

REPUBLIQUE DU CAMEROUN

Paix-Travail-patrie

UNIVERSITE DE YAOUNDE I

ECOLE NORMALE SUPERIEURE

DEPARTEMENT DE CHIMIE

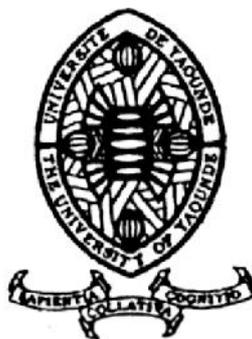
REPUBLIC OF CAMEROON

Peace-Work-Fatherland

UNIVERSITY OF YAOUNDE I

HIGHER TEACHER TRAINING
COLLEGE

DEPARTMENT OF CHEMISTRY



CONSTITUANTS CHIMIQUES ISSUS DES RACINES
DE *CAMPYLOSPERMUM NIGROVIOLACEUM*
(OCHNACEAE)

MEMOIRE

Présenté et soutenu publiquement en exigence des conditions requises pour l'obtention du
Diplôme de Professeur de l'Enseignement Secondaire Deuxième grade (DI.P.E.S.II)

Par :

ZOUA RENE FRED ALAIN

Licencié en Chimie

Matricule : 07Y147

Sous la direction de :

NGONO BIKOBO SERGE DOMINIQUE

Chargé de Cours

Année 2016

CERTIFICATION

Je soussigné, **Ngono Bikobo Serge Dominique**, Chargé de Cours certifie que les travaux effectués par l'étudiant **Zoua René Fred Alain**, matricule **07Y147**, portant sur "**Constituants chimiques issus des racines de *Campylopermum nigroviolaceum* (Ochnaceae)**", 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.

Yaoundé le.....

DEDICACE

➤ **A ma grande mère Mme veuve ABINA née NGO BOUMTJE Marie**

REMERCIEMENTS

- ➔ A Dieu **Tout Puissant** qui a toujours été mon guide
- ➔ Au Professeur **Diédonné Emmanuel Pegnyemb** pour m'avoir accueilli au sein de son Laboratoire de Pharmacochimie des Substances Naturelles et pour m'avoir initié à la recherche.
- ➔ Au Docteur **Dominique Serge Ngoni Bikobo** pour son encadrement, son soutien et la responsabilité qu'il m'a accordée. Avec lui j'ai travaillé avec un grand frère.
- ➔ Au Docteur **Joséphine Ngo Mbing** pour sa disponibilité, ses multiples conseils et pour la confiance à moi accordée.
- ➔ Aux Professeurs **Deccaux Kapche, Bruno Lenta, Siméon Kouam, Pascal Wafo** et à tous les enseignants du département de Chimie de l'Ecole Normale Supérieure de Yaoundé I pour les connaissances acquises et pour leur rigueur dans le travail.
- ➔ A mes aînés de laboratoire les Docteurs **Auguste Abouem A Zintchem; Olivier Placide Noté, Gaétan Bahiya, Ledoux Kamto, Mc Jésus Kinyok, Jeanne-Louise Nkot, Marius Balemaken, Norbert Mbabi** pour leur aide précieuse tout au long de ce travail, leurs conseils, leurs encouragements et leur sympathie.
- ➔ A mes camarades la promotion, particulièrement ceux de mon laboratoire **Aurore Bella** et **Albert Mbega** pour leur esprit de collaboration.
- ➔ A mes parents **M. et Mme Ndjepel**
- ➔ A tous mes frères et sœurs : **Eric Abina, Stève Boumtje, Mireille Mboe, Junior Ekodo, Sabine Ododi Ndjepel, Giovanni Ebana II Fouda, Franc Eno'o Ondoua, Taylor Ebana II Boumtje et Achille Mang** pour le soutien quotidien, matériel et fraternel.
- ➔ Au Pasteur **Jeanne Joseph Binyougue** pour l'affection et le soutien à moi accordés.
- ➔ A tous ceux qui me sont chers et que je n'ai pas pu citer, que ce travail soit pour vous un objet de fierté

LISTE DES ABREVIATIONS

A.P.T. :	Attach Proton Test
C.C :	Chromatographie sur Colonne
C.C.M :	Chromatographie sur Couche Mince
C.D.F :	<i>Campylospermum densiflorum</i> feuilles
C.F.F R :	<i>Campylospermum flavum</i> feuilles et racines
C.G.F :	<i>Campylospermum glaucum</i> feuilles
C.M.F :	<i>Campylospermum mannii</i> feuilles
d :	doublet
DL ₅₀ :	Dose létale provoquant le décès de 50% des individus de la population testée
ESI :	Electrospray Ionisation
Glu :	-D-glucopyranosyle
H.M.B.C :	Heteronuclear Multiple Bond Connectivity
H.N.C :	Herbier National du Cameroun
H.S.Q.C :	Heteronuclear Single Quantum Coherence <i>J</i> : Constante de couplage
O.F.B :	<i>Ouratea flavabranche</i>
O.F.F :	<i>Ouratea flava</i> feuilles
O.H.E :	<i>Ouratea hexasperma</i> écorces
O.H.F :	<i>Ouratea hexasperma</i> feuilles
O.S.F :	<i>Ouratea semiserrata</i> feuilles
O.S.B F :	<i>Ouratea semiserrata</i> branches et feuilles
O.Sp.F :	<i>Ouratea spectabilis</i> feuilles
O.Su.B :	<i>Ouratea sulcata</i> branches
ppm :	partie par million
q :	quadruplet
R.M.N ¹³ C :	Résonance Magnétique Nucléaire du carbone 13
R.M.N ¹ H :	Résonance Magnétique Nucléaire du proton
SM :	Spectroscopie de Masse
s :	singulet
t :	triplet
TMS :	Tétraméthyle Silane
TOF :	Time Of Fly
:	Déplacement chimique

LISTE DES FIGURES

Figure 1- Distribution géographique des Ochnaceae dans le monde.....	2
Figure 2 : Les racines du <i>Campylospermum nigroviolaceum</i>	4
Figure 3 : Répartition géographique de <i>Campylospermum nigroviolaceum</i> au Cameroun.....	6
Figure 4 : Spectre de masse de CN ₁	22
Figure 5 : Spectre APT de CN ₁	23
Figure 6 : Spectre de RMN ¹ H de CN ₁	24
Figure 7 : Spectres HSQC de CN ₁	25
Figure 8 : Spectre HMBC de CN ₁	26
Figure 9 : Spectre COSY90 de CN ₁	27
Figure 10 : APT et Spectre de RMN ¹³ C de CN ₂	31
Figure 11 : Spectres de RMN ¹ H de CN ₂	32
Figure 12 : Spectres HSQC de CN ₂	33
Figure 13 : Spectre HMBC de CN ₂	34
Figure 14 : Spectre COSY90 de CN ₂	34

LISTE DES TABLEAUX

Tableau I - Systématique des Ochnaceae.....	3
Tableau II : Position systématique de <i>Campylospermum nigroviolaceum</i>	4
Tableau III : Quelques flavonoïdes isolés des <i>Campylospermum</i>	7
Tableau IV : Quelques biflavonoïdes isolés des <i>Campylospermum</i>	10
Tableau V : Quelques Cyanoglycosides isolés des <i>Campylospermum</i>	12
Tableau VI : Autres composés isolés des <i>Campylospermum</i>	14
Tableau VII : Données spectrales de RMN ¹³ C (100 MHz ; DMSO-d ₆) de CN ₁ comparées à celles de la littérature.....	21
Tableau VIII : Données spectrales de RMN ¹³ C (100 MHz DMSO-d ₆) de CN ₂ comparées à celles de la littérature	30
Tableau IX : Chromatogramme de l'extrait à l'acétate d'éthyle.....	38
Tableau X : Tests caractéristiques.....	39

LISTE DES SCHEMAS

Schéma 1 : Hydrolyse enzymatique des cyanoglucosides cyanogènes.....	15
Schéma 2 : Biosynthèse des cyanoglucosides cyanogènes.....	16
Schéma 3 : Biosynthèse de la ménisdaurine à partir de la tyrosine.....	16
Schéma 4 : Protocole d'extraction et d'isolement des composés.....	18

RESUME

Le travail effectué dans le cadre de ce mémoire porte sur l'étude des constituants chimiques de *Campylospermum nigroviolaceum* une plante de la famille des Ochnaceae.

Les racines de cette plante ont été découpées, séchées et broyées. L'extrait organique obtenu après la partition à l'acétate d'éthyle a subi une série de chromatographies répétitives, au terme de ce processus, quatre composés indexés CN₁, CN₂, CN₃ et CN₄ ont été isolés. L'élucidation structurale de deux ces métabolites secondaires a été faite à l'aide de leurs données physiques et, spectroscopiques (SM, RMN¹H, RMN¹³C, HMBC, HSQC,.....etc.), par comparaison avec les données déjà publiées dans la littérature et les échantillons authentiques présents au laboratoire. CN₁ et CN₂ ont été identifiés à l'acide *ent*-16, 17-dihydroxykauran-19-oïque et à la ménisdaurine respectivement.

Mots clés: extrait, partition, élucidation

ABSTRACT

This work deals with the extraction, isolation and characterization of the constituents of the stem bark of *Campylospermum nigroviolaceum*, a Cameroonian medicinal plant from the Ochnaceae family. On the basis of chromatography methods, we have isolated four compounds.

The structures of 2 compounds have been elucidated and identified respectively as *ent*-16,17-dihydroxykauran-19-oic acid and menisdaurine using physical spectroscopic data (^1H NMR, ^{13}C NMR, DEPT and MS), by comparison with literature values of the known compounds and TLC comparison with authentic sample in laboratory.

Key words: extraction, isolation and characterization

TABLE DES MATIERES

DEDICACE.....	i
REMERCIEMENTS	ii
LISTE DES ABREVIATIONS	iii
LISTE DES FIGURES.....	iv
LISTE DES TABLEAUX.....	v
LISTE DES SCHEMAS.....	vi
RESUME.....	vii
ABSTRACT	viii
INTRODUCTION GENERALE.....	1
CHAPITRE I : REVUE DE LA LITTERATURE.....	2
I.1. Aperçu botanique	2
I.1.1. Aperçu botanique sur les Ochnaceae.....	2
I.1.2. Aperçu botanique sur les <i>Campylospermum</i>	3
I.1.3. Aperçu botanique sur l'espèce <i>Campylospermum nigroviolaceum</i>	3
I.1.4. Classification botanique.....	4
I.1.5. Usages médicaux de quelques espèces du genre <i>campylospermum</i>	4
I.1.6. Répartition des <i>Campylospermum nigroviolaceum</i> au Cameroun	5
I.2. Travaux antérieurs sur les espèces du genre <i>Campylospermum</i> et <i>Ouratea</i>	7
I.2.1. Les flavonoïdes	7
I.2.2. Les biflavonoïdes.....	9
I.2.3. Les cyanoglycosides	12
I.2.4. Autres composés.....	13
I.2.5. Activités biologiques et biosynthèse des composés isolés des <i>Campylospermum</i>	15
I.2.5.1. Activités biologiques et biosynthèse des cyanoglucosides.	15
a) Activités biologiques des cyanoglucosides.	15
b) Biosynthèse des cyanoglucosides.....	15
CHAPITRE II : RESULTATS ET DISCUSSION	17

2.1	GENERALITES	17
2.2	ANALYSE STRUCTURALE	19
2.1.1	Identification du composé CN ₁	19
2.1.2	Identification du composé CN ₂	28
	INTERETS PEDAGOGIQUE	35
	CONCLUSION ET PERSPECTIVES	36
	CHAPITRE III : PARTIE EXPERIMENTALE	37
3.1.	Matériel végétal et appareillage	37
3.1.1	Appareillage	37
3.1.2.	Matériel végétal	37
3.1.3.	Extraction et isolement	37
3.1.4	Fractions retenues	38
3.2.	Caractéristiques physico-chimiques des produits isolés.....	39
3.3.	Screening chimiques	39
	REFERENCES	40

INTRODUCTION GENERALE

Les plantes constituent depuis les temps immémoriaux une source émanatrice de produits nutritionnels, cosmétiques et thérapeutiques à laquelle les hommes quelque soit leur origine ont recours au quotidien.

De nos jours, malgré les progrès réalisés dans la médecine moderne, de nombreux problèmes de santé continuent de se poser avec acuité. Par ailleurs près de 80% de la population africaine continue d'utiliser les substances à base de plantes pour résoudre leurs problèmes de santé (Pousset 2004). Malheureusement, en dépit de l'efficacité prouvée ou non des plantes, la nature chimique des constituants responsables de ladite efficacité restent peu connue. Il est donc nécessaire de mettre sur pied des programmes de suivi, d'exploitation et d'usage rationnel de ces plantes, au fin d'améliorer les conditions de santé précaire des dites population. C'est dans cette mouvance que les chercheurs du Département de Chimie Organique de l'université de Yaoundé I s'attèlent, depuis fort longtemps, à développer cet axe de recherche.

Pour souscrire à ce vaste programme, il nous a été proposé, dans le cadre de nos travaux de recherche, pour le compte du mémoire de DIPES II, l'étude d'une espèce de la famille des Ochnaceae à savoir *Campylospermum nigroviolaceum*.

Ce travail s'articulera autour de trois points à savoir :

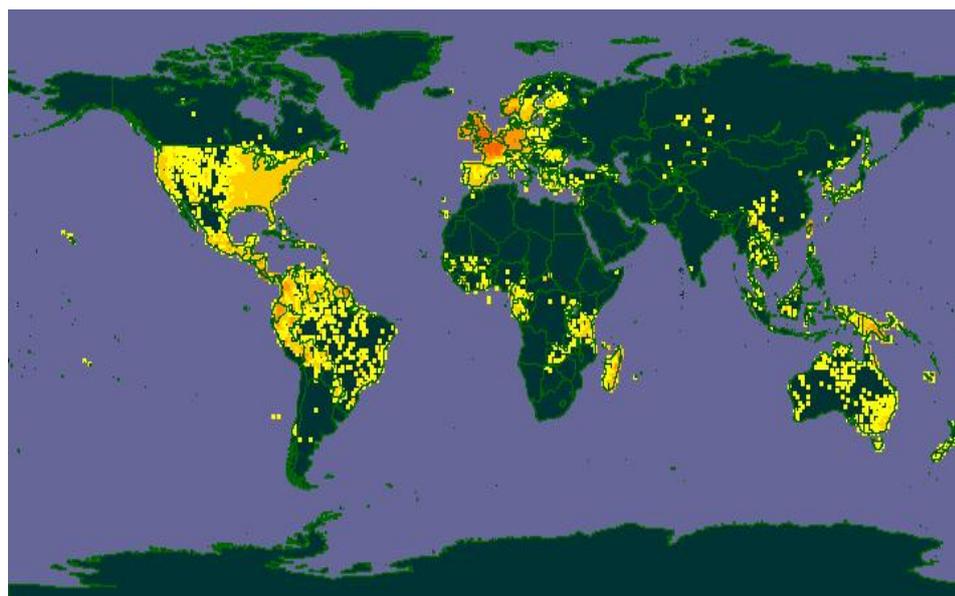
- une revue de la littérature,
- une présentation des résultats et discussion,
- une partie expérimentale.

CHAPITRE I : REVUE DE LA LITTÉRATURE

I.1.Aperçu botanique

I.1.1.Aperçu botanique sur les Ochnaceae

Les Ochnaceae constituent une famille de plantes dicotylédones largement répandues dans les régions sub-tropicales et tropicales de l'Amérique du sud, de l'Afrique au sud du Sahara et de l'Asie du Sud-Est ainsi que Madagascar. Ce sont des arbrisseaux et des arbustes (Adam 1971), cette famille est définie par des feuilles alternes avec des stipules parfois lancinées, l'ovaire est intérieurement lobé, les fruits sont souvent séparés par le réceptacle. On dénombre environ 40 genres et 600 espèces (Heywood 1978), bien que certains auteurs n'en répertorient qu'une trentaine (Mabberley 2008). La distribution géographique mondiale des Ochnaceae est la suivante.



Légende

Zone des Ochnacées

Figure 2- Distribution géographique des Ochnacées (<http://www.GBIF.org>)

Les Ochnacées appartiennent à l'ordre des Malpighiales (Chase et al. 2002), constituant un petit groupe monophylétique avec les Medusagynaceae (famille monotypique des îles Seychelles) et les Quinaceae (Amérique tropicale). Une étude récente sur la structure phylogénétique des Ochnaceae et des groupes apparentés, confirme l'inclusion des Luxemburgiaceae dans les Ochnaceae (Amaral et Bittrich 2005, Gilg 1995, Kanis 1968, Amaral 1991). Les Ochnaceae sont issus de l'embranchement des Spermatophytes (Tableau I)

Tableau I- Systématique des Ochnaceae (Sharon et al. 2003).

Embranchement	Spermatophytes
Sous embranchement	Angiospermes
Classe	Dicotylédones
Ordres	Malpighiales
Famille	Ochnaceae

Dans la forêt dense africaine, cette famille est représentée par environ sept genres (Adam 1971) à savoir : *Idertia*, *Lophira*, *Ochna*, *Ouratea*, *Rhabdophyllum*, *Sauvagesia*, et enfin le genre *Campylospermum*.

I.1.2. Aperçu botanique sur les *Campylospermum*

Encore appelé *Gomphia*, *Campylospermum* est constitué d'arbustes du sous-bois dont les fleurs ont des sépales qui deviennent rose ou rouges autour du fruit, dix étamines à filets plus courts que les anthères qui s'ouvrent par des ports situés au sommet, les fruits ont des carpelles drupacés séparés sur un réceptacle renflé (Kanis 1968). Le genre *Campylospermum* était autrefois classé parmi les *Ouratea*, il a été montré par des études que *Ouratea* est synonyme de *Campylospermum* (Bittrich et Amaral 1994), or en 1968 il a été observé une différence infime se résumant ainsi: *Campylospermum* diffère de *Ouratea* en ayant les nervures submarginales parallèles au bord de la feuille avec de petites inflorescences, les pédicules en dessus des articulations ont une base assez longue et les pétales sont oblongues-lancéolées (Adam 1971).

Le genre *Campylospermum* fait partie de la famille des Ochnacées dont les représentants, de part leur intérêt économique et thérapeutique, ont fait l'objet de quelques études phytochimiques. Néanmoins vu le nombre d'espèces non encore étudiées, ce genre constitue encore une source potentiellement importante de nouveaux composés naturels à intérêt thérapeutique. Les représentants du genre *Campylospermum* sont estimés à 65 espèces (Zhang et Maria 1984), principalement en Afrique tropicale et Madagascar, quelques espèces sont recensées en Asie du Sud et du Sud-Est et très peu en Chine, comme espèce du genre, nous avons *Campylospermum nigroviolaceum*.

I.1.3. Aperçu botanique sur l'espèce *Campylospermum nigroviolaceum*

Campylospermum nigroviolaceum est un arbuste de 2 à 6 m de hauteur. L'écorce lisse est de couleur grisâtre. Les feuilles pétiolées, minces, ovales de couleur verte à bords entiers ou légèrement ondulés sont arrondies à la base, courtement acuminées au sommet. Le limbe étroitement ovale est redressé à la base. Les fleurs sont jaunes, fasciculées le long des axes,

réceptacles et sépales sont rouges vifs, le calice est de couleur jaune. Les ramifications sont étalées chez le sujet jeune et disparaissent avec l'âge, les fruits sous forme d'olive sont jaunes (Farron 1963)



Figure 2 : Les racines du *Campylospermum nigroviolaceum* (filmées à Sokelle dans la région du Centre Cameroun en Avril 2015 par Zoua Fred)

I.1.4. Classification botanique

Du point de vue de la phylogénie des *Campylospermum* et de l'espèce étudiée, la taxonomie de cette plante a été proposée ainsi (tableau I).

Tableau II : Position systématique de *Campylospermum nigroviolaceum* (Zhixiang et al. 2008)

Ordre	<u>Ochnales</u>
Sous-ordre	<u>Ochnineae</u>
Famille	<u>Ochnaceae</u>
Genre	<u><i>Campylospermum</i></u>
Épithète spécifique	<i>Nigroviolaceum</i>

I.1.5. Usages médicaux de quelques espèces du genre *campylospermum*

Pour se maintenir dans leur écosystème, les plantes, en réponse aux agressions permanentes des micro-organismes pathogènes développent des mécanismes de défense basée sur la biosynthèse des

composés actifs adaptés à cet effet. Comme les *Ouratea*, les *Campylospermum* sont dotés de pouvoirs analgésiques. Les espèces du genre *Campylospermum* suscitent un intérêt particulier et sont très appréciées en médecine traditionnelle.

En effet, le décocté des écorces de *Campylospermum descoingsii* additionné de lait et de quelques gouttes de teinture d'iode est employé pour soigner le goitre (Farron 1985).

Le traitement de l'impuissance sénile est assuré en mâchant les racines de *Campylospermum dybovskii* avec des graines de maniguette (Tieghem 1903).

Les feuilles de *Campylospermum elongatum* écrasées avec de l'huile de palme sont utilisées comme pansement humide spécialement recommandé lorsqu'on souffre d'un panaris et les jeunes feuilles sont consommées contre les maux de ventre et la blennorragie (Tieghem 1907).

Le jus des feuilles de l'espèce *Campylospermum reticulatum* est instillé dans le conduit auditif pour soigner les otites externes, cette plante est aussi utilisée pour la confection de philtres d'amour.

Lorsqu'on a mal à la poitrine, il faut mâcher les feuilles de *Campylospermum excavatum* avec des graines de maniguette, puis pulvériser, avec la bouche, le produit de cette mastication sur la poitrine du malade après y avoir pratiqué de petites scarifications et enfin masser légèrement (Farron 1965).

Les populations autochtones de la région de Nlendé-Dibé située à 30 km de Kribi, sur la route de Campo, au sud du Cameroun, utilisent les extraits des feuilles et des racines de *Campylospermum densiflorum* pour traiter le paludisme.

Quant au *Campylospermum nigroviolaceum*, il est utilisé dans la médecine traditionnelle pour le traitement du goitre et des douleurs gastriques, il est aussi utilisé comme aphrodisiaque.

I.1.6. Répartition des *Campylospermum nigroviolaceum* au Cameroun

Cette plante est présente au Cameroun dans les régions suivantes :

Au Centre à Akonolinga, à Makak dans le Nyong Ekellé.

Dans le Littoral, on le rencontre dans les lisières broussailleuses des forêts sur la route Edéa – Kribi.

Au Sud dans les sous-bois des forêts humides aux environs d'Ebodié à 40 km au sud de Kribi, à NlendéDibé et à NkolBidjouka situé à 38 km au Sud-Ouest de Lolodorf, dans la région d'Ebologa.

Au Sud-Ouest dans la région de Mamfé (Satabié et Letouzey 1979).

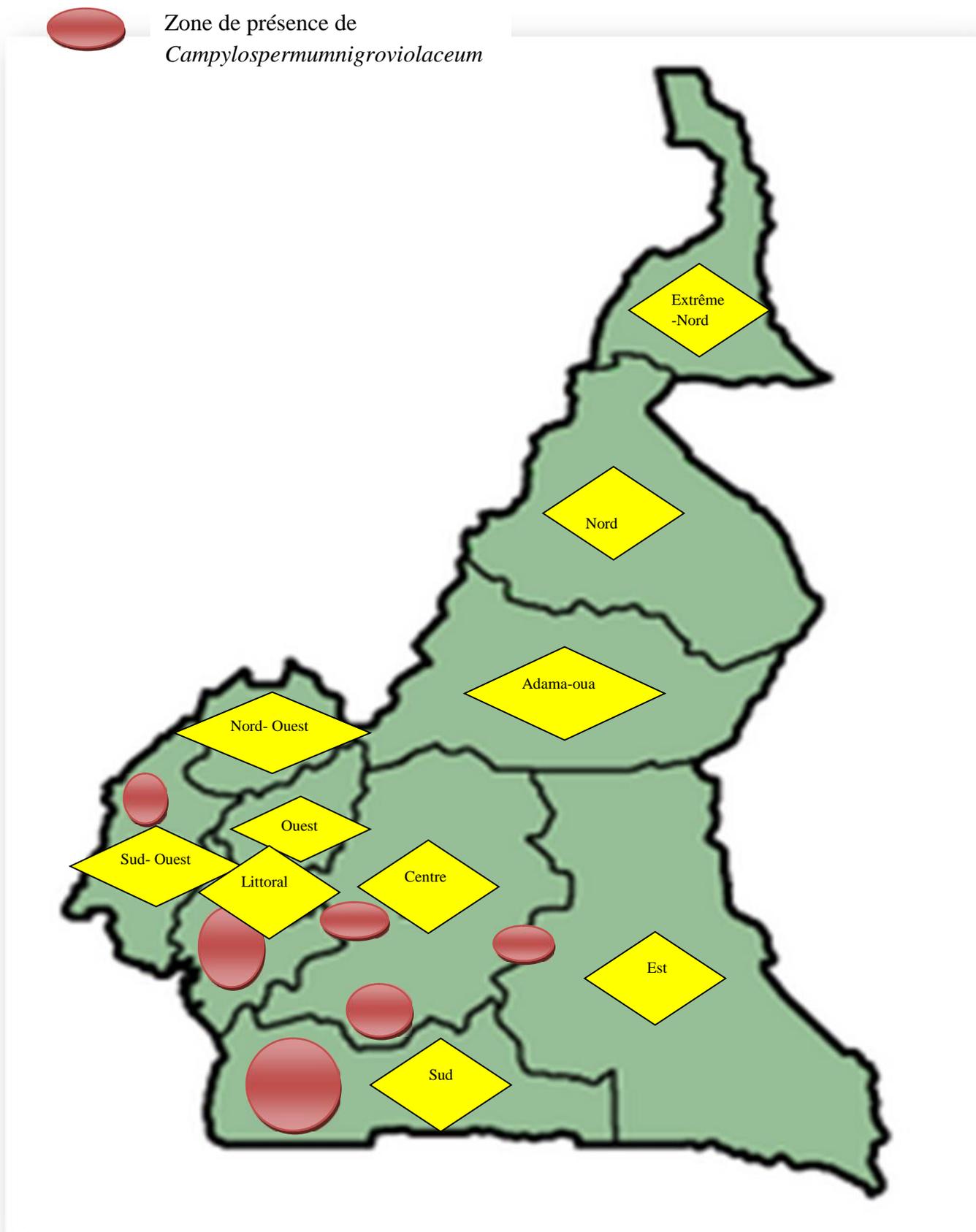


Figure 3 : Répartition géographique de *Campylosperrum nigroviolaceum* au Cameroun

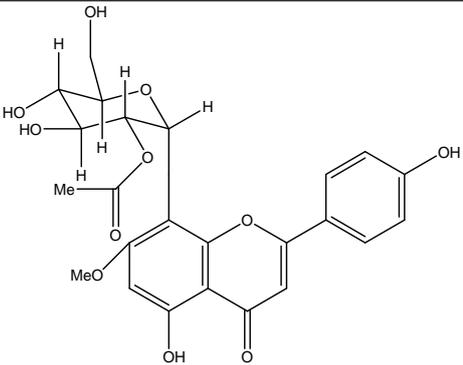
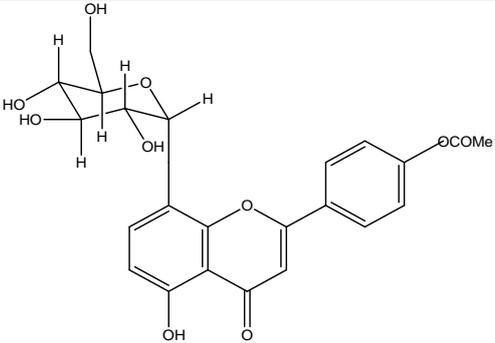
I.2. Travaux antérieurs sur les espèces du genre *Campylospermum* et *Ouratea*

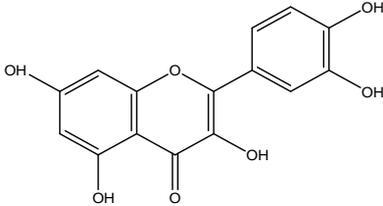
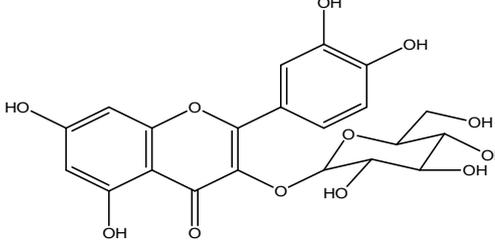
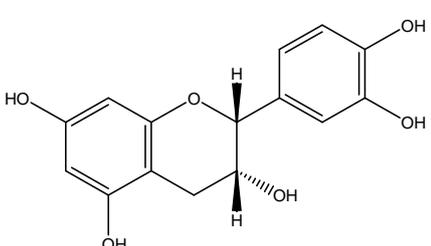
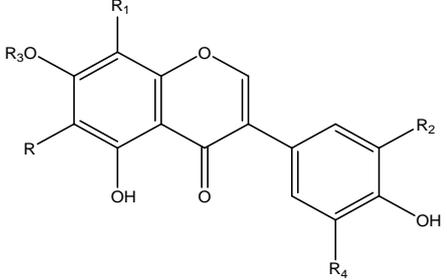
Les travaux phytochimiques qui ont été effectués jusqu'à ce jour sur quelques espèces du genre *Campylospermum* ont permis d'isoler un certain nombre de métabolites secondaires appartenant pour la majorité à la classe des flavonoïdes des biflavonoïdes et des cyanoglucosides.

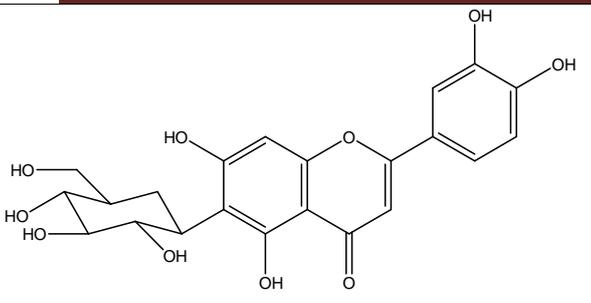
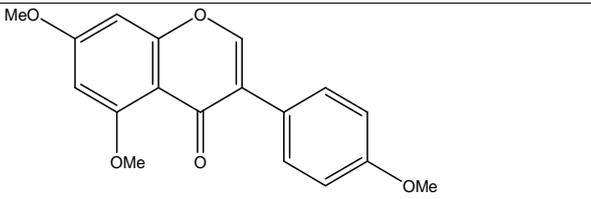
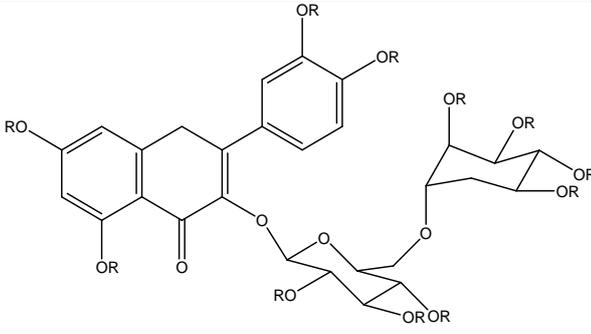
I.2.1. Les flavonoïdes

Les flavonoïdes sont des métabolites secondaires des plantes partageant tous une même structure de base formée par deux cycles aromatiques reliés par trois carbones : C₆-C₃-C₆, chaîne souvent fermée en un hétérocycle oxygéné hexa- ou pentagonal (Bruneton 2009). Les flavonoïdes sont responsables de la couleur variée des fleurs et des fruits et représentent une source importante d'antioxydants dans notre alimentation (Galleano et al. 2010). Plusieurs flavonoïdes ont été isolés des *Campylospermum* et *Ouratea*.

Tableau III : Quelques Flavonoïdes isolés des *Campylospermum*

COMPOSES	ORIGINE ET REFERENCE
 <p><u>1</u> 2''-O-acétyl-7-O-méthylvitexine</p>	C.F.F&R (Ndongo et al. 2010)
 <p><u>2</u> 4'-O-acétylvitexine</p>	

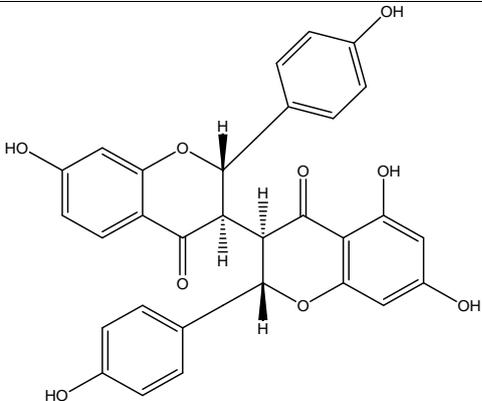
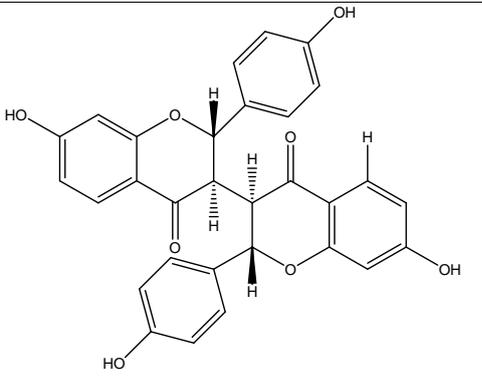
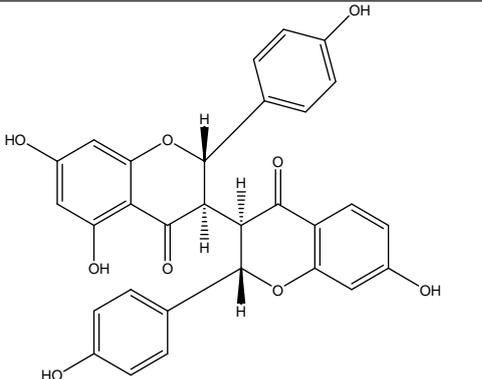
 <p>3 Quercetine</p>	O.F.F (Ngo Mbing et al. 2003)
 <p>4 3-O-glycopyranosyl-quercetine</p>	
 <p>5 Epicatechine</p>	O.H.F (Daniel et al. 2005)
 <p>6 $R=R_2=Cl$; $R_1=R_3=R_4=H$ 6,3'-dichlorogenisteine</p> <p>7 $R=R_3=R_4=H$; $R_1=Cl$; $R_2=OH$ 8-chloroorobol</p> <p>8 $R=R_1=R_2=Cl$; $R_3=Me$; $R_4=H$ 6,8,3'-trichloro-5,4'-dihydroxy-7-methoxyisoflavone</p> <p>9 $R=R_1=R_2=R_4=Cl$; $R_3=Me$ 6,8,3',5'-tetrachloro-5,4'-dihydroxy-7-methoxyisoflavone</p>	O.S.B (Velandia et al. 1998)

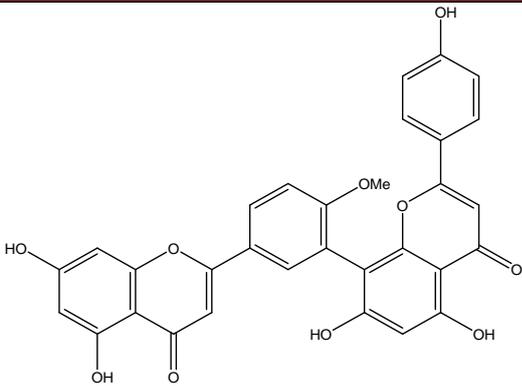
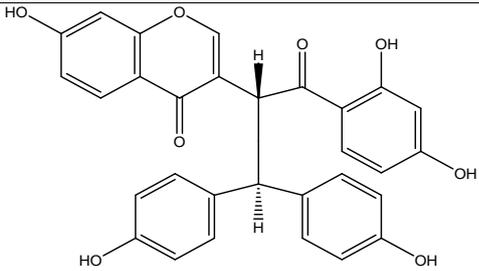
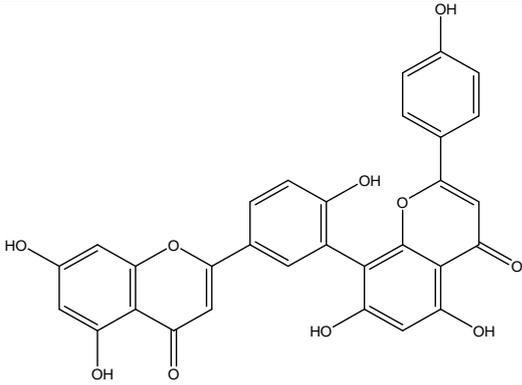
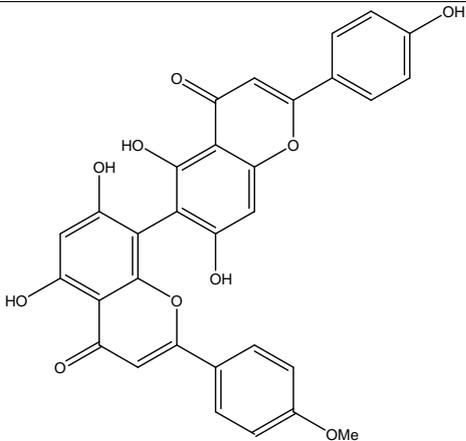
 <p>10 6-C-glycopyranosyl-luteoline</p>	O.H.F (Daniel et al. 2005)
 <p>11 5,7,4'-trimethoxyisoflavone</p>	O.H.E (Daniel et al. 2005)
 <p>12 R=H Rutin</p> <p>13 R=Ac Peracetylrutin</p>	O.S.B&F (Velandia et al. 2002)

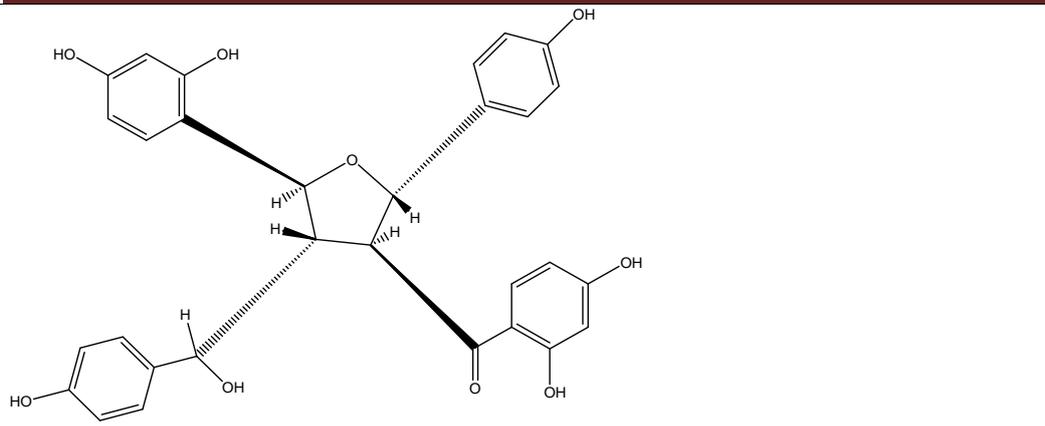
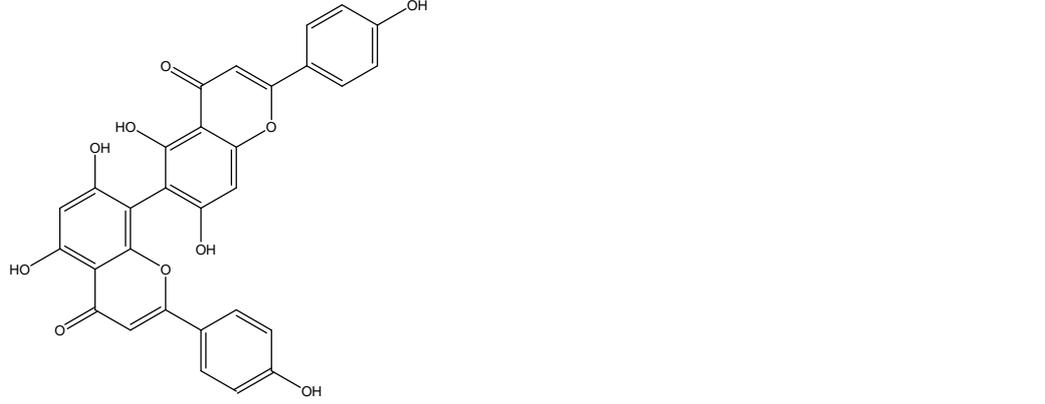
I.2.2. Les biflavonoïdes

Les biflavonoïdes constituent une classe de métabolites secondaires obtenus par condensation d'unités flavonoïdes identiques (dimères homogènes) ou d'unités flavonoïdes différentes (dimères mixtes) (Robinson 1955). Les jonctions entre les unités flavonoïdes peuvent être de type C—C, ou de type C—O—C formée à partir du couplage oxydatif de deux radicaux libres issus d'unités chalcones suivi d'une modification de l'unité centrale en C₃ (Jackson 1971). Le tableau 4 représente les biflavonoïdes isolés des *Campylospermum*.

Tableau IV : Quelques biflavonoïdes isolés des *Campylospermum*

COMPOSES	ORIGINE ET REFERENCE
 <p>15 Chamaejasmine</p>	
 <p>16 Campylospermone A</p>	<p>C.M.F (Elo et al. 2009)</p>
 <p>17 Campylospermone B</p>	

 <p>18 Robustaflavone</p>	C.M.F (Elo et al. 2009)
 <p>19 Lophirone A</p>	C.G.F (Abouem et al. 2008)
 <p>20 Amentoflavone</p>	C.F.F R (Ndongo et al. 2010)
 <p>21 4'''-O-méthylagathisflavone</p>	

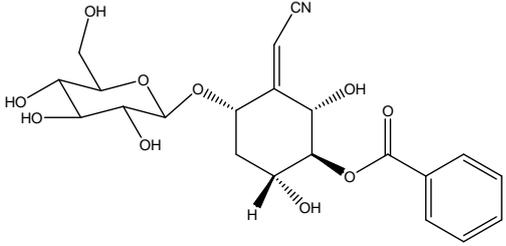
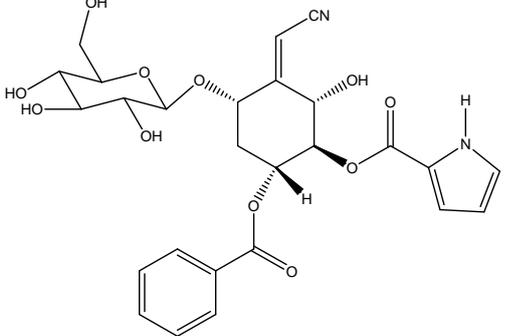
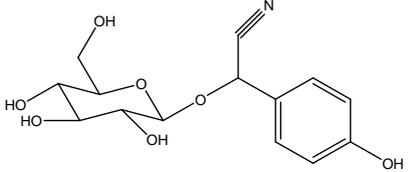
 <p>22 Flavumchalcone</p>	C.F.F R (Ndongo et al. 2010)
 <p>23 Agathiflavone</p>	

I.2.3. Les cyanoglycosides

Les cyanoglycosides peuvent être définis comme des composés résultant de la glycosylation des nitriles correspondants. Ce sont généralement des α -glycosides, des β -, γ -et δ -hydroxynitriles dont certains sont cyanogènes (Bjarnholt et al. 2008).

Tableau v : Quelques Cyanoglycosides isolés des *Campylospermum*

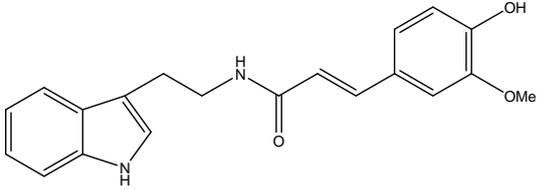
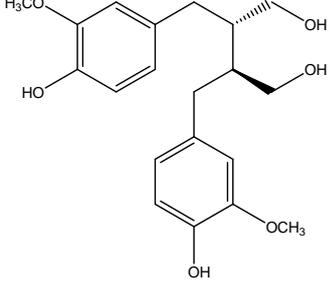
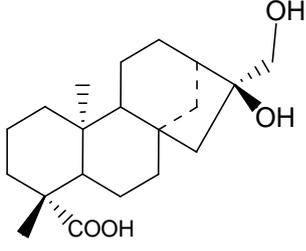
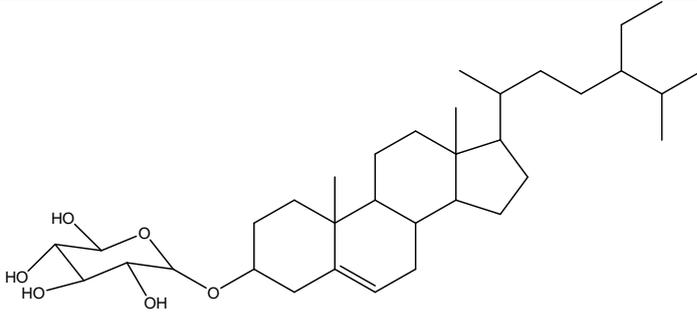
COMPOSES	ORIGINE ET REFERENCE
 <p>24 Ménisdaurine</p>	C.D.F (Ngono et al. 2011)

 <p>32 Campyloside A</p>	
 <p>25 Campyloside B</p>	C.G.F (Abouem et al. 2008)
 <p>26 Dhurrine</p>	C.F.F R (Ndongo et al. 2010)

I.2.4 Autres composés

En plus des flavonoïdes, des biflavonoïdes et des cyanoglycosides, on rencontre aussi d'autres métabolites secondaires dans le genre *Campylospermum* à savoir : les alcaloïdes, les triterpènes, les stéroïdes...

Tableau vi : Autres composés isolés des *Campylospermum* .

COMPOSES	ORIGINE ET REFERENCE
 <p>27 N-feruloyltryptamine</p>	
 <p>28Secoisolariciresinol</p>	<p>C.D.F (Ngono et al. 2011)</p>
 <p>29 acide ent-16 ,17-dihydroxykauran-19-oique</p>	
 <p>30 3 -O-D-glucopyranosyl- -sistostérol</p>	<p>C.F.F R (Ndongo et al. 2010)</p>

I.2.5. Activités biologiques et biosynthèse des composés isolés des *Campylospermum*

I.2.5.1. Activités biologiques et biosynthèse des cyanoglucosides.

a) Activités biologiques des cyanoglucosides.

Les cyanoglucosides cyanogènes sont impliqués dans le mécanisme de défense des animaux (Diffrey et al. 1981). En effet la position du nitrile sur le carbone de la liaison glucosidique permet la libération de l'acide cyanhydrique lors d'une hydrolyse le plus souvent enzymatique. Cet acide est souvent responsable de la toxicité des cyanoglucosides cyanogènes.

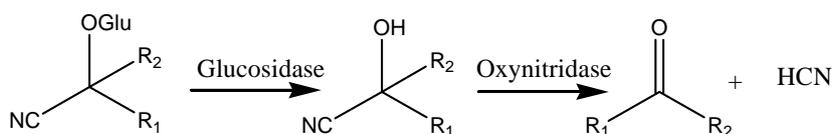
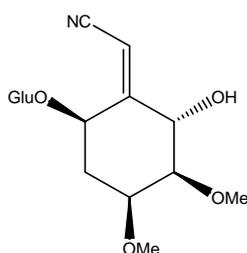


Schéma 1 : Hydrolyse enzymatique des cyanoglucosides cyanogènes

La plupart des cyanoglucosides non-cyanogènes ont été extraits des plantes utilisées dans les diverses pharmacopées traditionnelles, mais peu de ces composés isolés et purs semblent posséder une activité biologique (Yamasaki. 1999). Comme exemple, nous avons :

la Simmondsine **31** qui, a des propriétés anti-appétantes et favorise la perte de poids, leur toxicité est faible par voie orale ($DL_{50} > 4g/kg$) (Yamasaki, 1999); ses propriétés antifongiques et insecticides sont modérées, elle sert aussi comme agent inhibiteur de l'angiogénèse (Elliger et al. 1974).

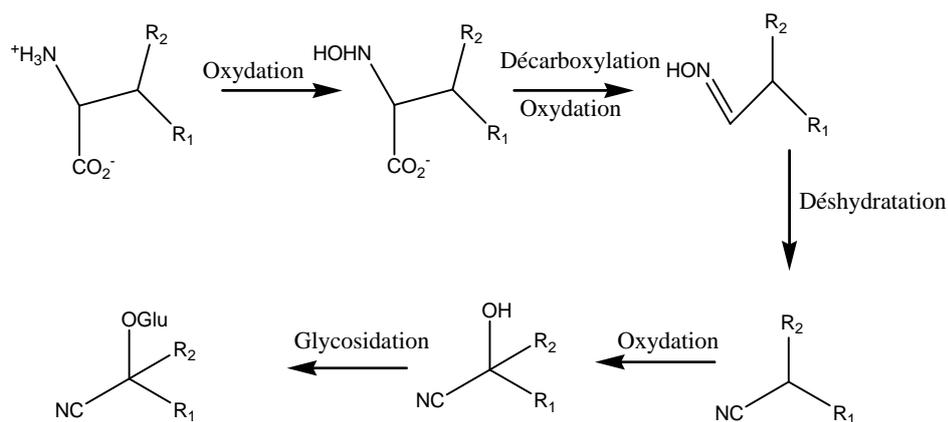


31 Simmondsine

Il a été montré que la ménisdaurine (**29**) a des vertus diurétiques, anti-allergiques, anti-inflammatoires et est un anti tumoral potentiel (Otsuka et al. 1993).

b) Biosynthèse des cyanoglucosides

La biosynthèse des cyanoglucosides cyanogènes est connue et débute par l'oxydation des acides -aminés (Goodwin et al. 1983) suivant le schéma 2



R₁ et R₂ alkyle et/ou aryle

Schéma 2 : Biosynthèse des cyanoglucosides cyanogènes

En ce qui concerne les cyanoglucosides non-cyanogènes de structure cyano méthylène cyclohexyle, il semble probable qu'ils dérivent de la tyrosine. Mais ceci reste à prouver. Le schéma 3 présente la biosynthèse de la ménisdaurine (Seigler et al. 2005)

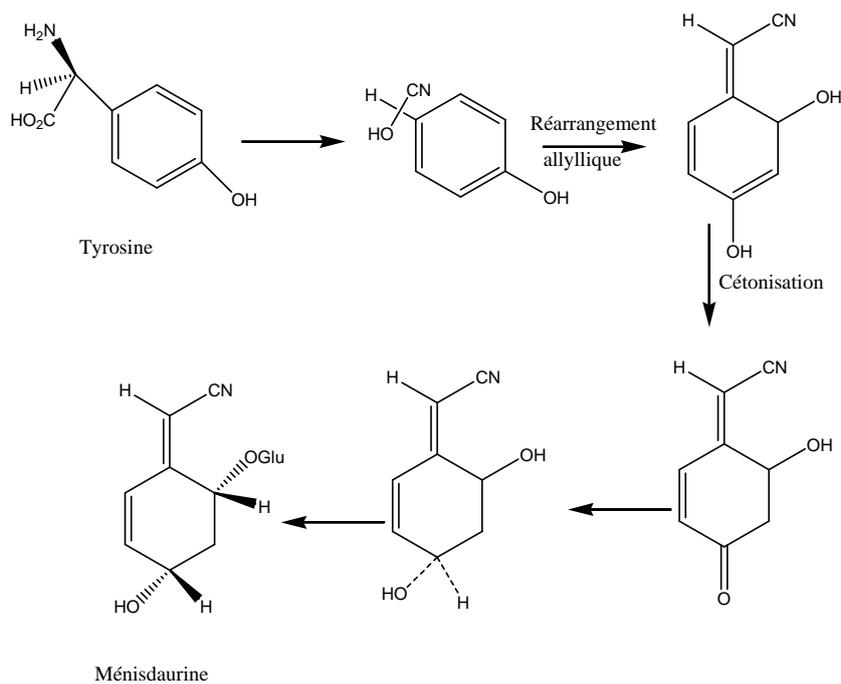


Schéma 3 : Biosynthèse de la ménisdaurine à partir de la tyrosine.



CHAPITRE II : RESULTATS ET DISCUSSION

2.1 GENERALITES

Les racines de l'arbuste de *Campylospermum nigroviolaceum* ont été récoltées en Avril 2015 à Sokellé dans la région du Centre. La plante a été identifiée au numéro 41981HNC par M. Victor NANA botaniste de l'Herbier National du Cameroun à Yaoundé. Les racines de *Campylospermum nigroviolaceum* ont été découpées, séchées puis broyées. La poudre obtenue (415 g) a été extraite au méthanol pendant 48 heures puis filtrée. Le filtrat obtenu a été concentré, après évaporation nous avons obtenu un extrait brut de 80 g. Cet extrait au méthanol a subi des solubilisations différentielles, à l'hexane, au dichlorométhane et à l'acétate d'éthyle pour le débarrasser des huiles, des cires et des graisses. L'extrait acétate d'éthyle (10 g) a été soumis à des chromatographies sur colonne sur du gel de silice. L'élution a été effectuée au mélange CH₂Cl₂/MeOH de polarité croissante. Nous avons obtenu quatre composés purs et deux ont été identifiés : CN₁ (15 mg) et CN₂ (8 mg). Le composé CN₁ a été obtenu au système CH₂Cl₂/MeOH 15/1 et le composé CN₂ au système CH₂Cl₂/MeOH 8/1.

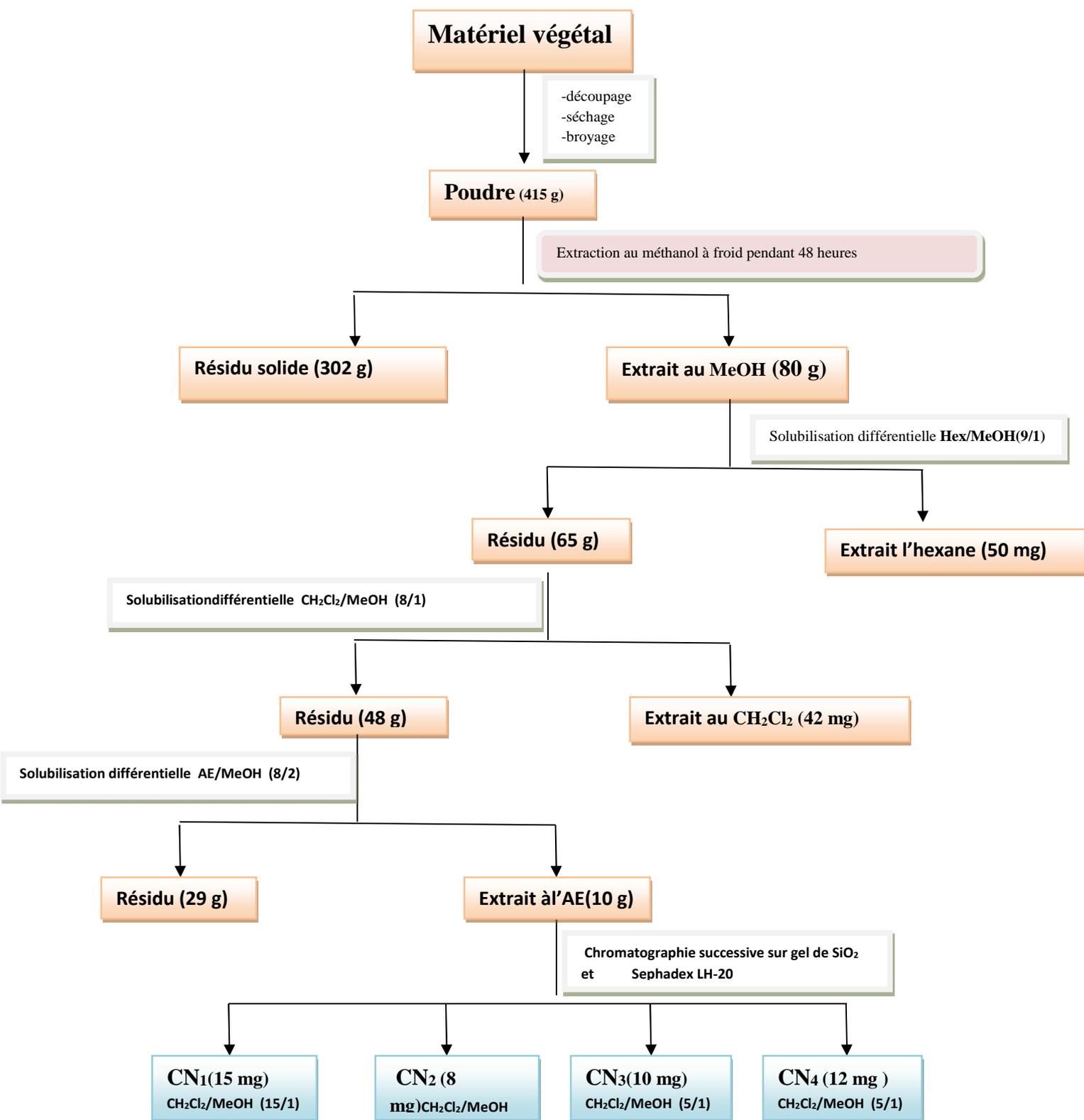


Schéma 4 : Protocole d'extraction et d'isolement des composés de *Campylospermum nigroviolaceum*

2.2 ANALYSE STRUCTURALE

2.1.1 Identification du composé CN₁

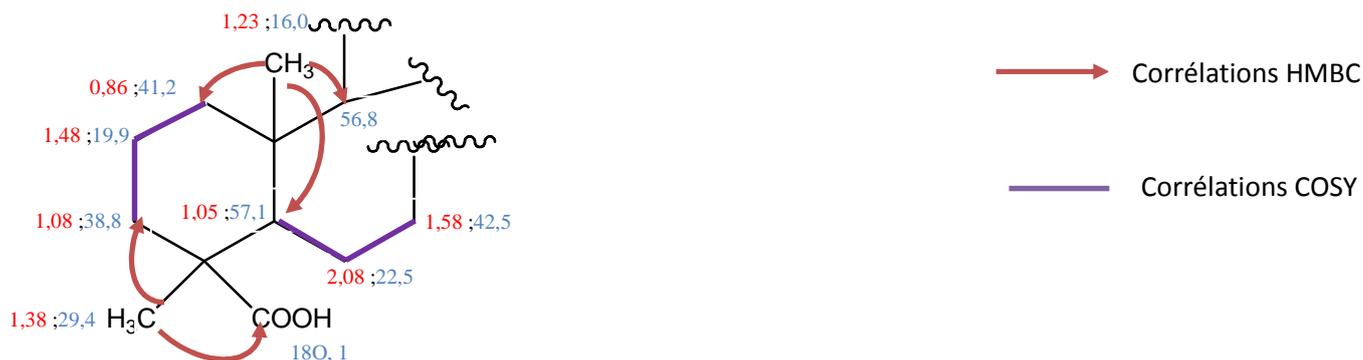
Le composé CN₁ se présente sous forme de cristaux blancs dans le mélange CH₂Cl₂/MeOH (15/1). Il fond entre 290 - 291° C. Son spectre de masse HR-ESI en mode négatif présente le pic de l'ion quasi-moléculaire [M-H]⁻ à m/z= 335.2270 ; ce qui suggère une masse moléculaire de 336 g/mol compatible avec la formule brute C₂₀H₃₂O₄ renfermant 5 degrés d'insaturations.

Le spectre RMN du ¹³C (100 MHz ; DMSO-d₆) présente 20 signaux parmi lesquelles : un pic à δ_c 180,1 attribuable à un carbone sp² correspondant au carbonyle d'un acide.

Un pic à δ_c 79,8 attribuable à un carbone sp³ quaternaire relié à un oxygène. un pic à δ_c 70,5 attribuable à un carbone méthylénique relié à un oxygène de type hydroxyle. deux pics intenses respectivement à δ_c 29,4 et 16,0 attribuable à deux méthyles, un à proximité d'un groupement attracteur en occurrence celui à 29,4 ppm.

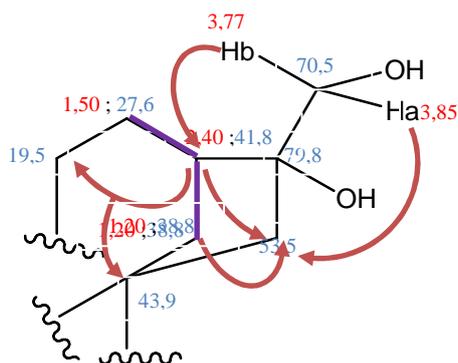
La RMN du ¹H présente plusieurs pics parmi lesquelles les plus remarquables sont : entre δ_H 3,77 et 3,85 on observe un système AB geminal de deux protons diastéréotopiques en δ_H 3,85 (1H ; d ; J=15,0Hz ; Ha) et en δ_H 3,77(1H ; d ; J=15,0 Hz ; Hb). deux singulets de trois protons respectivement à δ_H 1,36 et à 1,23 caractéristique de deux méthyles. Et à δ_H 4,98 un pic arrondi caractéristique d'un groupement hydroxyle. notons aussi une intrication de signaux entre 2,16 et 0,86 ppm caractérisant les groupements hydrogènes suscités (méthylènes).

Les corrélations observées entre les protons à δ_H 0,86 ; 1,48 et 1,08 d'une part et δ_H 1,05 ; 2,08 et 1,51 d'autre part sur son spectre COSY; et entre le proton à δ_H 1,23 et les carbones à δ_c 41,2 ; 57,1 et 56,8 en suite entre le proton à δ_H 1,38 et les carbones δ_c 180,1 ; 57,1 ; 38,8 sur son spectre HMBC ; nous ont permis d'avoir la sous structure A suivante :



A

Son spectre COSY montre également des taches de corrélation entre les protons à δ_H 1,50 ; 2,40 ; 1,20 et son spectre HMBC entre les protons à δ_H 3,77 et 3,85 corrélient avec les carbones à δ_C 41,8 et 53,5 ; ainsi que entre δ_H 2,40 et δ_C 43,9 ; 53,5 et 19,5 et enfin entre δ_H 1,20 et δ_C 53,5. Ces données nous ont permis d'avoir la sous structure **B** suivante :



B

Les corrélations HMBC et l'ensemble des données, comparées à celles décrites dans la littérature [47] nous ont permis d'attribuer au composé CN₁ la structure **32** qui est celle d'un acide kauranique à savoir l'acide *ent*-16,17-dihydroxykauran-19-oïque.

32

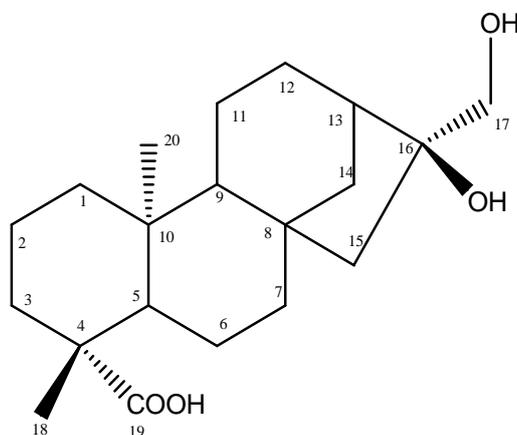


Tableau VII : Données spectrales de RMN¹³C (100 MHz ; DMSO-d₆) comparées à celles de la littérature (Lu et al. 2011)

Carbone	ppm CN ₁	ppm littérature	Multipli- cité	Carbone	ppm CN ₁	ppm littérature	Multipli- cité
1	41,3	41,4	<i>t</i>	11	19,5	19.5	<i>t</i>
2	19.9	19.9	<i>t</i>	12	27,6	27.6	<i>t</i>
3	38.8	38.8	<i>t</i>	13	41,8	41.8	<i>d</i>
4	44.0	44.0	<i>s</i>	14	38,6	38.6	<i>t</i>
5	57.1	57.1	<i>d</i>	15	53,5	53.5	<i>t</i>
6	22.5	22.5	<i>t</i>	16	79,8	79.8	<i>s</i>
7	42.5	42.5	<i>t</i>	17	70,5	70.8	<i>t</i>
8	43.9	43.9	<i>s</i>	18	29,4	29.4	<i>q</i>
9	56.8	56.8	<i>d</i>	19	180,2	180.1	<i>s</i>
10	40.1	40.1	<i>s</i>	20	16,0	16.0	<i>q</i>

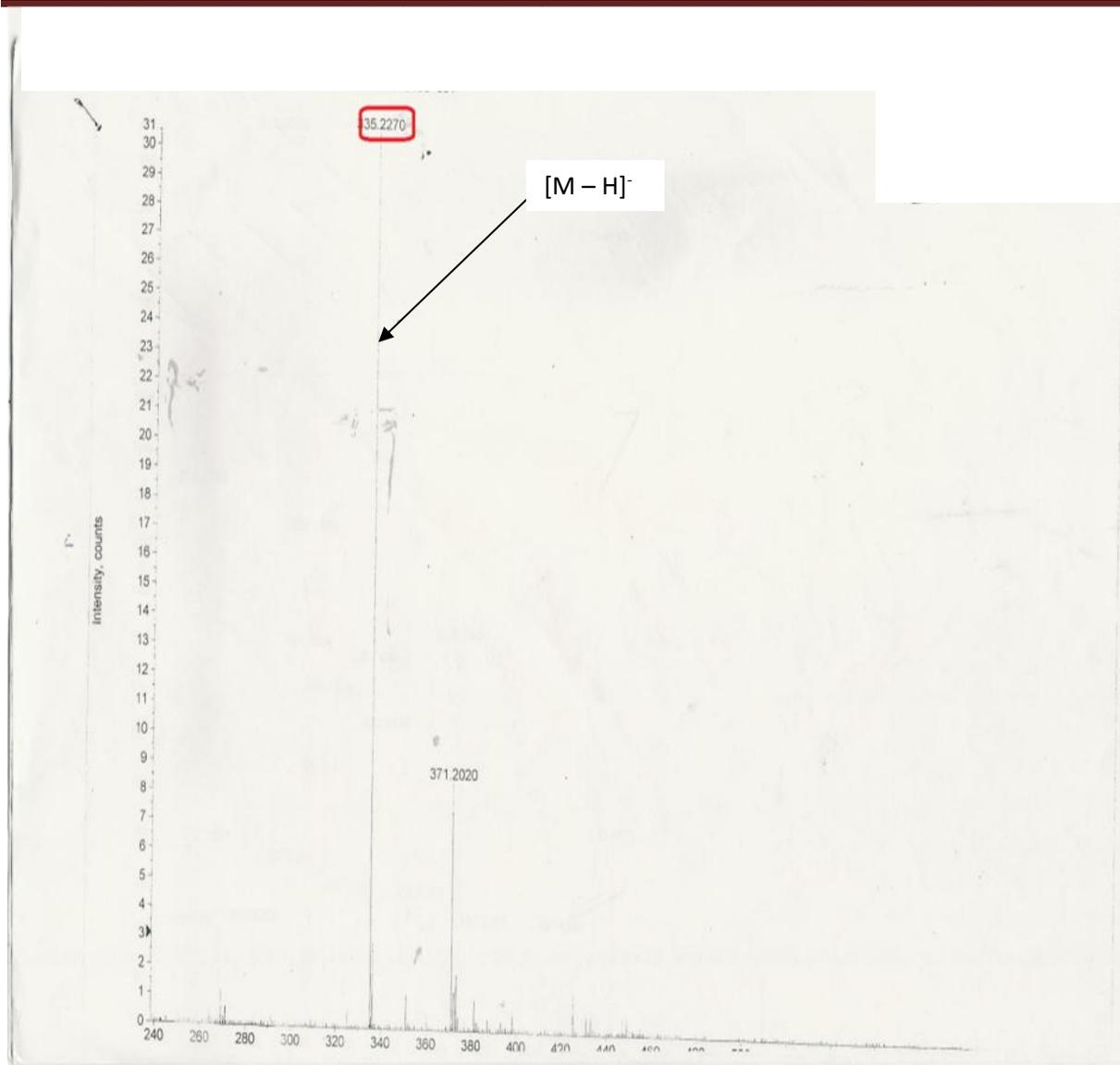


Figure 4 : spectre de masse de CN₁

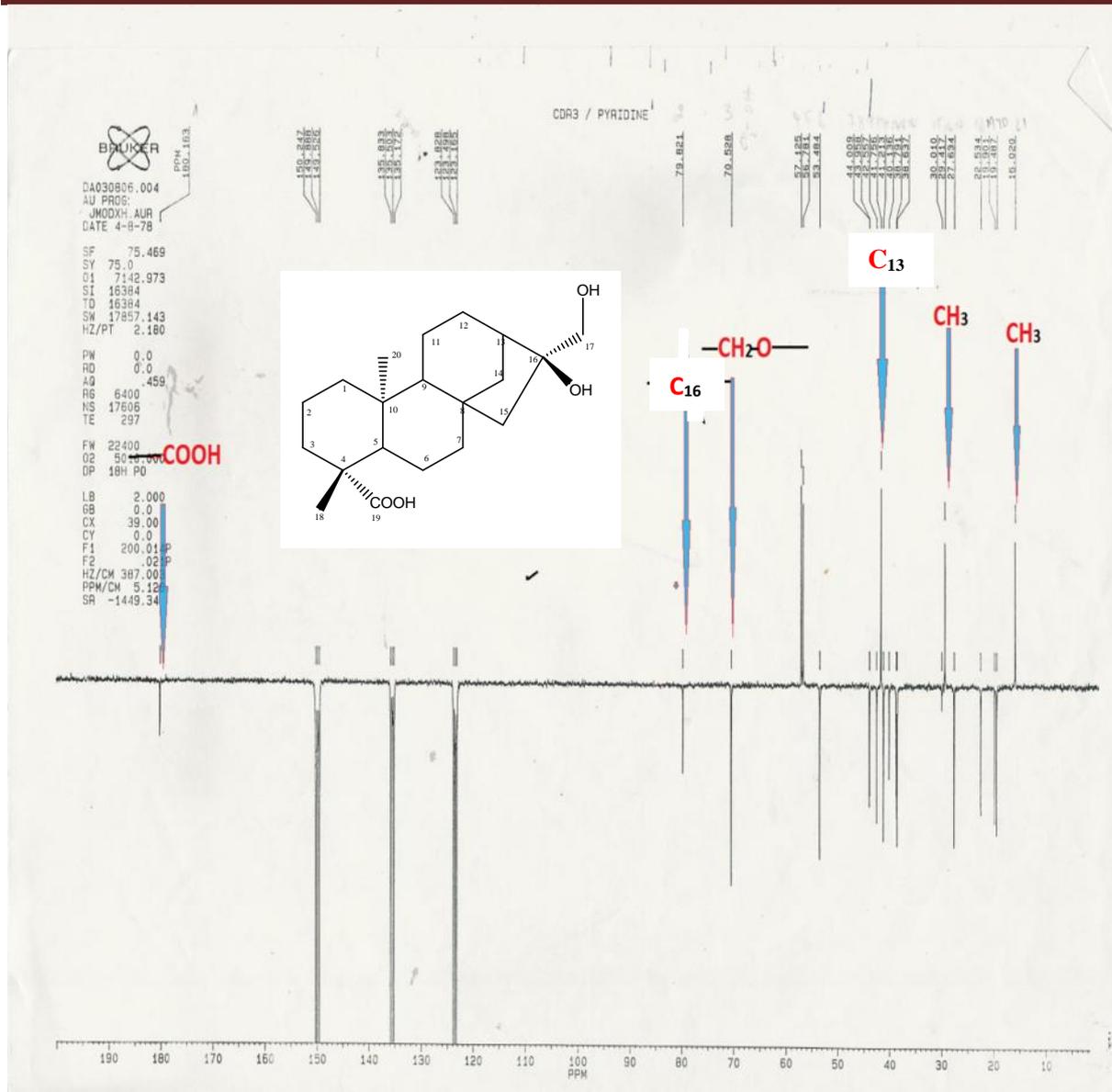


Figure 5 : Spectre APT de CN₁

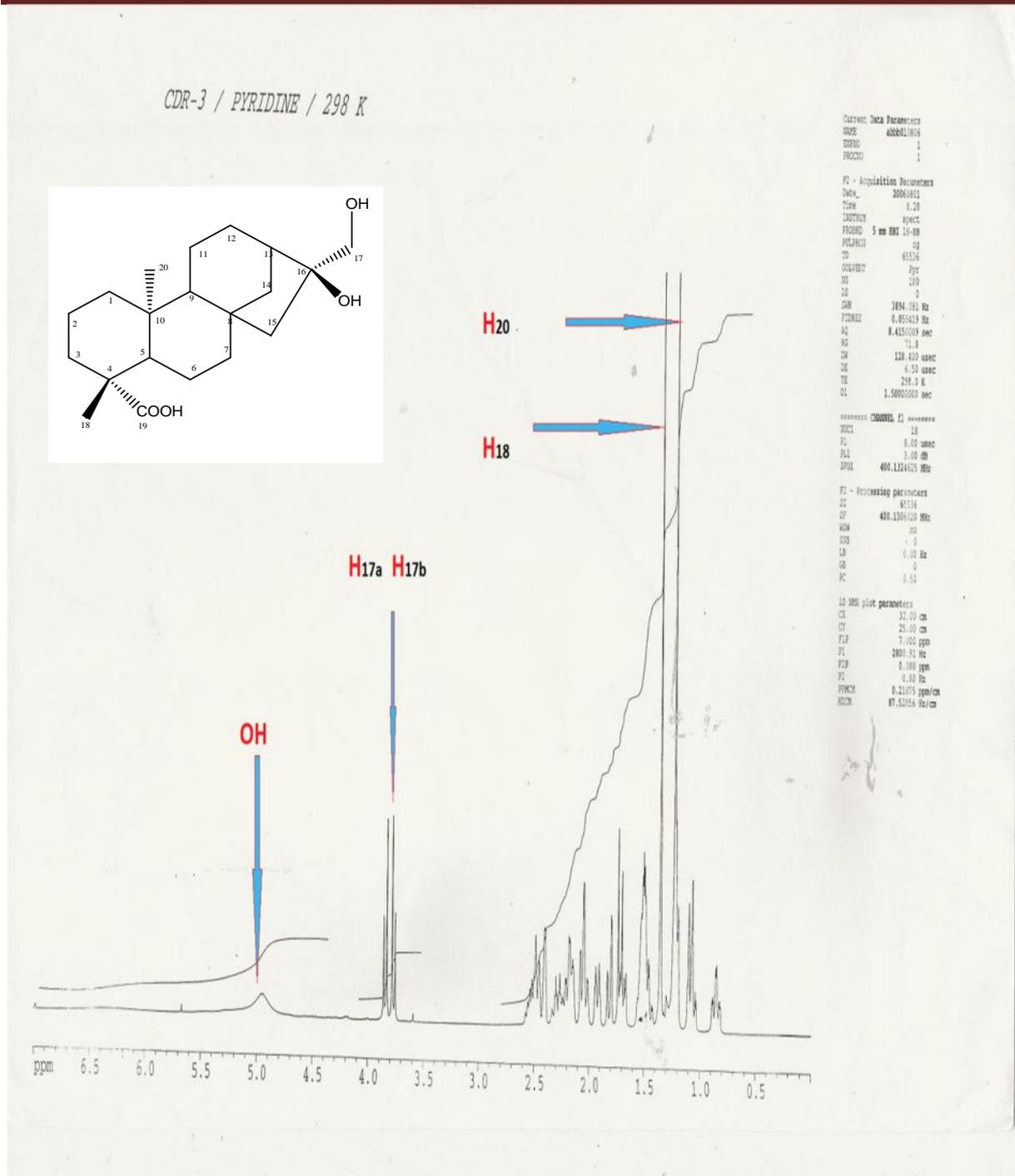


Figure 6 : Spectre de RMN du ^1H (298Hz, pyridine) de CN₁

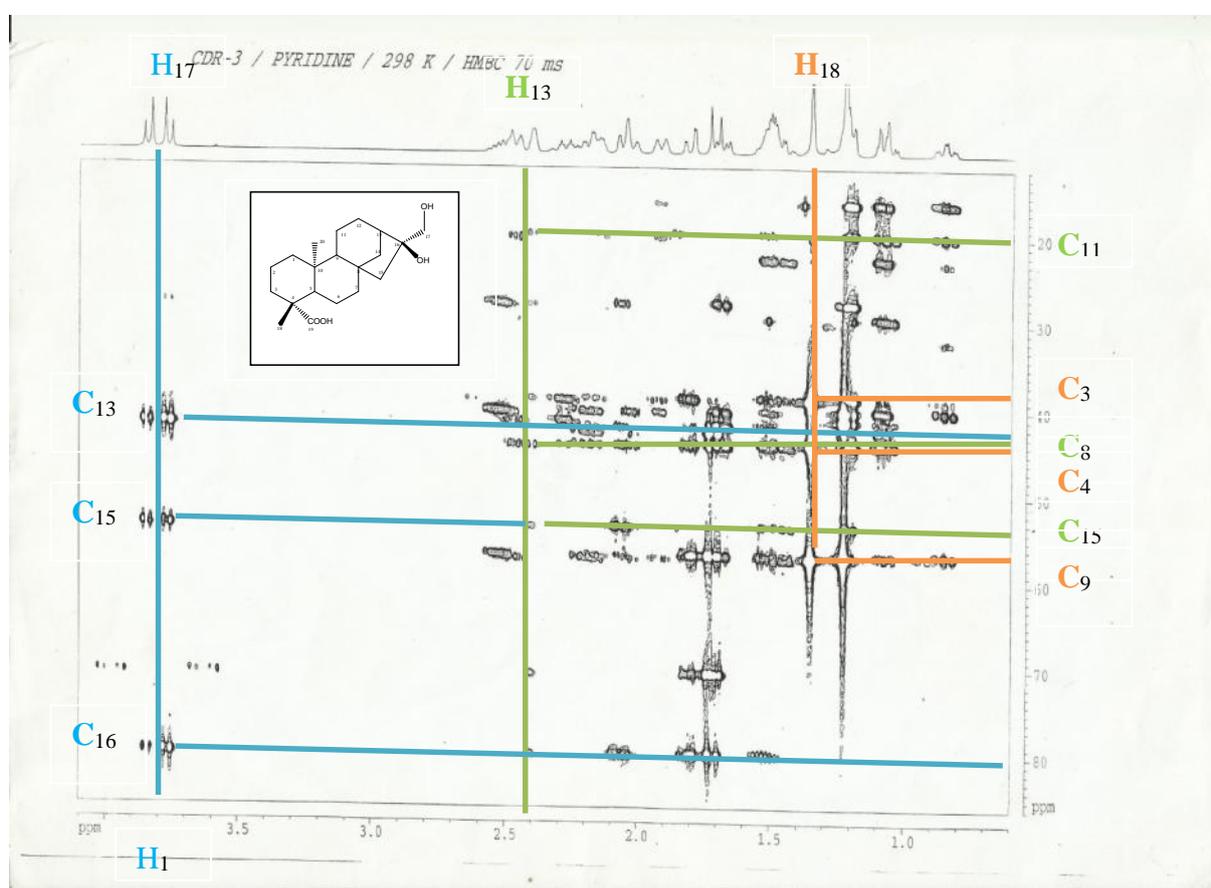
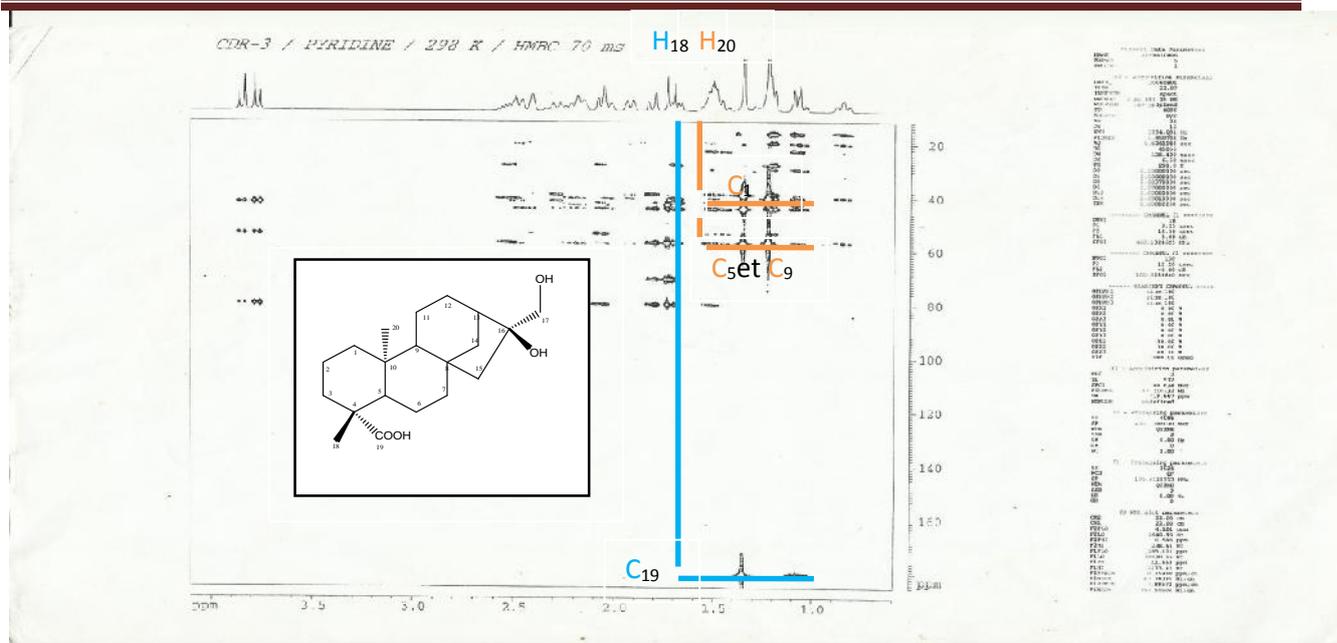


Figure 8 : Spectres HMBC de CN₁

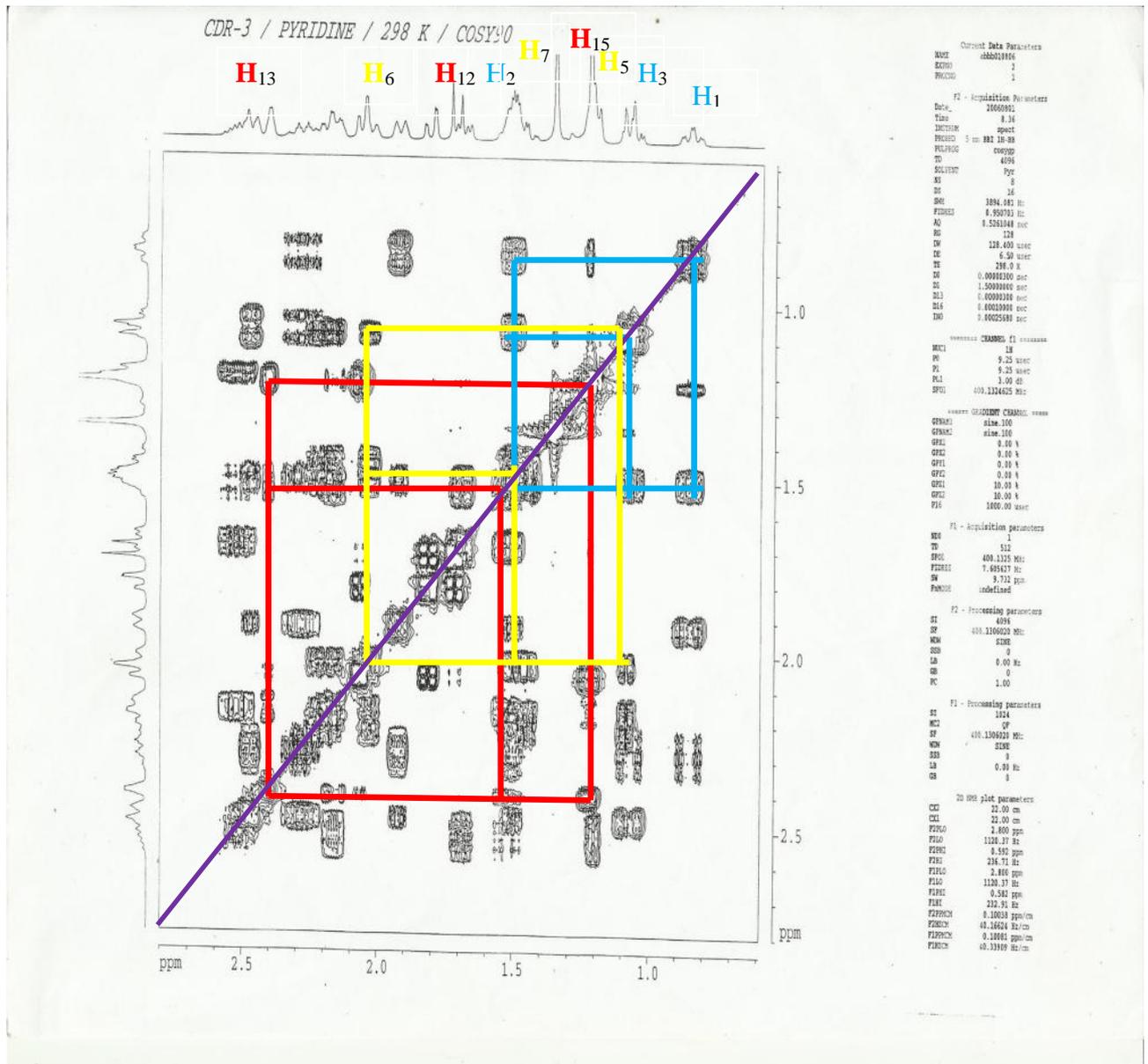
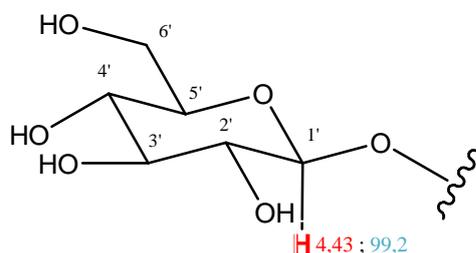


Figure 9 : Spectres COSY 90 de CN₁

2.1.2 Identification du composé CN₂

CN₂ se présente sous forme d'une poudre amorphe orangé dans le mélange CH₂Cl₂/MeOH (8/1). Son spectre de masse ESI-TOF haute résolution présente le pic de l'ion sodi-moléculaire [M+Na]⁺ à m/z= 336,1059 ; ce qui implique une masse moléculaire de 313 g/mol traduisant la présence d'un atome d'azote. L'analyse des spectres de RMN ¹³C et ¹H par complément à la masse nous ont permis d'attribuer à CN₂ la formule brute C₁₄H₁₉O₇N possédant 6 degrés d'insaturations.

Le spectre RMN¹H montre à δ_H 4.43 un doublet avec une constante de couplage *J* = 7.3 Hz révélateur du proton anomérique d'un glucose. Les autres signaux correspondant au reste du glucoside sont : entre 3.01-3.30 ppm (4H, *m*, H-C(2'), H-3', H-C(4')- H-C(5')), à 3.40 (1H, *dd*, *J* = 11,2 ; 2,3 Hz, H_b-C(6')) et à 3.60 ppm (1H, *dd*, *J* = 11,2 ; 5,8 Hz, H_a-C(6')). Sur son spectre RMN ¹³C on observe cinq carbones tertiaires sp³ à δ_C 99,2 ; 76,7 ; 76,6 ; 72,6 ; 70,2 et un carbone secondaire sp³ à δ_C 61,4 chacun lié à un oxygène caractéristiques d'un fragment hexosyle ; avec δ_C 99,2 le carbone pouvant être allié au proton anomérique. La confirmation est observée sur le spectre HSQC qui associe le proton anomérique au carbone à δ_C 99,2 ce qui conduit à la sous structure C suivante :



C

La partie aglycone est repérée sur le spectre RMN¹H à δ_H 2.26 (1H, *ddd*, *J* = 15.6 ; 4.6 ; 7.9 Hz, H_a-C(7)) ; δ_H 1.68 (1H, *ddd*, *J* = 12.6 ; 10.3 ; 7.9 Hz, H_b-C(7)) , δ_H 5.60 (1H, *s*, H-C(2)), δ_H 6.28 (1H, *d*, *J* = 9,1 Hz -C(4)) ; δ_H 4.28 (1H, *dd*, *J* = 9,1 ; 3,0 Hz ; H-C(6)) ; δ_H 4.76 (1H, *m*, H-C(8)) et un pic à δ_H 5,03 caractéristique d'un hydroxyde lié à un carbone sp³. Et sur le spectre RMN ¹³C les signaux quatre carbones oléfiniques à δ_C 155,7 ; 141,0 ; 126,0 et 94,7 la différence observée sur ces valeurs de déplacements chimiques seraient dues à l'effet de conjugaison, et trois carbones sp³ parmi lesquels deux carbones tertiaires sp³ à δ_C 64,1 et 70,1 ; un carbone secondaire sp³ à δ_C 35,8. Enfin à δ_C 117,0 un carbone sp d'un groupement nitrile.

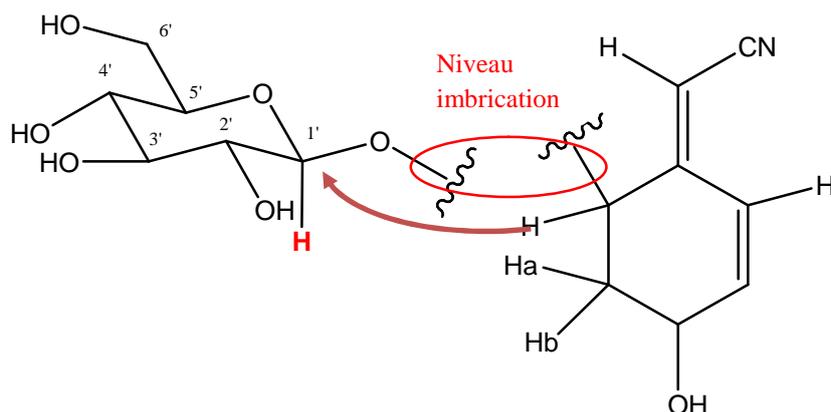
L'analyse spectrale du COSY 90 montre des taches de corrélation entre δ_H 4.76 ; 2.26 et 4.28 et le spectre HMBC montre des corrélations entre le proton à δ_H 6.28 et les carbones à

c 64,1 ; 94,7 ; 70,1 d'une part, entre H 6.15 et C 155,7 ; 35.8 ainsi qu'entre H 5.60 et C 126.0 d'autre part ce qui conduit à la sous structure D ci-après :



D

Sur le spectre H.M.B.C on observe également des taches de corrélation entre le proton à H 4.76 et le carbones à C 99,2 ce qui traduit l'imbrication du glucose sur l'aglycone à ce niveau.



E

L'interprétation de tous ces spectres comparées à celles décrites dans la littérature [48] nous ont permis d'attribuer à CN₂ la structure **33** qui est celle de la Ménisdaurine ou (2Z)-((6S,8R)-8-(-D-glucopyranosyloxy)-4-hydroxycyclohex-4-èn-3-ylidèn) acétonitrile.

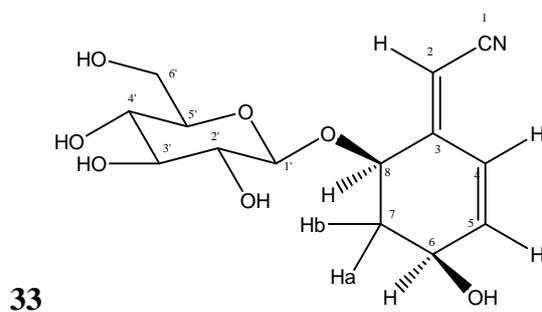


Tableau VIII : Données spectrales de RMN ^{13}C et ^1H (100 et 400 MHz DMSO- d_6) de CN_2 comparées à celles de la littérature (Takahashi 1978)

n°C	ppm CN_2				Sppm littérature			
	C	H	m(C)	J(Hz)	C	H	m(C)	J(Hz)
1	117,0	-	<i>s</i>	-	118,7	-	<i>s</i>	
2	94,7	5,63	<i>d</i>	1,7	96,9	5,48	<i>d</i>	1,5
3	155,7	-	<i>s</i>	-	156,4	-	<i>s</i>	
4	126,0	6,28	<i>d</i>	9,1	127,6	6,26	<i>d</i>	10
5	141,0	6,15	<i>d</i>		139,3	6,20	<i>d</i>	10 ; 2,5
6	64,1	4,28	<i>d</i>	9,1 ; 3,0	64,5	4,35	<i>d</i>	
7	35,8	2,26 1,68	<i>t</i>	15,6 ; 4,6 ; 7,9 12,6 ; 10,3 ; 7,9	35,2	2,39 1,89	<i>t</i>	- -
8	70,1	4,76	<i>d</i>		73,8	4,88	<i>d</i>	1,5 ; 4,5 ; 7,5
1'	99,2	4,43	<i>d</i>	7,3	101,2	4,59	<i>d</i>	7,5
2'	72,6	3,01 à 3,30	<i>d</i>		73,1	3,31	<i>d</i>	
3'	76,6		<i>d</i>		76,9		<i>d</i>	
4'	70,2		<i>d</i>		70,7		<i>d</i>	
5'	76,7		<i>d</i>		76,9		<i>d</i>	
6'	61,4		3,45 3,70	<i>t</i>	11,2 ; 5,8 11,2 ; 2,3		61,9	3,93 3,71

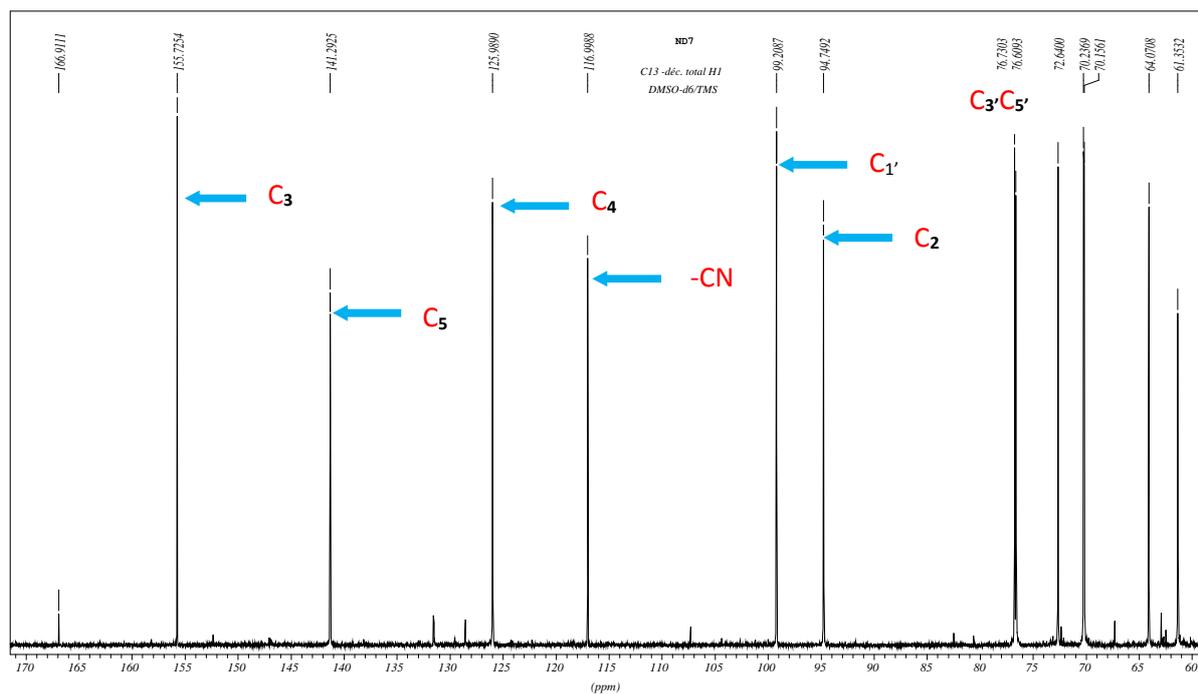
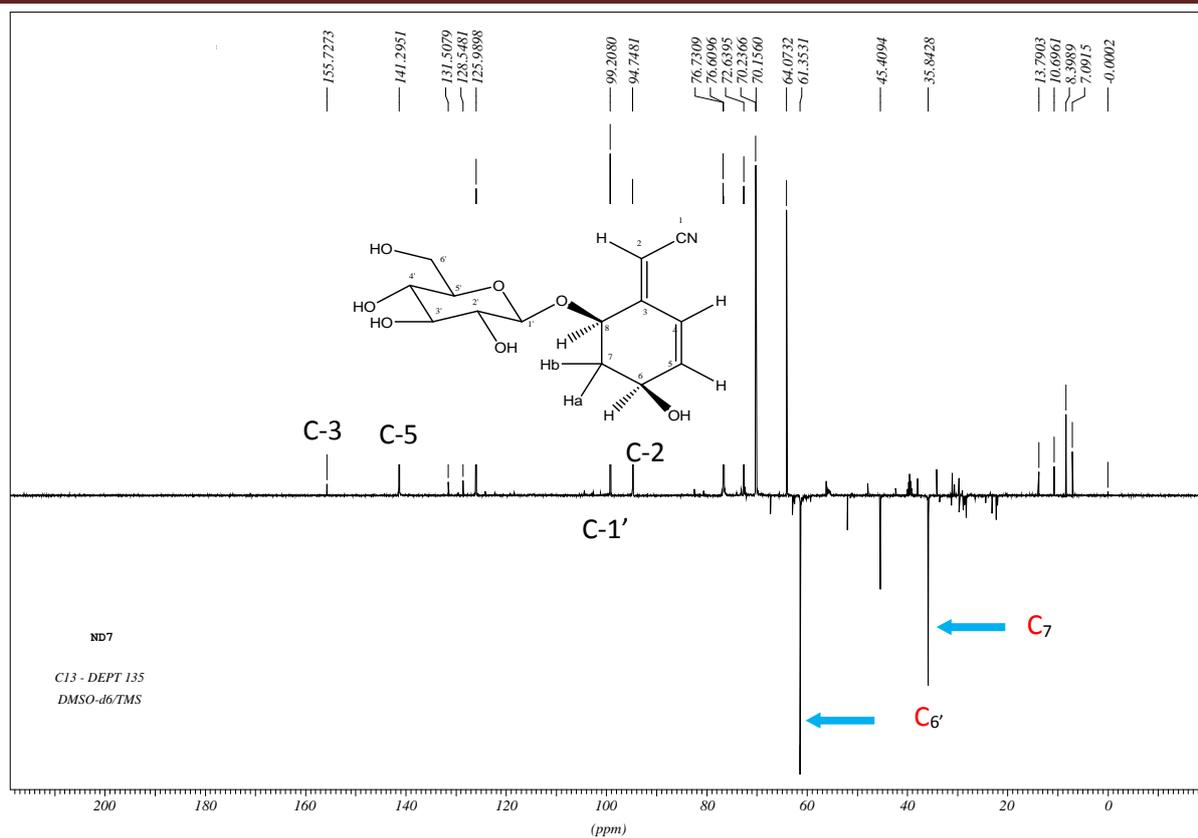


Figure 10 : APT et spectre de RMN du ^{13}C de CN_2

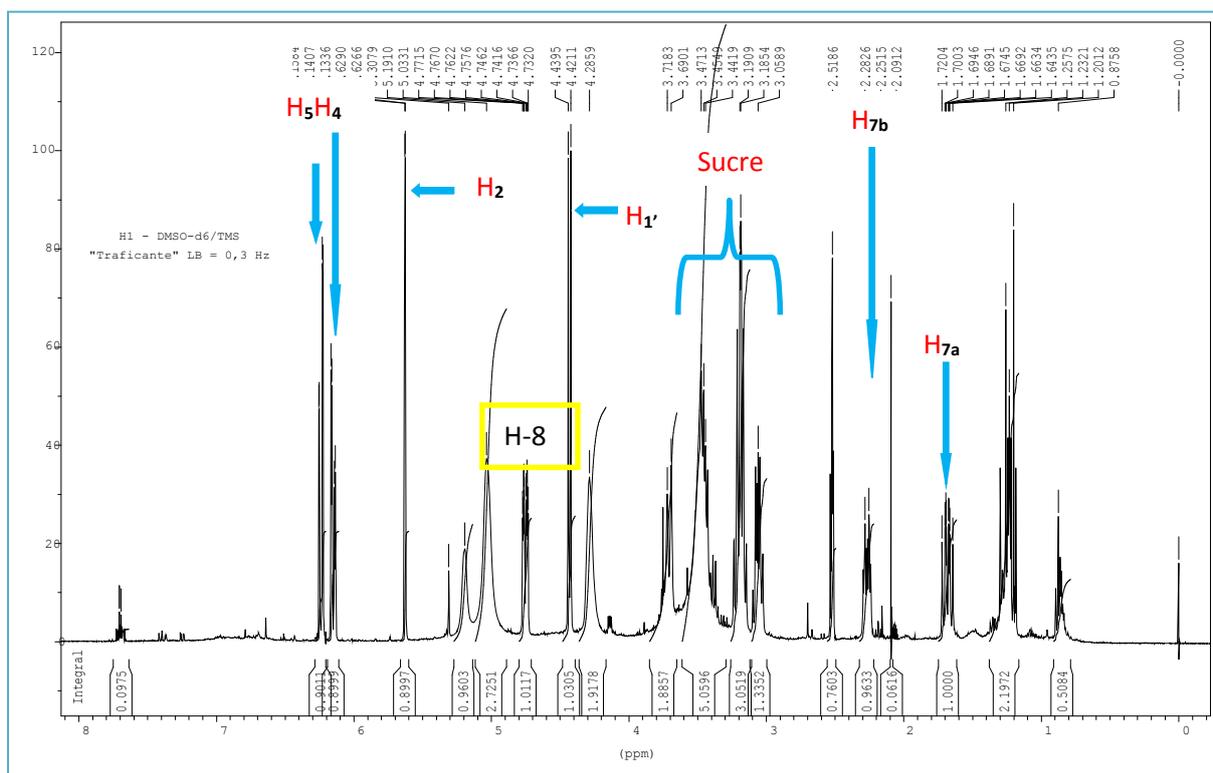
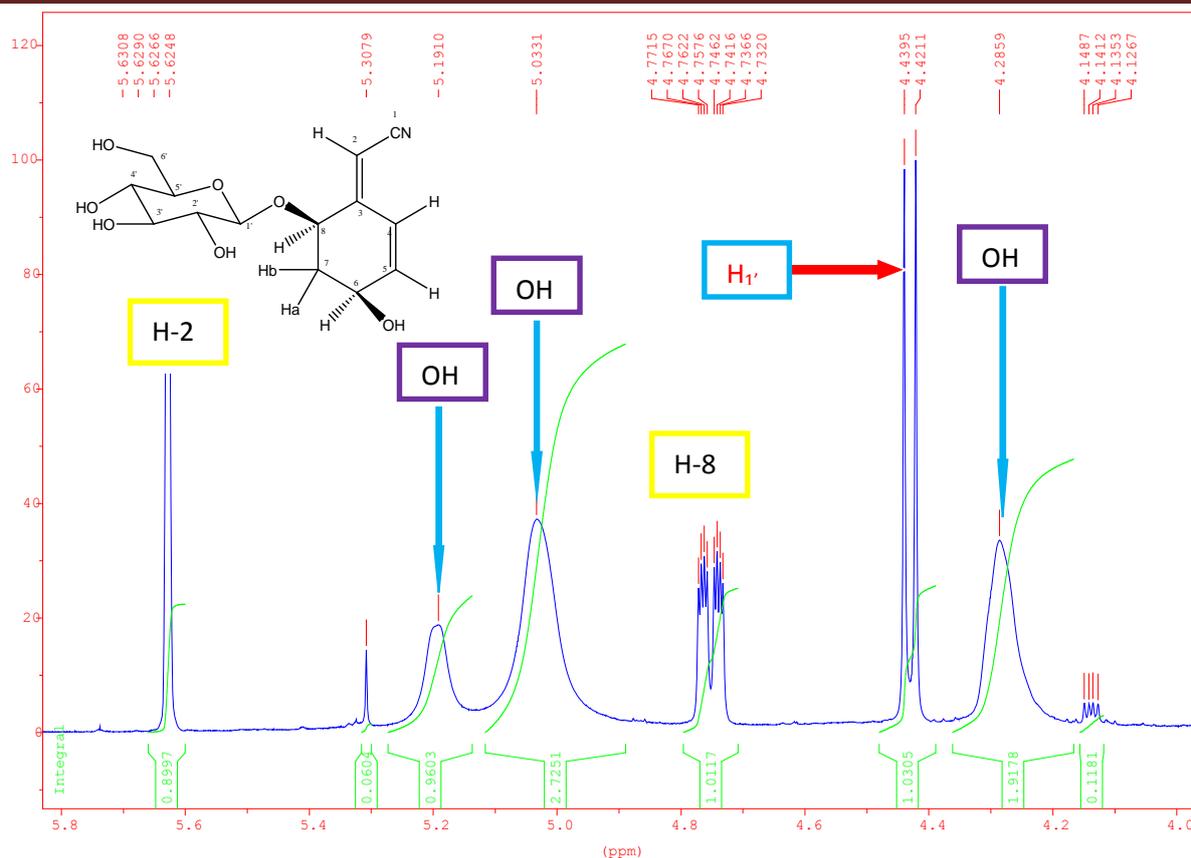


Figure 11 : Spectres de RMN du ^1H de CN_2

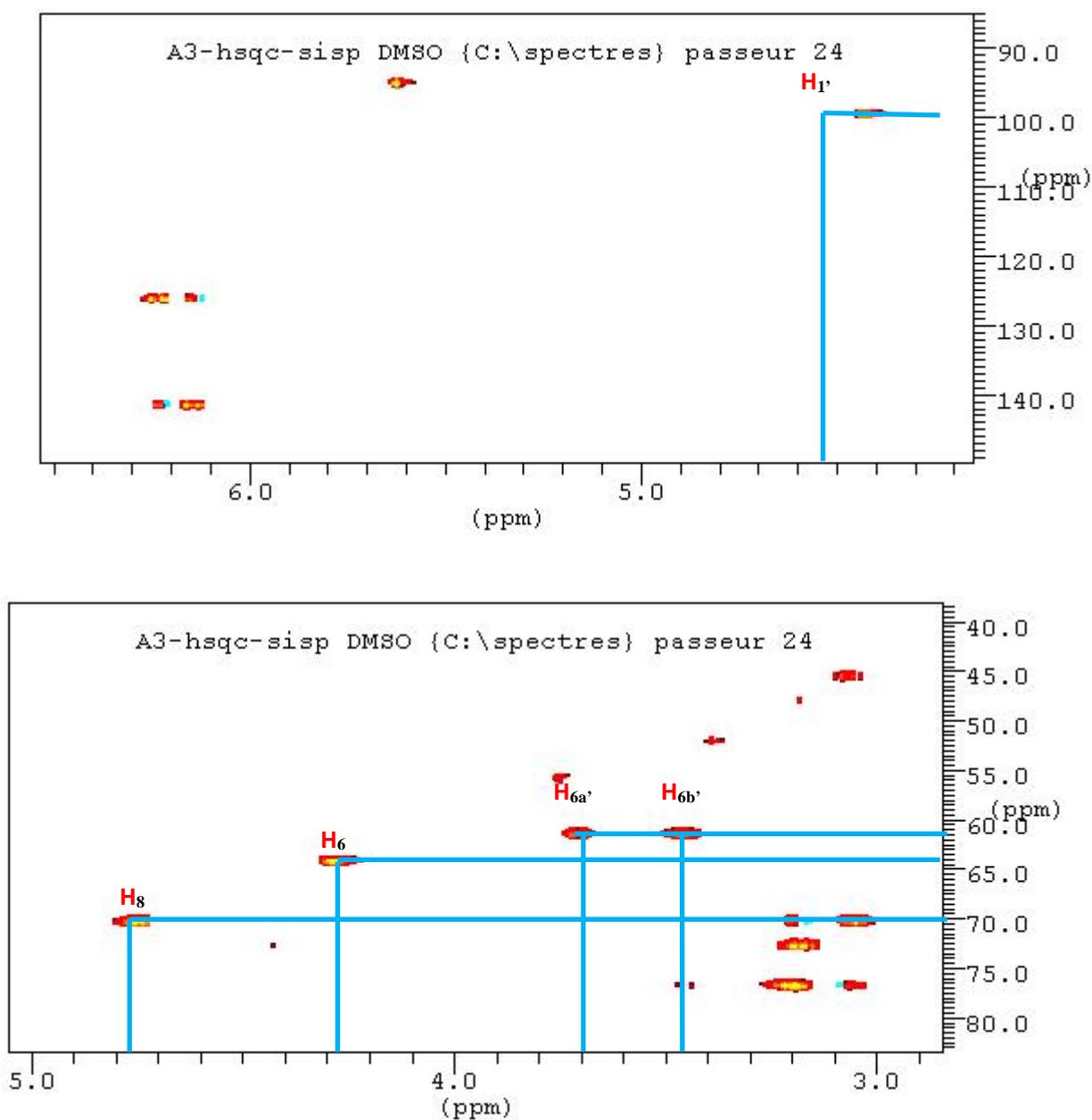


Figure 12 : Spectres HSQC de CN_2

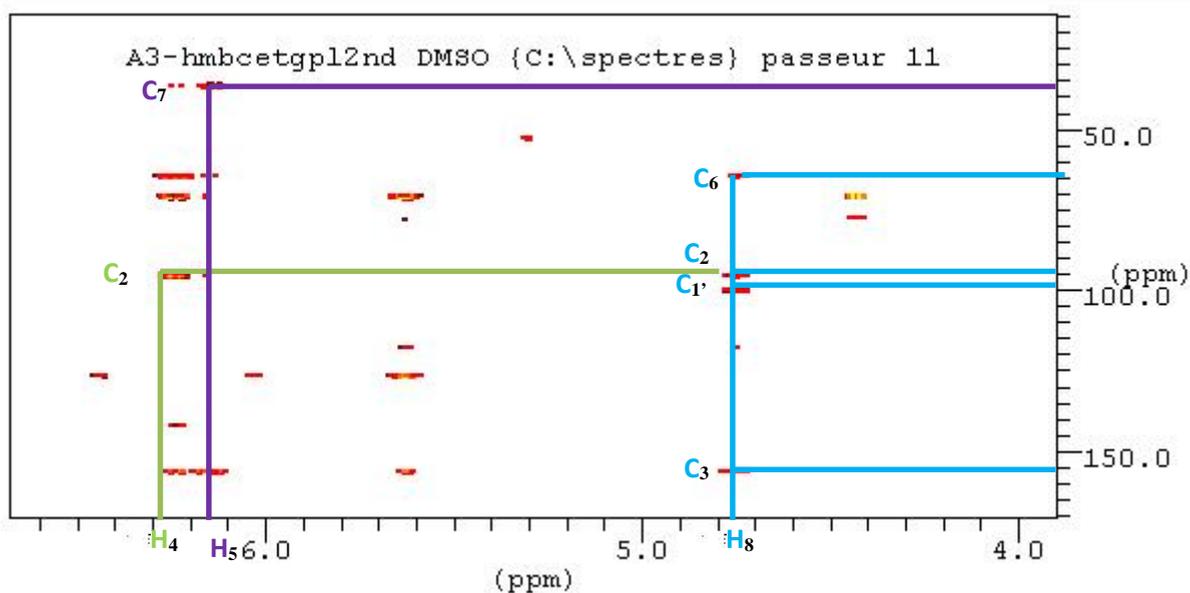


Figure 13 : Spectre HMBC de CN₂

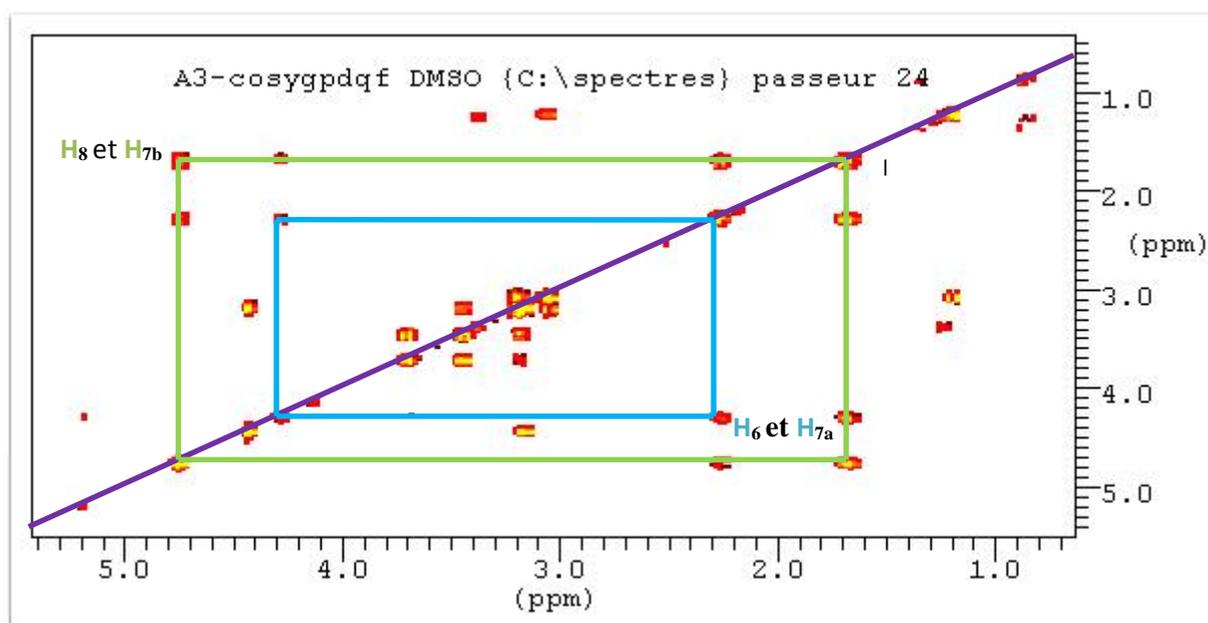


Figure 14 : Spectre COSY de CN₂

INTERETS PEDAGOGIQUE

Ce travail nous a permis non seulement de comprendre certaines techniques de séparation et de les expérimenter (chromatographie, décantation, extraction), mais également les résultats que peuvent produire le suivi rigoureux d'une démarche scientifique (protocole d'extraction et d'isolement). Nous avons également eu l'occasion de nous familiariser à l'outil informatique ainsi qu'à certain logiciel telque Chemdraw pour confection des structures des composés.

De retour au lycée nous pensons pouvoir mieux expliquer les techniques de séparation, saisir nos épreuves sans problème et en fin être assez rigoureux pendant les séquences d'enseignement en adoptant de meilleure méthode pour la compréhension de nos enseignements.

CONCLUSION ET PERSPECTIVES

L'étude chimique des racines de *Campylospermum nigroviolaceum* a conduit à partir de l'extrait à l'acétate d'éthyle, à l'isolement et à la purification de quatre produits indexés ; CN₁, CN₂, CN₃, CN₄. Sur la base des données spectrales et par comparaison avec les données de la littérature, deux d'entre eux ont été caractérisés, il s'agit de CN₁ et CN₂ identifiés à l'acide *ent*-16, 17-dihydroxykauran-19-oïque et à la ménisdaurine respectivement.

Les analyses en vue de déterminer les structures des autres produits CN₃ et CN₄ sont en cours.

Au regard de l'intérêt pharmacologique des espèces du genre *Campylospermum* dans la pharmacopée traditionnelle et moderne, nous nous proposons, dans le cadre de nos travaux ultérieurs de continuer l'étude des fractions restantes puis de faire des tests biologiques sur les produits résultants enfin de corroborer l'image traditionnelle de cette plante et également d'étendre nos études à d'autres espèces de ce même genre.



CHAPITRE III : PARTIE EXPERIMENTALE

3.1. Matériel végétal et appareillage

3.1.1 Appareillage

Les différentes masses obtenues ont été mesurées sur des balances électroniques de type SATORIUS BL 210 S et PJ PRECISA JUNIOR 1000 D.

Le gel de silice utilisé pour la chromatographie sur colonne est de fabrication Merck de dimension comprise entre 0,04 -0,063 mm. La CC a nécessité le Sephadex LH-20 et le gel de silice a une granulométrie (0,200-0,500) mm.

L'extraction des racines de *Campylospermum nigroviolaceum* a été réalisée avec le MeOH à température ambiante pendant 48 heures sous agitation. L'évaporation du solvant a été réalisée par un évaporateur rotatif de marque ROTAVAPOR RE 120 BÜCHI.

Les colonnes ont été éluées avec des gradients de système CH₂Cl₂/MeOH. Le système d'élution est adapté aux phases stationnaires des extraits ou substances analysées et le développement des chromatogrammes se fait dans des cuves. Les taches sont visualisées soit par une lampe UV (265 et 366 nm), soit par pulvérisation au moyen de l'acide sulfurique suivi d'un chauffage à l'étuve à 110°C, ou alors par les vapeurs d'iode.

Les spectres de RMN¹H et de RMN¹³C sont enregistrés sur les appareils de marque BRUKER MW 400MHz et 100 MHz pour le ¹H et ¹³C avec pour référence interne le TMS.

3.1.2. Matériel végétal

Les racines de l'arbuste du *Campylospermum nigroviolaceum* ont été récoltées en Avril 2015 à Sokélé dans la région du centre au Cameroun. La plante a été identifiée au numéro : 41981HNC par Mr Victor NANA, botaniste de l'Herbier National du Cameroun à Yaoundé.

3.1.3. Extraction et isolement

Les racines de *Campylospermum nigroviolaceum* ont été découpées, séchées puis broyées. La poudre obtenue (415 g) a été extrait au méthanol pendant 48 heures puis filtrée. Le filtrat obtenu a

été concentré, après évaporation nous avons obtenu un extrait pâteux brun (80g). Cet extrait au méthanol a subi des solubilisations différentielles, à l'hexane, au dichlorométhane et à l'acétate d'éthyle. L'extrait à l'acétate d'éthyle (10g) a été soumis à des chromatographies sur colonne successives sur du gel de silice et de Sephadex. L'élution a été effectuée au mélange $\text{CH}_2\text{Cl}_2/\text{MeOH}$ de polarité croissante et pour le LH-20 le MeOH uniquement. Nous avons obtenu quatre composés purs : CN_1 (15 mg), CN_2 (8 mg), CN_3 (10 mg) et CN_4 (12 mg). Le composé CN_1 a été obtenu au système $\text{CH}_2\text{Cl}_2/\text{MeOH}$ 15/1 et le composé CN_2 au système $\text{CH}_2\text{Cl}_2/\text{MeOH}$ 8/1, CN_3 et CN_4 ont été isolés usant du gel de Sephadex LH-20 au MeOH.

Tableau IX : Chromatogramme de l'extrait à l'acétate d'éthyle

Eluant	Fractions	Observations
$\text{CH}_2\text{Cl}_2/\text{MeOH}$ 50/1	1-9	Mélange de produits très peu polaires
$\text{CH}_2\text{Cl}_2/\text{MeOH}$ 40/1	10-19	Mélange de produits
$\text{CH}_2\text{Cl}_2/\text{MeOH}$ 30/1	20-39	Mélange de plus de quatre produits
$\text{CH}_2\text{Cl}_2/\text{MeOH}$ 20/1	40-54	Mélange de produits
$\text{CH}_2\text{Cl}_2/\text{MeOH}$ 15/1	55-64	CN_1 cristallise dans les fractions 57 à 61
$\text{CH}_2\text{Cl}_2/\text{MeOH}$ 10/1	65-74	Mélange de produits
$\text{CH}_2\text{Cl}_2/\text{MeOH}$ 8/1	75-80	CN_2 cristallise dans les fractions 76 à 78
$\text{CH}_2\text{Cl}_2/\text{MeOH}$ 5/1	81-85	CN_3 et CN_4 cristallisent dans ces fractions
$\text{CH}_2\text{Cl}_2/\text{MeOH}$ 1/1	86-90	Mélange de produits très polaires

3.1.4 Fractions retenues

Les fractions 57 à 61, après évaporation du solvant, sont récupérées dans le système $\text{CH}_2\text{Cl}_2/\text{MeOH}$. Laisser à température ambiante, elles laissent apparaître une poudre de couleur blanche qui, filtrée et essorée, donne le composé indexé CN_1 (15 mg).

De même les fractions 76 à 78 ont été traitées et nous avons observé un liquide visqueux de couleur orangée donnant le composé indexé CN_2 (8 mg).

La CCM des fractions 81 à 85 montre deux taches. L'utilisation du gel de Sephadex LH-20 nous a permis d'avoir les composés indexés CN_3 (10 mg) et CN_4 (12 mg) qui sont tous deux jaunes.

3.2. Caractéristiques physico-chimiques des produits isolés

➔ Pour CN₁ (acide kauranique à savoir l'acide *ent*-16 -17-dihydroxykauran-19-oïque)

-Formule brute C₂₀H₃₂O₄

-Description physique : poudre blanche

-Point de fusion : 290-291°C

-Masse moléculaire : 336 g/mol

➔ Pour CN₂ (Ménisdaurine)

- Formule brute C₁₄H₁₉NO₇- Description physique : solide amorphe orangé

- Masse moléculaire : 313 g/mol

➔ Pour CN₃ (à déterminer)

- Description physique : poudre jaunâtre

➔ Pour CN₄ (à déterminer)

- Description physique : poudre jaunâtre

3.3. Screening chimiques

Une petite quantité (1g) d'extrait brut de *Campylospermum nigroviolaceum* a été prélevée et soumise à une suite de tests chimiques afin de vérifier la présence ou non de certaines familles de composés. Pour les flavonoïdes (Test de SHINODA), les alcaloïdes (Test de MEYER et de DRAGGENDORF), les triterpènes (Test de LIBERMANN - BUCHARD) et les phénols (FeCl₃).

Tableau x: Tests chimiques

Famille de composés	Nature de test	Résultats obtenus
Flavonoïdes	SHINODA (MeOH, Mg, HCl conc)	+
Alcaloïdes	MEYER (HCl, réactif de Meyer)	+
	DRAGGENDORF (HCl, réactif de Draggendorf)	+
Triterpènes	LIBERMANN-BUCHARD (CHCl ₃ , Ac ₂ O, H ₂ SO ₄ conc)	+
Phénols	FeCl ₃	+

REFERENCES

- Abouem, A. A., Ngono, B. D., Atchadé, A.T., Ngo Mbing, J., Gangoue-Pieboji, J., Ghogomu, R.T., Blond, A., Pegnyemb, D. E., Bodo, B. (2008). Nitrile glucosides and serotobenine from *Campylospermum glaucum* and *Ouratea turnerea*. *Phytochemistry* **69**, 2209–2213.
- Adam, G., (1971). Flore descriptive des monts Nimba, Muséum National d'Histoire Naturelle pp. 334–347.
- Adam, G. (1971). Flore descriptive des monts Nimba, Muséum National d'Histoire Naturelle, Paris, 335-347.
- Amaral, M. C. E. & Bittrich V. (2005). Ochnaceae, in Kubitzki, K. (ed.). *The Families and Genera of Vascular Plants*, vol. **9**, Springer, Berlin.
- Amaral, M. C. E. (1991). Phylogenetische Systematik der Ochnaceae. *Botanische Jahrbücher für Systematik, Pflanzengeschichte und Pflanzengeographie* **113**, 105–196.
- Bittrich, V. & Amaral, M. C. E. (1994). Lectotypification of *Gomphia* Schreb. (Ochnaceae). *Taxon* **43**, 89–93.
- Bjarnholt, N., Rook, F., Motawia, M. S. (2008). Diversification of an ancient theme: hydroxynitrile glucosides. *Phytochemistry* **69**, 1507–1516.
- Bruneton, J. (2009). *Pharmacognosie - Phytochimie, plantes médicinales, 4e éd., revue et augmentée*, Paris, Tec & Doc - Éditions médicales internationales, 1288 pages. (ISBN 978-2-7430-1188-8)

Chase, M. W., Zmarzty, S., Lledo, M. D., Wurdack, K. J., Swensen, S. M. and Fay, M. F. 2002. When in doubt put it in Flacourtiaceae: a molecular phylogenetic analysis based on plastid rbcL DNA sequences. *Kew Bulletin*. **57**, 141–181.

Daniel, J. F. de S., de Carvalho, M. G., Cardoso, R. da, S., Agra, M. de F., Eberlin, M. N. (2005). Others flavonoids from *Ouratea hexasperma* (Ochnaceae). *Journal of the Brazilian Chemical Society* **16**, 634.

Diffrey, Cyanide and Arthropods, éditeurs: Vennesland, B., onn, E.E., Knowles, C.J., Westley, J., Wissing, F., (1981), *Cyanide in Biology*, Academic Press, London, pp 335-414.

Elliger, C.A., Waiss, A.C., Lundin, R.E. (1974), *Phytochemistry*, **13**, 2930.

Elo Manga, S., Tih, A. E., Ghogomu, R.T., Blond, A., Bodo, B. (2009). Biflavonoid constituents of *Campylospermum mannii*. *Biochemical Systematics and Ecology* **37**, 402–404.

Farron, C. (1963). Contribution à la taxinomie des *Ourateae* Engl. (Ochnaceae). *Bulletin de la Société Botanique de la Suisse* **73**, 196–217

Farron, C. (1965). Les genres *Rhabdophyllum* van Tiegh. et *Campylospermum* van Tiegh. (Ochnaceae) en Afrique tropicale (note préliminaire). *Bulletin du Jardin Botanique de l'État* **35**, 389–405.

Farron, C. (1985). Les *Ouratinae* (Ochnaceae) d'Afrique continentale. Cartes de distribution et clés de détermination de tous les genres et espèces. *Botanica Helvetica* **95**, 59–72

Felicio, J. D., Gonçalves, E., Braggio, M. M., Constatino, L., Albasini, A., Lins, A. (1995). Inhibition of lens Aldose reductase by biflavones from *Ouratea spectabilis*. *Planta Medica*. **61**, 217–220.

Galleano, M., Verstraeten, S.V., Oteiza, P.I., Fraga, C.G., (2010). « *Antioxidant actions of flavonoids: Thermodynamic and kinetic analysis* », dans *Archives of Biochemistry and Biophysics*, vol. 501.

Gilg, E. (1995). Ochnaceae, in Engler, A. (ed.), Die natürlichen Pfl anzenfamilien éd. 21. Wilhelm Engelmann, Leipzig: 53–87., 2°

Goodwin, T. W., Mercer, E. I., (1983), Introduction to Plant Biochimistry, 2e éd., Pergamon Press, Oxford, 356.

Heywood, V. H. (1978). Flowering plants of the world. Oxford University press, London. p 84.

<http://encyclo.voila.fr/wiki/diterpène>., le 04-01-2016 à 12h02

<http://membre.Multimania.fr/jjww/619.gif>. le 04-01-2016 à 12h59.

Jackson, B., Locksley, H., Scheinmann, Wosltenholme, F. W. A. (1971). Classification and biogenetic origin of natural biflavonoïds. Journal of the Chemical Society **C**, 3791–3793.

Kanis, A. (1968). A revision of the Ochnaceae of the Indo-Pacific area. Blumea **16**, 1–82.

Lu, Z. M., Zhang, Q. J., Chen, R. Y., Yu, D. Q., (2011), A New Diphenylmethane Derivative From *Uvaria Kurizz* With Cardiovascular Activity, Chinese journal of Natural Medecines, 9(2), 0090-0093.

Mabberley, D. J. (2008) Mabberley plant-book. A portable dictionary of plants, their classification and uses, 3rd edition. Cambridge; Cambridge University Press.

Ndongo, J. T., Shaaban, M., Ngo Mbing, J., Ngono, B. D., Atchadé, A. T., Pegnyemb, D. E., and Laatsch, H. (2010). Phenolic dimers and an indole alkaloid from *Campylospermum flavum* (Ochnaceae). Phytochemistry **71**, (16), 1872–1878.

Ngo Mbing, J., Pegnyemb, D. E., Ghogomu, T. R., Sondengam, B. L., Blond, A., Bodo, B.; (2003). Constituents of *Ouratea flava* biochemical systematics ecology **31**, (2), 215–217. .

Ngo Mbing, J., Pegnyemb, D. E., Ghogomu, T. R., Sondengam, B. L., Blond, A., Bodo, B. (2003). Two biflavonoids from *Ouratea flava*. Phytochemistry **63** 427–431.

Ngono,B.D., Mosset,P., Nkot,J.L., Atchade,A.T., Ndongo,J.T., Pemha,R.,and Pegnyemb,D.E.(2011). Acylsteryl glycosides and others constituents from *campylospermum densiflorum* (Ochnaceae). *Rasayan journal of chemistry*.vol 4 (4) pp 753-763.

Otsuka, H., Ito, A., Fujioka, N., Kawanata, K.I., Kassai, R.,Yamasaki, K.,Satoli, T.,(1993), *Phytochemistry*,33,389.

Pousset, j.L, (2004). *Le monde des plantes* N^o484.

Robinson, R. (1955). *The structural Relations of Natural Products*, Claredon, Oxford.

Satabié, B., Letouzey, R., (1979). Echantillon N^o41981, H.N.C., Yaoundé.

Seigler, D.S., Pauli, G.F., Frohlich, R.,Wegelius, E., Nahrstedt, A.,Glander, K.E., Ebusger, J.E., (2005), *Phytochemistry*,66,1567.

Sharon Tang, Paul Bremmer, Simon Gibbon; (2003). Biflavonoids With cytotoxic and antibacterial activity from *Ochna macrocalyx*, *Plant.Med.***69**: 247-253.

Source (<http://www.GBIF.org>, Consulté le 16/03/2016)

Takahashi,k., Matsuzawa,S.,Takani, M., (1978), studies of constituents of medicinal plants,XX¹).The constituents of the vines of *Menispermum daurcum* DC. *Chem. Pharm.Bull.*, 26(6), 1677-1681

Tieghem Van, P. (1903). Nouvelles observations sur les Ochnaceae. *Annales des Sciences naturelles, Botanique, série 8*, **18**, 1–60.

Tieghem Van, P. (1907). Supplément aux Ochnaceae. *Annales des Sciences naturelles, Botanique, série 9*, **5**, 158–192.

Velandia, j. R., Carvalho, M.G.,Braz-Filho, R., and Werle,A.A. (2002).;Bioflavonoid and a Glycoside Derivative from *Ouratea semiserrata*. *Phytochem. Anal.* **13**, 283-292

Velandia, J. R., de Carvalho, M. G., Braz-Filho, R., (1998). Novel trichloro and tetrachloroisoflavones isolated from *Ouratea semiserrata*. Natural product letters, **12**,191-198.

Yamasaki, K. (1999), Non-cyanogenic cyanoglucosides, éditeurs C-Y. Yang et Tanaka, O., Advances in Plant Glucosides, Chemistry and Biology, pp 335-345

Zhang, Z and Maria do carmo, E. A. (1984). *Campylospermum*. In flora of China. **12**, 361

Zhixiang Zhang & Maria do Carmo E. Amaral. (2008). "*Campylospermum*". Flore de la Chine dans le vol. 12 Page 361. Publié par Science Press (Pékin) et le Missouri Botanical Garden de presse. En ligne à EFloras.org .

Zhixiang Zhang & Maria do Carmo E. Amaral. (2008). "Ochnaceae". Flore de la Chine dans le vol. 12 Page 361. Publié par Science Press (Pékin) et le Missouri Botanical Garden de presse. En ligne à EFloras.org .