelles molécules d'intérêt biologique. De plus, le Cameroun dispose d'une flore importante de plus de 8000 espèces végétales (Falkenberg et al., 2002) dont l'exploitation devrait être mise à contribution dans la lutte contre les différentes maladies parasitaires.

C'est pour apporter sa contribution à ce vaste programme de recherche que le Département de Chimie Organique de la Faculté des Sciences associé au Département de Chimie de l'Ecole Normale Supérieure de l'Université de Yaoundé I a fait de l'étude des substances naturelles son axe de recherche de prédilection. C'est dans ce cadre qu'il m'a été confié en vue de l'obtention du diplôme de Professeur, l'étude des constituants chimiques de *Macaranga hurifolia* et de l'évaluation de leurs activités biologiques.

Le choix porté sur cette plante découle du fait qu'elle est utilisée en raison de ses vertus thérapeutique dans le traitement de nombreuses maladies parasitaires au premier rang desquelles : le paludisme, les MST, la dysenterie, la tuberculose etc. De plus, les plantes du genre *Macaranga* sont une source importante de métabolites secondaires présentant une gamme variée d'activité biologique qui s'étendent des propriétés anti malariales aux activités antibactériennes en passant par les propriétés anti inflammatoires (Suporn *et al*, 2005).

Si notre travail a pour objectif général, la caractérisation des constituants chimiques de l'extrait au méthanol des fruits de *Macaranga hurifolia* , les objectifs spécifiques en sont triples à savoir :

- Extraire, isoler et purifier les constituants chimiques des fruits de *Macaranga hurifolia* ;
- Elucider leurs structures ;
- Evaluer dans la mesure du possible les activités biologiques aussi bien des extraits que des produits purs afin de rationaliser leurs différents usages en médecine traditionnelle.

Le plan de ce mémoire s'articule autour de trois chapitres :

- Le premier a trait à la revue de littérature ;
- Le second concerne nos travaux personnels ;
- Le troisième est relatif à la partie expérimentale

**CHAPITRE I : REVUE DE LA  
LITTERATURE**

## CHAPITRE I: REVUE DE LA LITTERATURE

### I.1. APERÇU BOTANIQUE

#### I.1.1. Place de *Macaranga hurifolia* dans la systématique moderne

Au vue de la phylogénie des Euphorbiaceae et du genre *Macaranga*, le tableau 1 résume la position systématique de *Macaranga hurifolia*.

D'après cette systématique, *Macaranga hurifolia* appartient à :

**Tableau 1** : Position systématique du *Macaranga hurifolia*

Règne	Plantae
Sous-règne	Tracheobionta
Division	Magnoliophyta
Classe	Magnoliopsida
Ordre	Euphorbiales
Famille	Euphorbiaceae
Sous-famille	Acalyphoideae
Genre	<i>Macaranga</i>
Espèce	<i>Macaranga hurifolia</i>

#### I.1.2. Généralités sur la famille des Euphorbiaceae

La famille des Euphorbiaceae est une famille des plantes dicotylédones appartenant selon la classification phylogénique à l'ordre des Euphorbiales. C'est une grande famille de plantes à fleurs réparties essentiellement en zone tropicale et subtropicale dont les genres *Euphorbia*, *Croton* et *Phyllanthus* couvrent à eux seuls près de la moitié des espèces (Troupin., 1982). La simplicité et l'extrême réduction de ses fleurs ne sont pas représentatives de l'ensemble de la famille. C'est une famille assez large et hétérogène comprenant environ 6000 espèces réparties sur près de 220 genres (Wilk et al., 2000). Elle est constituée en général des arbres, des arbustes, des

plantes arborescentes, des herbes, des lianes herbacées, voire des herbes aquatiques flottantes (Wilk et *al.*, 2000 ; Letouzey., 1982). Les euphorbiacées possèdent généralement dans leurs tissus une substance laiteuse caractéristique de la famille.

Les tiges sont parfois succulentes ou épineuses, et les racines peuvent être tubéreuses comme le montre la figure 1.



**Figure 1:** Photo des tiges des plantes cactiformes (*Euphorbia*) (Judd S., 2001)

Cette famille comporte des feuilles simples, alternées ou opposées avec des stipules.

Les fruits se présentent généralement sous la forme d'un schizocarpe (un fruit sec ou rarement charnu) formé de 2 à 3 méricarpes, ou d'une capsule ou une drupe, ils possèdent des graines albuminées, et des embryons droits ou courbes (Troupin., 1982 ; Pauwels., 1993).

Les rameaux sont souvent couverts d'un indumentum de poils simples et stellés, ou de poils glanduleux, voire d'écailles glandulifères.

Les tiges sont parfois succulentes ou épineuses, et les racines peuvent être tubéreuses.

Les feuilles sont en général alternées, rarement opposées, ordinairement stipulées, simples et toujours palmées quand elles sont composées (Judd S., 2001) ;



**Figure 2** : Feuilles de *Aleurites moluccana* (Judd S., 2001)

Le limbe possède une nervation palmée, et on trouve parfois des glandes le long des marges ou sur la surface.

Dans quelques cas, les feuilles sont réduites à des écailles (Judd S., 2001).

Les fleurs sont régulières, cycliques, unisexuées monoïques ou dioïques, androcées constitué de nombreux étamines libres ou plus ou moins soudées. On note également la présence de sépales imbriqués ou valvaires et rarement celle des pétales (Troupin., 1982 ; Pauwels., 1993).



**Figure 3**: Fleur de *Euphorbia obesa* (Judd S., 2001)

Les stipules sont présentes, caduques ou persistantes, et peuvent être parfois modifiées en glandes ou en épines. Le pétiole, généralement présent, est parfois muni de glandes basales ou apicales (Judd S., 2001).

Plusieurs plantes de la famille des Euphorbiaceae ont une importance économique et d'autres sont utilisées en décoration. Nous pouvons avoir à titre d'exemple :

- *Hevea brasiliensis* qui fournit la majorité des caoutchoucs végétaux.
- Le manioc, *Manihot esculenta*, dont la racine est un tubercule comestible qui une fois séché et broyé fournit une farine utilisée pour l'alimentation dans les pays tropicaux.
- On trouve aussi des plantes fournissant des fruits comestibles (*Phyllanthus emblica*), des teintures (*Sapium sebiferum*, *Chozophora tinctor* et, *Mallotus philippinensis*) (Govaerts., 2000)

La famille des Euphorbiaceae regorge une multitude de plantes dont le genre *Macaranga* et plus précisément l'espèce *Macaranga hurifolia* qui fait l'objet de notre étude.

## **I.2. GÉNÉRALITÉS SUR LE GENRE MACARANGA**

Le genre *Macaranga* qui est très varié compte environ 300 espèces (Wilk et al., 2000). Trente de ces espèces sont originaire de l'Afrique tropicale continentale et environ 15 de Madagascar et des îles de l'Océan Indien (Webster., 1994).

### **I.2.1. Description botanique du genre *Macaranga***

Les plantes du genre *Macaranga* sont des arbustes ou des arbres dioïques atteignant 8 à 12 m de haut, à rameaux retombant (Irvine et al., 1961). L'écorce est brun grisâtre, cannelée longitudinalement, les feuilles sont alternées et les stipules linéaires-lancéolées de 2,5 à 4 mm de long. Les pétioles atteignent 7 cm de long et sont à limbe elliptique. Les inflorescences sont en minces grappes axillaires ou cauliflores atteignant 10 cm de long, solitaires ou par groupes jusqu'à quatre. Les pétales sont absents. Les fleurs sont unisexuées. Les fleurs mâles sont minuscules et groupées en glomérules sur des inflorescences axillaires, ou sur le vieux bois, en grappes ou en épis; elles sont à pédicelle de 1 à 1,5 mm de long et articulés, les lobes du calices sont triangulaires et mesurent environ 1 mm de long, les fleurs femelles sont souvent solitaires à pédicelle de 1 à 2 mm de long, avec des styles linéaires, libres ou un peu rapprochés à la base, les lobes du calice ici sont ovales et mesurent 1mm de long. Les fruits sont en capsules. (Favier et al., 2004, Daziel et al ., 1937)

### I.2.2. Répartition géographique des espèces du genre *Macaranga* dans le monde.

Les plantes du genre *Macaranga* se retrouvent principalement dans certains continents comme l’Afrique, l’Australie, l’Asie comme le montre le tableau 2.

**Tableau 2** : Répartition géographique des espèces du genre *Macaranga* (Burkill., 1985)

Genre	Espèces	Pays
<i>Macaranga</i>	<i>M. tanarius</i>	Chine, Japon, Corée, Australie.
	<i>M. hurifolia</i>	Cameroun
	<i>M. esobotrya</i>	Cameroun, Centrafrique, République Démocratique du Congo, Zambie
	<i>M. eupidala</i> <i>M. sphaerophylla</i> <i>M. echinocarpa</i> <i>M. ribesioides</i> <i>M. myriolepida</i>	Madagascar
	<i>M. spinosa</i>	Cameroun, Congo

### I.2.3. Répartition géographique des espèces du genre *Macaranga* au Cameroun.

Les données relatives à la localisation des espèces du genre *Macaranga* au Cameroun ont été relevées sur des fiches de collection des spécimens disponibles à l’Herbier National du Cameroun. Il ressort de l’examen de ces fiches que les plantes du genre *Macaranga* poussent dans toutes les régions à l’exception des régions septentrionales comme l’indique le tableau 3.

**Tableau 3 : Répartition géographique du genre *Macaranga* au Cameroun**

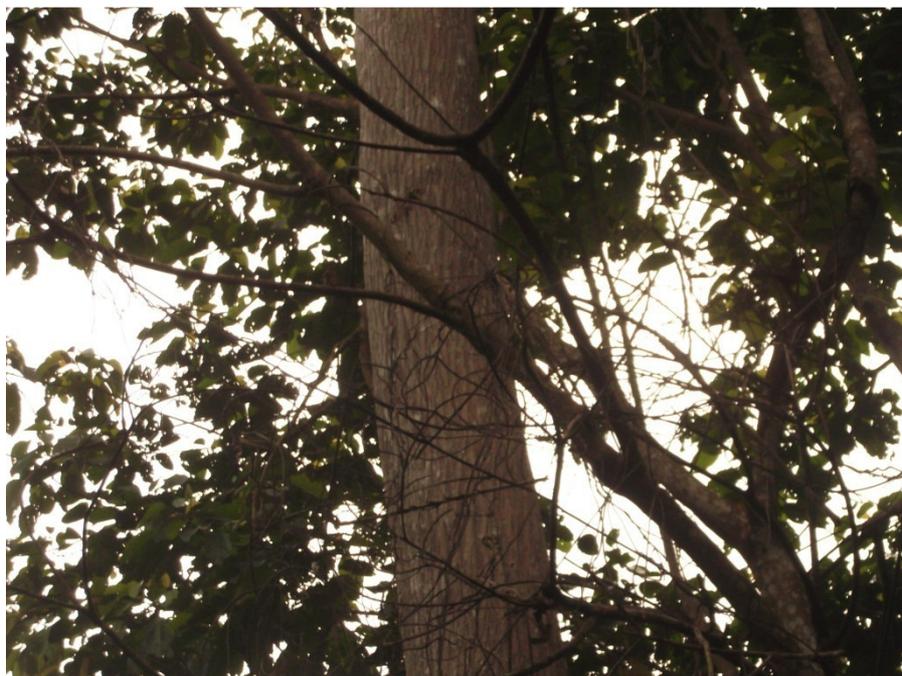
REGION	CHEF LIEU	ESPECES	LIEU GEOGRAPHIQUE
Centre	Yaoundé	<i>M. assas</i>	Nanga eboko, Atok
		<i>M. barteri</i>	Mbong, Esselang
		<i>M. heudelotii</i>	Nanga éboko
		<i>M. hurifolia</i>	Nyom II (Yaoundé)
		<i>M. monandra</i>	Yaoundé, Eseka
		<i>M. occidentalis</i>	Minta, Mbalmayo
		<i>M. pynaerti</i>	Eseka, Nkolbisson
		<i>M. staudtii</i>	Mouanko, Mbalmayo
Est	Bertoua	<i>M. beillei</i>	Bertoua
		<i>M. heudelotii</i>	Bertoua, Yokadouma
		<i>M. pynaerti</i>	Batouri
Littoral	Douala	<i>M. monandra</i>	Douala, Loum, Nkongsamba
		<i>M. occidentalis</i>	Nkongsamba
		<i>M. staudtii</i>	Douala,
Nord-Ouest	Bamenda	<i>M. occidentalis</i>	Bamenda
Ouest	Bafoussam	<i>M. monandra</i>	Foumban
		<i>M. occidentalis</i>	Bafoussam, Foumban
Sud	Ebolowa	<i>M. barteri</i>	Kribi, Nyabessan
		<i>M. paxii</i>	Mintom II, Djoum
		<i>M. monandra</i>	Ambam
		<i>M. spinosa</i>	Kribi
Sud-ouest	Buéa	<i>M. hurifolia</i>	Mamfé
		<i>M. monandra</i>	Likombé, Limbé, Buéa
		<i>M. occidentalis</i>	Buéa, Kumba
		<i>M. pynaertii</i>	Kumba

### I.3. GÉNÉRALITÉS SUR L'ESPÈCE *MACARANGA HURIFOLIA*

#### I.3.1. Noms vernaculaires

*Macaranga hurifolia* est encore appelé « *egba* » en Côte d'Ivoire plus précisément dans la région de Anyi (Burkill., 1985). En Sierra Leone, on la nomme « *hala* » dans la région de Vai et « *papu* » dans la région de Kono (Burkill., 1985). Au Ghana, c'est « *kpazida* » ; au Nigéria, la plante est appelée « *owariwa* ». Elle prend d'autres appellations telles que : *falabo*, *ohaha*, *owolewa*, *ndeve*, *tofé*, *dakollé*, *faraban*, *bahué*, *fafé* (Burkill., 1985).

#### I.3.2. Caractères remarquables et description



**Figure 4 :** Tronc de *Macaranga hurifolia* (Tyon., 2014)

*Macaranga hurifolia* qui fait l'objet de notre étude est un arbuste à brouillage ou un arbre de 12 m de haut de jungle secondaire, repartit de la Sierra Leone vers le Cameroun occidental. L'aubier est blanc, le cœur du bois a une coloration citron pâle.

#### I.3.2. Intérêts et usages des plantes du genre *Macaranga*

Les espèces du genre *Macaranga* sont largement utilisées en Afrique tant sur le plan économique que médicinal.

### I.3.2.1. Usages sur le plan économique

Le bois des plantes du genre *Macaranga* est de texture moyenne et facilement travaillé. Il est généralement employé comme bois de chauffage et de temps en temps pour la construction des huttes et des poteaux (Savil.,1987). Cependant il n'est probablement pas résistant aux insectes qui l'attaquent donc facilement. (Bouquet., 1969)

### I.3.2.2. Usages thérapeutiques

Les espèces du genre *Macaranga* sont largement utilisées en médecine traditionnelle pour soulager les malades. C'est ainsi que :

L'écorce de tige aromatique de *Macaranga euspidala* écrasée est utilisée à Madagascar contre les piqûres d'insectes (Bouquet., 1969) ; une infusion d'écorce de tige de *Macaranga echinocarpa* y est utilisée pour traiter le paludisme. La plante est aussi utilisée pour traiter certaines maladies des porcins (Burkill., 1985).

Les rameaux feuillés frais écrasés de *Macaranga myriolepida* s'appliquent sur les brûlures comme pansement (Diallo et al., 1995) ;

L'infusion d'écorce de tige de *Macaranga ribesioides* se prend pour traiter les maladies vénériennes (Diallo et al., 1995);

La décoction des feuilles de *Macaranga sphaerophylla* est également utilisée à Madagascar pour traiter le rhumatisme, la sciatique, les douleurs lombaires (Radcliffe., 1987) ;

Une décoction des racines de *Macaranga tanarius* est utilisée en Thaïlande pour traiter la toux tandis que les feuilles fraîches sont utilisées comme anti-inflammatoire (Suporn et al., 2005)

Compte tenu de l'importance et des multiples usages des plantes du genre *Macaranga* en pharmacopée traditionnelle, plusieurs d'entre elles ont fait l'objet de plusieurs travaux chimiques

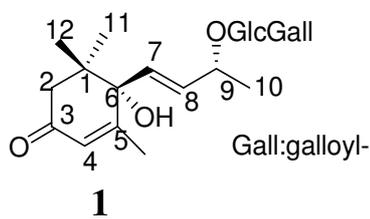
## I.4. TRAVAUX CHIMIQUES ANTÉRIEURS ET ACTIVITÉS BIOLOGIQUES

### I.4.1. Travaux chimiques antérieurs

Les travaux chimiques effectués sur les différentes espèces du genre *Macaranga* ont permis d'isoler et de caractériser de nombreux métabolites secondaires appartenant à plusieurs classes de composés naturels parmi lesquelles on peut citer les stéroïdes, les terpénoïdes (diterpènes et triterpènes), des flavonoïdes et des mégastigmanes.

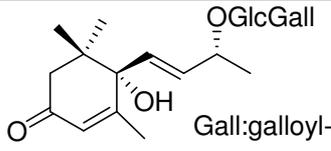
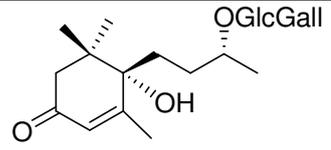
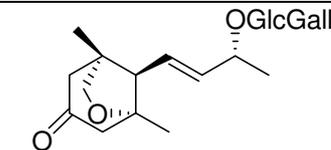
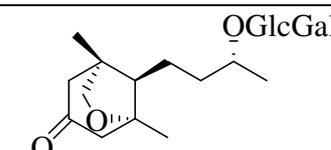
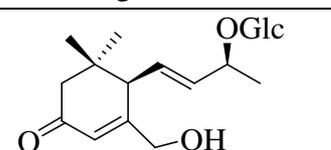
#### I.4.1.1. Les mégastigmanes

Ce sont des composés monocycliques présentant généralement une double liaison entre les carbones 4 et 5 ainsi qu'une chaîne latérale rattachée au carbone 6. Ils portent généralement une fonction cétone sur le carbone 3. Le squelette de base des mégastigmanes est donné par la structure de la mallophénol B **1** (Katsuyoshi et *al.*, 2006).



Le tableau 4 présente quelques structures de type mégastigmanes isolées de *Macaranga tanarius*.

**Tableau 4 : Quelques mégastigmanes isolées de *Macaranga tanarius***

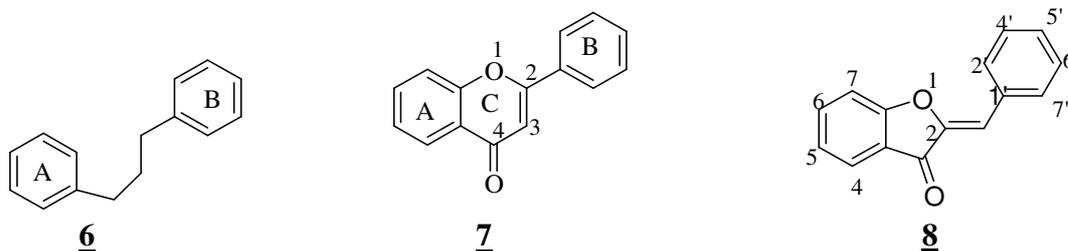
Espèces	Structures et noms	Références	Partie
<i>Macaranga Tanarius</i>	 <p><b>1</b> Mallophénol</p>	(Katsuyoshi et al., 2006)	Feuilles
	 <p><b>2</b> Macarangioside A</p>		
	 <p><b>3</b> Macarangoside B</p>		
	 <p><b>4</b> Macarangoside C</p>		
	 <p><b>5</b> Macarangioside D</p>		

### I.4.1.2. Les flavonoïdes

#### I.4.1.2.1. Définition

Les flavonoïdes sont des métabolites secondaires des plantes partageant tous une même structure de base formée par squelette de base à quinze atomes de carbone **6**, constitué de deux unités aromatiques, de cycle en C<sub>6</sub> (A et B), reliés entre elles par une chaîne propanoïque en C<sub>3</sub> (C<sub>6</sub>-C<sub>3</sub>-C<sub>6</sub>,) correspondant à un diphenyl propane (Bruneton., 1999). Cette chaîne en C<sub>3</sub> peut être fermée en un hétérocycle oxygéné

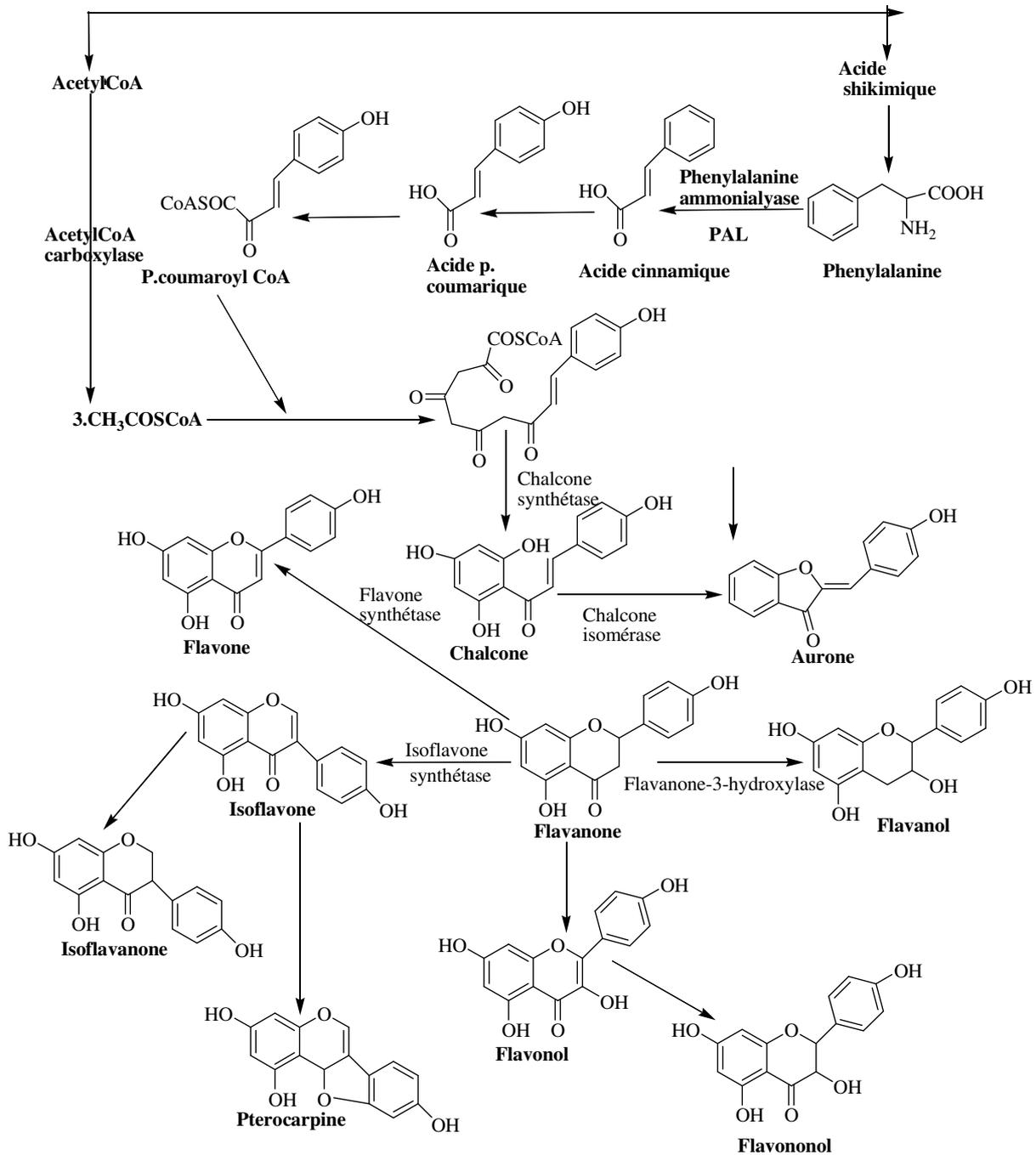
hexa **7** (2-phénylchromen-4-one) ou pentagonal (structure de base des flavonoïdes de la classe des aurones) **8**. Les flavonoïdes rassemblent une très large gamme de composés naturels appartenant à la famille des polyphénols. Pigment hydrosolubles, ces flavonoïdes sont avec les chlorophylles et les caroténoïdes, pigments liposolubles, les principaux facteurs de coloration des plantes. Ces substances sont responsables pour la grande part des colorations rouge, bleue et violette des organes végétaux. Elles participent également aux colorations jaunes, mais dans ce cas, ce sont les caroténoïdes qui jouent le rôle le plus important. (Beking et *al.*,2010).



#### I.4.1.2.2. Biosynthèse des flavonoïdes

L'emploi des traceurs radioactifs a conduit à démontrer clairement que la biosynthèse du squelette de base en C<sub>6</sub>-C<sub>3</sub>-C<sub>6</sub> des flavonoïdes a une origine biogénétique double : polyacétyl malonique et shikimique. En effet, le rôle de l'acide acétique ou plus précisément de sa forme activée l'acétylcoenzyme A dans la formation du noyau A du squelette flavonoïdique a été bien mis en évidence par les travaux de Grisebach et *al* en 1957 (Grisebach et *al.*, 1957). Cet auteur a démontré à partir de l'acétate marqué au <sup>14</sup>C sur le groupe méthyle ou sur un groupe carbonyle que le cycle A résultait bel et bien de la polycondensation de trois unités d'acide acétique. En ce qui concerne la formation du noyau B et de l'élément central à trois atomes de carbone, Underhill et *al* en 1988 ont montré que les meilleurs précurseurs de ce fragment en C<sub>6</sub>-C<sub>3</sub> sont l'acide shikimique, la phénylalanine, les acides cinnamique et *para* coumarique, il a été également démontré par ces auteurs que les chalcones constituaient des intermédiaires communs de la synthèse des différents types de flavonoïdes.

Nous présentons dans le schéma 1, les étapes importantes qui conduisent à la formation des différentes classes de flavonoïdes.

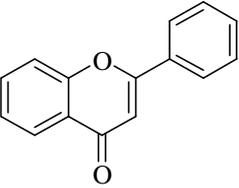
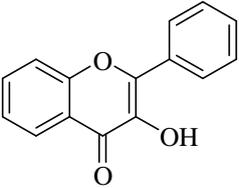
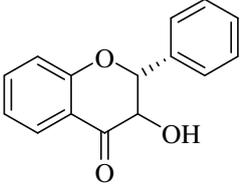
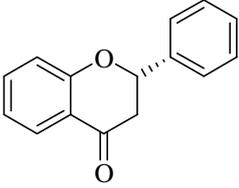


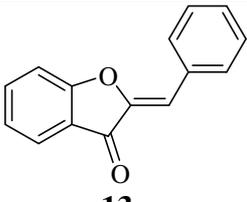
**Figure 5 : Voie de biosynthèse générale des squelettes de base des différentes classes flavonoïdes (Harbone et al., 1992)**

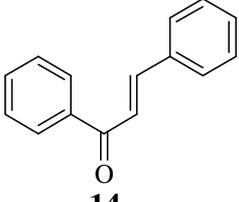
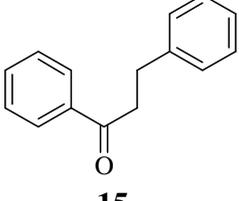
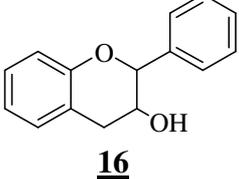
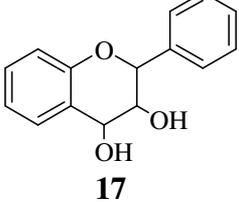
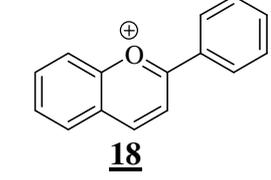
### I.4.1.2.3. Classification structurale

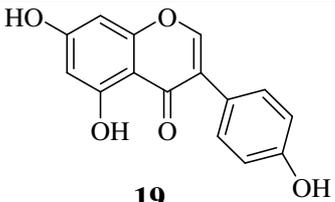
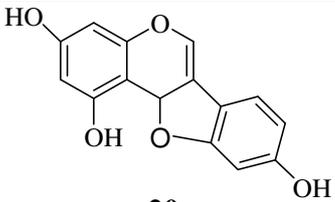
Comme il apparait dans le schéma 1 relatif à la biosynthèse des flavonoïdes, les flavonoïdes présentent une grande diversité structurale dont le précurseur est la chalcone. Cette diversité structurale s'étend au sens large des flavones aux anthocyanidol en passant par les isoflavones, les ptérocarpanes, , flavonols, chalcones les auronnes, , dihydroflavonols les flavonones dont les squelettes de bases sont donnés par le tableau 5 (Phupattanapong et *al.*, 1986).

**Tableau 5: Squelette de base de quelques flavonoïdes**

Classe	Squelette	Références
Flavone	 <p style="text-align: center;"><b>9</b></p> <p>2-phénylchromen-4-one</p>	(Bruneton, 2009) et (Harbone et <i>al.</i> , 1992)
Flavonol	 <p style="text-align: center;"><b>10</b></p> <p>3-hydroxy-2-phénylchromen-4-one</p>	
Dihydroflavonol ou flavanonol	 <p style="text-align: center;"><b>11</b></p> <p>3-hydroxy-2,3-dihydro-2-phényl chromen-4-one</p>	
Flavanone	 <p style="text-align: center;"><b>12</b></p> <p>2,3-dihydro-2-phényl chromen-4-one</p>	

Aurone	 <p style="text-align: center;"><b>13</b></p>	(Bruneton,2009) & (Harbone et al., 1992)
--------	--	---

Classe	Squelette	Références
Chalcone	 <p style="text-align: center;"><b>14</b></p>	
Dihydrochalcone	 <p style="text-align: center;"><b>15</b></p>	
Flavanols	 <p style="text-align: center;"><b>16</b></p>	(Bruneton,2009) & (Harbone et al., 1992)
Flavane diols ou leucoanthocyanidines	 <p style="text-align: center;"><b>17</b></p>	
Anthocyanidol	 <p style="text-align: center;"><b>18</b> Cation flavylium</p>	

Isoflavone	 <p style="text-align: center;"><b>19</b></p> <p style="text-align: center;">Isoflavone</p>	
Pterocarpine	 <p style="text-align: center;"><b>20</b></p> <p style="text-align: center;">Pterocarpine</p>	

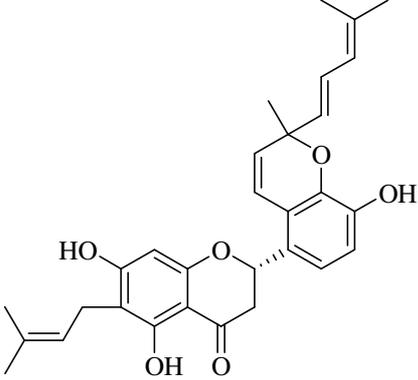
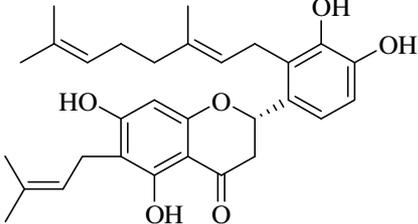
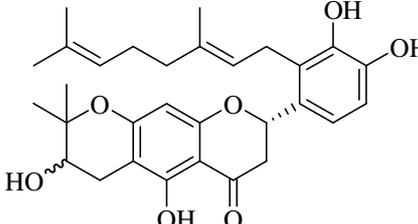
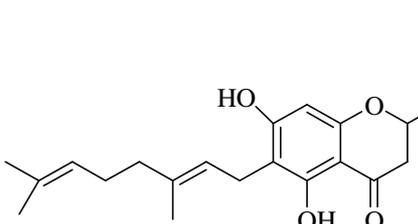
#### I.4.1.2.4. Flavonoïdes de *Macaranga*

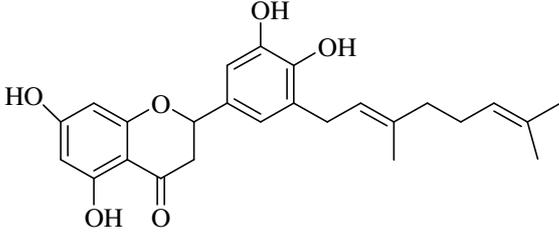
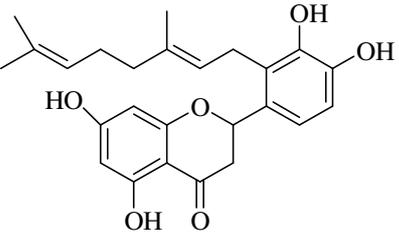
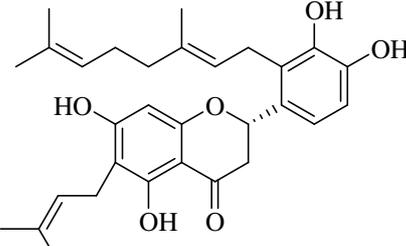
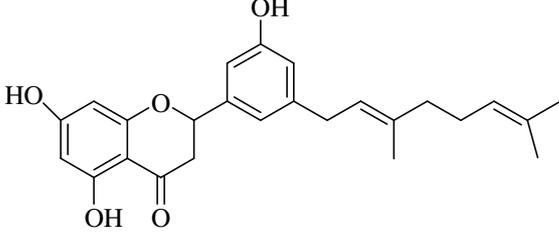
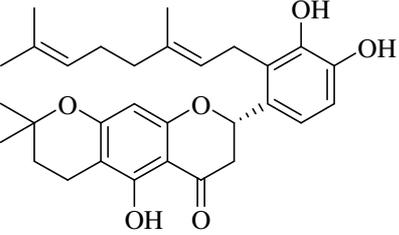
Les travaux menés en particuliers sur les feuilles des différentes espèces de *Macaranga* ont conduit à l'isolement et à la caractérisation d'un grand nombre de métabolites secondaires dont les plus importants sont les flavonoïdes. Au sein de cette classe, la sous classe des flavanones occupe une place prépondérante au regard du nombre important de ses représentants. Ces flavonoïdes de type flavanone isolées des espèces du genre *Macaranga* en particuliers de *Macaranga tanarius* ont comme principale caractéristique la présence d'une part sur leur cycle B de trois substituants : en position 3' et 4' sont greffés deux groupements hydroxyles tandis que la position 2' est occupée par une chaîne géranylée pouvant être soit libre comme dans le cas de la (-) - nymphaeol C 22, soit cyclisé en noyau gem méthyl pentadiényl comme dans le cas de la tanariflavanone B 21 isolé des feuilles de *Macaranga tanarius*.

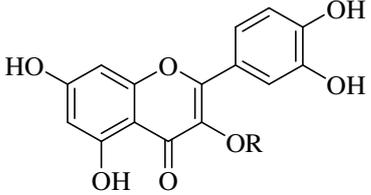
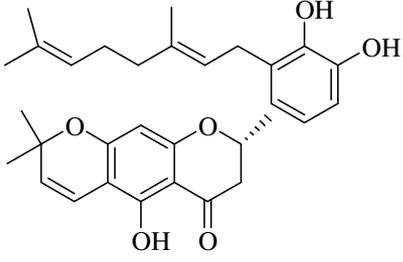
En ce qui concerne le cycle A de ces flavonoïdes, outre les deux groupements hydroxyles en position 5 et 7, on y trouve localisé en position 6 un groupement prényle libre comme dans le cas de la (-)- nymphaeol-C 22 ou alors cyclisé sous forme d'un noyau gem-diméthylpyranne comme dans le cas de la 2'-géranyl-5,3',4'- trihydroxy-6,7-(2,2-diméthyl-3-hydroxychromano) flavanone 23. Nous présentons dans le tableau quelques exemples de flavonoïdes isolés du genre *Macaranga*.

Nous présentons dans le tableau 6 quelques flavonoïdes isolées des espèces du genre *Macaranga*.

**Tableau 6 :** Quelques flavonoïdes isolés du genre *Macaranga*

Espèces	Structures et noms	Références	Partie
<p><i>Macaranga tanarius</i></p>	 <p><b>21</b> Tanariflavanone B</p>	<p>(Mei-huims et al., 2001)</p>	<p>Feuilles</p>
	 <p><b>22</b> (-)-nymphaeol-C</p>		
	 <p><b>23</b> 2'-géranyl-5,3',4'- trihydroxy-6,7-(2,2-diméthyl-3-hydroxychromano)flavanone</p>		
	 <p><b>24</b> Nymphaeol-A</p>		

Espèces	Structures et noms	Références	Partie
<i>Macaranga tanarius</i>	 <p style="text-align: center;"><b><u>25</u></b> Isonymphaeol-B</p>	(Shigenori et al., 2014)	Feuilles
	 <p style="text-align: center;"><b><u>26</u></b> Nymphaeol-B</p>		
	 <p style="text-align: center;"><b><u>27</u></b> 9 nymphaeol C</p>		
	 <p style="text-align: center;"><b><u>28</u></b> 3'-géranyl-naringénin</p>		
	 <p style="text-align: center;"><b><u>29</u></b> macaflavanone A</p>		

	 <p><b>30</b> R=Glc:hyperin <b>31</b> R=Gal:isoquercitrin</p>	(Katsuyoshi et al.,2006)	
	 <p><b>32</b> Macaflavanone B</p>		

#### I.4.1.2.5. Intérêt biologique des flavonoïdes

L'importance des flavonoïdes dans le règne végétal et en particuliers leur abondance chez les plantes vasculaires laisse penser qu'ils jouent un rôle prépondérant dans de nombreux processus biologiques.

En effet, les flavonoïdes constituent sans nul doute le groupe de métabolites secondaire le plus représenté dans l'alimentation. C'est ainsi qu'on trouve les flavanol dans un grand nombre de fruits et légumes ainsi que dans les boissons comme le thé et le vin. Les flavonoïdes sont présent dans les agrumes, les anthocyanidines dans les raisins, les vins, les framboises etc (Sarni-Manchado et al.,2006).

Ces composés agissent comme hormone de reproduction, comme facteur de croissance, comme intermédiaire régulateur ou témoin des phénomènes d'oxydoréduction. Beaucoup de ces composés sont également doués d'activités biologiques : antioxydante (Harbone 1981, Li et al 1993), anti inflammatoire (Sharma et Deshwal., 2011), insecticide, oestrogénique (Zamora-Ros,2013) antibactérienne, anti fongique (Lim et al., 2007).

Les flavonoïdes prénylées présentent des activités cytotoxiques, antiulcéreuses, allélopathiques ainsi que des activités inhibitrices du cyclogénase (Shiori et *al.*, 2008).

Plusieurs flavonoïdes sont utilisés en thérapeutique. C'est ainsi qu'ils peuvent être utilisés comme agents cardiovasculaires pour leur effet antihypertenseur positif, comme les diurétiques, comme antispasmodiques avec troubles gastro-intestinaux ainsi que pour des thérapies hépatiques (Eck et *al.*, 2001). Leur effet est principalement attribuable à leurs propriétés antioxydantes ainsi qu'inhibitrice de plusieurs processus enzymatiques (Eck et *al.*, 2001).

## **I.5. ACTIVITÉS BIOLOGIQUES DES MÉTABOLITES SECONDAIRES ISOLÉES DU GENRE *MACARANGA***

Les flavonoïdes présentent un très grand intérêt tant sur le plan des activités biologiques que sur le plan alimentaire (Chun et *al.*, 2007). Sur le plan biologique, les informations extraites de la littérature montrent que les flavonoïdes sont doués d'activité cytotoxique et anti ulcéreuse (Zamora-Ros., 2013). De tous les métabolites isolés du genre *Macaranga*, ce sont les flavonoïdes qui se sont le plus illustrés par leurs activités et en particuliers les flavonoïdes prénylées et géranylés qui se sont révélées être les plus intéressantes du point de vue de leur activités biologique. En effet, les résultats obtenus des travaux de Mei-Huims ont montré que le nymphaeol-A **24**, isonymphaeol-B **25**, nympheol-B **26** isoflavanones prénylées isolés de *Macaranga tanarius* ont présenté d'intéressantes activités à la fois antioxydantes (Harbone, 1981; Li et *al.*, 1993 ), anti inflammatoire (Sharma et Deshwal., 2011), et antimicrobienne (Lim et *al.*, 2007).

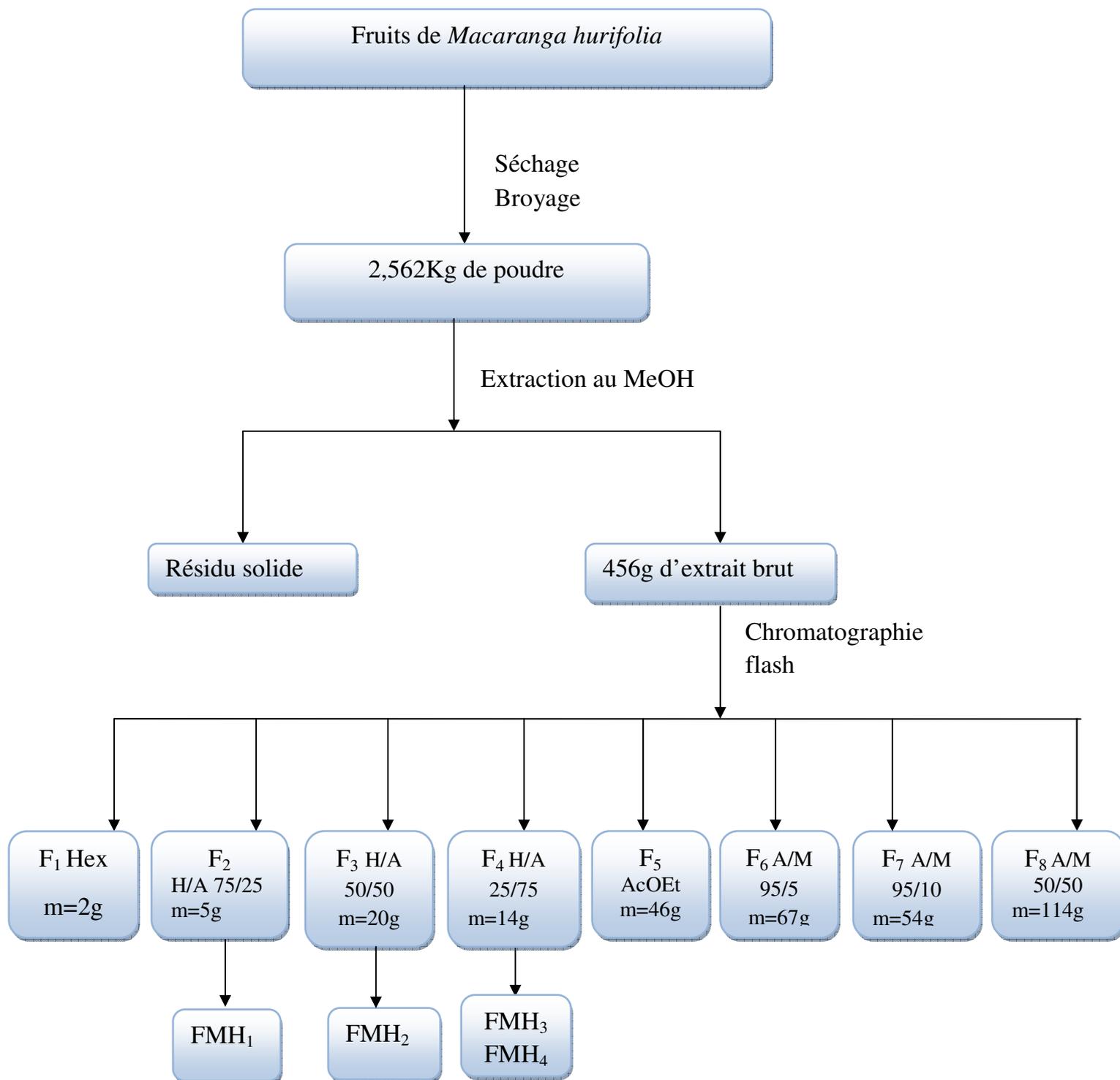
Il ressort de ce qui précède que la grande diversité structurale des métabolites secondaires des plantes du genre *Macaranga*, leurs activités biologiques intéressantes et variées montre qu'il y'a un intérêt à poursuivre les investigations sur les autres espèces du même genre. D'où nos travaux personnels sur *Macaranga hurifolia*

**CHAPITRE II : RESULTATS ET  
DISCUSSION**

## CHAPITRE II : RESULTATS ET DISCUSSION

### II.1. EXTRACTION ET ISOLEMENT DES COMPOSES

Nos travaux personnels ont porté sur les fruits de *Macaranga hurifolia*. En effet, après séchage et broyage de ces fruits, la poudre résultante de 2,5Kg a été extraite par macération à température ambiante pendant 48h dans le méthanol. Après filtration, la solution obtenue a été concentrée sous évaporateur rotatif pour donner 456g d'extrait brut de couleur noirâtre. Le fractionnement de cet extrait par chromatographie « flash » sur gel de silice élué avec un mélange d'hexane et d'acétate d'éthyle de polarité croissante suivi du gradient acétate d'éthyle/méthanol nous ont conduit à l'obtention de huit fractions : F<sub>1</sub>(Hexane pur), F<sub>2</sub>(Hex/ AcOEt 25%), F<sub>3</sub>(Hex/ AcOEt 50%) ,F<sub>4</sub>(Hex/ AcOEt 75%) ,F<sub>5</sub>(AcOEt) ,F<sub>6</sub>(AcOEt/Méthanol 5%), F<sub>7</sub>(AcOEt/Méthanol 25%) ,F<sub>8</sub>(AcOEt/Méthanol 50%). Les produits purs ont été obtenus en soumettant certaines de ces fractions aux chromatographies sur colonne de gel de silice élué au mélange hexane/acétate d'éthyle et dichlorométhane/méthanol. Les fractions F<sub>2</sub>, F<sub>3</sub> et F<sub>4</sub> ont été soumises à des Chromatographies sur colonne sur gel de silice répétées, nous avons obtenu quatre composés indexés de FMH<sub>1</sub> à FMH<sub>4</sub>.



**Figure 6 : Protocole d'extraction et d'isolement des composés à partir des fruits de *Macaranga hurifolia***

## II.2. ELUCIDATION DES STRUCTURES DES COMPOSES ISOLES

### II.1.2. Identification de FMH<sub>1</sub>

FMH<sub>1</sub> se présente sous forme cotonneuse de couleur blanche dans le mélange Hexane/Acétate d'éthyle 10%. Soluble dans le CHCl<sub>3</sub>, il répond positivement au test de Liebermann- Burchard (coloration verdâtre) caractéristique des stéroïdes.

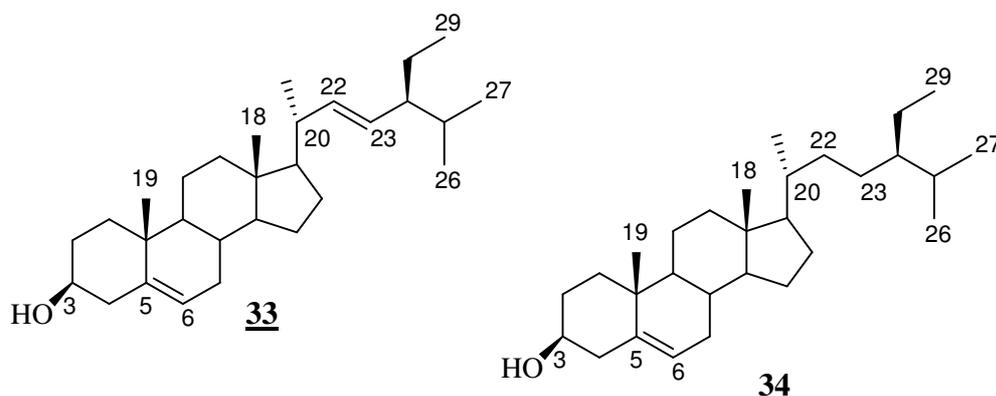
Sur son spectre de masse à ionisation électronique, on observe deux pics d'ion moléculaires M<sup>+</sup> à m/z 412(int. Rel= 72) et 414 (int. Rel= 28) compatible respectivement aux formules brutes C<sub>29</sub>H<sub>46</sub>O et C<sub>29</sub>H<sub>48</sub>O, ce qui suggère que FMH serait un mélange de phytostérols constitué de stigmastérol et de β-sitostérol (Pateh et al., 2009)

L'identification s'est faite par analyse de ses données de RMN<sup>1</sup>H et RMN<sup>13</sup>C. en effet, sur son spectre de RMN<sup>1</sup>H( CDCl<sub>3</sub> ;400MHz, Figure 5,tableau 6), on observe le signal du proton éthylénique H-6 apparaissant à δ<sub>H</sub>5,30 et celui de H-3 résonant à δ<sub>H</sub> 3,52 et correspondant au proton situé au pied de l'hydroxyle du stigmatérol.

Sur ce même spectre, on observe les signaux des protons oléfiniques H-22 et H-23 de la chaîne latérale du stigmastérol apparaissant à δ<sub>H</sub>5,10 et δ<sub>H</sub>5,14 respectivement.

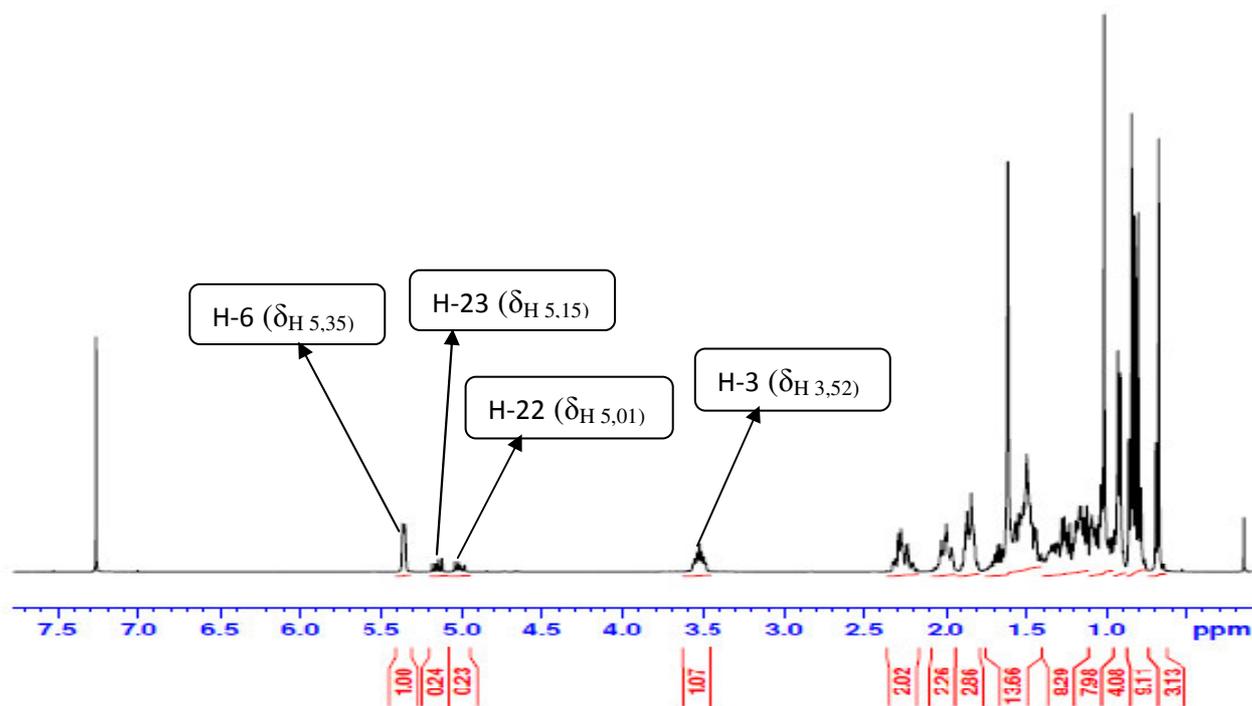
Ceci a été corroboré par les données du spectre de RMN<sup>13</sup>C (CDCl<sub>3</sub> ; 100MHz ; fig ;tab) sur lequel on observe 29 signaux des carbones dont deux carbones éthyléniques C-5/ C-6 à δ<sub>C</sub> 140,7 et δ<sub>C</sub> 121,7 pour les deux phytostérols d'une part, et ceux des carbones oléfiniques C-22 /C-23 de la chaîne latérale du stigmatérol à δ<sub>C</sub>138,3 et à δ<sub>C</sub>129,3 d'autre part.

Les autres données spectrales (COSY) comparées à celle de la littérature ( Pateh et al., 2009) nous ont permis de confirmer que le composé FMH<sub>1</sub> est un mélange de phytostérols constitué de stigmastérol **33** et de β-sitostérol **34**, présent dans la quasi-totalité des espèces végétales.

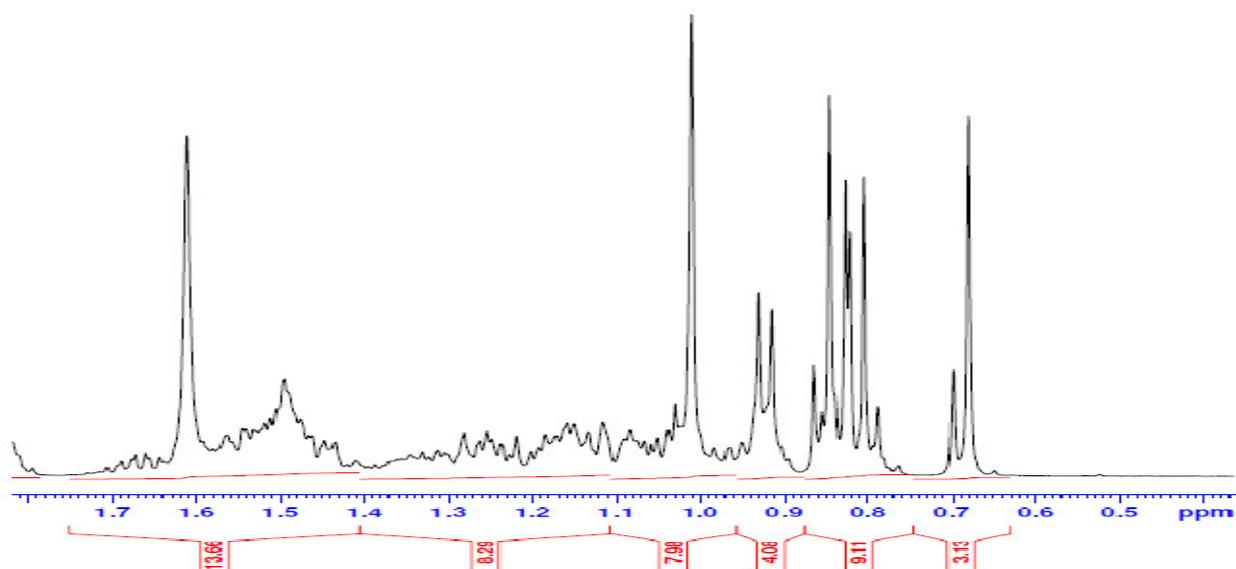


**Tableau 7: Données spectrales de RMN  $^1\text{H}$  ( $\text{CDCl}_3$ , 400 MHz) et de RMN  $^{13}\text{C}$  ( $\text{CDCl}_3$ , 100 MHz) du composé **33****

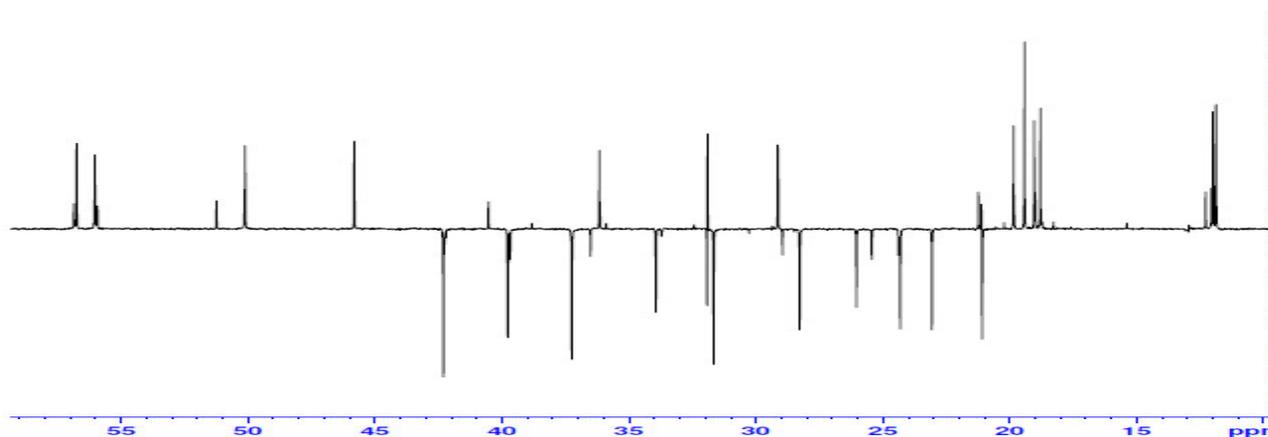
Position	$^1\text{H}$ en ppm (nH, m, j(Hz))	$^{13}\text{C}$ en ppm	$^{13}\text{C}$ (littérature)
1	-	40,5	37.3
2	7,45 (1H, m)	31,6	31.6
3	6,84 (1H, d, 9,5)	71,8	71.8
4	3,8 (3H, s)	39,7	42.3
5	-	140,7	140.8
6	5,17 (1H, m)	121,7	121.7
7	1,54 (2H, m)	29,1	31.9
8	-	36,1	31.9
9	-	31,8	51.2
10	-	33,9	36.5
11	1,03 (2H, m)	24,3	21.1
12	2,27 (2H, m)	37,2	39.7
13	-	54,8	42.3
14	-	55,9	56.9
15	3,52 (2H, m)	26,0	24.4
16	5,35 (2H, s)	28,2	28.4
17	-	56,8	56.1
18	0,56 (1H, s)	11,9	11
19	0,80 (3H, m)	18,4	21.2
20	-	42,3	40.5
21	1,03 (3H, d, 5,8)	19,4	21.2
22	5,15 (1H, m)	138,3	138.3
23	5,01 (1H, m)	129,2	129.3
24	-	52,2	51.2
25	-	31,9	31.9
26	0,81 (3H, m)	18,4	21.2
27	0,86 (3H, d, 5,6)	21,1	19
28	-	19,8	25.4
29	0,80 (3H, m)	12,2	12.1



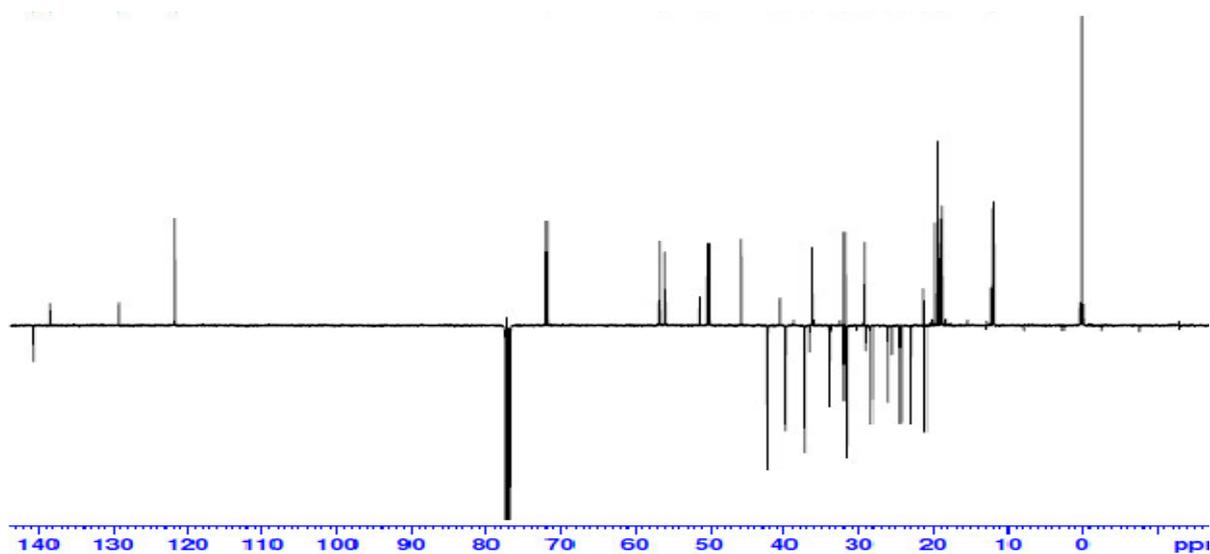
**Figure 7:** Spectre de RMN  $^1\text{H}$  (400 MHz ;  $\text{CDCl}_3$ ) de  $\text{FMH}_1$



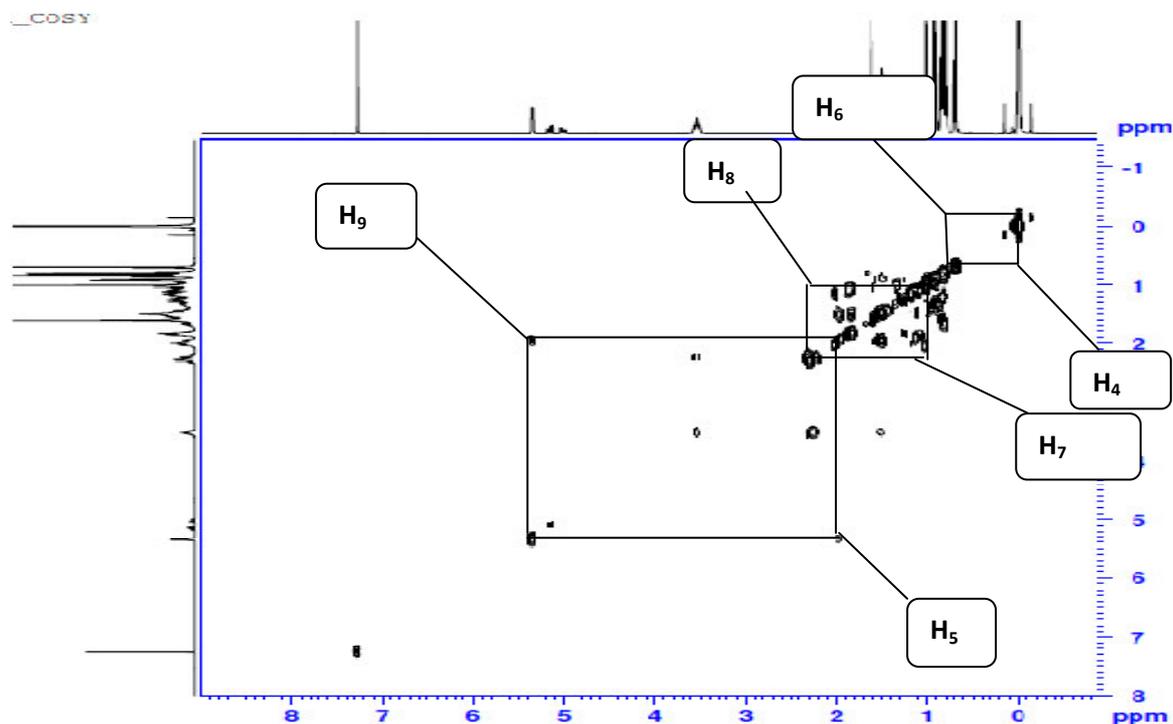
**Figure 8:** Spectre de RMN  $^1\text{H}$  élargi (400 MHz ;  $\text{CDCl}_3$ ) de  $\text{FMH}_1$



**Figure 9** : Spectre élargi de RMN  $^{13}\text{C}$  (APT ;  $\text{CDCl}_3$ ) de  $\text{FMH}_1$



**Figure 10** : Spectre de RMN  $^{13}\text{C}$  (APT 135;  $\text{CDCl}_3$ ) de  $\text{FMH}_1$

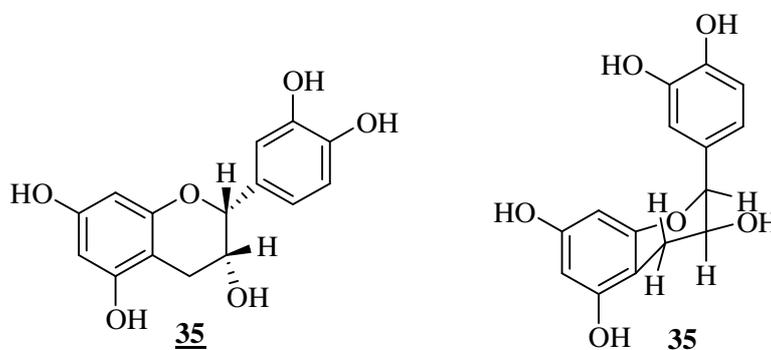


**Figure 11:** Spectre COSY de FMH<sub>1</sub>

### II.1.3. Identification du composé FMH<sub>2</sub>

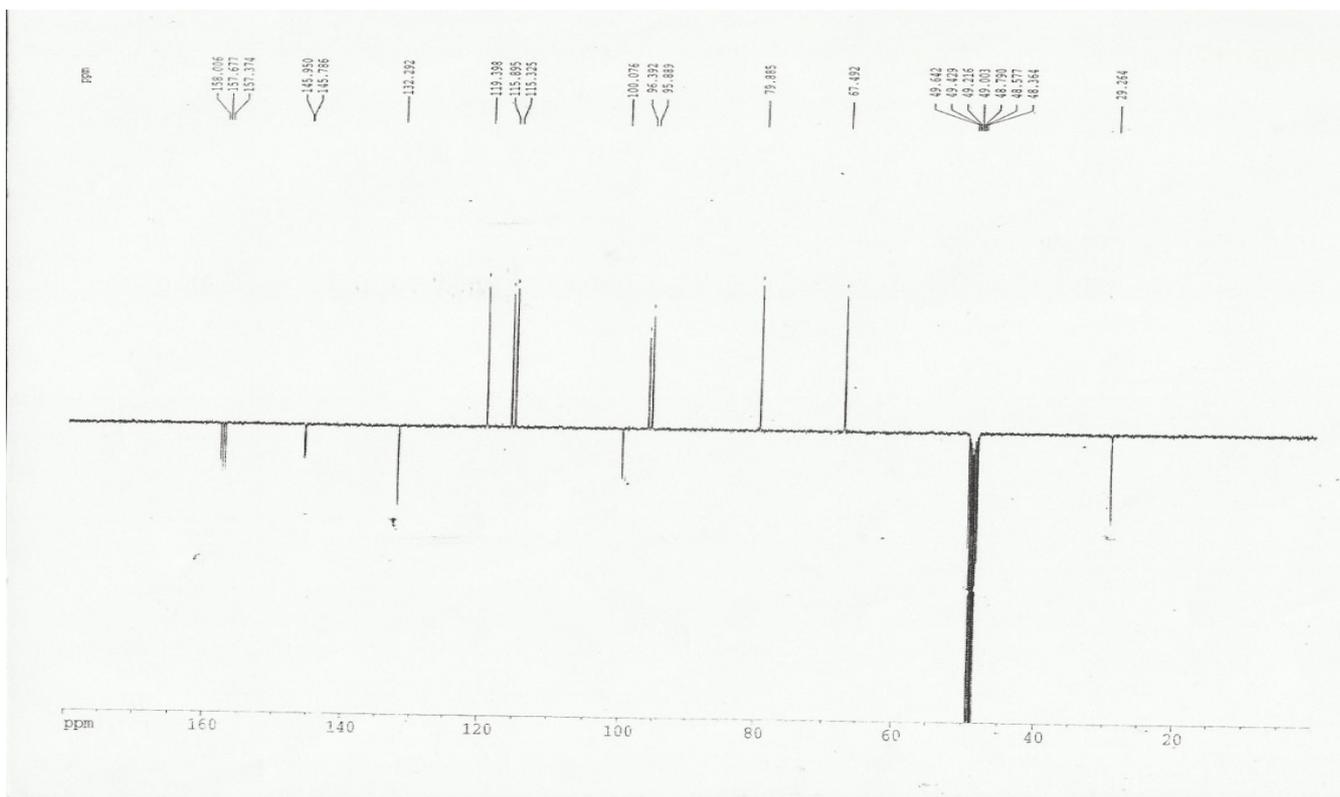
Le composé FMH<sub>2</sub> a été obtenu sous forme de poudre orange dans le système hexane acétate d'éthyle 20%, il fond entre 214 et 217°C et répond positivement au test de Shinoda et au test au Chlorure ferrique suggérant sa double nature phénolique et flavonoïdique. Son spectre de masse ESI-TOF à haute résolution présente l'ion pseudo moléculaire [M+H]<sup>+</sup> à m/z 291,0887 (calc. 291,0868 pour C<sub>15</sub>H<sub>15</sub>O<sub>6</sub>) dont l'analyse permet de lui attribuer la formule brute C<sub>15</sub>H<sub>14</sub>O<sub>6</sub> renfermant 9 degrés d'insaturation.

L'interprétation de toutes les données spectroscopiques de ce composé a permis de lui attribuer la structure suivante :



En effet, sur son spectre de RMN<sup>13</sup>C APT (figure 11), on note la présence de 15 signaux de carbone dont l'analyse permet de mettre en évidence la présence de :

- Sept carbones quaternaires tous hybridé  $sp^2$  apparaissant à  $\delta_C$  158,0 ; 157,4 ; 157,67 ; 145,95 ; 145,78 ; 132,29 ; 100,07 ppm
- Un carbone secondaire hybridé  $sp^3$  à  $\delta_C$  29,26 ppm
- Sept carbones tertiaires dont cinq hybridés  $sp^2$  et deux hybridés  $sp^3$

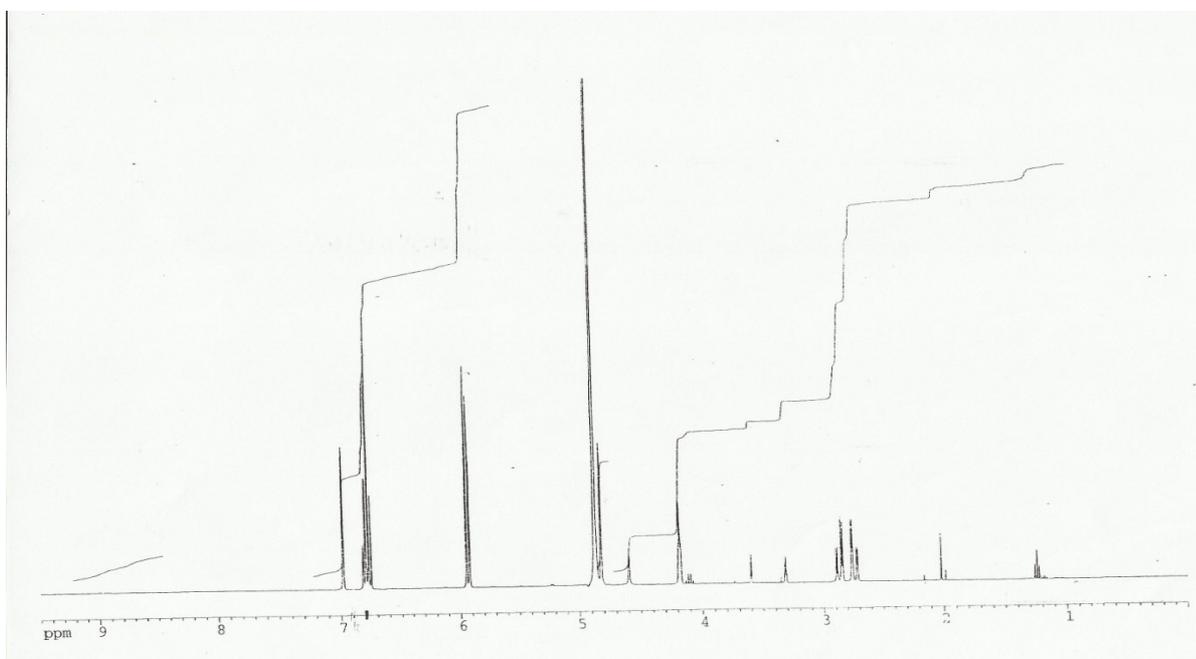


**Figure 12 :** spectre de RMN<sup>13</sup>C APT de FMH<sub>2</sub> (CDCl<sub>3</sub>; 100 MHz)

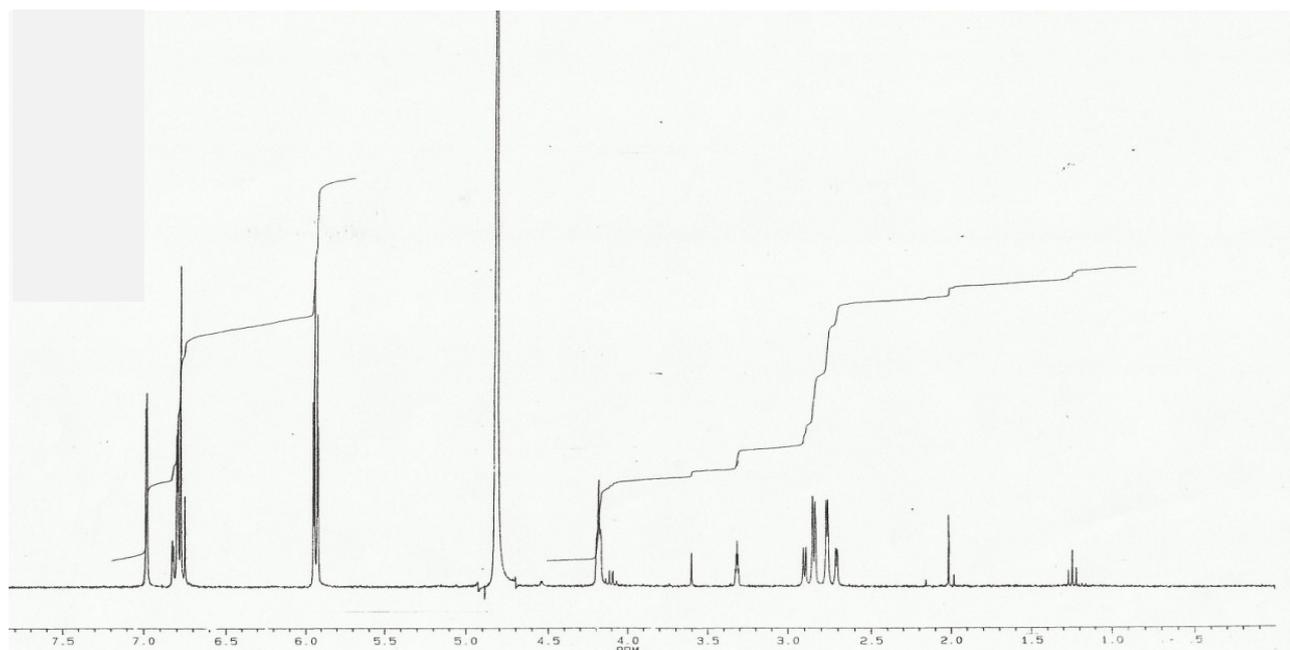
Son spectre UV enregistré dans le Méthanol présente des bandes d'absorption intenses à  $\lambda_{\max} = 228$  nm ( $\epsilon = 8750$ ) et  $\lambda_{\max} = 279$  nm ( $\epsilon = 26470$ ) compatible avec un chromophore de type flavonol (Khoon et *al.*, 1989). Par ailleurs, le spectre de RMN<sup>1</sup>H (acétone d<sub>6</sub>, 400MHz) laisse apparaître un système de type ABMX de quatre protons à  $\delta_H$  2,45 ; 2,70 ; 4,01 et 4,64 ppm caractéristique respectivement des protons H-4 équatorial et H-4 axial, H-3 et H-2 du cycle C du squelette de type flavonol, ceci corrobore avec l'observation sur le spectre de RMN<sup>13</sup>C du méthylène hybridé  $sp^3$  à  $\delta_C$  29,26 et de deux signaux de méthynes oxygénés tous  $sp^3$  à  $\delta_C$  67,5 et  $\delta_C$  79,9 correspondant respectivement au carbone C-4, C-3 et C-2 d'un squelette de type flavonol. Par ailleurs, on observe sur le spectre de RMN<sup>1</sup>H de ce composé

- Trois signaux larges de quatre protons échangeable à l'eau lourde à  $\delta_H$  9,10 ; 8,77 ; 8,87 et 8,88 ppm attribuable à quatre hydroxyl phénoliques et un quatrième à  $\delta_H$  4,64 correspondant à un hydroxyl porté par un carbone hybridé  $sp^3$
- Un système ABX constitué d'un doublet à  $\delta_H$  6,98/ $\delta_c$ 115,3 ppm avec une constante de couplage de l'ordre de 2Hz ;
- D'un doublet dédoublé à  $\delta_H$  6,78(1H, dd, 2,2 et 8,3)/  $\delta_c$ 119,4 et d'un doublet à  $\delta_H$  6,76(1H, d, 8,2Hz)/  $\delta_c$ 115,9 qu'on pourrait attribuer respectivement aux protons H-2' H-6', H-5' du cycle B ;
- Deux doublets avec une constante de couplage méta de 2,2Hz à  $\delta_H$  5,92/  $\delta_c$  96,4 et l'autre à  $\delta_H$  5,94/  $\delta_c$ 95,9 caractéristique des protons H-6, H-8 du cycle A

Toutes ces données (tableau) spectroscopique sont en accord avec celle décrite dans la littérature pour l'épicatéchine par Khoon et coll en 1989.



**Figure 13 : Spectre de RMN  $^1H$  de FMH<sub>2</sub> (CDCl<sub>3</sub>; 400 MHz)**



**Figure 14** : Spectre élargi de RMN  $^1\text{H}$  ( $\text{CDCl}_3$ ; 400 MHz) de  $\text{FMH}_2$

**Tableau 8** : Données spectrales de RMN  $^1\text{H}$  ( $\text{CDCl}_3$ ; 400 MHz) et de RMN  $^{13}\text{C}$  ( $\text{CDCl}_3$ ; 100 MHz) du composé  $\text{FMH}_2$

Position	$^1\text{H}$ (ppm)(nH, m, J(Hz))	$^{13}\text{C}$ (ppm)	Duc et <i>al.</i> ,1990
1	-	-	-
2	4,64 ( 1H, d,	79,9	80,6
3	4,01 (1H, m)	67,5	68,0
4	2,45 (1H, m) 2,70 (1H, m)	29,26	27,8
5		157,4	156,5
6	5,92 (1H , d , 2,2)	96,4	96,3
7		158,0	158,5
8	5,94 ( 1H, d, 2,2)	95,9	95,0
9	-	157,67	159,5
10	-	100,0	103,0
1'	-	132,29	133,7
2'	6,98 (1H, d, 2,2)	115,3	115,0
3'		145,95	143,5
4'		145,78	143,8

5'	6,76 (1H, d, 8,2)	115,9	115,7
6'	6,78 (1H, dd, 2,2 et 8,2)	119,4	119,4

---

**INTERET PEDAGOGIQUE**

## INTERET PEDAGOGIQUE

Le travail réalisé et présenté dans ce mémoire nous a permis de nous familiariser aux techniques de laboratoire qui nous seront d'une grande importance lors des séances de travaux pratiques qu'on fera au lycée. La recherche bibliographique et l'exploitation des données de la littérature nous aideront dans l'élaboration des cours de chimie et de physique des différentes classes dans les lycées et collèges.

Les techniques de laboratoire (chauffage, extraction, filtration, distillation, chromatographie) acquises dans le cadre de ce travail seront mises à profit pendant les séances de travaux pratiques, de même que les règles de sécurité que nous avons apprises au laboratoire.

La rédaction de ce mémoire et la présentation des structures nous a permis de nous familiariser avec des logiciels tels que Microsoft Word et Chemdraw ce qui nous permettra de bien concevoir les sujets d'évaluation aux Lycées.

L'étude des métabolites secondaires des fruits de *Macaranga hurifolia* nous a conduit à l'isolement et à la caractérisation de nombreux métabolites appartenant à plusieurs classes de composés naturels tels que les flavonoïdes (épicatéchine) et les stérols (stigma stérol et  $\beta$ -sitostérol) contenant plusieurs groupements fonctionnels tels que les alcools, les carbonyles, les doubles liaisons, qui peuvent être caractérisés par des tests d'identification (test de Lucas, réactif de Schiff, liqueur de Fehling, 2,4-DNPH, test à l'eau de brome) et tous ces groupements fonctionnels font partie du contenu des programmes de cours dispensés au secondaire.

De plus, ce mémoire nous a permis de mettre en évidence l'esprit de synthèse qui est une qualité indispensable pour les futurs enseignants puisqu'en tant qu'éducateur, nous devons transmettre aux apprenants des notions importantes et essentielles afin de les aider à mieux assimiler les leçons.

**CONCLUSION ET  
PERSPECTIVES**

## CONCLUSION ET PERSPECTIVES

Le travail qui m'a été confié dans le cadre des travaux de DIPES II portait sur l'isolement et la caractérisation des métabolites secondaires des fruits de *Macaranga hurifolia* (Euphorbiaceae).

Cet objectif a été partiellement atteint, puisque des fractions à 50% Hex/AcOEt, 75% Hex/AcOEt et 5% AcOEt/MeOH de l'extrait au méthanol, des fruits de cette plante, nous avons isolé à l'aide des méthodes chromatographiques (chromatographie flash, chromatographie sur colonne) quatre composés indexés FMH<sub>1</sub>, FMH<sub>2</sub>, FMH<sub>3</sub>, FMH<sub>4</sub>. De ces quatre composés deux d'entre eux à savoir FMH<sub>1</sub> et FMH<sub>2</sub> ont été entièrement caractérisés et identifiés à un mélange de phytostérol (FMH<sub>1</sub>) et l'épicatéchine (FMH<sub>2</sub>).

Les structures de ces composés ont été établies sur la base de leurs données spectrales en particulier la RMN à une et à deux dimension ainsi que la spectrométrie de masse faisant appel aux méthodes d'ionisation douces tel que l'electrospray.

En ce qui concerne le volet activités biologiques, nous n'avons pas pu le réaliser. C'est pourquoi dans la suite de notre travail, nous comptons non seulement aborder cet aspect, mais aussi :

- Parachever l'élucidation des structures des autres composés restants,
- Poursuivre l'isolement des autres composés des fractions restantes,
- Soumettre tous les composés ainsi isolés à des tests d'activités biologiques,
- Etudier les autres parties de la plantes (feuilles, écorces, racines).

**CHAPITRE III : PARTIE  
EXPERIMENTALE**

## CHAPITRE III : PARTIE EXPERIMENTALE

### III.1. APPAREILLAGE ET MATÉRIEL VÉGÉTAL

#### III.1.1. Appareillage

Les points de fusion ont été déterminés à l'aide d'un appareil de type Büchi (Büchi melting point B-535) et ne sont pas corrigés.

Les différentes masses ont été mesurées sur une balance électronique de type « Startorius »

Les spectres ont été obtenus sur un spectromètre de masse de type Varian MAT 731 équipé d'un analyseur à temps de vol (TOF).

Les spectres de résonance magnétique nucléaire du proton (RMN<sup>1</sup>H) et du carbone (RMN<sup>13</sup>C) ont été enregistrés sur les appareils Bruker AC 300 et Bruker AC 400 (RMN<sup>1</sup>H : 300 ou 400 MHz, RMN<sup>13</sup>C : 75 ou 100 MHz). Chaque échantillon a été dissout soit dans l'chloroforme déteurié, soit dans le diméthylsulfoxyde déteurié avec comme référence interne le tétraméthylsilane (TMS).

Les expériences COSY ont été effectuées avec des séquences d'impulsions usuelles.

Les déplacements chimiques ont été réalisés à l'échelle  $\delta$  en ppm, les constantes de couplage ( $J$ ) sont exprimées en Hertz (Hz). Les résultats sont : signal  $\delta$  (ppm), multiplicité (s=singulet, d= doublet, dd= doublet dédoublé, t= triplet, q= quartet, m= multiplet).

Les chromatographies flash ont été réalisées sur un Büchner en verre fritté tandis que, les chromatographies sur colonne l'ont été avec des colonnes en verre de diamètre variable et de hauteur d'environ 1m de long, utilisant comme phase stationnaire la silice de type 60 (Merck, 70-230 mesh et 230-400 mesh). Les fractions recueillies ont été concentrées sur un évaporateur rotatif de type Heidolph vv 2000 ou de type Büchi RE-111.

Les chromatographies sur couche mince ont été effectuées sur des plaques carrées en aluminium de dimension 20×20cm<sup>2</sup>, d'épaisseur 0,20 mm et recouvertes d'une couche de gel de silice de type 60 GF<sub>254</sub> Merck.

Les tâches ont été visualisées soit sur la lumière UV 254 nm, soit par pulvérisation au moyen de l'acide sulfurique 10% suivi d'un chauffage à l'étuve ou révélées à l'iode.

### III.1.2. Matériel végétal

Les fruits de *Macaranga hurifolia* ont été récoltés le 30 Août 2014 à nyom II dans la région du centre. L'identification de la plante a été faite par Mr NGANSOP Eric, botaniste de l'herbier national du Cameroun où un échantillon est déposé sous le numéro 37267/HNC.

## III.2. EXTRACTION

Les fruits de *Macaranga hurifolia* ainsi récoltés ont été séchés puis broyés, ce qui a permis d'obtenir 2,562Kg de poudre, la poudre obtenue a été extraite par macération à température ambiante pendant 48h. La solution résultante obtenue après filtration a été évaporée au moyen d'un évaporateur rotatif pour donner 456g d'extrait brut de couleur noirâtre

Cet extrait a subi un fractionnement sur entonnoir büchner en verre fritté contenant 456g de silice fine.

### III.2.1. Isolement des produits

L'extrait brut obtenu a été soumis à un dégrossissement par chromatographie flash sur gel de silice de granulométrie 60-230 mesh. L'élution s'est faite respectivement à l'hexane, au mélange hexane acétate d'éthyle de polarité croissante, et au mélange acétate d'éthyle méthanol de polarité croissante. Huit fractions principales ont été obtenues comme l'indique le tableau ci-dessous.

**Tableau 9 : chromatogramme du « flash »**

Eluant	Fraction	Masse	Observation
Hex	F <sub>1</sub>	2g	Trainées
Hex/ AcOEt 25%	F <sub>2</sub>	5g	Six tâches
Hex/ AcOEt 50%	F <sub>3</sub>	20g	Plusieurs tâches
Hex/ AcOEt 75%	F <sub>4</sub>	14g	Trainées
AcOEt	F <sub>5</sub>	46g	Tâches et trainées
AcOEt/MeOH 5%	F <sub>6</sub>	67g	Quatre tâches
AcOEt/MeOH 10%	F <sub>7</sub>	54g	Trois tâches
AcOEt/MeOH 50%	F <sub>8</sub>	114g	Trainées

### III.2.1.1. Traitement de la fraction F<sub>2</sub>

La fraction F<sub>2</sub> (5g) obtenue au mélange hexane/acétate d'éthyle 25% du flash a été fixée sur de la silice et soumise à une chromatographie sur colonne. Nous avons utilisé une colonne de diamètre 3cm. L'élution s'est faite au mélange hexane/acétate d'éthyle de polarité croissante. Cent soixante une fractions de 15mL ont été recueillies et regroupées sur la base de la CCM analytique.

**Tableau 10 : Chromatogramme de la fraction F<sub>2</sub>**

Eluant	Fraction	Séries	Observation
Hex/ AcOEt 5%	1-3	S <sub>1</sub>	Trainées
Hex/ AcOEt 10%	4-14	S <sub>2</sub>	Trainées et des tâches
	15-30	S <sub>3</sub>	Obtention de FMH <sub>1</sub>
Hex/ AcOEt 15%	31-49	S <sub>4</sub>	1 tâche avec des trainées
	49-61		
Hex/AcOEt 20%	62-86	S <sub>5</sub>	Trainées
Hex/ AcOEt 30%	87-91	S <sub>6</sub>	
Hex/ AcOEt 50%	92-104	S <sub>7</sub>	Trainées
Hex/ AcOEt 75%	105-113	S <sub>8</sub>	
AcOEt	114-150	S <sub>9</sub>	
AcOEt /MeOH 5%	151-161	S <sub>10</sub>	

Les fractions 15-30, laissées à température ambiante, précipitent. Après lavage, filtration à l'acétate d'éthyle, on obtient une poudre blanche qui est le composé que nous avons indexé FMH<sub>1</sub>

### III.2.1.3. Traitement de la fraction F<sub>3</sub>

La fraction F<sub>3</sub> (20g) obtenue à Hex/AcOEt 50% a été fixée sur de la silice et soumis à une chromatographie sur colonne. Nous avons utilisé une colonne de diamètre 3,5cm. L'élution s'est faite au mélange Hex/AcOEt de polarité croissante. Quatre vingt sept fractions de 15 mL ont été collectées et regroupées sur la base de la CCM analytique.

**Tableau 11 : Chromatogramme de la fraction F<sub>3</sub>**

Eluant	Fractions	Séries	Observation
Hex/AcOEt 20%	1-3	S <sub>1</sub>	Trainées
	4-5	S <sub>2</sub>	
	6-13	S <sub>3</sub>	Obtention de FMH <sub>2</sub>
Hex/AcOEt 35%	14-19	S <sub>4</sub>	Tâches et Trainées
Hex/AcOEt 50%	20-31	S <sub>5</sub>	
Hex/AcOEt 60%	32-48	S <sub>6</sub>	
Hex/AcOEt 70%	49-59	S <sub>7</sub>	Tâches
Hex/AcOEt 80%	60-65	S <sub>8</sub>	Trainées
AcOEt	66-74	S <sub>9</sub>	Trainées
	75-83	S <sub>10</sub>	Tâches et Trainées
	84-89	S <sub>11</sub>	

Les fractions 6-13 combinées et laissées à température ambiante précipitent sous forme de poudre blanche. Cette poudre lavée au méthanol et filtrée nous permet d'obtenir le composé FMH<sub>2</sub>

#### III.2.1.4. Traitement de la fraction F<sub>4</sub>

La fraction F<sub>4</sub> (14g) obtenue à l' Hexane/Acétate 75% a été fixée sur de la silice et soumise à une chromatographie sur colonne. Nous avons utilisé une colonne de diamètre 3,5Cm. L'élution se fera au mélange Chlorure/Méthanol de polarité croissante. Quarante sept fractions ont été recueillies et regroupées sur la base de la CCM analytique.

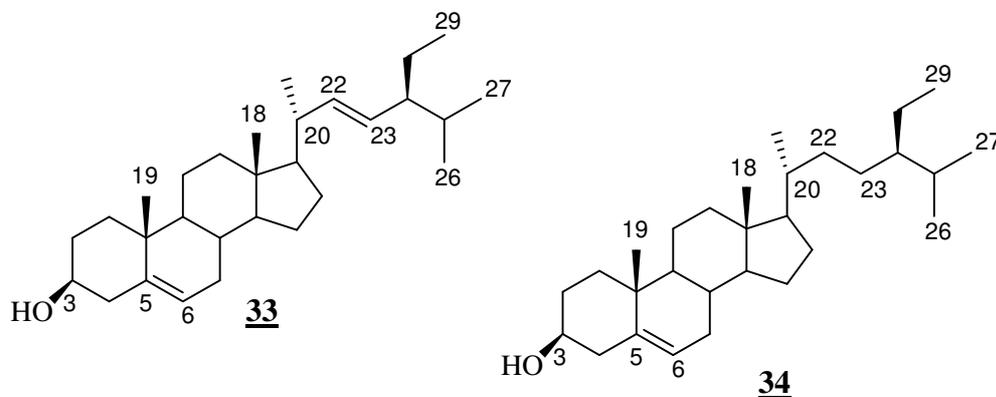
**Tableau 12 : Chromatogramme de la fraction F<sub>4</sub>**

Eluant	Fraction	Séries	Observation
CH <sub>2</sub> Cl <sub>2</sub>	1-7	S1	Trainées
CH <sub>2</sub> Cl <sub>2</sub> /MeOH 2%	8-12	S2	
	13-17	S3	Obtention de FMH <sub>3</sub>
CH <sub>2</sub> Cl <sub>2</sub> /MeOH 5%	18-39	S4	Obtention de FMH <sub>4</sub>
CH <sub>2</sub> Cl <sub>2</sub> /MeOH 10%	40-44	S5	Tâches et Trainées
CH <sub>2</sub> Cl <sub>2</sub> /MeOH 15%	45-54	S6	Trainées
	55-63	S7	
CH <sub>2</sub> Cl <sub>2</sub> /MeOH 20%	64-74	S8	
CH <sub>2</sub> Cl <sub>2</sub> /MeOH 25%	75-82	S9	
MeOH	83-87	S10	

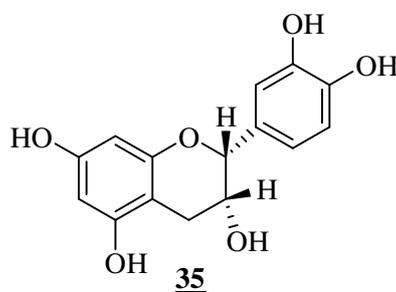
Les fractions 13-17 et 18-39, après lavage et évaporation du solvant sont récupérées, et laissées à température ambiante. Elles cristallisent pour donner une poudre jaunâtre qui est FMH<sub>3</sub> et une poudre blanche qui est FMH<sub>4</sub>.

## III.3. CARACTÉRISTIQUES PHYSICO-CHIMIQUES DES COMPOSÉS

## ISOLÉS

FMH<sub>1</sub> : stigmastérol 33 et de  $\beta$ -sitostérol 34

- Aspect physique : poudre blanche
- Test de Liebermann- Burchard: positif
- SM-EI m/z : 412(int. Rel= 72) et 414(int. Rel= 28) compatible respectivement aux formules brutes C<sub>29</sub>H<sub>46</sub>O et C<sub>29</sub>H<sub>48</sub>O
- RMN<sup>1</sup>H (400 MHz ; CDCl<sub>3</sub>) et RMN<sup>13</sup>C (100MHz , CDCl<sub>3</sub>), voir tableau 7.

FMH<sub>2</sub> : épicatechine 35

- Aspect physique : poudre Orange
- Point de fusion : 214-217°C
- Test au chlorure ferrique : positif
- ESI-TOF : m/z 291,0887 (calc. 291,0868 pour C<sub>15</sub>H<sub>15</sub>O<sub>6</sub>)
- RMN<sup>1</sup>H (400 MHz, CDCl<sub>3</sub>) et RMN<sup>13</sup>C (100 MHz, CDCl<sub>3</sub>), voir tableau 8
- UV  $\lambda_{\max}^{\text{MeOH}}$  nm (log  $\epsilon$ ) :  $\lambda_{\max} = 228$  (3,94) et  $\lambda_{\max} = 279$  (4,42).

**REFERENCES  
BIBLIOGRAPHIQUES**

**REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES**

Beking K., A. Vieira. (2010) An assessment of dietary flavonoid intake in the UK and Ireland. *International journal of food sciences and nutrition*, **62**: 17-19.

Bouquet A. (1969). Féticheurs et médecines traditionnelles du Congo (Brazaville) ; *office de la recherche scientifique et technique Outre-Mer O.R.S.T.O.M.* Paris, France. 132-133.

Bruneton J. (2009). Pharmacognosie - Phytochimie, plantes médicinales, 4<sup>e</sup> éd. revue et augmentée, Paris- Éditions médicales internationales, 1288 p.

Burkill H M. (1985). The useful plants of West tropical Africa, Royal botanic Garden, Kew. **2**.

Chun O. K., Chung S. J., Song W. O. (2007). Estimated dietary flavonoid intake and major food sources of U.S. adults. *The Journal of nutrition*, **137**: 1244-1252

Daziell, Richmand.( 1937) The useful plants of west tropical Africa. 2<sup>e</sup> edition, royal botanic garden, Kew, United Kindom. **2**: 407

Diallo.F.,Vanhaellen.H., Gosselain. (1995). Plantes médicinales de la Guinée. A. Challome, Paris. 46.

Duc D. K., Tran-Van S., Campos A. M., Lallemand J. Y., Fetizon M. (1990). Catéchin compounds from *Diplopanax stachyanthus*. *Phytochemistry*, **22**, 251-256.

Eck, G., Fiala B.; Lisenmair, K.E., Bin H R., Proksch P. (2001). Trade-off between chemical and biotic antiherbivore defense in the south East Asian plant genus *Macaranga*. *Journal of Chem. Ecol.* **27**:1979-1996.

Falkenberg T., Sawyer J., Zang X. (2002). Stratégie de l’OMS pour la médecine traditionnelle pour 2002-2005, Genève. **36**.

Favier C., de Namur C., Dubois M.A. (2004). Forest progression modes in littoral Congo, Central Atlantic Africa. *Journal of Biogeography*. **31** : 1445-1461.

Gaffield, W. (1970). *Tetrahedron*. **26**:4093-4108.

Govaerts., Frodin R., Radcliffe-Smith D. G. (2000). World Checklist and Bibliography of Euphorbiaceae (and Pandaceae). The Board of Trustees of the Royal Botanic Gardens, Kew. 1-4: 1-1622.

Hänsel R., O. Sticher.(ANNEE). Pharmacognosie, Phytopharmacie. 9e édition, Springer Medizin Verlag, Heidelberg 2:1098-1152.

Harbone J. B. (1980). Flavonoids advances research. Chapman and Hall, London. **1981**:152-204.

Harbone J. B., Williams C. A. (2000). Advanced in flavonoid research since 1992. *Phytochemistry*, **55**: 481-504.

Hartwig A., Cecillia M., Joseph A., Phillips D. (1991). Flavonoids Released Naturally from Alfalfa Seeds Enhance Growth Rate of *Rhizobium meliloti*. *Plant Physiology*. **95**:797-803

Hui W. H., Ng K., Fukamiya N., Koreeda M., Nakanishi K. *Phytochemistry*.(1975). **10**:1617-1620.

Hui. W. H., Li. M., Ng. K. K. (1975). *Phytochemistry*. **14**:816-817.

Hung-ju C., Baskaran. S. I., Bing-Huei C. (2012). Determination of phenolic acid and flavonoids in *Taraxacum formosanum* Kitan by liquid chromatography-Tandem mass spectrometry coupled with a post-column derivatization technic. *International journal of molecules sciences*. **13(1)**:260-285.

Ilja C. W., Hollman Peter C. H. (2005). Polyphenols and disease risk in epidemiologic studies. *The American Journal of Clinical Nutrition*. **81**

Irvine, Richmand. (1961). The useful plants of west tropical Africa. 2<sup>nd</sup> edition, royal botanic garden, Kew united kindom. **2**: 238

Judd S., Christopher S., Elizabeth A., Kellogg Stevens. (2001). Botanique systématique : une perspective phylogénétique, De Boeck Supérieur. 68

- Katsuyoshi M. , Takamori I., Shinzato T., Aramoto M., Kondo K., Otsuka H. (2006). Radical-scavenging activities of new megastigmanes glucosides from *Macaranga tanarius* (L.) MÜLL.-ARG. *Chemical Pharmaceutic Bulletin*. 54:1403-1407.
- Katzung B. G. (1996). Pharmacologie fondamentale et Clinique. Edition PICCIN nuova libreria S.P.A Italie.
- Khoun. H.L., Das. N. P. (1989). Production of (-) epicatechin by *Uncaria elliptica* callus cultures. *Phytochemistry*. **28**: 1099-1100
- Kumazawa S., Fukumoto S.. (2010). *Macaranga tanarius*, the plants origin of Okinawan propolis. *Honeybee Science*. **28** : 1-6
- Kumazawa S., Nakamura J., Murase M., Ahn M., Fukumoto S. (2008). Plants origin of propolis: honeybee behavior observation and phytochemical analysis. *Naturwissenschaften*. **95**: 781-786.
- Letouzey R. Manuel de botanique forestière d'Afrique tropicale. Edition Marme. 157-163.
- Lil., K. Wang H., Chang J. J., Mc Phall D. R., Terada H., Konoshima T., Kokumai M., Kozukam M., Estes J. R., Lee H. K. (1993). Antitumor agents, 138. Rotenoids and isoflavones as cytotoxic constituents from *Amorpha fruticosa*. *Journal of Natural Product*. **56**:690-698.
- Lim H. Y., Kim H. I., Seo J. J. (2007). In vitro activity of Kaempferol isolated from *Impatiens balsamina* alone and in combination with erythromycin or clindamycin against (propionibacterim aines). *Journal of Natural Product of Microbiology*. **45**: 473-477.
- Mei-Huims T., Kuo Y. H., Chen Y. M., Chou C. H. (2001). Allelopathic prenylflavanones from the fallen leaves of *Macaranga tanarius*. *Journal of Natural Product*. **64**: 827-828.

Pateh U. U., Haruna A. K., Garba M., Iluya I., Sule T., Aauabar M. S., et Ambi A. A. (2009). Isolation of stigmastrol,  $\beta$ -sitostérol and 2 hydroxyhexadenanoic acid methylester from the rhizomes of *Stylochitonlancifolius*pyer ant Kothy (araceae). *Nigerian journal of Pharmaceutical Sciences*. **7** : 19-25

Pauwels L., N'zayllu N. Guide des arbres et arbustes de la région de Kinshasa Brazaville. Edition Jardin Botanique National de Belgique. Melse, Belgique. 136-148.

Phupattanapong L., Wongprasert T., Thai. (1986). Medicinal Plants. Chutima Bangkok. **5**:690.

Radcliffe. J., Aubreville.A. (1987). Plantes médicinales de la côte d'ivoire. Ministère de le France d'outre Mer. 123-130.

Sarni-Manchado P., V. Cheynier. (2006). Les polyphénols en agroalimentaire, Lavoisier, Editions Tec & Doc. 398.

Savill , Fox. (1967). the useful plants of west tropical Africa. (Ghana, Twi), 2<sup>nd</sup> edition, royal botanic garden, Kew.117.

Sharma A K., N. Deshwal. (2011). An overview : on phytochemical and pharmacological studies of *Butea mospermo*. *International Journal of Pharm Tech Research*. **3**: 864-871.

Shinogeri.K., Masayo.M.,Noboru.M., Syuichi. F.(2014).Analysis of antioxidant prenylflavonoids in different parts of *Macaranga tanarius*, the plantorigin of Okinawan propolis. *Asian pacific journal of tropical medicine*. **3**:16-20.

Shiori K., Harinantenaina L., Matsunami K., Otsuka H., Shinzato T., Takeda Y. (2008). Macaflavanones A-G, prenylated flavanones from the leaves of *Macaranga tanarius*. *Journal of Natural Product*.**71**: 1872-1876.

Suporn P., Sutthivaiyakit P., Chimnoi N., Ruchirawat S., Sutthivaiyakit S. (2005). Constituents of the leaves of *Macaranga tanarius*. *Journal of Natural Product*. **68**:927-930.

Troupin G. (1982). Flore des plantes ligneuses du Rwanda. Institut National de Recherche Scientifique Butare Rwanda. **21** : 240-263.

Underhill.D., Hellen. W., Fork. M. ( 1988) The flavonoids : advances in research since 1980. Editor Harbone J.B., Chapman and Hall. London. 138.

Webster G . (1994). Ann Missouri Botanic Garden. **81**: 33-144.

Wilk., Issembe C. Les arbres de la Guinée équatoriale. Edition Prépresse communication France, 57-58.

Yakushijin K., Shibayama K., Murata H., H. Furukawa. (1980). Heterocycles.**14** :397-402.

Zamora-Ros R. (2013). Dietary flavonoid and lignan intake and breast cancer risk according to menopause and hormone receptor status in the European Prospective Investigation into Cancer and Nutrition (EPIC) Study. Breast cancer research and treatment. 2357-2295.

**ANNEXE**

## ANNEXE

### **Test au chlorure ferrique : caractéristique des phénols**

Dissoudre une petite quantité du composé à identifier dans le méthanol à chaud, puis y ajouter quelques gouttes de solution de chlorure ferrique. L'observation de la couleur bleue ou violette confirme la présence des phénols.

### **Test de Shinoda : caractéristique des flavonoïdes**

Ce test consiste à dissoudre le composé à identifier dans le méthanol, y ajouter des copeaux de magnésium ainsi que quelques gouttes d'acide chlorhydrique. La présence des flavonoïdes se manifeste par une effervescence suivie d'un changement de couleur de la solution qui passe au pourpre.

### **Test de Liebermann Burchard**

Ce test est caractéristique des triterpènes et des stérols. Le réactif de Liebermann Burchard est composé d'anhydride acétique et d'acide sulfurique.

Ce test consiste à introduire dans un tube à essai une petite quantité de produit et le dissoudre dans 50 mL de dichlorométhane et y ajouter 20 mL d'anhydride acétique et 1 ml d'acide sulfurique. La présence des triterpènes se manifeste par l'apparition d'une couleur rouge violacée et celle des stérols par l'apparition d'une couleur bleu verdâtre