

REPUBLIQUE DU CAMEROUN

Paix – Travail – Patrie

UNIVERSITE DE YAOUNDE I

FACULTE DES SCIENCES

DEPARTEMENT DE CHIMIE

ORGANIQUE

CENTRE DE RECHERCHE

ET FORMATION DOCTORALE EN

SCIENCES, TECHNOLOGIES

ET GEOSCIENCES

LABORATOIRE DE

PHARMACOCHEMIE DES

SUBSTANCES NATURELLES



REPUBLIC OF CAMEROUN

Peace – Work – Fatherland

UNIVERSITY OF YAOUNDE I

FACULTY OF SCIENCE

DEPARTMENT OF ORGANIC

CHEMISTRY

POSTGRADUATE SCHOOL OF

SCIENCE,

TECHNOLOGY

AND GEOSCIENCE

NATURAL PRODUCTS

PHARMACOCHEMISTRY

LABORATORY

**ETUDE PHYTOCHIMIQUE DES PLANTES DU GENRE
CAMPYLOSPERMUM (C. Dybowski Van Tiegh, C. Vogelii
Hook. Fil. Farron, ET C. Zenkeri Van Tiegh. Farron) ;
MODIFICATIONS STRUCTURALES ET DETERMINATION
DE L'ACTIVITE ANTIPLASMODIALE**

THESE

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

Par : **MBABI NYEMECK II Norbert Mirabeau**

DEA en Chimie Industrielle et Environnement

Sous la direction de

PEGNYEMB Dieudonné Emmanuel

Professeur

Université de Yaoundé I

Année Académique : 2020



UNIVERSITE DE YAOUNDE I
FACULTE DES SCIENCES
B.P. 812 Yaoundé
Tel/Fax (237) 242235386



UNIVERSITY OF YAOUNDE I
FACULTY OF SCIENCE
P.O. Box 812 Yaounde
Tel/Fax (237) 242235386

DEPARTEMENT DE CHIMIE ORGANIQUE
DEPARTMENT OF ORGANIC CHEMISTRY

ATTESTATION DE CORRECTION DU MEMOIRE DE THESE DE
DOCTORAT/Ph.D DE MONSIEUR MBABI NYEMECK II Norbert Mirabeau,
Matricule 98S107

Titre de la thèse : « Etude phytochimique des plantes du genre *Campylospermum* (*C. dybowskii*, Van Tiegh, *C. vogelii*, Hook. Fil. Farron et *C. zenkeri*, Van Tiegh. Farron) ;
Modifications structurales et détermination de l'activité antiplasmodiale ».

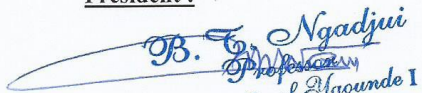
Nous soussignés, enseignants ci-dessous nommés, membres du jury de soutenance de thèse de Doctorat/Ph.D de Monsieur MBABI NYEMECK II Norbert Mirabeau, attestons que le candidat a bel et bien pris en compte dans la mouture finale de sa thèse, toutes les corrections et recommandations qui lui ont été faites au cours de sa soutenance en date du mercredi 03 Juin 2020.

En foi de quoi, la présente attestation de correction lui est délivrée pour servir et valoir ce que de droit.

Fait à Yaoundé, le 07 JUL 2020

Le Jury :

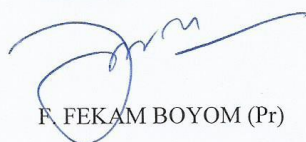
Président :

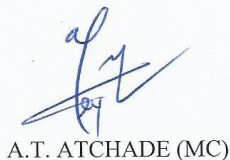

B. NGADJUI TCHALEU (Pr)
University of Yaounde I

Rapporteur :



D.E. PEGNYEMB (Pr)

Membres :


F. FEKAM BOYOM (Pr)


A.T. ATCHADE (MC)


F. KEUMEDJIO (MC)

UNIVERSITÉ DE YAOUNDÉ I Faculté des Sciences Division de la Programmation et du Suivi des Activités Académiques		THE UNIVERSITY OF YAOUNDE I Faculty of Science Division of Programming and Follow-up of Academic Affairs
LISTE DES ENSEIGNANTS PERMANENTS	LIST OF PERMANENT TEACHING STAFF	

ANNÉE ACADEMIQUE 2019/2020

(Par Département et par Grade)

DATE D'ACTUALISATION 03 Mars 2020

ADMINISTRATION

DOYEN : TCHOUANKEU Jean- Claude, *Maitre de Conférences*

VICE-DOYEN / DPSAA : ATCHADE Alex de Théodore, *Maitre de Conférences*

VICE-DOYEN / DSSE : AJEAGAH Gideon AGHAINDUM, *Professeur*

VICE-DOYEN / DRC : ABOSSOLO Monique, *Maitre de Conférences*

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

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

1- DÉPARTEMENT DE BIOCHIMIE (BC) (38)

N°	NOMS ET PRÉNOMS	GRADE	OBSERVATIONS
1	BIGOGA DIAGA Jude	Professeur	En poste
2	FEKAM BOYOM Fabrice	Professeur	En poste
3	FOKOU Elie	Professeur	En poste
4	KANSCI Germain	Professeur	En poste
5	MBACHAM FON Wilfried	Professeur	En poste
6	MOUNDIPA FEWOU Paul	Professeur	Chef de Département
7	NINTCHOM PENLAP V. épouse BENG	Professeur	En poste
8	OBEN Julius ENYONG	Professeur	En poste

9	ACHU Merci BIH	Maître de Conférences	En poste
10	ATOUGHO Barbara Mma	Maître de Conférences	En poste
11	AZANTSA KINGUE GABIN BORIS	Maître de Conférences	En poste
12	BELINGA née NDOYE FOE M. C. F.	Maître de Conférences	Chef DAF / FS
13	BOUDJEKO Thaddée	Maître de Conférences	En poste
14	DJUIDJE NGOUNOUE Marcelline	Maître de Conférences	En poste
15	EFFA NNOMO Pierre	Maître de Conférences	En poste
16	NANA Louise épouse WAKAM	Maître de Conférences	En poste
17	NGONDI Judith Laure	Maître de Conférences	En poste
18	NGUEFACK Julienne	Maître de Conférences	En poste
19	NJAYOU Frédéric Nico	Maître de Conférences	En poste
20	MOFOR née TEUGWA Clotilde	Maître de Conférences	Inspecteur de Service MINESUP
21	TCHANA KOUATCHOUA Angèle	Maître de Conférences	En poste

22	AKINDEH MBUH NJI	Chargé de Cours	En poste
23	BEBOY EDZENGUELE Sara Nathalie	Chargée de Cours	En poste
24	DAKOLE DABOY Charles	Chargé de Cours	En poste
25	DJUIKWO NKONGA Ruth Viviane	Chargée de Cours	En poste
26	DONGMO LEKAGNE Joseph Blaise	Chargé de Cours	En poste
27	EWANE Cécile Anne	Chargée de Cours	En poste
28	FONKOUA Martin	Chargé de Cours	En poste
29	BEBEE Fadimatou	Chargée de Cours	En poste
30	KOTUE KAPTUE Charles	Chargé de Cours	En poste
31	LUNGA Paul KEILAH	Chargé de Cours	En poste
32	MANANGA Marlyse Joséphine	Chargée de Cours	En poste
33	MBONG ANGIE M. Mary Anne	Chargée de Cours	En poste
34	PECHANGOU NSANGOU Sylvain	Chargé de Cours	En poste
35	Palmer MASUMBE NETONGO	Chargé de Cours	En poste

36	MBOUCHE FANMOE Marceline Joëlle	Assistante	En poste
37	OWONA AYISSI Vincent Brice	Assistant	En poste
38	WILFRIED ANGIE Abia	Assistante	En poste

2- DÉPARTEMENT DE BIOLOGIE ET PHYSIOLOGIE ANIMALES (BPA) (48)
--

1	AJEAGAH Gideon AGHAINDUM	Professeur	<i>VICE-DOYEN / DSSE</i>
2	BILONG BILONG Charles-Félix	Professeur	Chef de Département
3	DIMO Théophile	Professeur	En Poste
4	DJIETO LORDON Champlain	Professeur	En Poste
5	ESSOMBA née NTSAMA MBALA	Professeur	<i>Vice Doyen/FMSB/UYI</i>
6	FOMENA Abraham	Professeur	En Poste
7	KAMTCHOUING Pierre	Professeur	En poste
8	NJAMEN Dieudonné	Professeur	En poste
9	NJIOKOU Flobert	Professeur	En Poste
10	NOLA Moïse	Professeur	En poste
11	TAN Paul VERNYUY	Professeur	En poste
12	TCHUEM TCHUENTE Louis Albert	Professeur	<i>Inspecteur de service Coord.Progr./MINSANTE</i>
13	ZEBAZE TOGOUET Serge Hubert	Professeur	<i>En poste</i>

14	BILANDA Danielle Claude	Maître de Conférences	En poste
15	DJIOGUE Séfirin	Maître de Conférences	En poste
16	DZEUFJET DJOMENI Paul Désiré	Maître de Conférences	En poste
17	JATSA BOUKENG Hermine épouse MEGAPTCHE	Maître de Conférences	En Poste
18	KEKEUNOU Sévilor	Maître de Conférences	En poste
19	MEGNEKOU Rosette	Maître de Conférences	En poste
20	MONY Ruth épouse NTONE	Maître de Conférences	En Poste
21	NGUEGUIM TSOFAK Florence	Maître de Conférences	En poste
22	TOMBI Jeannette	Maître de Conférences	En poste

23	ALENE Désirée Chantal	Chargée de Cours	En poste
26	ATSAMO Albert Donatien	Chargé de Cours	En poste
27	BELLET EDIMO Oscar Roger	Chargé de Cours	En poste
28	DONFACK Mireille	Chargée de Cours	En poste
29	ETEME ENAMA Serge	Chargé de Cours	En poste
30	GOUNOUE KAMKUMO Raceline	Chargée de Cours	En poste
31	KANDEDA KAVAYE Antoine	Chargé de Cours	En poste
32	LEKEUFACK FOLEFACK Guy B.	Chargé de Cours	En poste
33	MAHOB Raymond Joseph	Chargé de Cours	En poste
34	MBENOUN MASSE Paul Serge	Chargé de Cours	En poste
35	MOUNGANG LucianeMarlyse	Chargée de Cours	En poste
36	MVEYO NDANKEU Yves Patrick	Chargé de Cours	En poste
37	NGOULATEU KENFACK Omer Bébé	Chargé de Cours	En poste
38	NGUEMBOK	Chargé de Cours	En poste
39	NJUA Clarisse Yafi	Chargée de Cours	Chef Div. UBA
40	NOAH EWOTI Olive Vivien	Chargée de Cours	En poste
41	TADU Zephyrin	Chargé de Cours	En poste
42	TAMSA ARFAO Antoine	Chargé de Cours	En poste
43	YEDE	Chargé de Cours	En poste

44	BASSOCK BAYIHA Etienne Didier	Assistant	En poste
45	ESSAMA MBIDA Désirée Sandrine	Assistante	En poste
46	KOGA MANG DOBARA	Assistant	En poste
47	LEME BANOCK Lucie	Assistante	En poste
48	YOUNOUSSA LAME	Assistant	En poste

3- DÉPARTEMENT DE BIOLOGIE ET PHYSIOLOGIE VÉGÉTALES (BPV) (33)

1	AMBANG Zachée	Professeur	Chef Division/UYII
2	BELL Joseph Martin	Professeur	En poste
3	DJOCGOUÉ Pierre François	Professeur	En poste

4	MOSSEBO Dominique Claude	Professeur	En poste
5	YOUMBI Emmanuel	Professeur	Chef de Département
6	ZAPFACK Louis	Professeur	En poste

7	ANGONI Hyacinthe	Maître de Conférences	En poste
8	BIYE Elvire Hortense	Maître de Conférences	En poste
9	KENGNE NOUMSI Ives Magloire	Maître de Conférences	En poste
10	MALA Armand William	Maître de Conférences	En poste
11	MBARGA BINDZI Marie Alain	Maître de Conférences	CT/ MINESUP
12	MBOLO Marie	Maître de Conférences	En poste
13	NDONGO BEKOLO	Maître de Conférences	<i>CE / MINRESI</i>
14	NGODO MELINGUI Jean Baptiste	Maître de Conférences	En poste
15	NGONKEU MAGAPTCHE Eddy L.	Maître de Conférences	En poste
16	TSOATA Esaïe	Maître de Conférences	En poste
17	TONFACK Libert Brice	Maître de Conférences	En poste

18	DJEUANI Astride Carole	Chargé de Cours	En poste
19	GOMANDJE Christelle	Chargée de Cours	En poste
20	MAFFO MAFFO Nicole Liliane	Chargé de Cours	En poste
21	MAHBOU SOMO TOUKAM. Gabriel	Chargé de Cours	En poste
22	NGALLE Hermine BILLE	Chargée de Cours	En poste
23	NGOUO Lucas Vincent	Chargé de Cours	En poste
24	NNANGA MEBENGA Ruth Laure	Chargé de Cours	En poste
25	NOUKEU KOUAKAM Armelle	Chargé de Cours	En poste
26	ONANA JEAN MICHEL	Chargé de Cours	En poste
27	GODSWILL NTSOMBAH NTSEFONG	Assistant	En poste
28	KABELONG BANAHOU Louis-Paul-Roger	Assistant	En poste
29	KONO Léon Dieudonné	Assistant	En poste
30	LIBALAH Moses BAKONCK	Assistant	En poste

31	LIKENG-LI-NGUE Benoit C	Assistant	En poste
32	TAEDOUNG Evariste Hermann	Assistant	En poste
33	TEMEGNE NONO Carine	Assistant	En poste

4- DÉPARTEMENT DE CHIMIE INORGANIQUE (CI) (34)

1	AGWARA ONDOH Moïse	Professeur	<i>Chef de Département</i>
2	ELIMBI Antoine	Professeur	En poste
3	Florence UFI CHINJE épouse MELO	Professeur	<i>Recteur Univ.Ngaoundere</i>
4	GHOGOMU Paul MINGO	Professeur	<i>Ministre Chargé de Miss.PR</i>
5	NANSEU Njiki Charles Péguy	Professeur	En poste
6	NDIFON Peter TEKE	Professeur	<i>CT MINRESI</i>
7	NGOMO Horace MANGA	Professeur	<i>Vice Chancellor/UB</i>
8	NDIKONTAR Maurice KOR	Professeur	<i>Vice-Doyen Univ. Bamenda</i>
9	NENWA Justin	Professeur	En poste
10	NGAMENI Emmanuel	Professeur	<i>DOYEN FS UDs</i>

11	BABALE née DJAM DOUDOU	Maître de Conférences	<i>Chargée Mission P.R.</i>
12	DJOUFAC WOUMFO Emmanuel	Maître de Conférences	En poste
13	EMADACK Alphonse	Maître de Conférences	En poste
14	KAMGANG YOUNBI Georges	Maître de Conférences	En poste
15	KEMMEGNE MBOUGUEM Jean C.	Maître de Conférences	En poste
16	KONG SAKEO	Maître de Conférences	En poste
17	NDI NSAMI Julius	Maître de Conférences	En poste
18	NJIOMOU C. épouse DJANGANG	Maître de Conférences	En poste
19	NJOYA Dayirou	Maître de Conférences	En poste

20	ACAYANKA Elie	Chargé de Cours	En poste
21	BELIBI BELIBI Placide Désiré	Chargé de Cours	CS/ ENS Bertoua
22	CHEUMANI YONA Arnaud M.	Chargé de Cours	En poste
23	KENNE DEDZO GUSTAVE	Chargé de Cours	En poste
24	KOUOTOU DAOUDA	Chargé de Cours	En poste
25	MAKON Thomas Beauregard	Chargé de Cours	En poste
26	MBEY Jean Aime	Chargé de Cours	En poste
27	NCHIMI NONO KATIA	Chargé de Cours	En poste
28	NEBA nee NDOSIRI Bridget NDOYE	Chargée de Cours	CT/ MINFEM
29	NYAMEN Linda Dyorisse	Chargée de Cours	En poste
30	PABOUDAM GBAMBIE A.	Chargée de Cours	En poste
31	TCHAKOUTE KOUAMO Hervé	Chargé de Cours	En poste
32	NJANKWA NJABONG N. Eric	Assistant	En poste
33	PATOUOSSA ISSOFA	Assistant	En poste
34	SIEWE Jean Mermoz	Assistant	En Poste

5- DÉPARTEMENT DE CHIMIE ORGANIQUE (CO) (35)

1	DONGO Etienne	Professeur	Vice-Doyen
2	GHOGOMU TIH Robert Ralph	Professeur	Dir. IBAF/UDA
3	NGOUELA Silvère Augustin	Professeur	Chef de Département UDS
4	NKENGFAK Augustin Ephrem	Professeur	Chef de Département
5	NYASSE Barthélemy	Professeur	En poste
6	PEGNYEMB Dieudonné Emmanuel	Professeur	<i>Directeur/ MINESUP</i>
7	WANDJI Jean	Professeur	En poste

8	Alex de Théodore ATCHADE	Maître de Conférences	Vice-Doyen / DPSAA
9	EYONG Kenneth OBEN	Maître de Conférences	En poste
10	FOLEFOC Gabriel NGOSONG	Maître de Conférences	En poste
11	FOTSO WABO Ghislain	Maître de Conférences	En poste

12	KEUMEDJIO Félix	Maître de Conférences	En poste
13	KEUMOGNE Marguerite	Maître de Conférences	En poste
14	KOUAM Jacques	Maître de Conférences	En poste
15	MBAZOA née DJAMA Céline	Maître de Conférences	En poste
16	MKOUNGA Pierre	Maître de Conférences	En poste
17	NOTE LOUGBOT Olivier Placide	Maître de Conférences	Chef Service/MINESUP
18	NGO MBING Joséphine	Maître de Conférences	Sous/Direct. MINERESI
19	NGONO BIKOBO Dominique Serge	Maître de Conférences	En poste
20	NOUNGOUE TCHAMO Diderot	Maître de Conférences	En poste
21	TABOPDA KUATE Turibio	Maître de Conférences	En poste
22	TCHOUANKEU Jean-Claude	Maître de Conférences	<i>Doyen /FS/ UYI</i>
23	TIH née NGO BILONG E. Anastasie	Maître de Conférences	En poste
24	YANKEP Emmanuel	Maître de Conférences	En poste

25	AMBASSA Pantaléon	Chargé de Cours	En poste
26	KAMTO Eutrophe Le Doux	Chargé de Cours	En poste
27	MVOT AKAK CARINE	Chargé de Cours	En poste
28	NGNINTEDO Dominique	Chargé de Cours	En poste
29	NGOMO Orléans	Chargée de Cours	En poste
30	OUAHOUE WACHE Blandine M.	Chargée de Cours	En poste
31	SIELINOU TEDJON Valérie	Chargé de Cours	En poste
32	TAGATSING FOTSING Maurice	Chargé de Cours	En poste
33	ZONDENDEGOUMBA Ernestine	Chargée de Cours	En poste

34	MESSI Angélique Nicolas	Assistant	En poste
35	TSEMEUGNE Joseph	Assistant	En poste

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

1	ATSA ETOUNDI Roger	Professeur	<i>Chef Div.MINESUP</i>
2	FOUDA NDJODO Marcel Laurent	Professeur	<i>Chef Dpt ENS/Chef IGA.MINESUP</i>

3	NDOUNDAM René	Maître de Conférences	En poste
---	---------------	-----------------------	----------

4	AMINOU Halidou	Chargé de Cours	<i>Chef de Département</i>
5	DJAM Xaviera YOUH - KIMBI	Chargé de Cours	En Poste
6	EBELE Serge Alain	Chargé de Cours	En poste
7	KOUOKAM KOUOKAM E. A.	Chargé de Cours	En poste
8	MELATAGIA YONTA Paulin	Chargé de Cours	En poste
9	MOTO MPONG Serge Alain	Chargé de Cours	En poste
10	TAPAMO Hyppolite	Chargé de Cours	En poste
11	ABESSOLO ALO'O Gislain	Chargé de Cours	En poste
12	MONTHE DJIADEU Valery M.	Chargé de Cours	En poste
13	OLLE OLLE Daniel Claude Delort	Chargé de Cours	C/D Enset. Ebolowa
14	TINDO Gilbert	Chargé de Cours	En poste
15	TSOPZE Norbert	Chargé de Cours	En poste
16	WAKU KOUAMOU Jules	Chargé de Cours	En poste

17	BAYEM Jacques Narcisse	Assistant	En poste
18	DOMGA KOMGUEM Rodrigue	Assistant	En poste
19	EKODECK Stéphane Gaël Raymond	Assistant	En poste
20	HAMZA Adamou	Assistant	En poste
21	JIOMEKONG AZANZI Fidel	Assistant	En poste
22	MAKEMBE. S . Oswald	Assistant	En poste
23	MESSI NGUELE Thomas	Assistant	En poste
24	MEYEMDOU Nadège Sylvianne	Assistante	En poste
25	NKONDOCK. MI. BAHANACK.N.	Assistant	En poste

7- DÉPARTEMENT DE MATHÉMATIQUES (MA) (30)

1	EMVUDU WONO Yves S.	Professeur	<i>Inspecteur MINESUP</i>
---	---------------------	------------	---------------------------

2	AYISSI Raoult Domingo	Maître de Conférences	Chef de Département
3	NKUIMI JUGNIA Célestin	Maître de Conférences	En poste
4	NOUNDJEU Pierre	Maître de Conférences	<i>Chef service des programmes & Diplômes</i>
5	MBEHOU Mohamed	Maître de Conférences	En poste
6	TCHAPNDA NJABO Sophonie B.	Maître de Conférences	Directeur/AIMS Rwanda

7	AGHOUKENG JIOFACK Jean Gérard	Chargé de Cours	Chef Cellule MINPLAMAT
8	CHENDJOU Gilbert	Chargé de Cours	En poste
9	DJIADEU NGAHA Michel	Chargé de Cours	En poste
10	DOUANLA YONTA Herman	Chargé de Cours	En poste
11	FOMEKONG Christophe	Chargé de Cours	En poste
12	KIANPI Maurice	Chargé de Cours	En poste
13	KIKI Maxime Armand	Chargé de Cours	En poste
14	MBAKOP Guy Merlin	Chargé de Cours	En poste
15	MBANG Joseph	Chargé de Cours	En poste
16	MBELE BIDIMA Martin Ledoux	Chargé de Cours	En poste
17	MENGUE MENGUE David Joe	Chargé de Cours	En poste
18	NGUEFACK Bernard	Chargé de Cours	En poste
19	NIMPA PEFOUKEU Romain	Chargée de Cours	En poste
20	POLA DOUNDOU Emmanuel	Chargé de Cours	En poste
21	TAKAM SOH Patrice	Chargé de Cours	En poste
22	TCHANGANG Roger Duclos	Chargé de Cours	En poste
23	TCHOUNDJA Edgar Landry	Chargé de Cours	En poste
24	TETSADJIO TCHILEPECK M. E.	Chargée de Cours	En poste
25	TIAYA TSAGUE N. Anne-Marie	Chargée de Cours	En poste

26	MBIAKOP Hilaire George	Assistant	En poste
27	BITYE MVONDO Esther Claudine	Assistante	En poste
28	MBATAKOU Salomon Joseph	Assistant	En poste
29	MEFENZA NOUNTU Thiery	Assistant	En poste
30	TCHEUTIA Daniel Duviol	Assistant	En poste

8- DÉPARTEMENT DE MICROBIOLOGIE (MIB) (18)

1	ESSIA NGANG Jean Justin	Professeur	<i>Chef de Département</i>
---	-------------------------	------------	----------------------------

2	BOYOMO ONANA	Maître de Conférences	En poste
3	NWAGA Dieudonné M.	Maître de Conférences	En poste
4	NYEGUE Maximilienne Ascension	Maître de Conférences	En poste
5	RIWOM Sara Honorine	Maître de Conférences	En poste
6	SADO KAMDEM Sylvain Leroy	Maître de Conférences	En poste

7	ASSAM ASSAM Jean Paul	Chargé de Cours	En poste
8	BODA Maurice	Chargé de Cours	En poste
9	BOUGNOM Blaise Pascal	Chargé de Cours	En poste
10	ESSONO OBOUGOU Germain G.	Chargé de Cours	En poste
11	NJIKI BIKOÏ Jacky	Chargée de Cours	En poste
12	TCHIKOUA Roger	Chargé de Cours	En poste

13	ESSONO Damien Marie	Assistant	En poste
14	LAMYE Glory MOH	Assistant	En poste
15	MEYIN A EBONG Solange	Assistante	En poste
16	NKOUDOU ZE Nardis	Assistant	En poste
17	SAKE NGANE Carole Stéphanie	Assistante	En poste
18	TOBOLBAÏ Richard	Assistant	En poste

9. DEPARTEMENT DE PYSIQUE(PHY) (40)

1	BEN- BOLIE Germain Hubert	Professeur	En poste
2	EKOBENA FOU DA Henri Paul	Professeur	<i>Chef Division. UN</i>
3	ESSIMBI ZOBO Bernard	Professeur	En poste
4	KOFANE Timoléon Crépin	Professeur	En poste
5	NANA ENGO Serge Guy	Professeur	En poste
6	NDJAKA Jean Marie Bienvenu	Professeur	Chef de Département
7	NOUAYOU Robert	Professeur	En poste
8	NJANDJOCK NOUCK Philippe	Professeur	<i>Sous Directeur/ MINRESI</i>
9	PEMHA Elkana	Professeur	En poste
10	TABOD Charles TABOD	Professeur	Doyen Univ/Bda
11	TCHAWOUA Clément	Professeur	En poste
12	WOAFO Paul	Professeur	En poste

13	BIYA MOTTO Frédéric	Maître de Conférences	DG/HYDRO Mekin
14	BODO Bertrand	Maître de Conférences	En poste
15	DJUIDJE KENMOE épouse ALOYEM	Maître de Conférences	En poste
16	EYEBE FOU DA Jean sire	Maître de Conférences	En poste
17	FEWO Serge Ibraïd	Maître de Conférences	En poste
18	HONA Jacques	Maître de Conférences	En poste
19	MBANE BIOUELE César	Maître de Conférences	En poste
20	NANA NBENDJO Blaise	Maître de Conférences	En poste
21	NDOP Joseph	Maître de Conférences	En poste
22	SAIDOU	Maître de Conférences	MINERESI
23	SIEWE SIEWE Martin	Maître de Conférences	En poste
24	SIMO Elie	Maître de Conférences	En poste
25	VONDOU Derbetini Appolinaire	Maître de Conférences	En poste
26	WAKATA née BEYA Annie	Maître de Conférences	<i>Sous Directeur/ MINESUP</i>
27	ZEKENG Serge Sylvain	Maître de Conférences	En poste

28	ABDOURAHIMI	Chargé de Cours	En poste
29	EDONGUE HERVAIS	Chargé de Cours	En poste
30	ENYEGUE A NYAM épouse BELINGA	Chargée de Cours	En poste
31	FOUEDJIO David	Chargé de Cours	Chef Cell. MINADER
32	MBINACK Clément	Chargé de Cours	En poste
33	MBONO SAMBA Yves Christian U.	Chargé de Cours	En poste
34	MELI'I Joelle Larissa	Chargée de Cours	En poste
35	MVOGO ALAIN	Chargé de Cours	En poste
36	OBOUNOU Marcel	Chargé de Cours	DA/Univ Inter Etat/Sangmalima
37	WOULACHE Rosalie Laure	Chargée de Cours	En poste

38	AYISSI EYEBE Guy François Valérie	Assistant	En poste
39	CHAMANI Roméo	Assistant	En poste
40	TEYOU NGOUPOU Ariel	Assistant	En poste

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

1	BITOM Dieudonné	Professeur	<i>Doyen / FASA / UDs</i>
2	FOUATEU Rose épouse YONGUE	Professeur	En poste
3	KAMGANG Pierre	Professeur	En poste
4	NDJIGUI Paul Désiré	Professeur	Chef de Département
5	NDAM NGOUPAYOU Jules-Remy	Professeur	En poste
6	NGOS III Simon	Professeur	DAAC/Uma
7	NKOUMBOU Charles	Professeur	En poste
8	NZENTI Jean-Paul	Professeur	En poste

9	ABOSSOLO née ANGUE Monique	Maître de Conférences	<i>Vice-Doyen / DRC</i>
10	GHOGOMU Richard TANWI	Maître de Conférences	CD/Uma
11	MOUNDI Amidou	Maître de Conférences	<i>CT/ MINIMDT</i>
12	NGUEUTCHOUA Gabriel	Maître de Conférences	CEA/MINRESI

13	NJILAH Isaac KONFOR	Maître de Conférences	En poste
14	ONANA Vincent Laurent	Maître de Conférences	<i>Chef service Maintenance & du Matériel</i>
15	BISSO Dieudonné	Maître de Conférences	<i>Directeur/Projet Barrage Memve'ele</i>
16	EKOMANE Emile	Maître de Conférences	En poste
17	GANNO Sylvestre	Maître de Conférences	En poste
18	NYECK Bruno	Maître de Conférences	En poste
19	TCHOUANKOUE Jean-Pierre	Maître de Conférences	En poste
20	TEMDJIM Robert	Maître de Conférences	En poste
21	YENE ATANGANA Joseph Q.	Maître de Conférences	<i>Chef Div. /MINTP</i>
22	ZO'O ZAME Philémon	Maître de Conférences	<i>DG/ART</i>

23	ANABA ONANA Achille Basile	Chargé de Cours	En poste
24	BEKOA Etienne	Chargé de Cours	En poste
25	ELISE SABABA	Chargé de Cours	En poste
26	ESSONO Jean	Chargé de Cours	En poste
27	EYONG JOHN TAKEM	Chargé de Cours	En poste
28	FUH Calistus Gentry	Chargé de Cours	<i>Sec. D'Etat/MINMIDT</i>
29	LAMILEN BILLA Daniel	Chargé de Cours	En poste
30	MBESSE CECILE OLIVE	Chargée de Cours	En poste
31	MBIDA YEM	Chargé de Cours	En poste
32	METANG Victor	Chargé de Cours	En poste
33	MINYEM Dieudonné-Lucien	Chargé de Cours	<i>CD/Uma</i>
34	NGO BELNOUN Rose Noël	Chargée de Cours	En poste
35	NGO BIDJECK Louise Marie	Chargée de Cours	En poste
36	NOMO NEGUE Emmanuel	Chargé de Cours	En poste
37	NTSAMA ATANGANA Jacqueline	Chargé de Cours	En poste
38	TCHAKOUNTE J. épouse NOUMBEM	Chargée de Cours	<i>Chef.cell / MINRESI</i>
39	TCHAPTCHET TCHATO De P.	Chargé de Cours	En poste
40	TEHNA Nathanaël	Chargé de Cours	En poste
41	TEMGA Jean Pierre	Chargé de Cours	En poste

42	FEUMBA Roger	Assistant	En poste
43	MBANGA NYOBE Jules	Assistant	En poste

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

NOMBRE D'ENSEIGNANTS					
DÉPARTEMENT	Professeurs	Maîtres de Conférences	Chargés de Cours	Assistants	Total
BCH	9 (1)	13 (09)	14 (06)	3 (2)	39 (18)
BPA	13 (1)	09 (06)	19 (05)	05 (2)	46 (14)
BPV	06 (0)	11 (02)	9 (06)	07 (01)	33 (9)
CI	10 (1)	9 (02)	12 (02)	03 (0)	34 (5)
CO	7 (0)	17 (04)	09 (03)	02 (0)	35(7)
IN	2 (0)	1 (0)	13 (01)	09 (01)	25 (2)
MAT	1 (0)	5 (0)	19 (01)	05 (02)	30 (3)
MIB	1 (0)	5 (02)	06 (01)	06 (02)	18 (5)
PHY	12 (0)	15 (02)	10 (03)	03 (0)	40 (5)
ST	8 (1)	14 (01)	19 (05)	02 (0)	43(7)
Total	69 (4)	99 (28)	130 (33)	45 (10)	343 (75)

Soit un total de **343 (75)** dont :

- Professeurs **68 (4)**
- Maîtres de Conférences **99 (28)**
- Chargés de Cours **130 (33)**
- Assistants **46 (10)**

() = Nombre de Femmes **75**

DEDICACES

Je dédie cette thèse :

À mes feux parents : NYEMECK MBABI Joseph

et

NYEMECK MBABI Elisabeth Jeanne

REMERCIEMENTS

Mon immense reconnaissance va au Professeur Dieudonné Emmanuel **Pegnyemb**, mon Directeur de Thèse qui m'a accueilli dans son Laboratoire et a dirigé ce travail avec rigueur et efficacité. Je lui exprime toute ma reconnaissance pour les conseils et sa disponibilité malgré ses multiples occupations.

Au Professeur Augustin Ephrem **Nkengfack**, Chef de Département de Chimie Organique à la Faculté des Sciences de l'Université de Yaoundé qui m'a toujours soutenu tout au long de mon parcours académique.

Au Professeur Ulrich **Koert**, de l'Université *Philipps-Universität* de Marburg, qui m'a chaleureusement accueilli dans son équipe de recherche en Allemagne et a suivi minutieusement une partie de ce travail.

Au Professeur Dominique Serge **Ngono Bikobo**, pour son assistance tout au long de la réalisation de ce travail, la confiance manifeste et ses précieux conseils. Je tiens aussi à lui exprimer ma reconnaissance et ma gratitude tout particulièrement pour ses efforts, son soutien et ses encouragements.

Au Professeur Joséphine **Ngo Mbing**, pour son aide précieuse et sa sympathie qui furent pour moi une constante source de motivation.

Au Professeur Alex de Théodore **Atchadé**, pour ses conseils et ses encouragements permanents.

Au Professeur Joseph Thierry **Ndongo**, pour ses conseils et les bons moments partagés ensemble au sein et en dehors du laboratoire.

Au Professeur Olivier Placide **Noté**, pour sa bonne humeur, son aide et son soutien moral.

Au Docteur Auguste **Abouem à Zintchem**, pour son aide précieuse tout au long de cette thèse. Veuillez recevoir, l'expression de ma gratitude et de mon respect.

Au Docteur Eutrope Ledoux **Kamto** pour son soutien et son amitié tout au long de la réalisation de ce travail.

Au Docteur Mc Jesus **Kinyock** pour ses conseils et sa bonne humeur au sein du laboratoire.

Aux Docteurs Gaetan **Bayiha**, Angélique Nicolas **Messi**, Line **Simo**, René **Pemha**, Placide Désiré **Belibi** et Emmanuel **Panyoo** pour leurs diverses contributions et leurs encouragements.

À tous les Enseignants de la Faculté des Sciences et en particulier ceux du Département de Chimie Organique de l'Université de Yaoundé I pour les enseignements et la formation académique.

À Monsieur **Victor Nana** de l'Herbier National du Cameroun (HNC) pour son aide lors des récoltes et surtout pour l'identification du matériel végétal.

À tous mes camarades du laboratoire de Pharmacochimie des Substances Naturelles (LPSN) de l'Université de Yaoundé I, en particulier Jeanne Louise **Nkot**, Marius **Balemaken**, Jean Noel **Evina**, Eric Robert **Tiam**, Fred René **Zoua**, Lin Marcellin **Messi**, Robert **Ebeh**, Onesime **Mayega**, Patrick **Betote**, Valdy **Djiova**, Daniel **Toukea**, André **Bitombo**, Alexis **Nama**, Roland **Ebede**, Emmanuel **Biang**, Yolande **Ngimbous** et à tous les autres « cadets » de laboratoire pour leur esprit de collaboration et d'entraide. Je les remercie chaleureusement pour tous ces agréables moments passés ensemble.

À certains de mes mes promotionnaires de faculté des Sciences, en particulier : Dr. Aimée **Tchuente**, Dr. Joel **Ateba**, Augustin **Nya**, Raymond **Onguene** et à feu Nkouadou **Aminou** de regretté mémoire pour l'entière collaboration menée.

À toute l'équipe du laboratoire de Chimie Organique de l'Université *Philipps-Universität* de Marburg en Allemagne. Il s'agit en particulier de : Oliver **Born**, Philipp **Hofmann**, Michel **Fischer** et Eva-Maria **Schäffer** pour leur disponibilité, leur assistance technique au laboratoire et aussi pour tous les bons moments passés ensemble.

A l'Office Allemand d'Echanges Universitaires (**DAAD/STIBET**), pour l'octroi d'un financement à travers une bourse de mobilité en Allemagne afin de finaliser de cette thèse.

Qu'il me soit enfin permis de remercier ma grande famille en particulier M. et Mme Adalbert **Batoum** ainsi que ma belle-famille pour leur soutien et encouragements constants.

A mon épouse Mme Christelle Ernestine **Mbabi**, à ma fille Elisabeth Cheryl **Ngo Mbabi** et à mon fils Luc Brivaël **Nyemeck Mbabi**.

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

TABLE DE MATIERES

DEDICACES	xvi
REMERCIEMENTS.....	xvii
TABLE DE MATIERES.....	xix
LISTE DES ABREVIATIONS ET SYMBOLES	xxiii
LISTE DES FIGURES.....	xxvi
LISTE DES SCHEMAS.....	xxx
RESUME.....	xxxix
ABSTRACT	xxxiii
INTRODUCTION GENERALE.....	1
CHAPITRE I : REVUE DE LA LITTERATURE.....	4
I.1. Généralités sur le paludisme.....	5
I.1.1. Epidémiologie du paludisme.....	5
I.1.2. Le parasite et le vecteur	7
I.1.2.1. Le parasite	7
I.1.2.2. Le vecteur	8
I.1.3. Les manifestations cliniques	8
I.1.4. Prévention et traitement du paludisme	8
I.1.4.1. Prévention du paludisme.....	8
I.1.4.2. Traitement du paludisme	9
I.2. La famille des Ochnaceae.....	12
I.2.1. Présentation de la famille des Ochnaceae	12
I.2.2. Classification systématique des Ochnaceae	13
I.2.3. Importance économique des espèces de la famille des Ochnaceae.....	13
I.3. Présentation du genre <i>Campylospermum</i>	13
I.3.1. Répartition géographique des espèces du genre <i>Campylospermum</i>	14
I.3.2. Aperçu botanique de quelques espèces du genre <i>Campylospermum</i> étudiées..	16
I.3.2.1. <i>Campylospermum zenkeri</i> (Tiegh.) Farron	16
I.3.2.2. <i>Campylospermum dybowskii</i> Tiegh.	17
I.3.2.3. <i>Campylospermum vogelii</i> (Hook.f.) Farron.....	17
I.3.3. Usages en médecine traditionnelle de quelques espèces du genre <i>Campylospermum</i>	18

I.3.4. Activités biologiques sur les extraits des espèces du genre <i>Campylosperrum</i> .	20
I.4. Travaux phytochimiques antérieurs sur les espèces du genre <i>Campylosperrum</i>	20
I.4.1. Les alcaloïdes du genre <i>Campylosperrum</i>	21
I.4.2. Les flavonoïdes du genre <i>Campylosperrum</i>	22
I.4.3. Les biflavonoïdes du genre <i>Campylosperrum</i>	25
I.4.4. Les stérols du genre <i>Campylosperrum</i>	28
I.4.5. Les cyanoglucosides du genre <i>Campylosperrum</i>	29
I.4.6. Autres composés isolés du genre <i>Campylosperrum</i>	31
I.4.6.1. L'acide kauranique du genre <i>Campylosperrum</i>	31
I.4.6.2. La lignane du genre <i>Campylosperrum</i>	31
I.4.6.3 La coumarine du genre <i>Campylosperrum</i>	32
I.5. Généralités sur quelques réactions d'hémisynthèse.....	33
I.5.1. Généralités sur la réaction d'estérification.....	33
I.5.2. Généralités sur la réaction de Mitsunobu.....	34
CHAPITRE II : RESULTATS ET DISCUSSION	37
II.1. Etude phytochimique des écorces des tiges de <i>Campylosperrum zenkeri</i>	38
II.1.1. Extraction, fractionnement et purification des composés	38
II.1.2 Détermination structurale et identification des composés isolés	40
II.1.2.1. Identification de CZ1 au mélange.....	40
II.1.2.2. Identification de CZ2 à la serotobénine.....	46
II.1.2.3. Identification de CZ3 au β -sitostérol 3-O- β -D-glucopyranoside	50
II.1.2.4. Identification de CZ4 à la lophirone A	54
II.1.2.5. Identification de CZ5 à la lophirone F	57
II.1.2.6. Détermination structurale de CZ6A	60
II.1.2.7. Détermination structurale de CZ6B	68
II.1.2.8. Identification de CZ7 à l'agathisflavone	73
II.2. Etude phytochimique des feuilles de <i>Campylosperrum dybowskii</i>	76
II.2.1. Extraction, fractionnement et purification des composés	76
II.2.2 Identification des composés isolés	78
II.2.2.1 Identification de CD1 à la serotobenine.....	78
II.2.2.2 Identification de CD2 au β -sitosterol-3-O- β -D-glucopyranoside.....	78
II.2.2.3 Identification de CD3 à la Lanceoline C.....	78

II.2.2.4	Identification de CD4 à la 4'-O-méthylvitexine.....	81
II.2.2.5.	Identification de CD5 à la 2''-O-acétyl-7-O-méthylvitexine.....	84
II.2.2.6	Identification de CD6 à l'amentoflavone	87
II.2.2.7.	Identification de CD7 à la robustaflavone.....	90
II.3.	Etude phytochimique de des racines de <i>Campylospermum vogelii</i>	92
II.3.1.	Extraction, fractionnement et purification des composés	92
II.3.2	Identification des composés isolés	93
II.3.2.1.	Identification de CV1 à la serotobenine.....	93
II.3.2.2.	Identification de CV2 à la campylospermine	93
II.3.2.3.	Identification de CV3 au stigmastérol	95
II.3.2.4.	Identification de CV4 au β -sitosterol	99
II.3.2.5.	Identification de CV5 au β -D-fructofuranosyl-(2→1)- α -D-glucopyranoside	99
II.3.2.6.	Détermination structurale de CV6.....	102
II.4.	Etude phytochimique des tiges de <i>Campylospermum vogelii</i>	112
II.4.1.	Extraction, fractionnement et purification des composés	112
II.4.2.	Identification des composés isolés des tiges de <i>C. vogelii</i>	113
II.4.2.1.	Identification de CVT1 à la serotobenine	113
II.4.2.2.	Identification de CVT2 au β -sitostérol.....	113
II.4.2.3.	Identification de CVT3 à l'acide bétulinique	116
II.4.2.4.	Identification de CVT4 au β -sitosterol-3-O- β -D-glucopyranoside	119
II.4.2.5.	Identification de CVT5 à la 3-O-methylquercetine	119
II.5.	Quelques réactions d'hémisynthèse sur la sérotobénine.....	122
II.5.1	Réactions d'estérification sur la sérotobénine.....	122
II.5.1.1.	Application 1 : cas de l'anhydride propanoïque	122
II.5.1.2.	Application 2 : cas de l'anhydride pivalique	127
II.5.2	Réaction de Mitsunobu sur la Sérotobénine : application au cyclohexanol..	132
II.6.	Evaluation de l'activité antiplasmodiale	136
II.6.1.	Evaluation de l'activite antiplasmodiale des composés isolés et des extraits bruts	136
II.6.2.	Evaluation de l'activite antiplasmodiale des composés d'hémisynthèse.....	140

CONCLUSION.....	142
CHAPITRE III : MATERIEL ET METHODES.....	144
III.1. Appareillage	145
III.2. Matériel végétal, extraction et purification des composés	147
III.2.1. Matériel végétal	147
III.2.2. Extraction et purification des écorces des tiges de <i>Campylospermum zenkeri</i>	147
III.2.3. Extraction et purification des feuilles de <i>Campylospermum dybowskii</i>.....	149
III.2.4. Extraction et purification des racines de <i>Campylospermum vogelii</i>.....	150
III.2.5. Extraction et purification des tiges de <i>Campylospermum vogelii</i>	151
III.3. Réactions d'hémisynthèse	152
III.3.1. Estérification de la Serotobenine avec l'anhydride propanoïque	152
III.3.2. Estérification de la Serotobenine avec l'anhydride pivalique	152
III.3.3. Etherification de la serotobenine <i>via</i> la réaction de Mitsunobu.....	152
III.4. Méthodes chromatographiques	153
III.4.1. Chromatographie sur couche mince	153
III.4.2. Chromatographie sur colonne ouverte	153
III.5. Méthodes physico-chimiques	153
III.6. Méthodes biologiques : Evaluation de l'activité antiplasmodiale	154
III.7. Sreening phytochimique des extraits	156
III.8 Caractérisation des composés isolés et hémisynthétiques	157
REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES	174
PUBLICATIONS.....	184

LISTE DES ABREVIATIONS ET SYMBOLES

°C	Degré Celcius
¹³ C RMN	Résonance Magnétique Nucléaire du Carbone 13
¹ H RMN	Résonance Magnétique Nucléaire du Proton
AcOEt	Acétate d'Ethyle
ACT	Artemisinin Combined Therapy
APG	Angiosperms Phylogeny Group
brs	Broad signal
Bz	Benzyl
c	Concentration
<i>C.</i>	<i>Campylospermum</i>
Calc.	Calculée
CAM	Cerium Ammunium Molybdate
CC	Chromatographie sur Colonne
CCM	Chromatographie sur Couche Mince
CDCl ₃	Chloroforme Deutééré
CG/MS	Chromatographie en Phase Gazeuse couplée à la Spectrométrie de Masse
CH ₂ Cl ₂	Chlorure de méthylène
CHCl ₃	Chloroforme
cm ⁻¹	Par centimètre
COSY:	Correlation Spectroscopy
CPG	Chromatographie en Phase Gazeuse
CQR	Chloroquino-résistante
CQS	Chloroquino-sensible
<i>d</i>	Doublet
<i>dd</i>	Doublet dédoublé
DCM	Dichlorométhane
DEPT	Distortionless Enhancement by Polarization Transfer
DHA	Dihydroartemisinine
DIAD	Diisopropyl azodicarboxylate
DMAP	Dimethyl aminopyridine
DMSO	Diméthylsulfoxyde
EI-MS	Electronic Impact Mass Spectrometry
ESI	ElectroSpray Ionisation

ESI-MS	ElectroSpray Ionisation Mass Spectrometry
Fig.	Figure
g/mol	Gramme par mol
h	Heure
HCl	Chlorure d'hydrogène
HMBC	Heteronuclear Multiple Bond Connectivity
HNC	Herbier National du Cameroun
HPLC	Chromatographie liquide haute performance
HR	Haute résolution
HR-ESI	High Resolution ElectroSpray Ionisation
HSQC	Heteronuclear Single Quantum Coherence
Hz	Hertz
IC ₅₀	Concentration Inhibitrice 50%
IR	Infra Rouge
<i>J</i>	Constante de couplage
KBr	Bromure de potassium
LC-MS	Liquid Chromatography – Mass Spectrometry
Litt.	Littérature
<i>m</i>	Multiplet
M	Mole par litre
<i>m/z</i>	Masse sur charge
MALDI-TOF	Matrix Assisted Laser Desorption Ionisation - Time of Flight
MDR	Multi-Drug-Resistance
MeOH	Méthanol
Mg	Magnésium
mg	Milligramme
MHz	MégaHertz
MIC	Concentration Minimale Inhibitrice
min	Minute
mL	Millilitre
MS	Mass Spectrometry
N°	Numero
Na	Sodium
NaHCO ₃	Hydrogenocarbonate de sodium
nm	Nanomètre

NOESY	Nuclear Overhauser Effect Spectroscopy
OMS	Organisation mondiale de la Santé
<i>P.</i>	<i>Plasmodium</i>
PEG	Polyéthylène Glycol
Pf	Point de fusion
ppm	Partie par million
RMN 1D et 2D	Résonance Magnétique Nucléaire à une et à deux Dimensions
<i>s</i>	Singulet
SD	Standard Deviation
SiO ₂	Silice
SN ₂	Substitution Nucléophile de 2 ^e ordre
<i>t</i>	Triplet
TBME	Tert-butylmethyl ether
<i>tdd</i>	Triplet de doublet doublé
THF	Tetrahydrofurane
UV	Ultra Violet
v/v	Volume par volume
δ_c	Déplacement chimique carbone
δ_H	Déplacement chimique du proton
λ_{max}	Longueur d'onde maximale
μM	Micromole par litre
μmol	Micromole
ν_{max}	Fréquence maximale

LISTE DES FIGURES

Figure 1 : Répartition mondiale de l'incidence lié au paludisme en 2018 (pour 1000 habitants)	5
Figure 2 : Proportion des principaux cas de décès dûs au paludisme dans le monde en 2018	6
Figure 3 : Prévalence des cas confirmés de paludisme au Cameroun	6
Figure 4 : Cycle évolutif de <i>Plasmodium sp</i>	7
Figure 5 : Distribution des espèces dans la famille des Ochnaceae	12
Figure 6 : Distribution des espèces du genre <i>Campylospermum</i> en Afrique.....	14
Figure 7 : Photo de quelques feuilles de <i>C. zenkeri</i>	16
Figure 8 : Photo d'une branche de <i>C. dybowskii</i>	17
Figure 9 : Photo d'une branche de <i>C. vogelii</i>	18
Figure 10 : Structure de base des flavonoïdes	22
Figure 11 : Structure du noyau stérol	28
Figure 12 : CCM du composé CZ1 révélé au CAM.....	40
Figure 13 : Chromatogramme CPG du mélange des trois acides gras de CZ1	40
Figure 14 : Spectre de masse CG/MS du composé CZ1B.....	41
Figure 15 : Spectre de masse CG/MS du composé CZ1A	41
Figure 16 : Spectre de masse CG/MS du composé CZ1C.....	42
Figure 17 : Spectre IR du composé CZ1B	42
Figure 18 : Spectre RMN ¹ H de CZ1B (500 MHz, DMSO- <i>d</i> ₆).....	43
Figure 19 : Spectre de masse ESI-MS du composé CZ2.....	46
Figure 20 : Spectre IR du composé CZ2	47
Figure 21 : Spectre RMN ¹ H de CZ2 (500 MHz, DMSO- <i>d</i> ₆)	48
Figure 22 : Spectre de masse (+)-HRESIMS du composé CZ3	50
Figure 23 : Spectre RMN ¹ H de CZ3 (500 MHz, DMSO- <i>d</i> ₆)	51
Figure 24 : Spectre de masse ESI-MS du composé CZ4.....	54
Figure 25 : Spectre RMN ¹³ C de CZ4 (500 MHz, DMSO- <i>d</i> ₆)	55
Figure 26 : Spectre de masse ESI-MS du composé CZ5.....	57
Figure 27 : Spectre de masse du composé CZ6A.....	60
Figure 28 : Spectre IR du composé CZ6A	60
Figure 29 : Spectre RMN ¹ H de CZ6A (500 MHz, DMSO- <i>d</i> ₆)	61
Figure 30 : Spectre COSY de CZ6A (500 MHz, DMSO- <i>d</i> ₆).....	62
Figure 31 : Spectre RMN ¹³ C de CZ6A (125 MHz, DMSO- <i>d</i> ₆).....	63
Figure 32 : Spectre HSQC de CZ6A	64
Figure 33 : Spectre HMBC de CZ6A	65
Figure 34 : Principales corrélations (→) HMBC observées sur les sous-structure I et II	65
Figure 35 : Spectre NOESY du composé CZ6A	66
Figure 36 : Principales corrélations NOESY observées du composé CZ6A.....	67
Figure 37 : Spectre HR-ESIMS du composé CZ6B.....	68
Figure 38 : Superposition des spectres RMN ¹ H de CZ6A et CZB (500MHz, DMSO- <i>d</i> ₆).....	69
Figure 39 : Superposition des spectres RMN ¹³ C des composés CZ6A et CZ6B (125 MHz, DMSO- <i>d</i> ₆)	70
Figure 40 : Spectre de masse ESI-MS du composé CZ7.....	73
Figure 41 : Spectre RMN ¹ H de CZ7 (500 MHz, DMSO- <i>d</i> ₆)	74
Figure 42 : Spectre RMN ¹ H de CD3 (400 MHz, DMSO- <i>d</i> ₆).....	78
Figure 43 : Spectre RMN ¹ H de CD6 (400 MHz, Acétone- <i>d</i> ₆)	87
Figure 44 : Spectre RMN ¹³ C de CV2 (100 MHz, CD ₃ OD)	94
Figure 45 : Spectre de masse LC-MS du composé CV3	95

Figure 46: Spectre DEPT-135 de CV3 (300 MHz, Acetone- <i>d</i> ₆)	96
Figure 47: Spectre RMN ¹ H de CV5 (300 MHz, CD ₃ OD)	99
Figure 48: Spectre DEPT-135 de CV5 (400 MHz, CD ₃ OD)	100
Figure 49: Spectre de masse (LC-MS) du composé CV6	102
Figure 50: Spectre RMN ¹ H du composé CV6 (500 MHz, DMSO- <i>d</i> ₆).....	103
Figure 51: Spectre COSY90 de CV6 (500 MHz, DMSO- <i>d</i> ₆).....	103
Figure 52: Spectre RMN ¹³ C de CV6 (125 MHz ; DMSO- <i>d</i> ₆).....	104
Figure 53: Spectre DEPT-135 de CV6 (125 MHz, DMSO- <i>d</i> ₆).....	105
Figure 54: Spectre HSQC de CV6	106
Figure 55: Spectre HMBC de CV6	108
Figure 56: Quelques corrélations HMBC de CV6	109
Figure 57: Spectre de masse LC-MS du composé CVT3.....	116
Figure 58: Spectre RMN ¹³ C de CVT3 (125 MHz, DMSO- <i>d</i> ₆)	117
Figure 59: Spectre RMN ¹ H de CVT5 (300 MHz, DMSO- <i>d</i> ₆)	119
Figure 60: Spectre de masse ESI-MS du composé CZ2A.....	122
Figure 61: Spectre IR du composé CZ2A	123
Figure 62: Spectre UV-visible du composé CZ2A.....	123
Figure 63: Spectre RMN ¹ H de CZ2A (500 MHz, Acetone- <i>d</i> ₆).....	124
Figure 64: Spectre RMN ¹³ C de CZ2A (125MHz, Acetone- <i>d</i> ₆)	125
Figure 65: Spectre de masse ESI-MS du composé CZ2B	127
Figure 66: Spectre IR du composé CZ2B	128
Figure 67: Spectre UV du composé CZ2B.....	128
Figure 68: Spectre RMN ¹ H de CZ2B (500 MHz, Acetone- <i>d</i> ₆).....	129
Figure 69: Spectre ¹³ C de CZ2B (125 MHz, Acetone- <i>d</i> ₆).....	130
Figure 70: Spectre de masse ESI-MS du composé CZ2C.....	132
Figure 71: Spectre RMN ¹ H de CZ2C (500 MHz, Acetone- <i>d</i> ₆).....	133
Figure 72: Spectre ¹³ C du composé CZ2C (125 MHz, Acetone- <i>d</i> ₆).....	134
Figure 73: Histogramme des pourcentages d'inhibition des composés isolés et des extraits sur la souche de <i>P. falciparum</i> CQR Dd2	137
Figure 74: Activité antiplasmodiale du stigmasterol (78) sur la souche CQR Dd2 de <i>P. falciparum</i> grâce au Sybr Green 1	137
Figure 75: Activité antiplasmodiale du zenkerinol (76)sur la souche CQR Dd2 de <i>P. falciparum</i> grâce au Sybr Green 1	137
Figure 76: Activité antiplasmodiale de l'extrait méthanolique de <i>C. zenkeri</i> sur la souche CQR Dd2 de <i>P. falciparum</i>	138
Figure 77: Activité antiplasmodiale de l'extrait méthanolique de <i>C. vogelii</i> sur la souche CQR Dd2 de <i>P. falciparum</i>	138
Figure 78: Histogramme des pourcentages d'inhibition de la Campylospérine CV2 (22) comparé à la Dihydroartémisinine (DHA) (12) sur la souche de <i>P. falciparum</i> CQR 7G8 selon la <i>pLDH</i>	139
Figure 79: Courbes d'inhibition de croissance du parasite de la campylospérine sur la souche de <i>P. falciparum</i> 7G8.....	139
Figure 80: Pourcentages d'inhibition de la croissance parasitaire sur deux composés hémisynthétiques testés (84 et 85).....	141
Figure 81: Photo du spectromètre IR de marque Alpha FT-IR Bruker	145
Figure 82: Photo de l'appareil de mesure du point de fusion de marque Mettler Toledo	146
Figure 83: Photo de quelques évaporateurs rotatif de marque Buchi	146

LISTE DES TABLEAUX

Tableau 1: Structures des principales molécules antipaludéennes	10
Tableau 2: Distribution géographique de quelques espèces du genre <i>Campylospermum</i> au Cameroun	15
Tableau 3: Les alcaloïdes isolés du genre <i>Campylospermum</i>	21
Tableau 4: Les flavonoïdes isolés du genre <i>Campylospermum</i>	23
Tableau 5: Les biflavonoïdes isolés du genre <i>Campylospermum</i>	25
Tableau 6: Les stérols isolés du genre <i>Campylospermum</i>	29
Tableau 7: Cyanoglucosides isolés du genre <i>Campylospermum</i>	30
Tableau 8: Un acide kauranique isolé du genre <i>Campylospermum</i>	31
Tableau 9: Une lignane isolé du genre <i>Campylospermum</i>	32
Tableau 10: Une coumarine isolé du genre <i>Campylospermum</i>	32
Tableau 11: Données spectrales RMN ¹ H et ¹³ C de CZ1B (500 MHz et 125 MHz, CDCl ₃) comparé à l'acide linoléique (300 MHz ; 75 MHz, CDCl ₃)	45
Tableau 12: Données spectrales RMN ¹ H et ¹³ C de CZ2 (500 MHz et 125 MHz, DMSO- <i>d</i> ₆) comparé à la sérotoberine (500 MHz et 125 MHz, Acétone- <i>d</i> ₆)	49
Tableau 13: Données spectrales RMN ¹ H et ¹³ C de CZ3 (500 MHz et 125 MHz, DMSO- <i>d</i> ₆) comparé au β-sitostérol 3-O-β-D-glucopyranoside (500 MHz et 125 MHz, CDCl ₃)	53
Tableau 14: Données spectrales RMN ¹ H et ¹³ C de CZ4 (500 MHz et 125 MHz, DMSO- <i>d</i> ₆) comparées à la lophirone A (400 MHz; 100 MHz, Acétone- <i>d</i> ₆)	56
Tableau 15: Données spectrales RMN ¹ H et ¹³ C (300 MHz et 75 MHz, DMSO- <i>d</i> ₆) de CZ5 comparé à la Lophirone F (400 MHz et 100 MHz, Acétone- <i>d</i> ₆)	59
Tableau 16: Données spectrales RMN ¹ H et ¹³ C de CZ6A et CZ6B (500 MHz et 125 MHz, DMSO- <i>d</i> ₆)	72
Tableau 17: Données spectrales RMN ¹ H et ¹³ C de CZ7 (500 MHz et 125 MHz, DMSO- <i>d</i> ₆) comparé à l'agathisflavone (500 MHz et 125 MHz; CD ₃ OD).....	75
Tableau 18: Données spectrales RMN ¹ H et ¹³ C de CD3 (400 MHz et 125 MHz; DMSO- <i>d</i> ₆) comparé à la lanceoline C.	80
Tableau 19: Données spectrales de CD4 (400 MHz et 100 MHz, DMSO- <i>d</i> ₆) comparé à 4'- <i>O</i> -méthylvitexine (300 MHz et 75 MHz, DMSO- <i>d</i> ₆)	83
Tableau 20: Données spectrales de CD5 (400 MHz et 100 MHz, DMSO- <i>d</i> ₆) comparé à la 2"- <i>O</i> -acétyl-7- <i>O</i> -méthylvitexine (500 MHz et 125 MHz , DMSO- <i>d</i> ₆)	86
Tableau 21: Données spectrales RMN ¹ H et ¹³ C de CD6 (400 MHz et 100 MHz, Acétone- <i>d</i> ₆) comparé à l'amentoflavone (500 MHz et 125 MHz, DMSO- <i>d</i> ₆)	89
Tableau 22: Données spectrales RMN ¹ H et ¹³ C de CD7 (400MHz et 100 MHz, DMSO- <i>d</i> ₆) comparé à la robustaflavone (400 MHz et 100 MHz ; DMSO- <i>d</i> ₆)	91
Tableau 23: Données spectrales de CV2 (400 MHz et 100 MHz, DMSO- <i>d</i> ₆) comparé à la campylospermine (400 MHz et 100 MHz, CD ₃ OD)	95
Tableau 24: Données spectrales RMN ¹ H et ¹³ C de CV3 (500MHz et 125 MHz, Acétone- <i>d</i> ₆) comparé au stigmastérol (600 MHz et 150 MHz, CDCl ₃)	98
Tableau 25: Données spectrales RMN ¹ H et ¹³ C de CV5 (400MHz et 100 MHz, CD ₃ OD) comparé au β-D-fructofuranosyl-α-D-glucopyranoside (500 MHz et 125 MHz, CD ₃ OD)	101
Tableau 26: Données spectrales RMN ¹ H et ¹³ C de CV6 (500 et 125 MHz, DMSO- <i>d</i> ₆).....	111
Tableau 27: Données spectrales RMN ¹ H et ¹³ C de CVT2 (300 MHz et 75 MHz, DMSO- <i>d</i> ₆) comparé au β-sitosterol	115
Tableau 28: Données spectrales RMN ¹ H et ¹³ C de CVT3 (500MHz et 75 MHz, DMSO- <i>d</i> ₆) comparé à la l'acide bétulinique	118

Tableau 29: Données spectrales RMN ¹ H et ¹³ C de CVT5 (300 MHz et 75 MHz, DMSO- <i>d</i> ₆) comparé à la 3- <i>O</i> -methylquercetine	121
Tableau 30: Données spectrales RMN ¹ H ; ¹³ C de CZ2A (500 MHz et 125 MHz, Acetone- <i>d</i> ₆) comparés à la serotobenine (CZ2).....	126
Tableau 31 : Données spectrales RMN ¹ H et ¹³ C de CZ2B (500 MHz et 125 MHz, Acétone- <i>d</i> ₆) comparés à la serotobenine (CZ2).....	131
Tableau 32: Données spectrales RMN ¹ H et ¹³ C de CZ2C (500 MHz et 125 MHz, Acetone- <i>d</i> ₆) comparés à la serotobenine (CZ2).....	135
Tableau 33: Pourcentage d'inhibition des composés isolés et des extraits sur la souche de <i>P. falciparum</i> CQR Dd2	136
Tableau 34: Concentration inhibitrice de la campylospermine sur une souche de <i>P. falciparum</i> CQR 7G8.....	139
Tableau 35: Pourcentages d'inhibition des composés hémisynthétiques sur <i>P. falciparum</i>	140
Tableau 36: Chromatogramme de l'extrait brut de <i>C. zenkeri</i>	148
Tableau 37: Chromatogramme de l'extrait brut de <i>C. dybowskii</i>	149
Tableau 38: Chromatogramme de l'extrait brut des racines de <i>C. vogelii</i>	150
Tableau 39: Chromatogramme de l'extrait brut de des tiges de <i>C. vogelii</i>	151
Tableau 40: Classification de l'activité antiplasmodiale des extraits bruts.....	154
Tableau 41: Protocole du screening phytochimique préliminaire des extraits de plantes.....	156

LISTE DES SCHEMAS

Schéma 1: Bilan de la réaction des alcools avec les anhydrides d'acides	33
Schéma 2: Mécanisme de la réaction des alcools avec les anhydrides d'acides	34
Schéma 3: Schéma général de la réaction de Mitsunobu	35
Schéma 4: Mécanisme de la réaction de Mitsunobu	36
Schéma 5: Protocole d'isolement des composés de <i>C. zenkeri</i>	39
Schéma 6: Protocole de partition de l'extrait brut de <i>C. dybowskii</i>	76
Schéma 7: Protocole d'isolement des composés de <i>C. dybowskii</i>	77
Schéma 8: Protocole d'isolement des composés des racines de <i>C. vogelii</i>	92
Schéma 9: Protocole d'isolement des composés des tiges de <i>C. vogelii</i>	112
Schéma 10: Estérification de la sérotobenine avec l'anhydride propanoïque	122
Schéma 11: Estérification de la sérotobenine avec l'anhydride pivalique	127
Schéma 12: Réaction de Mitsunobu sur la sérotobenine	132

RESUME

Le présent travail vise la recherche de métabolites secondaires à activités antiplasmodiales potentielles issus de trois espèces camerounaises du genre *Campylospermum* (*C. dybowskii* Van Tiegh., *C. vogelii* Hook. Fil. Farron. et *C. zenkeri* Van Tiegh. Farron) aux fins de lutter contre les phénomènes de résistances. Il s'agit ainsi d'extraire, d'isoler, et d'élucider des métabolites secondaires issus de ces plantes. Par la suite, des essais hémisynthétique ont été effectuées sur la sérotobénine, de même qu'une évaluation de l'activité antiplasmodiale des extraits bruts, des composés isolés et de deux composés issus de l'hémisynthèse.

A partir de l'extrait méthanolique des écorces de tige de *C. zenkeri*, un total de dix composés ont été isolés, dont deux nouveaux biflavonoïdes [(dihydrozenkerinol (**75**) et zenkérinol (**76**)] ainsi que huit composés connus [(acide linoléique (**71**), acide stéarique (**72**)), acide palmitique (**73**), sérotobénine (**18**), β -sitostérol-3-*O*- β -D-glucopyranoside (**55**), lophirone A (**50**), lophirone F (**74**), agathisflavone (**45**)]. L'étude de l'extrait méthanolique des feuilles de *C. dybowskii* a abouti à l'isolement de sept composés connus [sérotobénine (**18**), β -sitostérol-3-*O*- β -D-glucopyranoside (**55**), 4'-*O*-méthylvitexine (**77**), 2''-*O*-acétyl-7-*O*-méthylvitexine (**27**), amentoflavone (**35**), robustaflavone (**40**), lanceoline C (**60**)]. Celle de l'extrait méthanolique des racines de *C. vogelii* a aboutit à l'isolement et à l'identification de cinq composés connus [stigmastérol (**78**), β -sitostérol-3-*O*- β -D-glucopyranoside (**55**), sérotobénine (**18**), campylospermine (**22**), β -D-fructofuranosyl- α -D-glucopyranoside (**79**)] ainsi qu'un nouveau biflavonoïde [*trans*-3-hydroxyapigenyl-3'-*O*-4'''-dihydrokampférol (**80**)]. A partir des tiges de *C. vogelii* cinq composés connus ont été isolés [β -sitostérol (**81**), β -sitostérol-3-*O*- β -D-glucopyranoside (**55**), 3-*O*-méthylquercétine (**83**), acide bétulinique (**82**), et sérotobénine (**18**)]. Afin de mieux comprendre la relation structure-activité, trois nouveaux dérivés semi-synthétiques de la sérotobénine ont été préparés [sérotobénine monopropionate (**84**), sérotobénine monopivalate (**85**) et 4'-*O*-cyclohexylserotobenine (**86**)] à travers des réactions d'estérification et d'etherification *via* la réaction de Mitsunobu. La caractérisation des composés a été effectuée en utilisant les techniques spectroscopiques UV, RMN 1D (¹H, ¹³C, DEPT), RMN 2D (HSQC, HMBC, NOESY, COSY) et la spectrométrie de masse.

Certains extraits bruts, composés isolés et dérivés de la sérotobénine ont été évalués pour leurs activités antiplasmodiales contre la souche 3D7 sensible à la chloroquine (CQS) et les souches résistantes à la chloroquine (CQR) Dd2 et 7G8 de *P. falciparum*. Parmi les

composés purs, la campylospermine (**22**) a été la plus active sur la souche 7G8 ($IC_{50} = 5,9155 \pm 0,1612 \mu\text{g} / \text{ml}$), comparée à la DHA ($IC_{50} = 0,0021 \pm 0,0002 \mu\text{g}/\text{ml}$) à travers la fluorescence du *Sybr Green 1*. Parmi les extraits bruts, *C. zenkeri* a montré une activité significative ($IC_{50} = 50 \mu\text{g} / \text{mL}$) sur la souche Dd2 de *P. falciparum* comparé à l'artémisinine ($IC_{50} = 15,46 \mu\text{g} / \text{mL}$). L'activité antiplasmodiale *in-vitro* de deux dérivés hémisynthétiques a également été évaluée sur la souche 3D7 CQS de *P. falciparum* à travers la *lactate déshydrogénase* parasitaire (*pLDH*). Cette évaluation révèle que la sérotobénine monopivalate présente une activité modérée ($36,6 \mu\text{M}$) par rapport à la sérotobénine monopropionate qui a une activité faible ($123 \mu\text{M}$) comparée à la décursivine ($3,37 \mu\text{M}$) utilisée comme référence. Il est à noter que des études antérieures ont révélé que la serotobenine ne présentait aucune activité sur le *P. falciparum*.

Mots clés: Ochnaceae, *campylospermum*, zenkerinol, dihydrozenkérinol, *trans*-3-hydroxyapigenyl-3'-*O*-4'-dihydrokampférol, sérotobénine, paludisme, hémisynthèse.

ABSTRACT

The aim of this work is to search secondary metabolites with potential antiplasmodial activities from three cameronian species belonging to the genus *Campylospermum* (*C. dybowskii* Van Tiegh., *C. vogelii* Hook. Fil. Farron. and *C. zenkeri* Van Tiegh. Farron) in order to fight against the phenomena of resistance. This is to extract, isolate, and to elucidate secondary metabolites from these plants. Subsequently, hemisynthetic tests were carried out on serotobenine, as well as an evaluation of the antiplasmodial activity of the crude extracts, of the isolated compounds and of compounds derived from hemisynthesis.

From the phytochemical study, a total of 22 different compounds have been isolated. From the stem barks of *C. zenkeri* a total of ten compounds were isolated in which two are new biflavonoids [(dihydrozenkerinol (**75**) and zenkerinol (**76**)], and eight known compounds [(linoleic acid (**71**), stearic acid (**72**), palmitic acid (**73**), serotobenine (**18**), β -sitostérol-3-*O*- β -D-glucopyranoside (**55**), lophirone A (**50**), lophirone F (**74**), agathisflavone (**45**)]. The methanol extract of the leaves of *C. dybowskii* gave seven known compounds [Serotobenine (**18**), β -sitostérol-3-*O*- β -D-glucopyranoside (**55**), 4'-*O*-méthylvitexine (**77**), 2''-*O*-acetyl-7-*O*-méthylvitexine (**27**), amentoflavone (**35**), robustaflavone (**40**), lanceoline C (**60**)]. The methanol extract of the roots of *C. vogelii* led to the isolation and identification of five known compounds [stigmasterol (**78**), β -sitostérol-3-*O*- β -D-glucopyranoside (**55**), serotobenine (**18**), campylospermine (**22**), β -D-fructofuranosyl- α -D-glucopyranoside (**79**)] together with a new biflavonoid [*trans*-3-hydroxyapigenyl-3'-*O*-4'''-dihydrokampférol (**80**)]. From the stems of *C. vogelii* five previously reported compounds were isolated [β -sitosterol (**81**), β -sitostérol-3-*O*- β -D-glucopyranoside (**55**), 3-*O*-methylquercetin (**83**), betulinic acid (**82**), serotobenine (**18**)]. For a better understanding of structure-activity relationship, three new semisynthetic derivatives of serotobenine have been prepared [serotobenine monopropionate (**84**), serotobenine monopivalate (**85**), and 4'-*O*-cyclohexylserotobenine (**86**)]. Characterization of the compounds was done using a combination of spectroscopic techniques including UV, 1D NMR (^1H , ^{13}C , DEPT), 2D NMR (HSQC, HMBC, NOESY, COSY) and mass spectrometry.

Some crude extracts, isolated compounds and serotobenine derivatives were evaluated for antiplasmodial activities against the chloroquine-sensitive (CQS) 3D7 and (CQR) Dd2 and 7G8 strains of *P. falciparum*. Among the pure compounds, campylospermine (**22**) was the most active against the (CQR) 7G8 strains ($\text{IC}_{50} = 5.9155 \pm 0.1612 \mu\text{g/ml}$), compared to the DHA ($\text{IC}_{50} = 0.002121 \pm 0.0002 \mu\text{g/ml}$) as template, under *Sybr Green 1 Fluorescence-based* assay.

Among crude extracts, *C. zenkeri* showed a significant activity ($IC_{50} = 50 \mu\text{g/mL}$) against Dd2 CQR strain of the *P. falciparum* compared to Artemisinin ($IC_{50} = 15.46 \mu\text{g/mL}$) as template. The *in vitro* antiplasmodial activity of two hemisynthetic derivatives were also evaluated on the 3D7 CQS strain of *Plasmodium falciparum* in a *parasite lactate dehydrogenase* (pLDH) assay. This reveals that the serotobenine monopivalate presents a moderate activity ($36.6 \mu\text{M}$) while serotobenine monopropionate which presents a weak activity ($123 \mu\text{M}$) compared to decursivine ($3.37 \mu\text{M}$) as template. It should be noted that previous studies have revealed that serotobenine showed no activity on a *P. falciparum*.

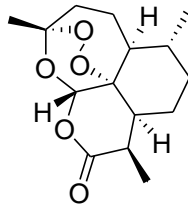
Further studies should be devoted to the phytochemical study of the remaining fractions, at testing the other compounds and extracts of *Campylospermum* species for *in-vitro* antiplasmodial activity and cytotoxicity.

Key words: Ochnaceae, *Campylospermum*, zenkerinol, dihydrozenkerinol, *trans*-3-hydroxyapigenyl-3'-*O*-4'-dihydrokampférol, serotobenine, malaria, hemisynthesis

INTRODUCTION GENERALE

Depuis toujours, l'homme utilise la nature comme source de nourriture et de médication. Les plantes médicinales ont toujours joué un rôle primordial dans le développement de la pharmacopée traditionnelle en réponse aux maladies diverses. Plusieurs pays à travers le monde ont recours à la médecine alternative pour répondre à certains de leurs besoins au niveau des soins de santé primaires, et plus particulièrement en Afrique. En effet, selon l'OMS, 80% des populations à majorité rurales vivant dans les pays en développement ont recours à cette médecine pour leurs besoins en soins de santé. (OMS, 2019).

De nos jours, de nombreux médicaments indispensables sont issus des connaissances traditionnelles : exemple de l'artémisinine (**1**), une lactone sesquiterpénique isolée de *Artemisia annua* (Asteraceae), qui est la base des médicaments antipaludiques les plus récents et actuellement les plus efficaces (Frederich *et al.*, 2018).



1

Encore appelé malaria, le paludisme est causé par des parasites unicellulaires appartenant au genre *plasmodium*. Au niveau mondial, le nombre de cas de paludisme est estimé à 228 millions, et le nombre de décès lié au paludisme a été estimé à 405 000 en 2018, la plupart de ces décès survenant dans la région Afrique (93 %), loin devant la région Asie du Sud-Est (6 %) et la région Méditerranée orientale (1 %) de l'OMS. L'immense majorité (99 %) des décès est dû au paludisme à *P. falciparum* (OMS, 2019). La résistance des parasites aux médicaments disponibles et abordables est devenue un problème répandu dans les pays d'endémie, rendant encore plus nécessaire la recherche de nouveaux composés antipaludiques. (Frederich *et al.*, 2018). Au Cameroun, le paludisme demeure un problème important de santé publique. En effet en 2018, 2133523 cas de paludisme ont été enregistrés parmi les personnes reçues en consultation dans nos formations sanitaires, soit une morbidité de 25,9 %. S'agissant de la mortalité, 3263 cas de décès étaient attribués au paludisme, soit un taux de 12,4% par rapport aux malades officiellement enregistrés dans les formations sanitaires, (Minsanté, 2019).

Considérant leur incomparable diversité structurelle, les substances naturelles continuent donc de jouer un rôle important dans la recherche et le développement des médicaments. En effet, sur 69 nouvelles molécules recensées entre 2005 et 2007 à travers le monde, 13 étaient des produits naturels ou provenaient des produits naturels. En effet, On estime entre 350.000 et 400000 espèces de plantes à travers le monde parmi lesquelles la majorité est utilisée dans le traitement de différentes maladies (**Abdul et al., 2017**), mais seulement, une infime partie a déjà été scientifiquement étudiée pour leurs activités biologiques. Le Cameroun regorge une riche biodiversité avec environ 8620 espèces dont plusieurs sont utilisées en médecine alternative dans le traitement des infections microbiennes et de plusieurs maladies parmi lesquelles le paludisme (**Ntie-Kang et al., 2013**). Ainsi, il existe un énorme potentiel pour des découvertes ultérieures à partir de plantes et autres produits naturels qui offrent une immense source d'informations utiles sur de nouvelles structures chimiques et leurs modes d'action. Parmi ces plantes, celles de la famille des Ochnaceae et en particulier du genre *Campylospermum* constituent un vivier en terme de composés d'intérêts, par rapport à leurs usages en médecine alternative dans le traitement des maux de ventre, de la blennorragie, de l'ictère, du panaris et du paludisme (**Bouquet, 1969; Ngono et al., 2011; 2015**). C'est dans cette optique que plusieurs études phytochimiques sur le genre *Campylospermum* ont été effectuées au Laboratoire de Pharmacochimie des Substances Naturelles de l'Université de Yaoundé I, pour promouvoir l'usage de ces plantes.

Dans le cadre de la recherche de métabolites secondaires potentiellement antimalariques issus de la flore Camerounaise, nous avons ciblé trois espèces du genre *Campylospermum* à savoir : *Campylospermum dybowskii*, *Campylospermum vogelii* et *Campylospermum zenkeri*.

Cette thèse vise donc à rechercher les composés potentiellement antimalariques émanant de la biodiversité camerounaise aux fins de lutter contre les phénomènes de résistances.

Plus spécifiquement, il s'agit:

- de récolter des espèces du genre *Campylospermum* (*C. dybowskii*, *C. vogelii* et *C. zenkeri*), d'en isoler et de caractériser des métabolites secondaires.
- d'effectuer quelques hémisynthèses à partir de la serotobenine ;
- d'évaluer l'activité antiplasmodiale de certains composés isolés, composés hémisynthétiques et extraits de ces plantes.

Nos travaux de Thèse sont présentés comme suit :

- Un premier chapitre, essentiellement bibliographique, est consacré à une présentation botanique de la famille des Ochnaceae, du genre *Campylospermum*, des espèces étudiées ainsi qu'aux travaux phytochimiques antérieurs relatifs aux métabolites secondaires précédemment isolés des plantes de ce genre, qui constituent un vivier en terme de composés d'intérêt et utilisées en médecine alternative dans le traitement de plusieurs maladies parmi lesquelles le paludisme. Ce chapitre présente également les généralités sur cette dernière maladie parasitaire.
- Un deuxième chapitre présente l'identification et la détermination des structures de quelques composés isolés et hémisynthétisés en utilisant des techniques spectrales, telles que la MS, la RMN (1D et 2D), l'IR, l'UV, etc. De même, nous présenterons les principaux résultats issus de l'évaluation antimalarique sur les extraits étudiés, les composés isolés et ceux de l'hémisynthèse.
- Un troisième chapitre expérimental, consiste en la présentation des protocoles et les techniques d'analyses utilisées ainsi que toutes les caractéristiques spectrales des produits isolés.
- Enfin, nous présenterons une conclusion générale qui fera le point sur les principaux résultats obtenus ainsi que les perspectives que ce travail a permis d'entrevoir.



**CHAPITRE I :
REVUE DE LA LITTERATURE**

I.1. Généralités sur le paludisme

I.1.1. Epidémiologie du paludisme

Le paludisme est la première endémie parasitaire mondiale et constitue un problème de santé publique. Environ deux milliards de personnes dans le monde sont exposées. (Gbenoudon, 2016). Au niveau mondial, le nombre de cas de paludisme est estimé à 228 millions, et le nombre de décès lié au paludisme a été estimé à 405 000 en 2018, la plupart de ces décès survenant dans la région Afrique (93 %), loin devant la région Asie du Sud-Est (6 %) et la région Méditerranée orientale (1 %) de l’OMS. L’immense majorité (99 %) des décès sont dus au paludisme à *P. falciparum*. Cependant, le paludisme reste l’une des principales causes de mortalité infantile, car un enfant toutes les deux minutes. (O.M.S., 2019). La figure ci-dessous (figure 1) présente la répartition géographique mondiale des cas lié au paludisme en 2018 (pour 1000 habitants).

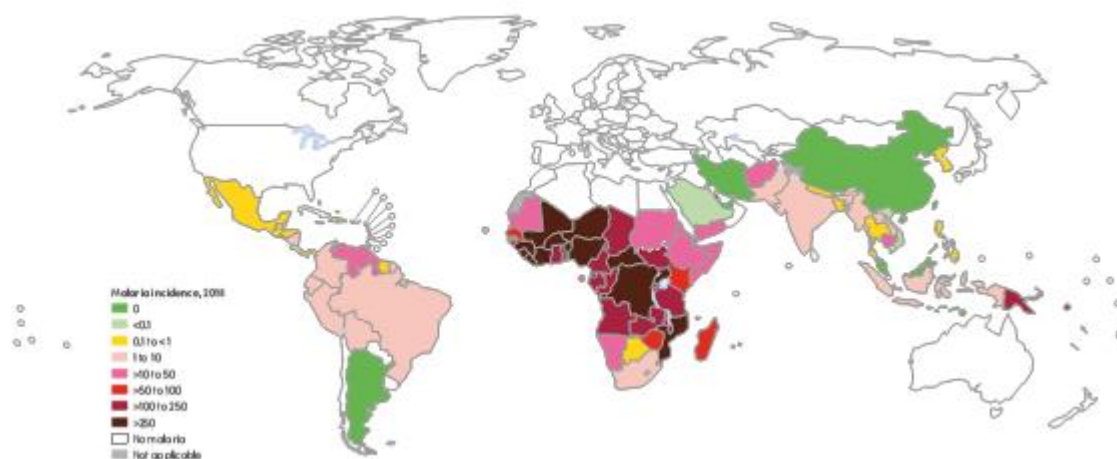


Figure 1 : Répartition mondiale de l’incidence lié au paludisme en 2018 (pour 1000 habitants)

(Source : O.M.S, 2019)

Sur cette carte, on peut remarquer l’on remarque que la Région africaine de l’OMS recense la majorité des cas de paludisme. En effet, en 2018, près de 85% des décès sont survenus dans 20 pays de la Région africaine de l’OMS et en Inde. De plus, près de 50% des tous les décès dus au paludisme dans le monde ont été enregistrés au Nigéria (24%), en République démocratique du Congo (11%), en Tanzanie (5%), au Niger, au Mozambique et en Angola (4%) (Figure 2). Dans ce classement, le Cameroun occupe le 11^e rang avec 3% des cas de décès en 2018.

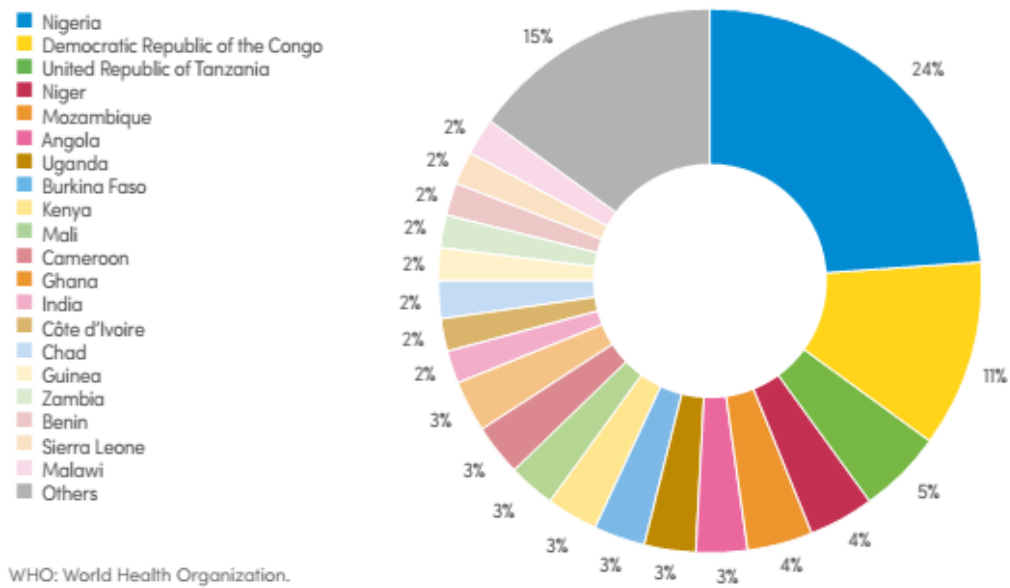


Figure 2: Proportion des principaux cas de décès dûs au paludisme dans le monde en 2018
(Source : OMS, 2019)

En effets, le paludisme reste une menace de santé publique importante au Cameroun, l'ensemble du pays étant exposé au risque de transmission. Bien que des progrès significatifs aient été accomplis dans un passé récent, la maladie reste répandue avec un nombre élevé de cas suspects dans les établissements de santé variant entre 3,3 et 3,7 millions par an (Nkondjio *et al.*, 2019). La figure 3 présente la prévalence des cas de paludisme au Cameroun.

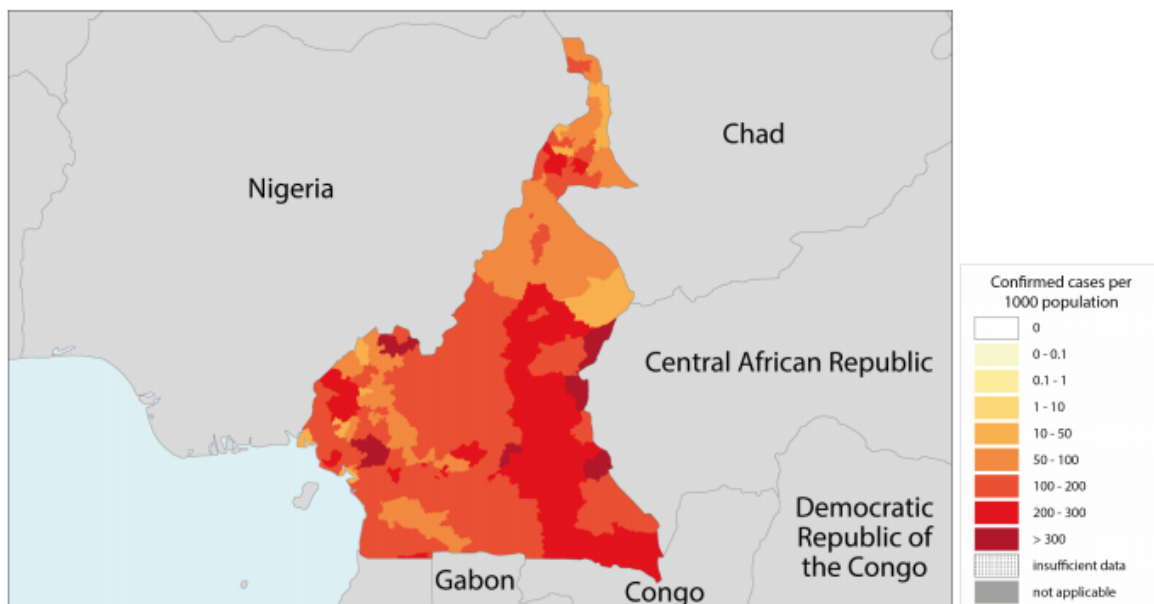


Figure 3: Prévalence des cas confirmés de paludisme au Cameroun
(Source : O.M.S., 2019)

I.1.2. Le parasite et le vecteur

I.1.2.1. Le parasite

Le paludisme est causé par cinq espèces de parasites qui affectent l'Homme. Tous ces parasites appartiennent au genre *Plasmodium* : *P. falciparum*, *P. vivax*, *P. ovale*, *P. malariae*, *P. knowlesi*. Parmi elles, *P. falciparum* et *P. vivax* posent le plus grand défi sanitaire. *P. falciparum* est l'espèce la plus répandue sur le continent Africain et est responsable de la plupart des décès liés au paludisme (Talkmore et al., 2015). Le cycle de *Plasmodium* est complexe et comporte deux étapes essentielles : une phase asexuée chez l'homme, et une phase sexuée chez le moustique (figure 4).

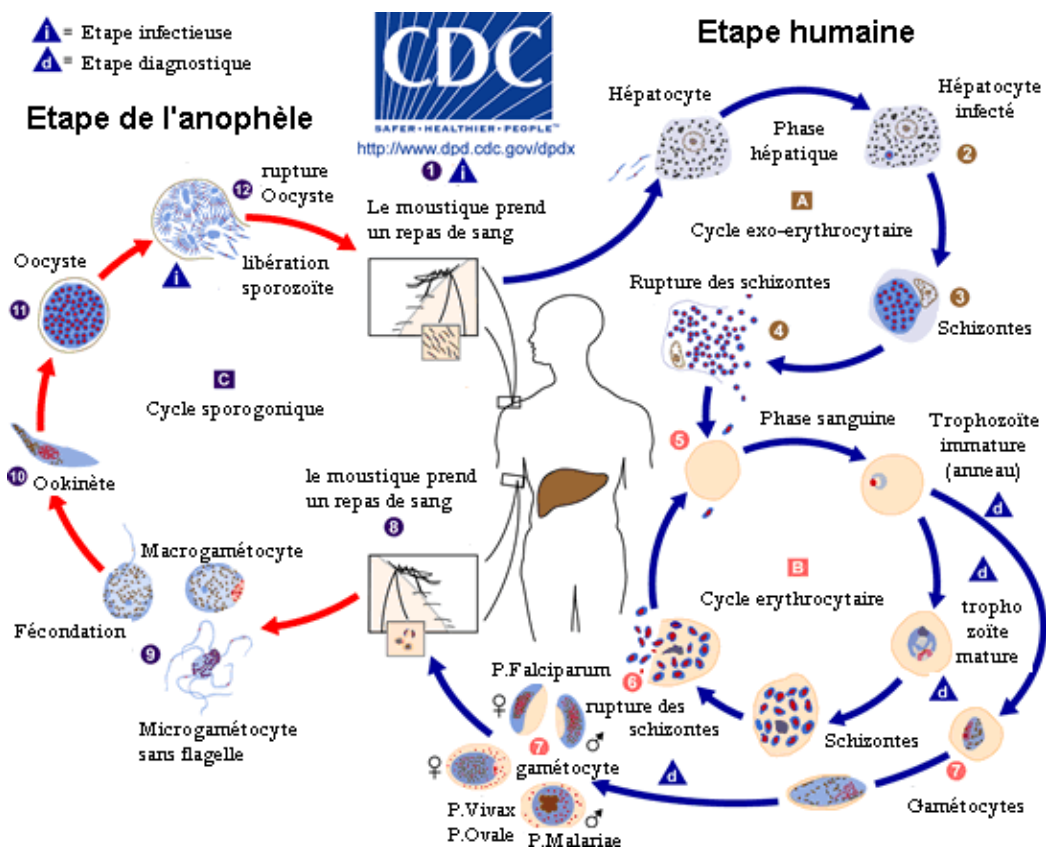


Figure 4: Cycle évolutif de *Plasmodium* sp.

(www.wikipedia.org/wiki/Paludisme#Cycle_parasitaire: consulté le 25 aout 2019)

L'anophèle femelle injecte à l'homme le parasite sous forme de «sporozoïte». Celui-ci migre rapidement, *via* la circulation sanguine, vers le foie. Il pénètre dans la cellule hépatique, où il se divise très activement pour donner naissance, en quelques jours, à des dizaines de milliers de nouveaux parasites : les «mérozoïtes». La cellule du foie éclate en libérant ces parasites dans le sang : là, ils pénètrent à l'intérieur des globules rouges et se multiplient. Lorsque ces derniers éclatent à leur tour, les mérozoïtes libérés dans la circulation sanguine

infectent de nouveaux globules rouges (cycle érythrocytaire). Après quelques cycles de réplication des mérozoïtes, des parasites sexués mâles et femelles (gamétocytes) sont formés à l'intérieur des globules rouges. Lorsqu'un moustique pique une personne infectée, il ingère ces gamétocytes, qui se transforment en gamètes. Leur fécondation engendre un zygote, qui se différencie en oocyste dans le tube digestif du moustique. Les oocystes produisent des sporozoïtes, qui migrent vers les glandes salivaires du moustique. Un nouveau cycle peut alors commencer.

I.1.2.2. Le vecteur

Les moustiques constituent la plus importante famille de vecteurs d'agents pathogènes. Les moustiques ont une vie aquatique au stade larvaire puis aérienne au stade adulte. Parmi eux figurent les anophèles, vecteurs de *Plasmodium sp*, parasite responsable du paludisme. Il existe environ 500 espèces d'anophèles, dont une cinquantaine est capable de transmettre le paludisme à l'homme. Dans la pratique, 20 espèces assurent l'essentiel de la transmission dans le monde. (Pages *et al.*, 2007).

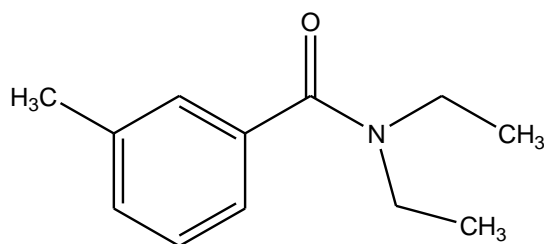
I.1.3. Les manifestations cliniques

Les symptômes de l'infection au *P. falciparum* comprennent la fièvre, les frissons, la toux, la transpiration, la diarrhée, les problèmes de respiration et le mal de tête. Les symptômes de l'infection au *P. vivax*, *P. malariae* ou *P. ovale* commencent par un malaise et une fièvre pendant plusieurs jours, suivis de frissons et une élévation de température, souvent accompagnée de maux de tête et de nausée et qui se terminent par une abondante sudation. Après une période de fièvre, le cycle de frissons, de fièvre et de transpiration est répété tous les un à trois jours (Cheesbrough, 1987).

I.1.4. Prévention et traitement du paludisme

I.1.4.1. Prévention du paludisme

Le paludisme peut être prévenu à travers des gestes qui diminuent le nombre de piqûres de moustiques, tels que l'utilisation appropriée de *N,N*-diéthylmethyltoluamide (DEET), agent capable de repousser les moustiques, ainsi que l'usage des moustiquaires imprégnées.



N,N-diethylmethyltoluamide (**2**)

I.1.4.2. Traitement du paludisme

La première stratégie d'éradication à travers la pulvérisation d'insecticides, définie par l'OMS de 1955 à 1969 s'avéra inefficace en dépit des moyens considérables mobilisés et les 10 années qui suivirent furent marquées par l'extension de la résistance des anophèles aux insecticides, par l'apparition de chimio-résistance de *Plasmodium* à la chloroquine (**3**), par l'impossibilité de mettre en place un programme d'éradication dans les zones de haute endémie, et même par la résurgence de la maladie dans des zones considérées comme contrôlées.

Actuellement, la lutte contre la maladie repose sur les principes suivants :

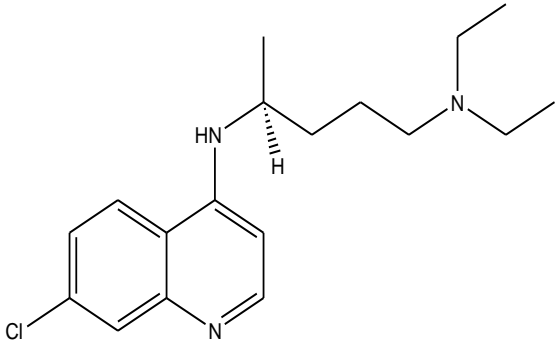
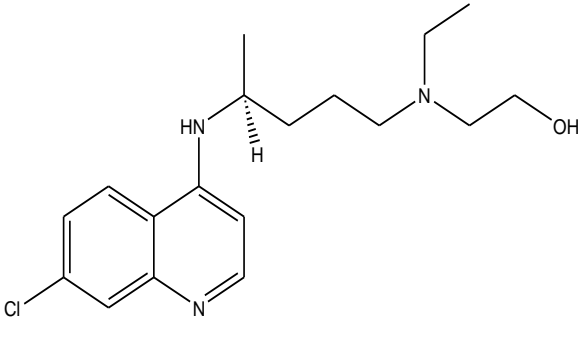
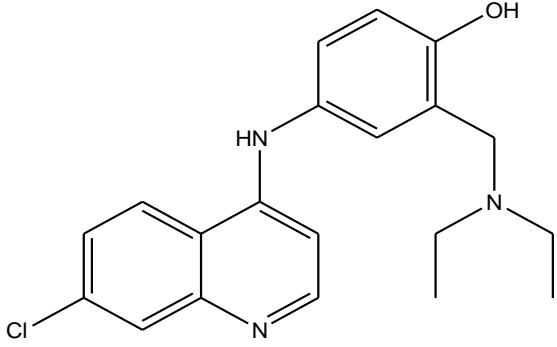
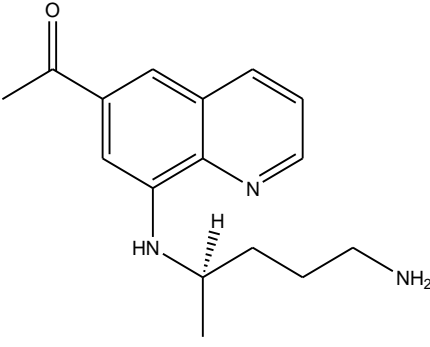
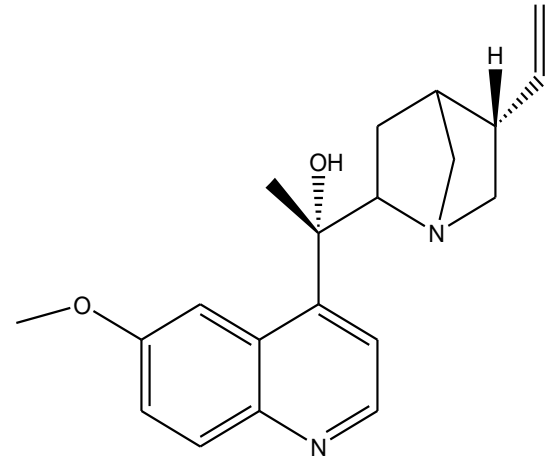
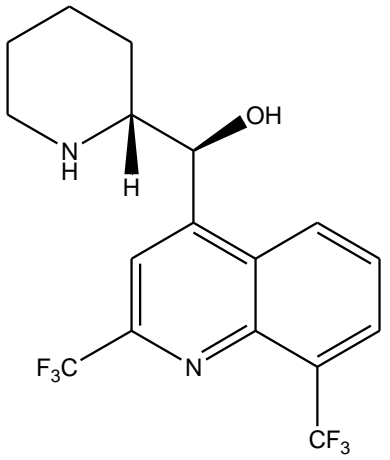
- la recherche et le développement de vaccins
- la recherche et le développement de nouvelles molécules antipaludiques.

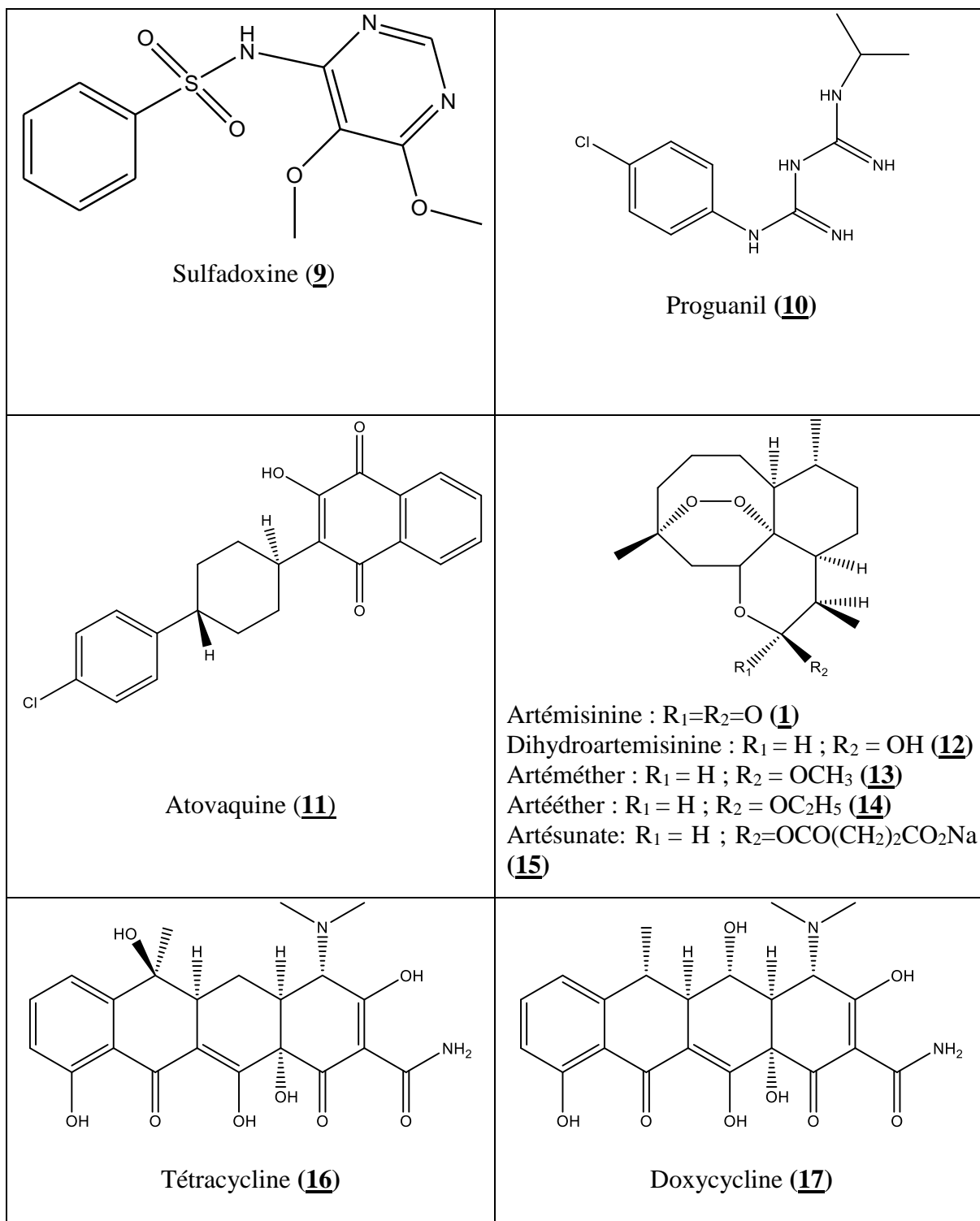
Un antipaludique est un composé naturel ou de synthèse qui, administré par voie orale, parentérale ou rectale, à dose unique ou répétée, permet de détruire le parasite ou de bloquer sa croissance dans le but de prévenir ou de guérir la maladie palustre (**Gentilini, 1993**). Les antipaludiques peuvent être classés en divers groupes en fonction de leurs structures chimiques, mais également en fonction de leurs modes d'action et de la cible de l'action. L'arsenal thérapeutique de lutte contre le paludisme est composé de quatre principales classes de molécules :

- les dérivés de quinoléines (aminoquinoléine : chloroquine (**3**), hydroxychloroquine (**4**), amodiaquine (**5**), primaquine (**6**), et 4-méthanolquinoléines : quinine (**7**), méfloquine(**8**),) ;
- les anti-folates (sulfadoxine(**9**), proguanil (**10**) ;
- les naphthoquinones (atovaquine (**11**),)
- les dérivés de l'Artémisinine (dihydroartémisinine (**12**), artéméther (**13**), artéether (**14**), artésunate (**15**),)

Certains antibiotiques ont également des propriétés antipaludéennes (tétracycline (**16**), doxycycline (**17**). Le tableau 1 ci-après présente les structures des principaux antipaludiques.

Tableau 1: Structures des principales molécules antipaludéennes

 <p>Chloroquine (3)</p>	 <p>Hydroxychloroquine (4)</p>
 <p>Amodiaquine (5)</p>	 <p>Primaquine (6)</p>
 <p>Quinine (7)</p>	 <p>Méfloquine (8)</p>



Cependant, le meilleur traitement actuel disponible, en particulier pour le paludisme à *P. falciparum*, est une association médicamenteuse comportant de l'artémisinine (**1**) ou un dérivé (artéméther (**13**), dihydroartémisinine (**12**), artésunate (**15**)), encore appelée thérapie combinée à base d'artémisinine (ACT). Du fait donc de l'émergence de résistances à cette classe de

composés il y a donc une nécessité de trouver des nouveaux composés actifs à partir des plantes naturelles dont celles de la famille des Ochnaceae.

I.2. La famille des Ochnaceae

I.2.1. Présentation de la famille des Ochnaceae

Les Ochnaceae constituent une famille de plantes largement répandues dans les régions tropicales, comprenant 500 espèces et 27 genres. L'Afrique tropicale, l'Asie, l'Australie, Madagascar, l'île de Mascarene et l'Amérique centrale sont les régions où ces espèces sont les plus retrouvées (Coates, 2002; Mabberley, 2008). Dans les néotropiques on retrouve 15 genres et plus de 300 espèces; l'Afrique compte 9 genres et environ 150 espèces, et en Asie du Sud-Est, on y retrouve 20 espèces et 8 genres. La figure 5 présente la répartition des espèces de la famille des Ochnaceae dans le monde.

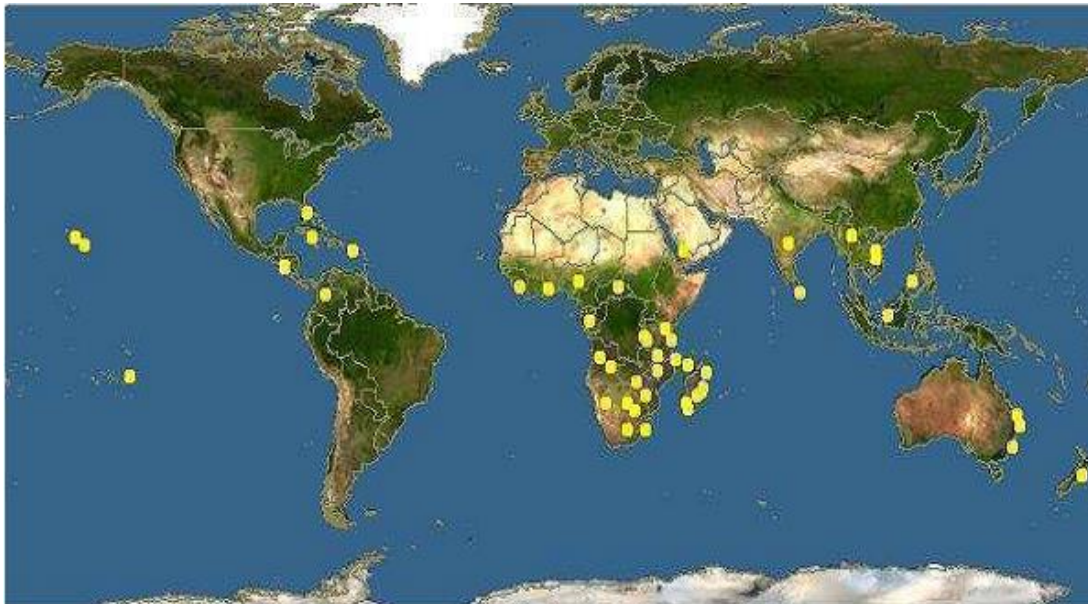


Figure 5: Distribution des espèces dans la famille des Ochnaceae

(<http://www.discoverlife.org/ochraceae> ; consulté le 02 septembre 2019)

Les Ochnaceae se retrouvent dans les forêts et savanes. La plupart des Ochnaceae se présentent sous forme d'arbustes et très peu sont des herbes (*Sauvagesia*) ou des grands arbres (*Lophira*). Le nombre de sépales, pétales et étamines varient drastiquement à travers la famille, mais les fleurs sont principalement pentamères. De loin, la plus grande diversité observée dans les Ochnaceae représentant les deux tiers des espèces est observée à travers les trois principaux genres : *Ouratea* Aubl. (200 espèces), *Ochna* L. (80 espèces) et *Campylospermum* Tiegh. (50 espèces), aux côtés de *Brackenridgea* (9 espèces), *Rhabdophyllum* Tiegh (8 espèces), et *Idertia* Farron (1 espèce). (Schneider *et al.*, 2014).

I.2.2. Classification systématique des Ochnaceae

La classification classique selon *Cronquist* des Angiospermes dans *An Integrated System of Classification of Flowering Plants* en 1981, est basée essentiellement sur des critères morphologiques, anatomiques et chimiques se présente comme suit :

Classification de Cronquist (1981)	
Règne	<i>Plantae</i>
Sous-règne	<i>Tracheobionta</i>
Division	<i>Magnoliophyta</i>
Classe	<i>Magnoliopsida</i>
Sous-classe	<i>Dillemiidae</i>
Ordre	<i>Theales</i>

I.2.3. Importance économique des espèces de la famille des Ochnaceae

Certaines espèces de la famille des Ochnaceae sont utilisées à des fins économiques. En effet, les espèces du genre *Ochna* (*O. kirkii*, *O. mossambicensis*, *O. schweinfurthiana*, *O. serrulata*, et *O. thomasiana*), connues pour leurs fleurs jaunes attirantes et leurs beaux fruits, sont cultivées à but ornemental. Les espèces du genre *Sauvagesia* sont utilisées dans la fabrication du thé aux Antilles, tandis que celles du genre *Ouratea* et *Lophira* sont utilisées comme source d'huiles appelés « *meni oil* », à partir de leur graines. Cette huile est utilisée en Afrique de l'Ouest en cuisine, et comme remède des poux et dans le traitement des pertes de cheveux. Les espèces du genre *Lophira* sont aussi utilisées en Afrique de l'Ouest comme source de bois commerciaux connus sous leurs noms Africains tels que l'*Azobe*, et le *Bongossi* (Mbithi, 2015).

I.3. Présentation du genre *Campylospermum*

Le genre *Campylospermum* est proche des espèces du genre *Ouratea* avec dix étamines par fleur, et proche des espèces du genre *Ochna* avec des carpelles libres dans les fruits. Cependant, *Baillon* en 1867 a démontré que le nom *Ouratea* était applicable, et ainsi, toutes les espèces du genre *Gomphia* étaient transférées au genre *Ouratea*. Plutard, le genre *Ouratea* donna alors le genre *Campylospermum*. Dans ce genre, les nervures secondaires se courbent vers le haut longtemps avant d'atteindre la marge, les dents marginales sont caduques et les cotylédons incurvés. Les glomérules de fleurs disposés le long de l'axe de l'inflorescence sont

constitués par des cymes bipares dans *Campylosperrum*. (Sosef, 2008). Ce genre est le plus diversifié sur le plan de l'architecture, de la forme et de la grandeur des feuilles et surtout au point de vue des embryons (Farron, 1985).

I.3.1. Répartition géographique des espèces du genre *Campylosperrum*

Le genre *Campylosperrum* comprend 50 espèces retrouvées en Afrique et en Asie tropicale. L'Afrique continentale possède 48 espèces distribuées du Sénégal à l'Ethiopie dans la partie Nord et de l'Angola au Nord de la Zambie dans la partie Sud (figure 6). Deux espèces sont retrouvées dans le Sud et le Sud-est de l'Asie, une de l'Inde au Sri Lanka et l'autre des Philippines à l'Indonesie. En Afrique, la plus grande diversité est retrouvée au Congo où on retrouve plus de la moitié des espèces (Bissiengou, 2014).

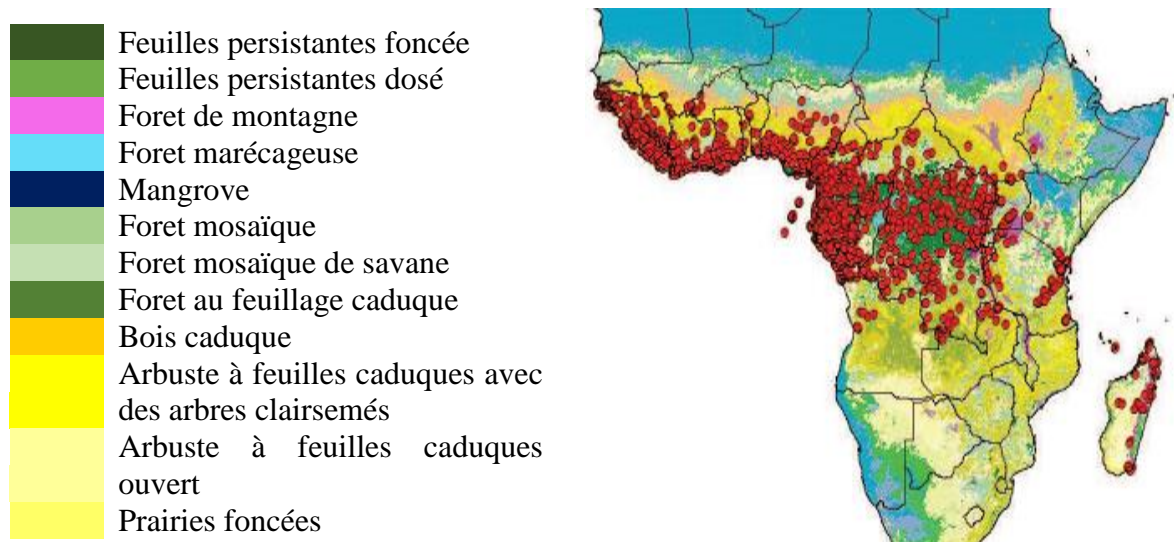


Figure 6: Distribution des espèces du genre *Campylosperrum* en Afrique

Au Cameroun, l'on recense les espèces du genre *Campylosperrum* dans plusieurs régions. (Tableau 2).

Tableau 2: Distribution géographique de quelques espèces du genre *Campylospermum* au Cameroun

Espèces	Régions	Localités
<i>C. calanthum</i> (Gilg) Farron)	Centre	Mont Kala à 18 km ancienne route Yaounde-Edea
<i>C. dybowski</i> (Van Tiegh)	Sud	Pala près de Kribi
		Bwambe à 6 km au sud de Kribi
		Kribi à 10 km de la cote
	Centre	Tofini à 35 km Sud-est de Yaoundé
		A 23 km Nord-Ouest de Bafia
		Issandja à 40 km nord-ouest de Ntui Eseka à 87 km de Yaoundé
<i>C. densiflorum</i> (De Wild & Th. Durand) Farron	Sud	Campo
<i>C. elongatum</i> (Oliv.) Tiegh	Est	Massok
<i>C. excavatum</i> (Tiegh.) Farron	Sud	Elogbatindi a 70 km d'Edea sur la route de Kribi
		Kribi à 5 km sur la route d'Ebolowa
		Mivini : 35 km à l'est de Campo
		Nyete : près de Kribi
<i>C. flavum</i> (Schumach.) Farron	Centre	Ntui : 68 km de Yaounde
<i>C. glaucum</i> (Tiegh) Farron	Centre	Sokelle près de Pouma
<i>C. glaberinum</i> (P.Beauv.) Farron	Centre	Kikot à 70 km de Bafia en bordure de la Sanaga
	Sud	Nyabessan à 60 km à l'est de Campo
<i>C. laxiflorum</i> (De Wild. & T. Durand) Tiegh.	Centre	Lobo à 40 km au Nord-Ouest de Yaoundé
	Littoral	Lafi à 12 km de Nkondjock
		Ndom à 40 km au sud de Ndikinimeki
		Ibaikak à 80 km à l'Est d'Edea
	Sud	Akoneetye près d'Ebolowa
		Mboro à 16 km d'Ambam
		Nyabessan à 60 km à l'est de Campo
		Mevous à 50 km d'Ebolowa
<i>C. manni</i> (Teigh.)	Est	Lomié : 310 km de Bertoua
<i>C. nigroviolaceum</i> (Farron)	Sud	Nkol Bidjouka à 38 km Sud-Ouest de Lolodorf
		Ebondje à 40 km au Sud de Kribi
<i>C. reticulatum</i> (Tiegh.)	Centre	Mont Kala à 18 km ancienne route Yaounde-Edea
		Makak à la réserve forestière des eaux et forêts
	Sud	Kribi à 15 km sud-est Mont de l'éléphant
		Bipindi à 65 km au Nord-Est de kribi
		Ngovayang à 18 km de Lolodorf
		Evelessi à 30 km de Sangmelima
		Oveng pres de Nyabessan à 60 km à l'est de Campo
<i>C. umbricolum</i> (Tiegh.)	Centre	Eseka
	Sud	Mboke à 6 km dela route Edea-Kribi
Kribi à 15 km Sud-Est Mont de l'éléphant		
<i>C. vogelii</i> (hooK.f) Farron	Centre	Nyandingi dans le Mbam-et-Kim à 30 km de Linte

Source : HNC/Yaoundé

I.3.2. Aperçu botanique de quelques espèces du genre *Campylospermum* étudiées

I.3.2.1. *Campylospermum zenkeri* (Tiegh.) Farron

C'est un arbuste de près de 2 mètres de haut présentant de larges feuilles (25-34 cm de long pour 10 cm de large). On le trouve en forêt tropicale, parfois à 1800 m d'altitude. Endémique du Cameroun, assez rare, l'espèce a été observée sur une dizaine de sites dans quatre régions (Sud-Ouest, Littoral, Centre et Sud). L'espèce montre une tendance à la zygomorphie : les filets sont courts d'un côté de la fleur et plus longs de l'autre (Farron, 1965). Les pétales sont échancrés au sommet. Le filet des étamines est de longueur inégale. Les feuilles grandes ou très grandes, à nervation intercalaire sont bien représentées. (Farron, 1985).

La classification phylogénique selon Cronquist de cette espèce est présentée comme suit :

Règne	<i>Plantae</i>
Classe	Angiospermes
Ordre	<i>Malpighiales</i>
Famille	<i>Ochnaceae</i>
Sous-famille	<i>Ochnoideae</i>
Tribu	<i>Ochneae</i>
Sous-tribu	<i>Ouratinae</i>
Genre	<i>Campylospermum</i>
Espèce	<i>C. zenkeri</i>

(Bissiengou, 2013)

La figure 7 ci-après présente les parties supérieures de la plante.



Figure 7: Photo de quelques feuilles de *C. zenkeri*

<https://agroneo.com/gaia/campylospermum-zenkeri>: consulté le 27 aout 2019

I.3.2.2. *Campylospermum dybowskii* Tiegh.

La plante présente les caractéristiques botaniques suivantes: Méricarpes globuleux ou réniformes, embryon isocotylé, méricarpes ellipsoïdaux, embryon hétérocotylé à cotylédons incombants, limbe arrondi à la base, boutons floraux obtus au sommet. (Farron, 1985).

La classification systématique *Campylospermum dybowskii* est présentée ci-dessous.

Règne	<i>Plantae</i>
Classe	Angiospermes
Ordre	<i>Malpighiales</i>
Famille	<i>Ochnaceae</i>
Sous-famille	<i>Ochnoideae</i>
Tribu	<i>Ochneae</i>
Sous-tribu	<i>Ouratinae</i>
Genre	<i>Campylospermum</i>
Espèce	<i>C. dybowskii</i>

(Bissiengou, 2013)

La figure 8 ci-dessous présente les parties supérieures de la plante.



Figure 8: Photo d'une branche de *C. dybowskii*

(<https://agroneo.com/gaia/campylospermum-dybovskii>: consulté le 27 aout 2019)

I.3.2.3. *Campylospermum vogelii* (Hook.f.) Farron

Cette espèce présente les caractéristiques botaniques suivantes: Feuilles à dents obtuses ou feuilles serrulées. Panicule de 4-8 cm de long, trapue; cymules comprenant jusqu'à 7 fleurs. (Farron, 1985).

La classification systématique de *Campylospermum vogelii* est présentée ci-dessous.

Règne	<i>Plantae</i>
Classe	Angiospermes
Ordre	<i>Malpighiales</i>
Famille	<i>Ochnaceae</i>
Sous-famille	<i>Ochnoideae</i>
Tribu	<i>Ochneae</i>
Sous-tribu	<i>Ouratinae</i>
Genre	<i>Campylospermum</i>
Espèce	<i>C. vogelii</i>

(Bissiengou, 2013)

La figure 9 ci-après présente les parties supérieures de la plante.



Figure 9 : Photo d'une branche de *C. vogelii*

(<https://agroneo.com/gaia/campylospermum-vogelii>) : consulté le 27 aout 2019

Le regain d'intérêt porté aux plantes ici décrites est étroitement lié à leurs nombreux usages sur le plan de la médecine traditionnelle.

I.3.3. Usages en médecine traditionnelle de quelques espèces du genre *Campylospermum*

- *Campylospermum calanthum*: Plante qui pousse dans les régions du Sud et de l'Est du Cameroun, et est utilisée par les populations locales sous forme de décoctions alcooliques des feuilles ou des écorces de racines contre les maux de ventre et les complications cardiaques (Elo Manga *et al.*, 2012).

- *Campylospermum densiflorum*: Les décoctions des feuilles et racines de cette plante sont utilisées par les autochtones du Sud-Cameroun en médecine traditionnelle pour traiter le paludisme, l'ictère, le mal d'estomac et la fièvre (**Ngono et al., 2011**).
- *Campylospermum descoingsii*: Cette espèce, endémique dans les forêts de la région des cataractes et des bords du Congo, est employée près de Brazzaville pour soigner le goitre : donner à boire chaque matin un demi verre sous forme de décocté des écorces additionné de lait et de quelques gouttes de teinture d'iode (**Bouquet, 1969**).
- *Campylospermum dybovskii* : Les *Kôta* de *Mossendjo* (République du Congo- Brazzaville) font mâcher la racine avec des graines de maniguette comme traitement de l'impuissance sénile (**Bouquet, 1969**).
- *Campylospermum elongatum*: Dans la *Likouala* en République du Congo- Brazzaville, on se sert de la pulpe des feuilles écrasées avec de l'huile de palme comme pansement humide spécialement recommandé lorsqu'on souffre d'un panaris. Les jeunes feuilles sont consommées contre les maux de ventre et la blennorragie. Au Cameroun, cette plante est retrouvée dans les régions du Sud et de l'Est où les pygmées *Baka* utilisent les feuilles pour préparer des potions contre plusieurs maux tels que les palpitations, les problèmes cardiaques, et les maux d'estomac (**Bouquet, 1969 ; Elo Manga et al., 2016**).
- *Campylospermum excavatum* : Lorsqu'on a mal à la poitrine, il faut mâcher les feuilles 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 (**Bouquet, 1969**).
- *Campylospermum flavum*: Les extraits de cette plante sont utilisés en médecine traditionnelle contre les maux de poitrine et de ventre (**Gangoué-Piéboji et al., 2009**).
- *Campylospermum lecomtei*: au Congo, les *Mbaamba* mangent les racines comme aphrodisiaque. Dans le *Mayombe*, on l'utilise de la même façon que l'espèce précédente pour soigner les sorciers blessés à la poitrine lors des combats nocturnes qu'ils ont livrés aux démons, ou à d'autres sorciers plus puissants. Les *Laali* se servent du décocté des écorces de racines pour calmer les nausées et les vomissements (en boisson) (**Bouquet, 1969**).
- *Campylospermum mannii*: Les pygmées *Baka* utilisent les feuilles et les écorces des tiges de cette plante pour traiter les maux de ventre et les complications cardiaques (**Bouquet, 1969**).

- *Campylosperrum reticulatum* : Le jus des feuilles est instillé dans le conduit auditif pour soigner les otites externes. La plante est aussi utilisée pour la confection de philtres d'amour (**Bouquet, 1969**).

- *Campylosperrum sulcatum* : Le décocté des écorces est donné à boire, le matin à jeun comme traitement de l'impuissance sénile et comme aphrodisiaque (**Bouquet, 1969**).

Les multiples usages de ces plantes ont poussé de nombreux chercheurs à y effectuer des études pharmacologiques afin de pouvoir confirmer certaines de leurs vertus thérapeutiques

I.3.4. Activités biologiques sur les extraits des espèces du genre *Campylosperrum*

- *Campylosperrum densiflorum* : Les tests biologiques effectués sur les extraits des feuilles de cette espèce ont montré une activité antimicrobienne considérable sur les bactéries Gram-positif *cocci* avec des valeurs de CMI entre 1,25-5 mg/mL, mais une faible activité contre les bactéries Gram-négatif avec des valeurs de CMI de 10 mg/mL. De même, les extraits méthanoliques ont présenté une activité modérée contre les champignons (*C. albicans* et *C. neoformans*) (**Ngono et al., 2011**).

- *Campylosperrum excavatum*: L'activité antileishmaniale sur trois souches différentes de *Leishmania* a été effectuée, et il en ressort que l'amentoflavone (**35**) présente une activité inhibitrice modérée sur la souche *Leishmania infantum* GH12 promastigotes (**Bayiha et al., 2017**).

- *Campylosperrum flavum*: L'extrait méthanolique de cette espèce et certains composés (4''-*O*-methylgathisflavone (**46**) et flavumindole (**20**) isolés ont montré une activité cytotoxique potentielle contre la larve *Artemia salina* (**Ndongo et al., 2010**).

- *Campylosperrum glaucum*: Des essais biologiques sur les extraits et composés isolés de cette espèce ont montré une bonne activité antimicrobienne sur les souches Gram-positif (**Abouem et al., 2008**).

- *Campylosperrum zenkeri*: L'extrait de cette espèce est actif sur les bactéries β -lactam-resistant Gram-positif (**Gangoué-Piéboji et al., 2009**).

Les activités biologiques ainsi présentées sont certainement dues aux métabolites secondaires présents dans ces plantes.

I.4. Travaux phytochimiques antérieurs sur les espèces du genre *Campylosperrum*

Plusieurs métabolites secondaires ont déjà été effectuées sur les espèces du genre *Campylosperrum*. Ceux-ci appartiennent principalement aux classes suivantes :

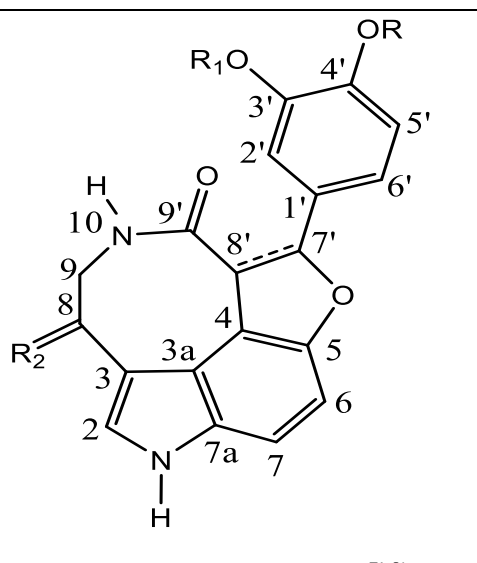
phytosterols, lignanes, flavonoïdes, esters d'acides gras, diterpène, diholoside, cyanoglucoside, biflavonoïdes et alcaloïdes.

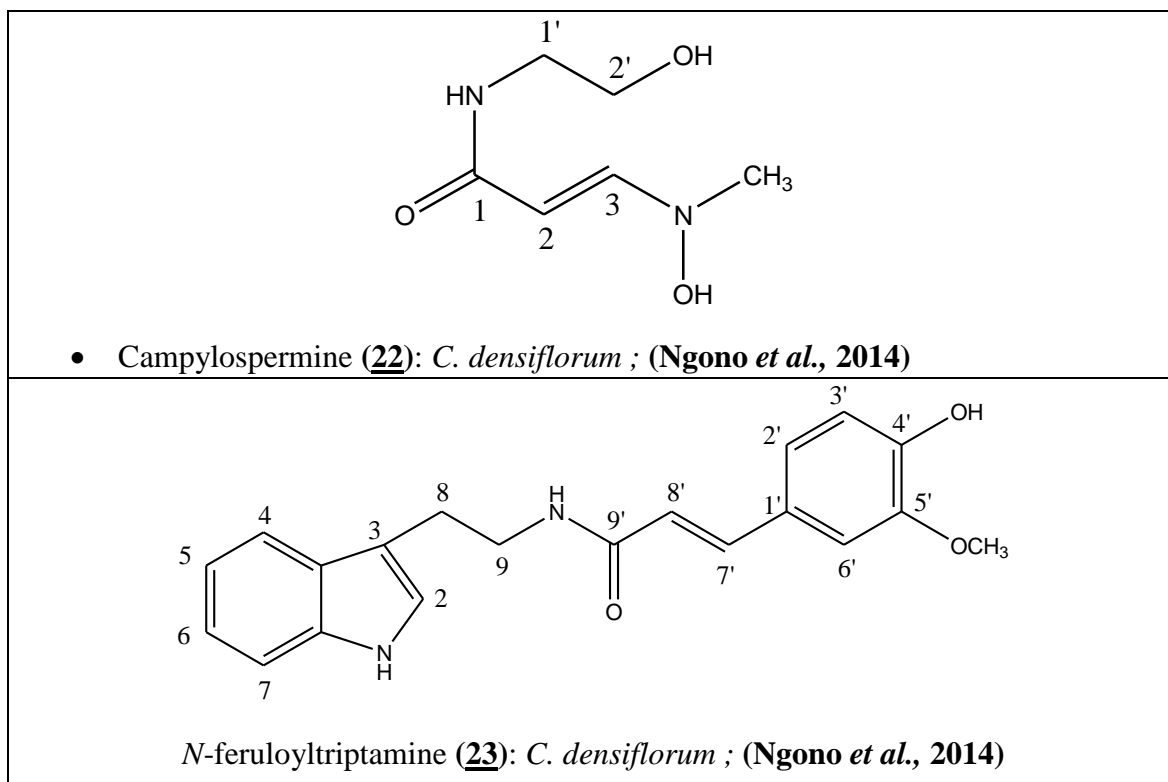
I.4.1. Les alcaloïdes du genre *Campylopermum*

Les alcaloïdes sont des substances naturelles et organiques provenant essentiellement des plantes et qui contiennent au moins un atome d'azote dans leur structure chimique, avec un degré variable de caractère basique (Mauro, 2006). Leur basicité est très variable et dépend de la disponibilité du doublet libre de l'atome d'azote. Cette basicité est fortement influencée par la présence des groupements liés à l'atome d'azote. Les alcaloïdes sont associés à une large gamme d'activités biologiques : analgésiques, antidiabétique, anticancéreux, antimalarique, etc. (Badiaga, 2011).

L'étude phytochimique des espèces du genre *Campylopermum* (Ochnaceae) a conduit à l'isolation de plusieurs métabolites secondaires et principalement les alcaloïdes indoliques. Le tableau 3 ci-dessous présente les alcaloïdes isolés des espèces du genre *Campylopermum*.

Tableau 3: Les alcaloïdes isolés du genre *Campylopermum*

Structure, nom, Source et référence

<ul style="list-style-type: none"> • Serotobénine (18) : R=H ; R₁=CH₃ ; R₂=H, H; Δ^{7',8'}-dihydro ; <i>C. densiflorum</i> ; (Ngono <i>et al.</i>, 2011) • Decursivine (19) : R=R₁=CH₂- ; R₂=H, H; Δ^{7',8'}-dihydro ; <i>C. densiflorum</i> (Ngono <i>et al.</i>, 2011) • Flavumindole (20) : R=H ; R₁=CH₃ ; R₂= O; Δ^{7',8'}-dihydro; <i>C. flavum</i> (Ndongo <i>et al.</i>, 2010) • Calanthumindole (21) : R=H ; R₁=CH₃ ; R₂= O; Δ^{7',8'} ; <i>C. calanthum</i> ; (Bayiha <i>et al.</i>, 2013)



I.4.2. Les flavonoïdes du genre *Campylospermum*

Les flavonoïdes sont des composés phénoliques les plus abondants retrouvés dans le règne végétal. Ils sont présents en forte concentration dans les feuilles et les fruits. Ce sont des composés naturels à structures phénoliques variables, retrouvés dans les plantes. Ils sont constitués d'un squelette comprenant deux noyaux benzéniques (A et B) liés *via* un hétérocycle de type pyranique (C). Leur structure générale est présentée ci-dessous (Figure 10).

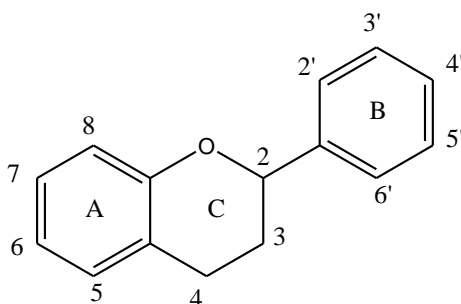
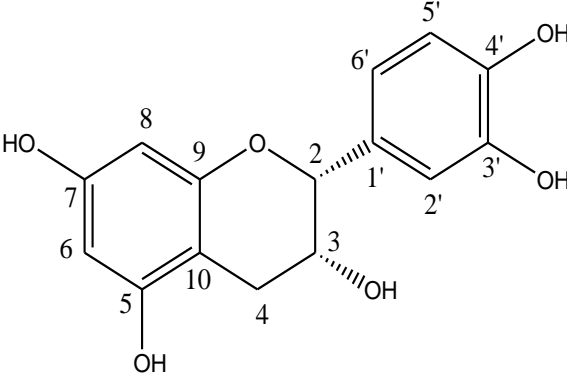
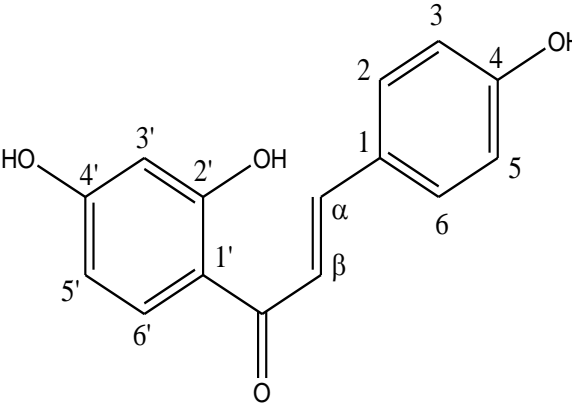
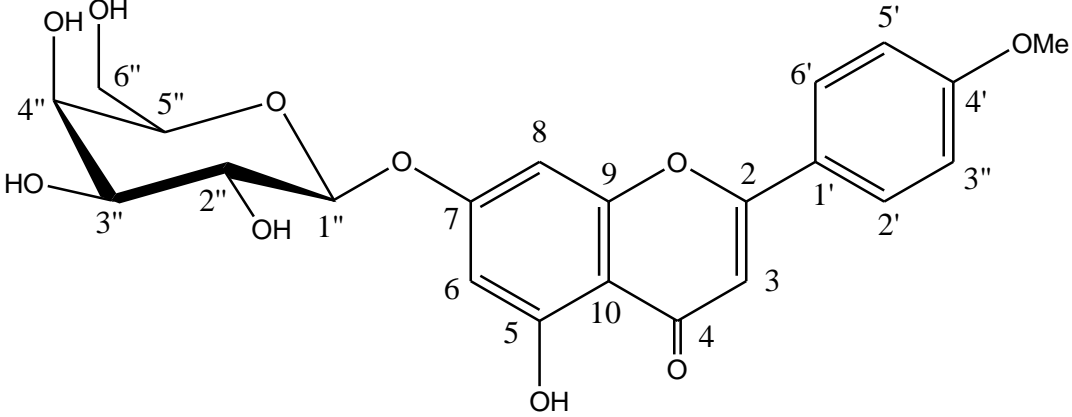


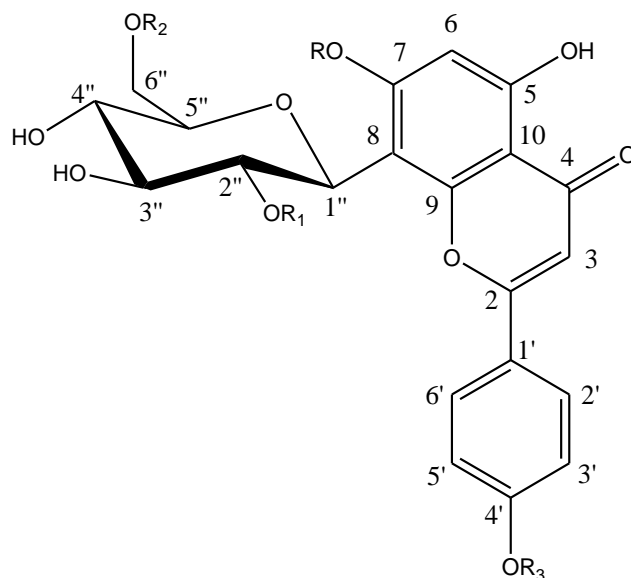
Figure 10: Structure de base des flavonoïdes

Les flavonoïdes peuvent être divisés en plusieurs classes telles que les flavones, les flavonols, les flavanones, etc, selon le degré d'oxydation et le type de substitution sur le cycle C, tandis que dans une même classe, les composés diffèrent selon le type de substitution des cycles A et B. Des études ont montré que les flavonoïdes présentent des activités antioxydantes,

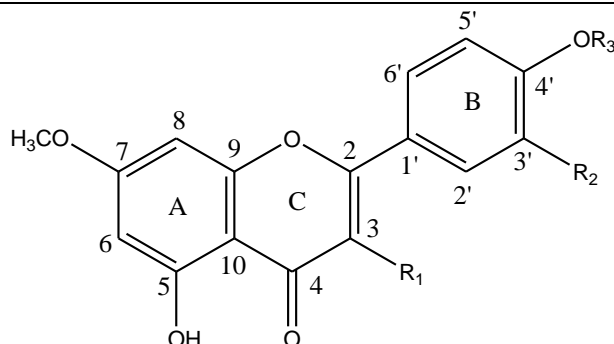
hépatoprotectives, antibactériennes, antiinflammatoires, anticancéreuses, antivirales et antimalariques (Kaur *et al.*, 2009). Les travaux chimiques antérieurs sur le genre *Campylopermum* ont conduit à l'isolement de plusieurs flavonoïdes (Tableau 4).

Tableau 4: Les flavonoïdes isolés du genre *Campylopermum*

Structure, nom, Source et référence
 <p>• Epicatechine (24) : <i>C. flavum</i> ; (Ndongo <i>et al.</i>, 2010)</p>
 <p>• Isoliquiritigenine (25) : <i>C. glaucum</i>; (Ngono <i>et al.</i>, 2015)</p>
 <p>• 4'-O-méthyl-7-O-β-D-galactosylapigenin (26) : <i>C. elongatum</i> (Elo Manga <i>et al.</i>, 2016)</p>



- 2''-O-acetyl-7-O-methylvitexine : R=CH₃-, R₁= CH₃CO-, R₂= H, R₃= H (**27**); *C. flavum* . (Ndongo *et al.*, 2010)
- 6''- O-acetylvitexine : R= H, R₁= H, R₂= CH₃CO-, R₃= H, (**28**); *C. glaucum*; (Ngono *et al.*, 2015)



- Campylospermoside A : R₁=R₂=H R₃=glucopyranosyl (**29**) ; *C. calanthum*; (Elo manga *et al.*, 2012)
- Campylospermoside B : R₁=H, R₂=OH, R₃=glucopyranosyl (**30**) ; *C. calanthum*; (Elo manga *et al.*, 2012)
- Campylospermoside C : R₁=R₂=OH; R₃=glucopyranosyl (**31**) ; *C. calanthum*; (Elo manga *et al.*, 2012)
- Campylospermoside D : R₁= R₂=H; R₃=6''-p-E-coumaroylglucopyranosyl (**32**) ; *C. calanthum*; (Elo manga *et al.*, 2012)
- Campylospermoside E; R₁=H, R₂=OH; R₃=6''-p-E-coumaroylglucopyranosyl (**33**) ; *C. calanthum*; (Elo manga *et al.*, 2012)
- Campylospermoside F; R₁= R₂=OH; R₃=6''-p-E-coumaroylglucopyranosyl (**34**) ; *C. calanthum*; (Elo manga *et al.*, 2012)

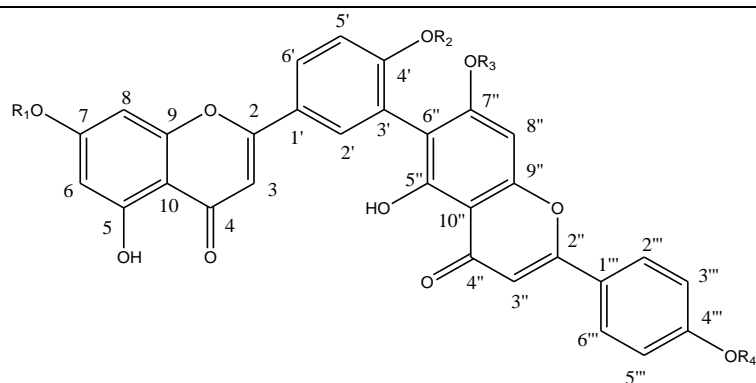
I.4.3. Les biflavonoïdes du genre *Campylospermum*

Les biflavonoïdes dérivent de deux unités flavone ou flavanone ou encore flavanone-flavone et ont été la plupart du temps isolées dans des gymnospermes. Parmi les angiospermes, plusieurs espèces appartenant aux familles des Guttiferae, Euphorbiaceae, Caprifoliaceae, Archegoniatae, Selaginellaceae, Anacardiaceae et Ochnaceae ont démontré qu'elles contiennent des biflavonoïdes.

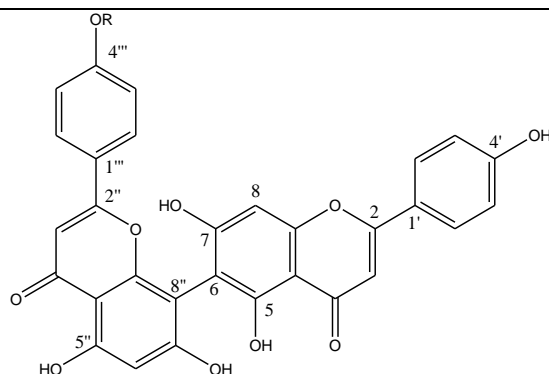
La majorité des biflavonoïdes naturels possèdent une liaison carbone-carbone entre monomères. Les combinaisons ainsi rencontrées dans la nature sont (I-6, II-6), (I-6, II-8), (I'-3, II-6), (I-8, II-8), (I-3', II-8), et (I-3, II-8). De même, on rencontre certains biflavonoïdes possédant une liaison de type C-O-C entre deux unités flavonoïdiques. C'est le cas de l'Ochnaflavone qui possède deux unités apigenines avec une liaison de nature (I-3'-O-II-4') Le tableau 5 ci-dessous présente quelques biflavonoïdes isolés du genre *Campylospermum*.

Tableau 5: Les biflavonoïdes isolés du genre *Campylospermum*

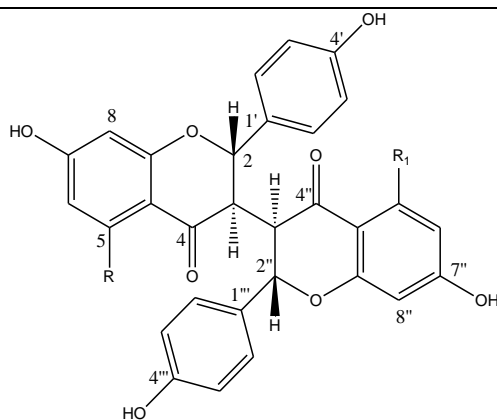
Structure, nom, source et référence
<ul style="list-style-type: none"> • Amentoflavone : R=H, R₁=H, R₂=H, R₃=H (35) ; <i>C. excavatum</i> ; (Bayiha et al., 2017) • 7-O-méthylamentoflavone ; R=CH₃, R₁=H, R₂=H, R₃=H ; (36) ; <i>C. elongatum</i> ; (Elo manga et al., 2016) • 7,7''-di-O-méthylamentoflavone : R= CH₃, R₁=H, R₂=H, ; R₃= CH₃ ; (37) ; (Elo manga et al., 2016) • Podocarpusflavone B : R=CH₃, R₁=H, R₂=CH₃ (38) ; <i>C. calanthum</i> ; (Bayiha et al., 2013) • Sequoiaflavone : R=CH₃, R₁=H, R₂=H (39) ; <i>C. excavatum</i> ; (Bayiha et al., 2017)



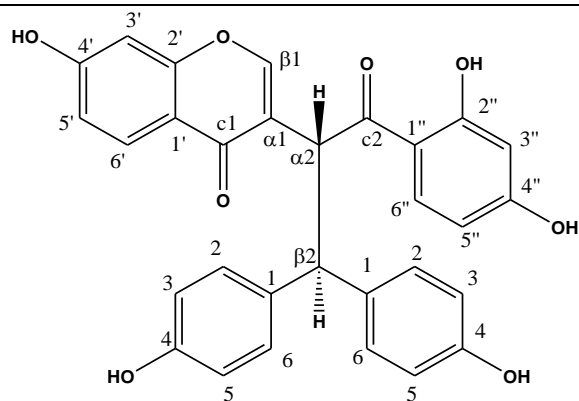
- Robustaflavone : $R_1 = R_2 = R_3 = R_4 = H$ (**40**) ; *C. dybowskii* ; (Ngono *et al.*, 2015)
- 4'-*O*-méthylrobustaflavone : $R_1 = R_3 = R_4 = H$; $R_2 = CH_3$ (**41**) ; *C. elongatum* ; (Elo manga *et al.*, 2016)
- 4',4'''-di-*O*-méthylrobustaflavone : $R_1 = R_3 = H$, $R_2 = R_4 = CH_3$ (**42**) ; *C. elongatum*; (Elo manga *et al.*, 2016)
- 7,4',4'''-tri-*O*-méthylrobustaflavone : $R_3 = H$, $R_1 = R_2 = R_4 = CH_3$ (**43**) ; *C. elongatum*; (Elo manga *et al.*, 2016)
- 4',7''-di-*O*-méthylrobustaflavone : $R_1 = R_4 = H$, $R_2 = R_3 = CH_3$ (**44**) ; *C. elongatum*; (Elo manga *et al.*, 2016)



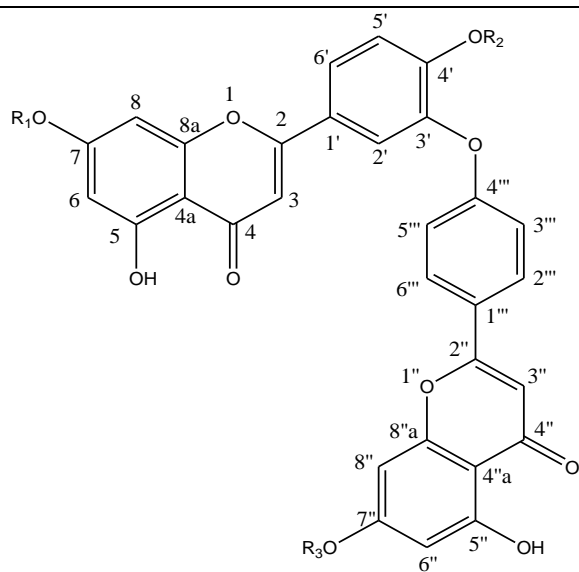
- Agathisflavone : $R = H$; (**45**) ; *C. flavum* ; (Ndongo *et al.*, 2010)
- 4'''-*O*-methylagathisflavone : $R = CH_3$; (**46**) ; *C. flavum*; (Ndongo *et al.*, 2010)



- Campylospermone A : $R = R_1 = H$ (**47**) ; *C. mannii*; (Elo manga *et al.*, 2009)
- Campylospermone B : $R = OH$, $R_1 = H$ (**48**) ; *C. mannii*; (Elo manga *et al.*, 2009)
- Chamaejasmine $R = R_1 = OH$; (**49**) ; *C. mannii*; (Elo manga *et al.*, 2009)



- Lophirone A (**50**) : *C. glaucum* ; (Abouem *et al.*, 2008)



- 7-*O*-methylochnaflavone : $R_1 = \text{CH}_3$, $R_2 = R_3 = \text{H}$ (**51**) ; *C. excavatum* ; (Bayiha *et al.*, 2017)
- 7,4',7''-trimethoxychnaflavone : $R_1 = R_2 = R_3 = \text{CH}_3$ (**52**) ; *C. excavatum* ; (Bayiha *et al.*, 2017)

I.4.4. Les stérols du genre *Campylospermum*

Les stérols sont des constituants essentiels des membranes cellulaires. On les trouve aussi bien chez les animaux que dans les végétaux. Les stérols végétaux sont des analogues botaniques du cholestérol qui ne diffèrent de celui-ci que par leur chaîne latérale. Les stérols possèdent un groupement hydroxyle sur l'atome de carbone 3. Généralement, une double liaison entre les atomes de carbone 5 et 6 ainsi qu'une chaîne latérale attachée au sommet 17 du noyau perhydrocyclopentano phénanthrène (Ayad, 2008). (figure 11)

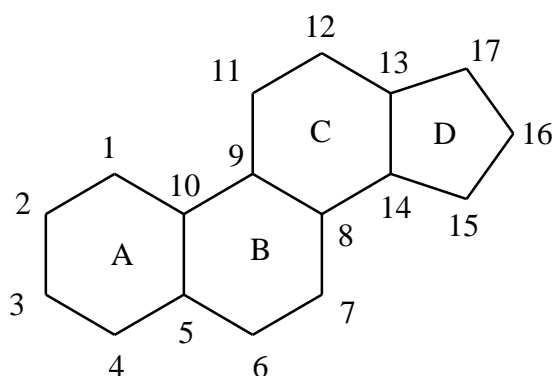
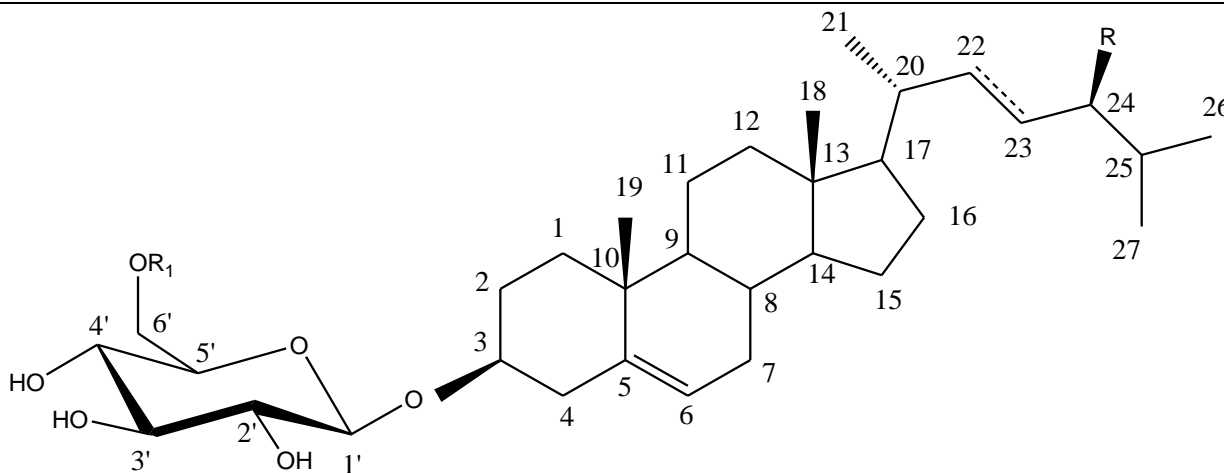


Figure 11: Structure du noyau stérol

Les phytostérols sont des composés naturels appartenant à la famille des triterpènes, en rassemblant plus de 200 stérols différents, parmi plus de 4000 autres types de triterpènes. Les stérols sont présents dans les plantes sous plusieurs formes : à l'état libre, estérifiés par combinaison avec les acides gras, et parfois glycosylés. Des études menées sur les espèces du genre *Campylospermum* ont permis d'isoler plusieurs stérols (tableau 6).

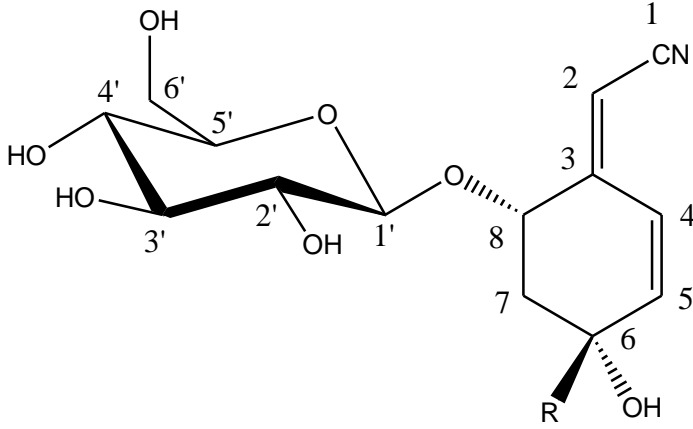
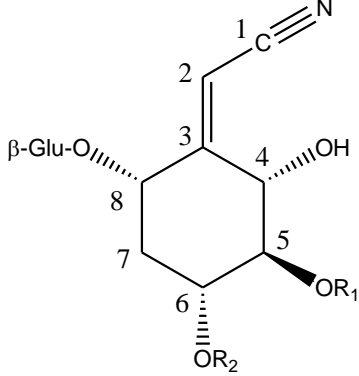
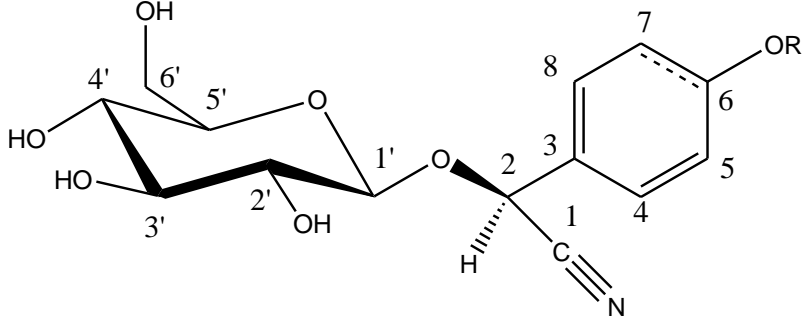
Tableau 6: Les stérols isolés du genre *Campylospermum*

Structure, nom, source et référence
 <ul style="list-style-type: none"> • Campesterol-3-<i>O</i>-β-Dglucopyranoside ; R=CH₃-, R₁=H, 22, 23-dihydro (53) ; <i>C. olivieranum</i> ; (Ngono <i>et al.</i>, 2015) • Stigmasterol-3-<i>O</i>-β-D-glucopyranoside; R=CH₃CH₂-, R₁=H, Δ^{22,23} (54); <i>C. olivieranum</i> ; (Ngono <i>et al.</i>, 2015) • Sitosterol-3-<i>O</i>-β-D-glucopyranoside; R=CH₃CH₂-, R₁=H, 22, 23-dihydro; (55); <i>C. olivieranum</i> ; (Ngono <i>et al.</i>, 2015) • Densiflosides A; R=CH₃CH₂-, R₁=2-(palmitelaidoyloxy)-β-Glu-22, 23-dihydro (56); <i>C. densiflorum</i> ; (Ngono <i>et al.</i>, 2011) • Densiflosides B; R=CH₃CH₂-, R₁=2-(palmitelaidoyloxy)-β-Glu-, Δ^{22,23} (57); <i>C. densiflorum</i> ; (Ngono <i>et al.</i>, 2011)

I.4.5. Les cyanoglucosides du genre *Campylospermum*

Les cyanoglucosides sont des métabolites secondaires des plantes, qui dérivent des acides aminés et sont présents dans plus de 2500 espèces. Leur structure chimique de base, est composée d'une partie osidique fixée sur le carbone central par une liaison éther, d'une partie non osidique : aglycone, et d'un groupement cyano -C≡N. La plupart des cyanoglucosides sont des cyanoglycosides monosaccharidiques, dans lesquels le fragment cyanhydrique est stabilisé par une liaison glycosidique à un résidu sucre simple, du glucose le plus souvent. (Vetter, 2000). Plusieurs cyanoglucosides ont été isolés des espèces du genre *Campylospermum* (tableau 7).

Tableau 7: Cyanoglucosides isolés du genre *Campylospermum*

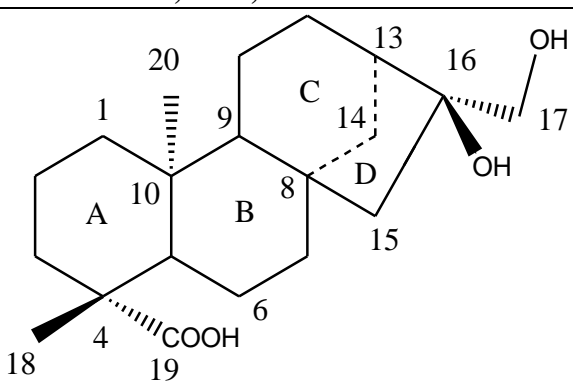
Structure, nom, source et référence
 <ul style="list-style-type: none"> • Menisdaurine ; R= H ; (58), <i>C. olivieranum</i> ; (Ngono <i>et al.</i>, 2015) • Lithospermoside ; R= OH ; (59); <i>C. elongatum</i> ; (Elo manga <i>et al.</i>, 2016)
 <ul style="list-style-type: none"> • Lanceoline C; R₁= Bz, R₂= H (4R, 5R); (60) ; <i>C. glaucum</i> ; (Abouem <i>et al.</i>, 2008) • Campyloside A; R₁= Bz, R₂= H (4S, 5S) (61); <i>C. glaucum</i> ; (Abouem <i>et al.</i>, 2008) • Campyloside B ; R₁= pyrrol-2-ylcarbonyl, R₂= Bz (62) ; <i>C. glaucum</i> ; (Abouem <i>et al.</i>, 2008) • Campyloside C; R₁= Bz, R₂= H (4S, 5R) (63); <i>C. excavatum</i> ; (Bayiha <i>et al.</i>, 2017)
 <ul style="list-style-type: none"> • Dhurine ; R= H, Δ^{6,7} (64) ; <i>C. olivieranum</i> ; (Ngono <i>et al.</i>, 2015) • 2-O-β-D-glucopyranosyloxy-phydroxy-6,7-dihydromandelonitrile ; R= H, 6,7-dihydro (65) ; <i>C. flavum</i> ; (Ndongo <i>et al.</i>, 2010)

I.4.6. Autres composés isolés du genre *Campylospermum*

I.4.6.1. L'acide kauranique du genre *Campylospermum*

Les kauranes représentent un groupe important de diterpènes tétracycliques et dont la structure est constituée par une unité perhydrophénanthrène (cycles A, B et C) fusionnée avec une unité cyclopentane (cycle D) formée par un pont de deux atomes de carbone entre C-8 et C-13 (**Garcia, 2007**). Dans cette classe de composés, nous avons un acide kauranique qui est retrouvé dans l'espèce *C. densiflorum* (tableau 8).

Tableau 8: Un acide kauranique isolé du genre *Campylospermum*

Structure, nom, source et référence
 <p>Acide ent-16α, 17-dihydroxykauran-19-oïque (66) ; <i>C. densiflorum</i> ; (Ngono et al., 2011)</p>

I.4.6.2. La lignane du genre *Campylospermum*

Ils sont constitués de deux unités de phénylpropane. Bien qu'ils entrent dans la composition de certaines graines, céréales, fruits et autres légumes, ils sont environ 1000 fois plus concentrés dans les graines de lins (**El Gharras, 2009**). Le sécoisolaricirésinol (**67**) type de phénylpropanoïde est une lignane isolée de *C. densiflorum* (tableau 9).

Tableau 9: Une lignane isolé du genre *Campylospermum*

Structure, nom, source et référence
<p>Secoisolariciresinol (67) ; <i>C. densiflorum</i> ; (Ngono <i>et al.</i>, 2011)</p>

I.4.6.3 La coumarine du genre *Campylospermum*

Les coumarines sont des substances naturelles composées de neuf atomes de carbone possédant le noyau benzo (2 H)-1 pyranone-2. Elles sont substituées par un hydroxyle ou plus sur les six positions disponibles. La majorité des coumarines sont substituées en C-7 par un hydroxyle. Elles sont responsables de l'odeur caractéristique de l'aspérule odorante et du mélilot desséché. Elles sont très largement distribuées dans le règne végétal. (Brahim, 2011). Le tableau 10 présente une coumarine isolé du genre *Campylospermum*.

Tableau 10: Une coumarine isolé du genre *Campylospermum*

Structure, nom, source et référence
<p>Umbelliferone (68) ; <i>C. densiflorum</i> ; (Ngono <i>et al.</i>, 2011)</p>

La deuxième partie de notre travail a consisté à procéder à des hémisynthèses sur l'un des marqueurs chimiotaxonomiques du genre *Campylospermum* à savoir la serotobenine.

I.5. Généralités sur quelques réactions d'hémisynthèse

I.5.1. Généralités sur la réaction d'estérification

L'estérification implique la réaction d'un acide carboxylique avec un alcool donnant un ester et se produisant avec élimination d'eau (et inversement dans le cas de l'hydrolyse). Elles sont catalysées par les acides. Les transformations associées sont généralement lentes et incomplètes. Pour effectuer l'estérification, l'excès d'un réactif (le plus souvent l'alcool), ou l'élimination de l'eau produite permettent toutefois d'obtenir des rendements satisfaisants. La réaction des alcools ($Z = O$) avec les anhydrides d'acides ($X = OCOR_3$) permet d'effectuer des conversions rapides et quantitatives menant à des esters (schéma 1).

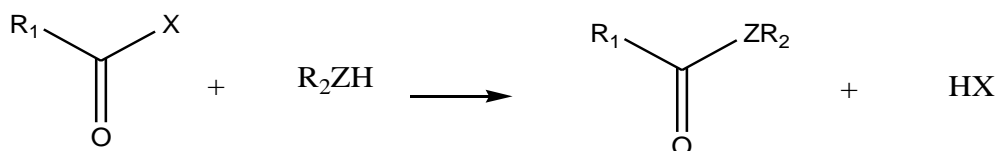


Schéma 1: Bilan de la réaction des alcools avec les anhydrides d'acides

Le mécanisme général de la réaction des alcools et des amines avec les chlorures d'acyle et les anhydrides d'acides est présenté ci-dessous (schéma 2). On note plusieurs étapes :

- Première étape : attaque nucléophile de l'alcool sur l'anhydride d'acide.
- Deuxième étape : élimination du carboxylate.
- Troisième étape : déprotonation (**Fensterbank, 2007**).

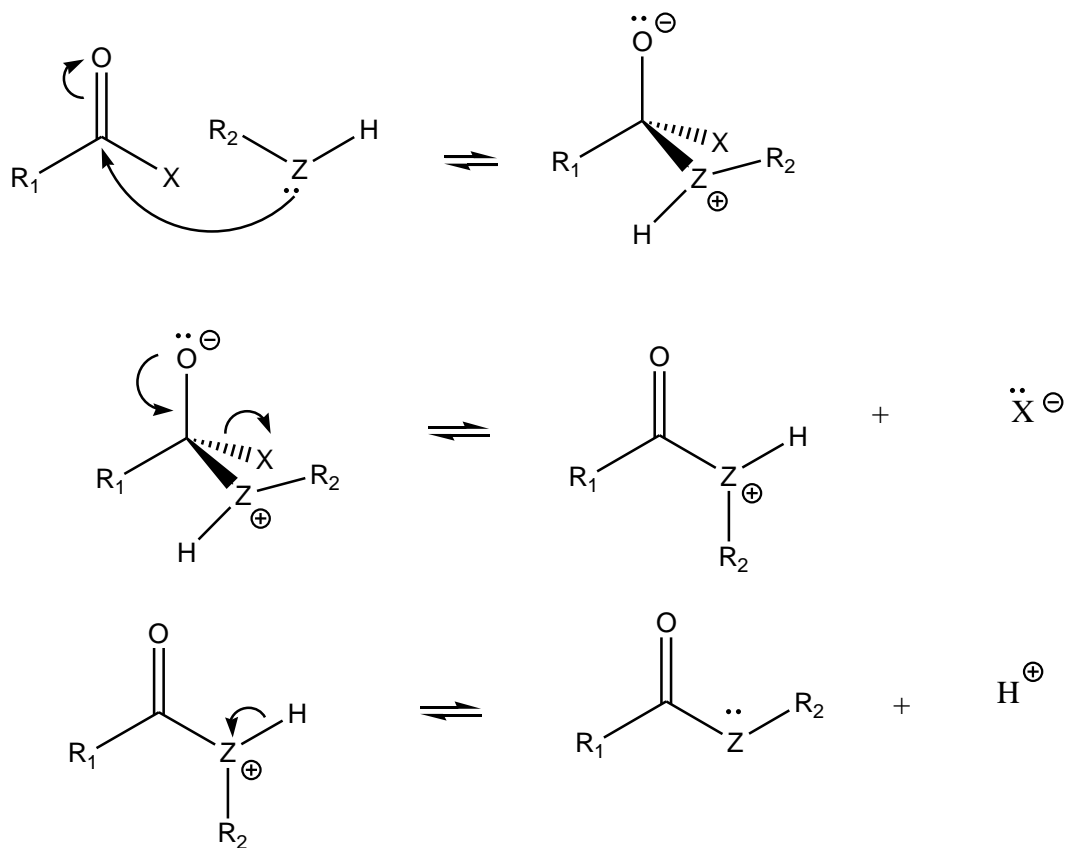


Schéma 2 : Mécanisme de la réaction des alcools avec les anhydrides d'acides

I.5.2. Généralités sur la réaction de Mitsunobu

La réaction de Mitsunobu est une réaction de substitution nucléophile ($\text{S}_\text{N}2$) mettant en jeu un alcool (R-OH) et un pro-nucléophile acide (NuH) en utilisant un agent oxydant diazocarboxylate (le plus souvent le diéthyl azodicarboxylate, DEAD) et un réducteur phosphine (usuellement la triphénylphosphine PPh_3). En plus du produit désiré, de l'hydrazide (le diéthylhydrazinedicarboxylate DEAD-H_2) et de l'oxyde de phosphine ($\text{Ph}_3\text{P=O}$) sont formés (Schéma 3).

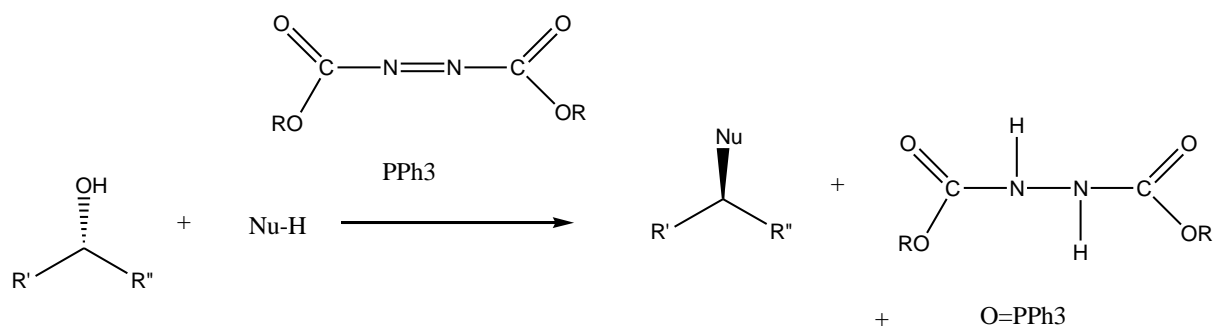
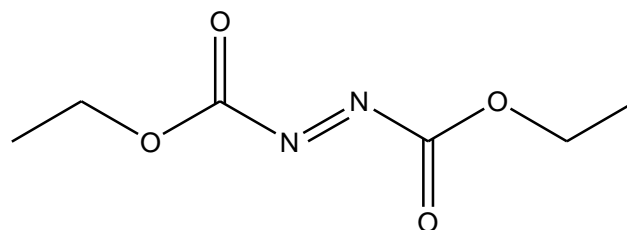
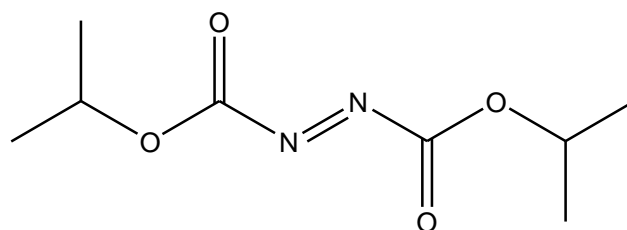


Schéma 3: Schéma général de la réaction de Mitsunobu

Bien que le diethyl azodicarboxylate (**69**) ou DEAD reste fréquemment utilisé, un nombre important de réactions, est réalisé en présence de diisopropyl azodicarboxylate (**70**) ou DIAD. Il est notamment moins cher et moins toxique.



diethyl azodicarboxylate (**69**)



diisopropyl azodicarboxylate (**70**)

Le mécanisme passe tout d'abord par l'activation de la triphénylphosphine par le diazodicarboxylate, pour former un adduit qui est protoné par le proton du nucléophile. Il est donc important que le proton du nucléophile utilisé soit suffisamment acide pour protoner l'adduit formé. Ensuite, l'alcool va réagir avec le groupement phosphonium activé pour former le sel d'oxyphosphonium et l'hydrazide. Finalement, l'attaque du nucléophile sur l'alcool activé par une réaction de type $\text{S}_{\text{N}}2$ donnera le produit désiré ainsi que de l'oxyde de triphénylphosphine (Schéma 4). (**Peyrat, 2011**).

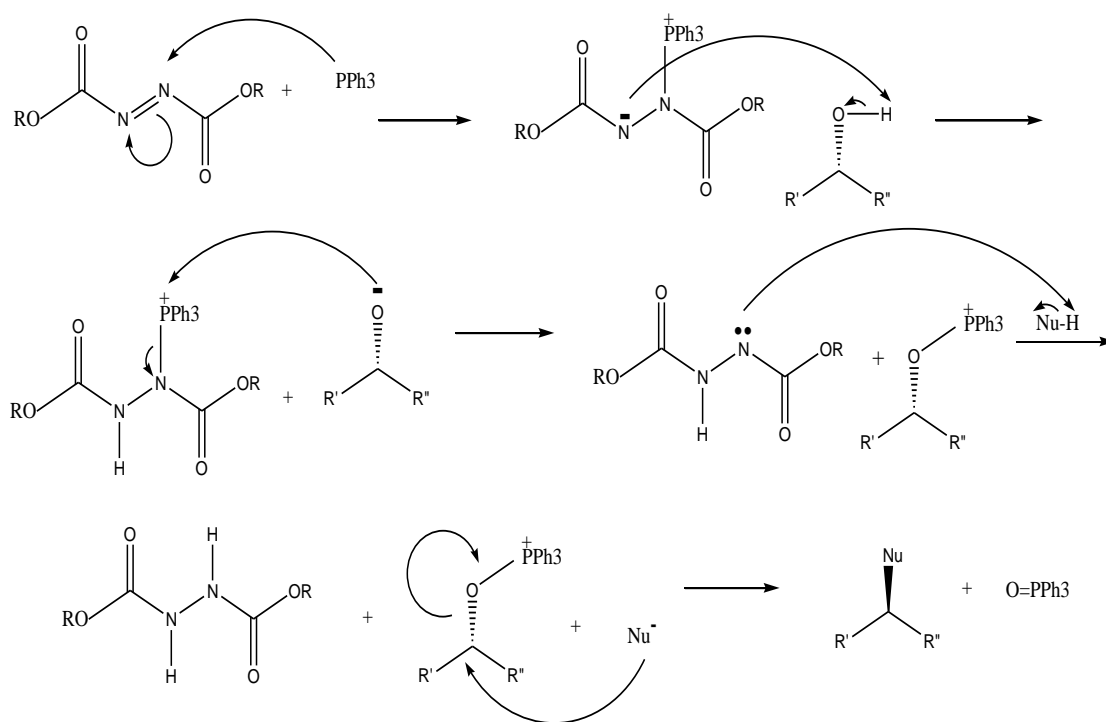


Schéma 4: Mécanisme de la réaction de Mitsunobu

La réaction est utilisée en chimie pour plusieurs composés naturels tels que les sucres, les peptides, les stéroïdes, les terpènes et aussi pour la formation des esters, des éthers et des nouvelles liaisons C-C. La substitution nucléophile d'un groupement alcool *via* le système redox triaryl- ou le trialkyl-phosphine/dialkyl azodicarboxylate est largement utilisé pour la préparation des composés biologiquement actifs (**Lakoud, 2016**).

Au regard de l'intérêt de ces réactions hemysynthèses, nous avons tout d'abord entrepris l'étude chimique et biologique des plantes du genre *Campylospermum* utilisées dans le traitement du paludisme.



CHAPITRE II : RESULTATS ET DISCUSSION

II.1. Etude phytochimique des écorces des tiges de *Campylospermum zenkeri*

L'isolement des différents composés issus des tiges de *Campylospermum zenkeri* a été menée à travers les étapes d'extraction, de fractionnement et de purification.

II.1.1. Extraction, fractionnement et purification des composés

Les écorces des tiges de *Campylospermum zenkeri* ont été collectées au Mont *Pala* près de Kribi, dans le Département de l'Océan, Région du Sud du Cameroun en Avril 2015. Un spécimen (N° 24093 SFRCAM) a été déposé à l'Herbier national du Cameroun à Yaoundé. Le matériel végétal a été ensuite séché à l'air libre et à l'abri de la lumière du soleil pendant 2 semaines puis broyé.

La poudre sèche des écorces de *C. zenkeri* (300 g) a subi une extraction au méthanol par macération à froid pendant 48 heures. Cette opération s'est répétée trois fois avec à chaque fois renouvellement du solvant. Après filtration et évaporation du solvant, 20 g d'extrait brut ont été obtenus. Cet extrait méthanolique a été fractionné sur colonne ouverte de silice selon un gradient $\text{CH}_2\text{Cl}_2/\text{MeOH}$ de polarité croissante. Cinq principales fractions (indexées I à V) ont été obtenues et rassemblées en fonction de leur profil chromatographique sur couche mince de gel de silice déposé sur feuilles d'aluminium (Merck) qui après développement dans des cuves en verre suivant des systèmes de solvants adéquats, ont été visualisés sous lampe UV à 254 et 365 nm, puis révélés au Cerium Ammonium Molybdate ou à une solution éthanol / acide sulfurique concentrée (50/50, v/v). La caractérisation des composés a été effectuée en utilisant les techniques spectroscopiques UV, RMN 1D (^1H , ^{13}C , DEPT), RMN 2D (HSQC, HMBC, NOESY, COSY) et la spectrométrie de masse.

La purification des fractions par différentes méthodes chromatographiques a permis d'isoler dix composés qui ont été caractérisés grâce aux techniques spectroscopiques IR, RMN 1D, RMN 2D et la spectrométrie de masse.

Le schéma 5 ci-dessous présente les différentes étapes d'isolement des composés de *C. zenkeri*.

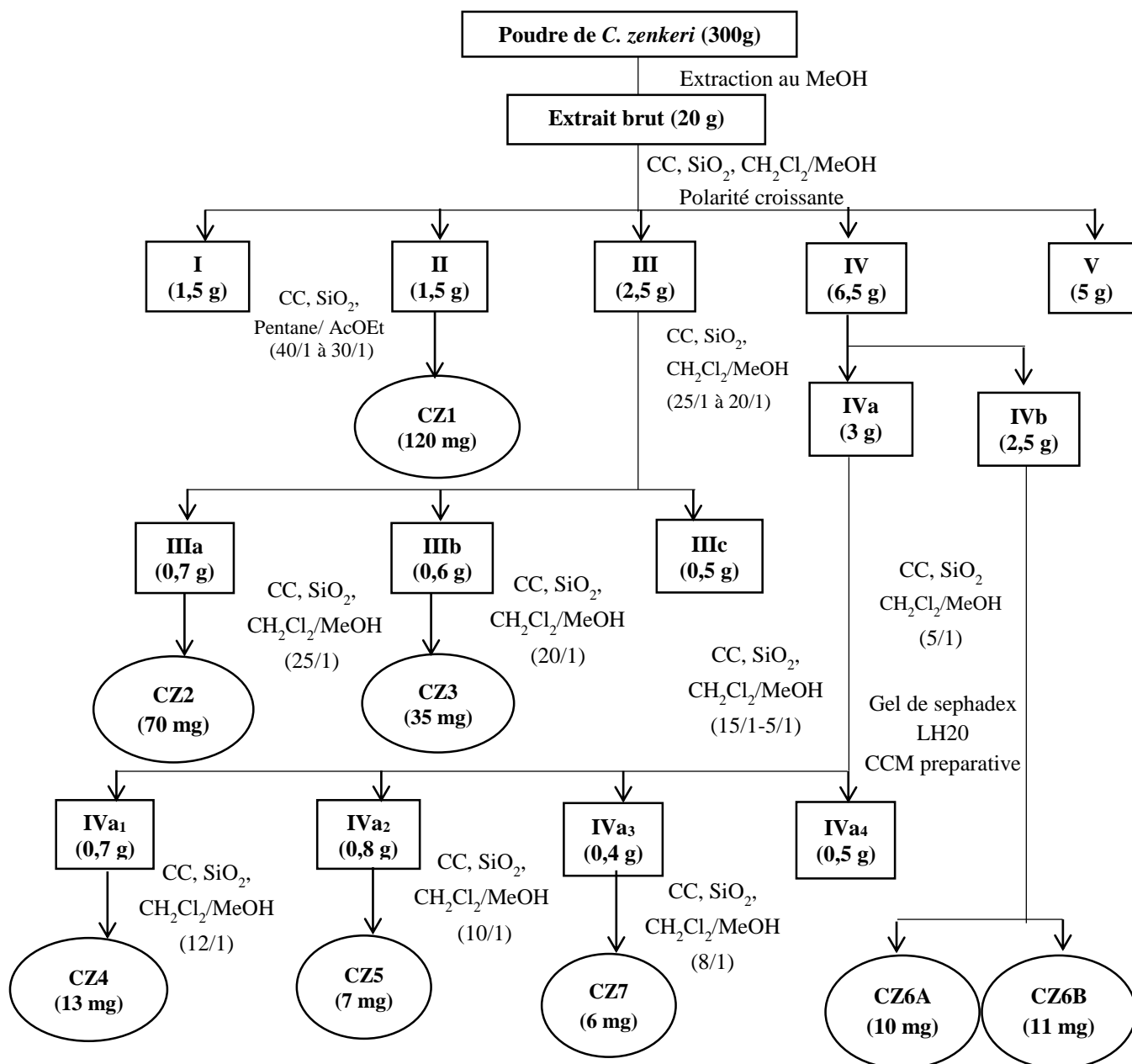


Schéma 5: Protocole d'isolement des composés de *C. zenkeri*

Légende : ○ composés isolés ; □ fractions / sous-fractions

II.1.2 Détermination structurale et identification des composés isolés

II.1.2.1. Identification de CZ1 au mélange

Le mélange CZ1 se présente sous la forme d'une huile de couleur beige, soluble dans le chloroforme. En CCM, ce composé possède un R_f de 0,7 lorsque la plaque est éluée dans le DCM pur (100%). Le composé apparaît sous forme d'une tache après révélation au CAM (figure 12).

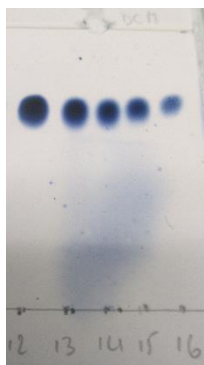


Figure 12: CCM du composé CZ1 révélé au CAM

Son chromatogramme en CPG présente un mélange des trois acides gras : CZ1A, CZ1B et CZ1C correspondant aux temps de rétention respectifs de et 04,67 ; 09,57 et 10,16 min. (figure 13)

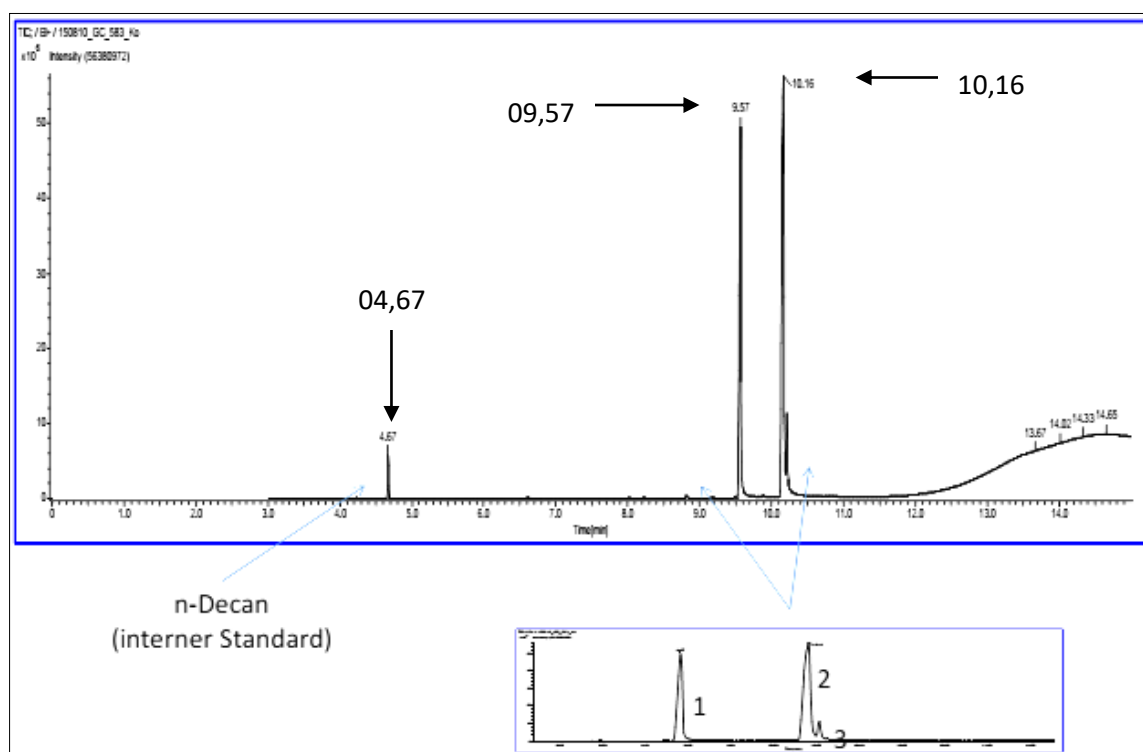


Figure 13: Chromatogramme CPG du mélange des trois acides gras de CZ1

Le spectre CG/MS présente le composé CZ1B (composé majoritaire) qui présente le pic de l'ion moléculaire à m/z 280, correspondant à la formule brute $C_{18}H_{32}O_2$, soit trois degrés d'insaturation (figure 14). Le spectre (CG/MS) présente également le composé CZ1A qui donne le pic de l'ion moléculaire à m/z 256, correspondant à la formule brute $C_{16}H_{32}O_2$, soit un degré d'insaturation (figure 15). De même, ce spectre (CG/MS) présente le composé CZ1C (minoritaire) qui donne le pic de l'ion moléculaire à m/z 284, correspondant à la formule brute $C_{18}H_{36}O_2$, soit un degré d'insaturation (figure 16).

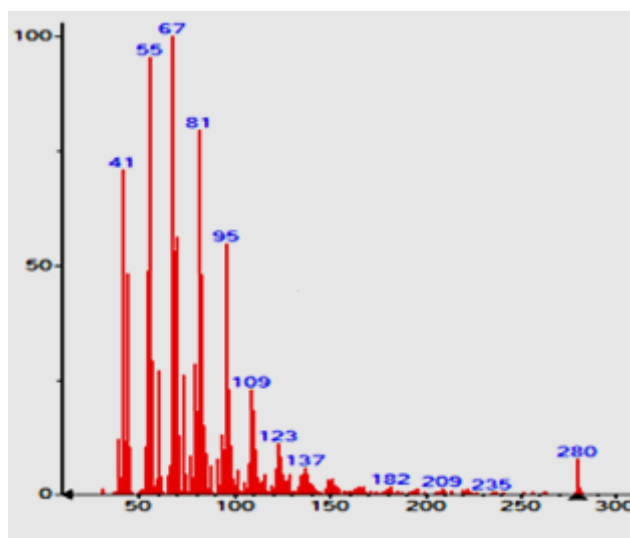


Figure 14: Spectre de masse CG/MS du composé CZ1B

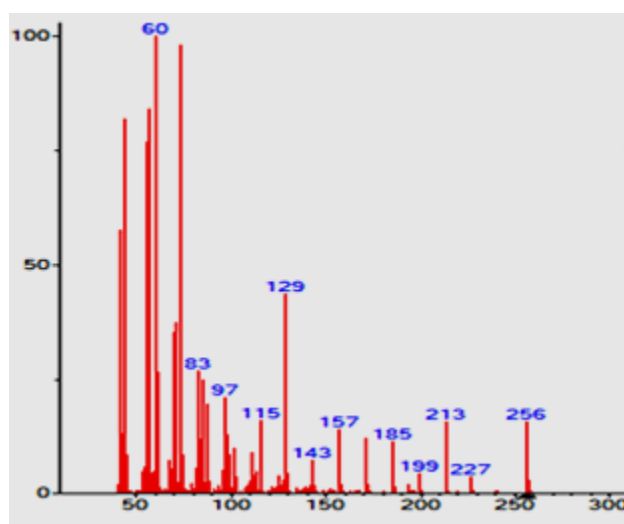


Figure 15: Spectre de masse CG/MS du composé CZ1A

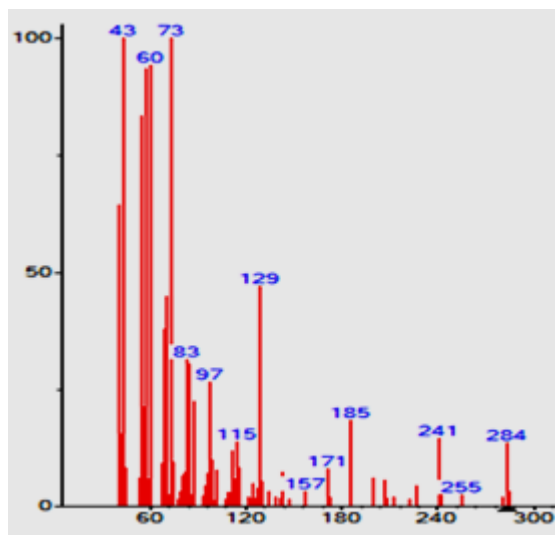


Figure 16: Spectre de masse CG/MS du composé CZ1C

Le spectre IR (figure 17) du composé CZ1B présente des bandes d'absorption caractéristiques des acides gras : 3008 (= CH), 2916 (CH₃), 2849 (CH₂), 1705 (C = O), 1462 cm⁻¹ (C=C).

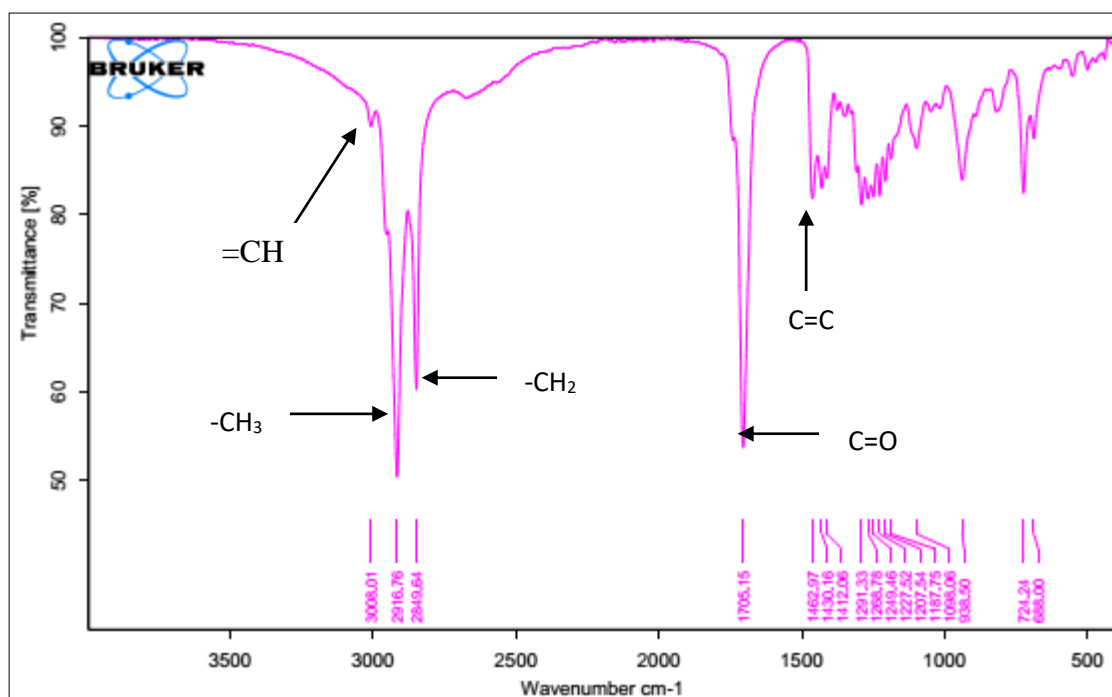


Figure 17: Spectre IR du composé CZ1B

L'analyse du spectre RMN ¹H (figure 18) du composé CZ1B (majoritaire) présente des signaux caractéristiques correspondant à quatre protons oléfiniques de type méthine à δ_H 5,34 ppm et des protons des groupes méthylènes à δ_H 2,76 ppm (2H, *t*, *J*=6,4 Hz), δ_H 2,34 ppm (2H, *t*, *J*=7,6 Hz), et δ_H 2,04 ppm (4H, *m*). Ce spectre présente également des protons des groupes

méthylènes entre δ_H 1,25 et δ_H 1,63 ppm, (16H) et un proton du groupe méthyl à δ_H 0,87 ppm, (3H, *t*, $J=6,9$ Hz).

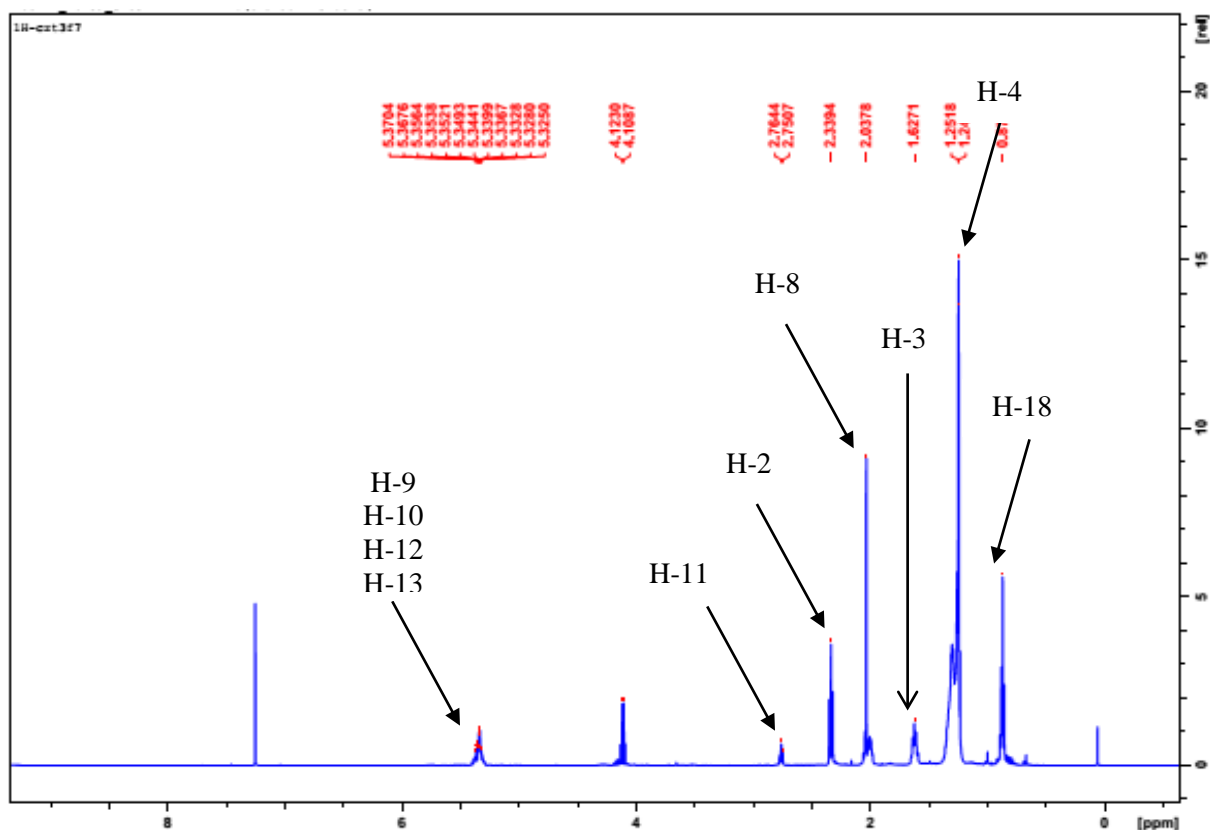
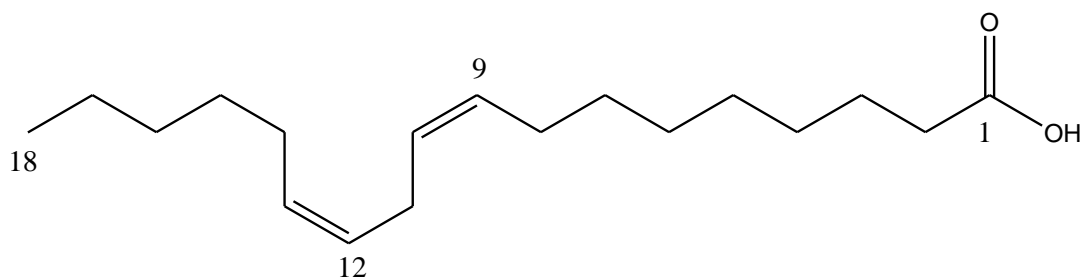


Figure 18: Spectre RMN 1H de CZ1B (500 MHz, DMSO- d_6)

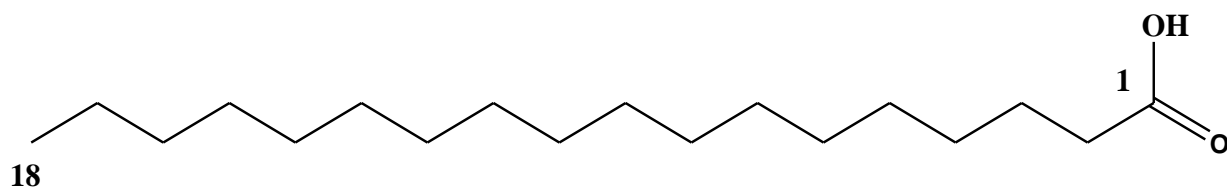
Couplé au spectre RMN 1H , son spectre HSQC présente :

- Les protons caractéristiques du groupe méthylène CH_2 situés à $\delta_H = 2,33$ ppm portés par le carbone situé à $\delta_C = 34,0$ ppm (C-2),
- Les protons caractéristiques du groupe méthylène CH_2 situés à $\delta_H = 1,62$ ppm portés par le carbone situé à $\delta_C = 24,9$ ppm (C-3),
- Les protons caractéristiques du groupe méthylène CH_2 situés à $\delta_H = 2,04$ ppm attachés aux carbones résonnant à $\delta_C = 27,1$ ppm (C-8 et C-14),
- Les protons du signal caractéristique du groupe méthylène CH_2 situés à $\delta_H = 2,76$ ppm portés par le carbone situé à $\delta_C = 25,8$ ppm (C-11),
- Les protons éthyléniques situés à $\delta_H = 5,3$ ppm (un multiplet intégrant pour 4 H) sont portés par les carbones localisés à $\delta_C = 128,0$ et $\delta_C = 130,0$ ppm correspondant à C-12/13 et C-9/10 respectivement.
- Les protons du CH_3 terminal (C18) situés à $\delta_H = 0,87$ ppm sont attachés au carbone résonnant à $\delta_C = 14,0$ ppm.

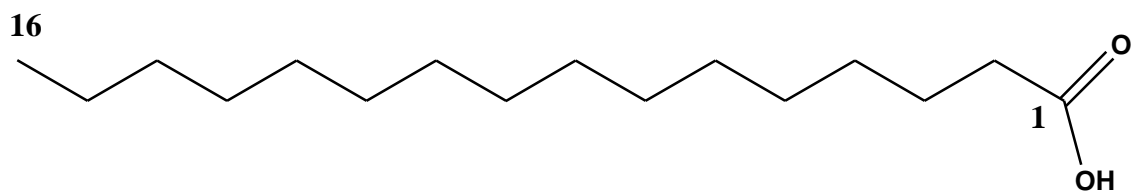
Sur la base des données spectrales et celles de la littérature, le composé CZ1B a été identifié à l'acide (Z,Z)-9,12-octadécadiénoïque (**71**) (acide linoléique), précédemment isolé par **Chang *et al.*, (2000)**. De même, le composé CZ1C a été identifié à l'acide octadécanoïque (**72**) (acide stéarique), et CZ1A identifié à l'acide hexadécanoïque (**73**) (acide palmitique), (**Ziegenbein *et al.*, 2006; Tasaka *et al.*, 1998**).



Acide linoléique (71**)**



Acide stéarique (72**)**



Acide palmitique (73**)**

Tableau 11: Données spectrales RMN ^1H et ^{13}C de CZ1B (500 MHz et 125 MHz, CDCl_3) comparé à l'acide linoléique (300 MHz ; 75 MHz, CDCl_3)

N°	CZ1B (exp.)				Acide linoléique (litt.)			
	δ_{C} (ppm)	δ_{H} (ppm)	<i>m</i>	<i>J</i> (Hz)	δ_{C} (ppm)	δ_{H} (ppm)	<i>m</i>	<i>J</i> (Hz)
1	173,8				180,3			
2	34,0	2,33	<i>t</i>	7,6	34,1	2,32	<i>t</i>	7,4
3	24,9	1,62	<i>m</i>		24,6	1,58	<i>m</i>	
4	29,9	1,25	<i>m</i>		29,6	1,22	<i>m</i>	
5	29,9	1,25	<i>m</i>		29,6	1,22	<i>m</i>	
6	29,9	1,25	<i>m</i>		29,6	1,22	<i>m</i>	
7	29,9	1,25	<i>m</i>		29,6	1,22	<i>m</i>	
8	27,1	2,04	<i>q</i>	7,0	27,2	2,03	<i>q</i>	7,0
9	130,0	5,33	<i>m</i>		130,2	5,34	<i>m</i>	
10	130,0	5,33	<i>m</i>		130,0	5,34	<i>m</i>	
11	25,8	2,76	<i>t</i>	6,4	25,6	2,75	<i>t</i>	5,9
12	128,0	5,33	<i>m</i>		128,0	5,34	<i>m</i>	
13	128,0	5,33	<i>m</i>		127,9	5,34	<i>m</i>	
14	27,1	2,04	<i>q</i>	7,0	27,2	2,03	<i>q</i>	7,0
15	29,1	1,25	<i>m</i>		29,0	1,22	<i>m</i>	
16	31,0	1,25	<i>m</i>		31,5	1,22	<i>m</i>	
17	22,7	1,25	<i>m</i>		22,6	1,22	<i>m</i>	
18	14,0	0,87	<i>t</i>	6,9	14,1	0,85	<i>t</i>	6,8

II.1.2.2. Identification de CZ2 à la serotobénine

Le composé CZ2 se présente sous forme d'un solide blanc soluble dans l'acétone et répondant positivement au test de Mayer caractéristique des alcaloïdes. Son Pf se situe entre 282-284°C. Sa formule brute $C_{20}H_{18}O_4N_2$ est déduite de son spectre de masse ESI-MS (figure 19) en mode négatif qui présente le pic de l'ion pseudo-moléculaire à $[M-H]^-$ à m/z : 349,2 (calc. 349,1).

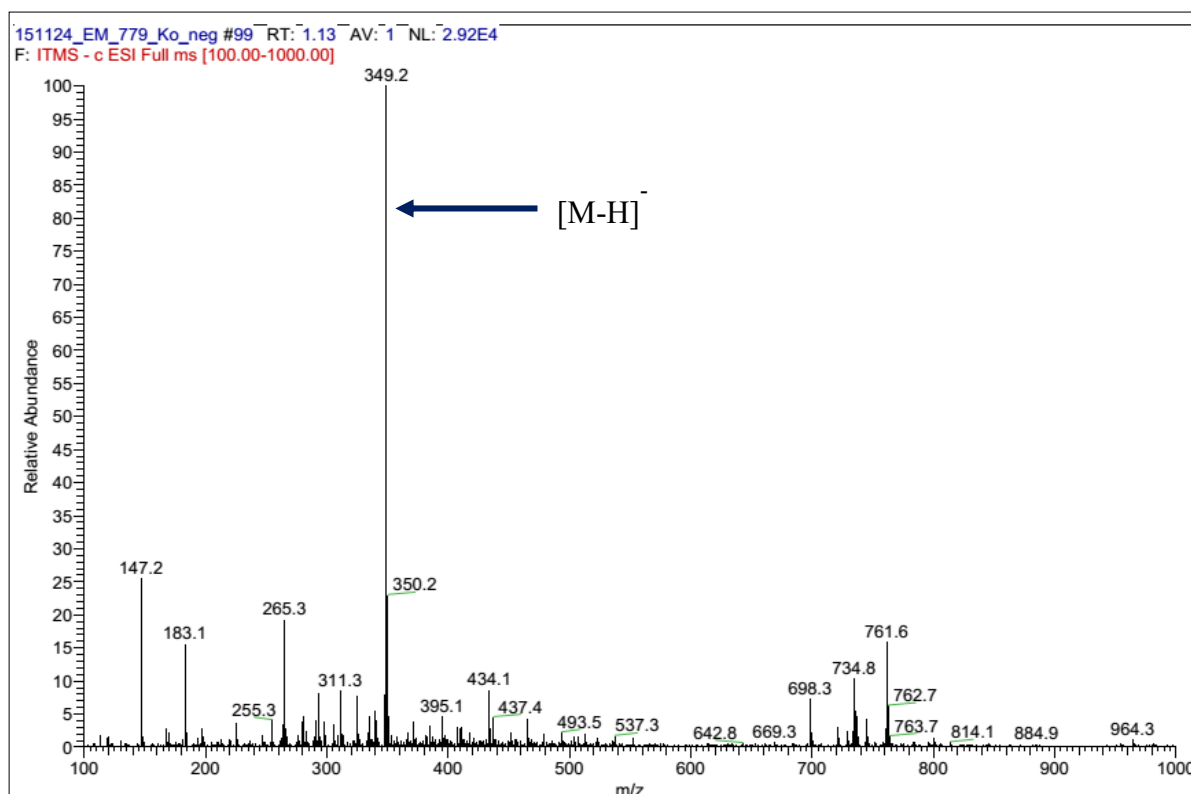


Figure 19: Spectre de masse ESI-MS du composé CZ2

Le spectre IR (figure 20) présente une bande d'absorption à 3374 cm^{-1} attribuable au groupe hydroxyle et une bande à 1648 cm^{-1} attribuable au carbonyle du groupe amide secondaire.

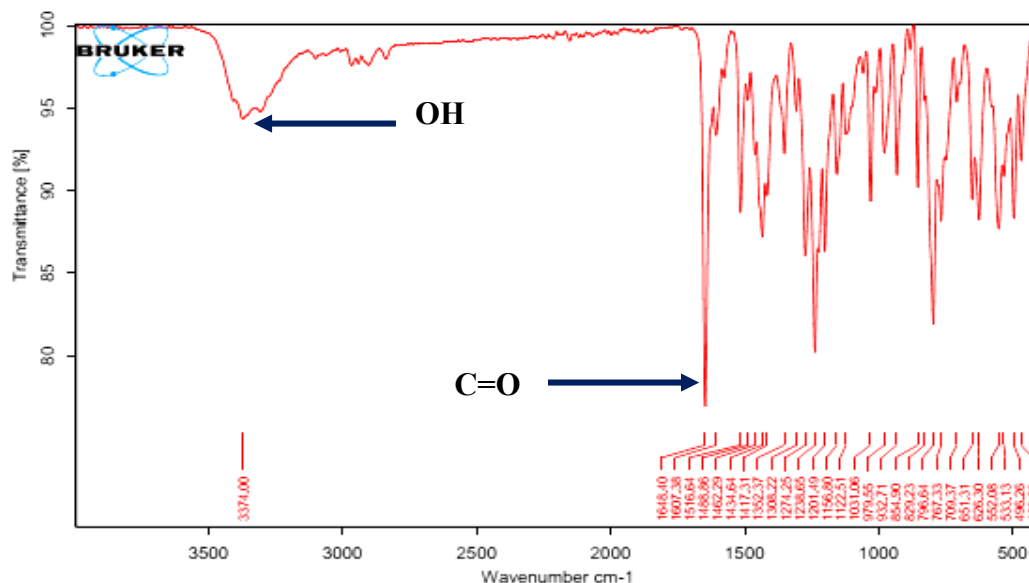


Figure 20: Spectre IR du composé CZ2

Le spectre RMN ^{13}C présente 20 signaux dont celui d'un carbonyle conjugué d'une amide à δ_{C} 171,5 ppm, 12 carbones aromatiques, deux méthines aliphatiques, deux méthylènes à δ_{C} 30,7 et 41,5 ppm et un carbone du groupe methoxy à δ_{C} 56,2 ppm.

Le spectre-RMN ^1H (figure 21) présente plusieurs types de protons :

- Un noyau benzénique trisubstitué formant un système ABM dont les signaux apparaissent à δ_{H} 6,95 (H-6', *dd*, $J= 8,1 \text{ Hz} ; J= 1,9 \text{ Hz}$) ; δ_{H} 7,12 (H-2', *d*, $J=1,9 \text{ Hz}$) ; et δ_{H} 6,85 ppm (H-5', *d*, $J= 8,1 \text{ Hz}$).
- Un noyau aromatique tétrasubstitué formant un système AB dont les signaux sont observés à δ_{H} 6,70 (H-6, *d*, $J=8,6 \text{ Hz}$) et δ_{H} 7,27 ppm (H-7, *d*, $J=8,6 \text{ Hz}$).
- Un système aliphatique de quatre protons méthyléniques à δ_{H} 4,10 et δ_{H} 3,55 (H-9a,b, *m*, $J=15,18; 4,32 \text{ Hz}$) d'une part et δ_{H} 3,04 et δ_{H} 3,14 (H-8ab, *s, m*, $J= 16,5 ; 3,5 \text{ Hz}$) attribuables au fragment $-\text{CH}_2-\text{CH}_2-\text{NH}-$ de la tryptamine (**Sato et al., 1985**).
- un ensemble de deux protons formant un système AX d'un dihydrofurane dont les signaux sont observés à δ_{H} 6,32 (H-7', *d*, $J=9,8 \text{ Hz}$) et δ_{H} 4,73 ppm (H-8', *d*, $J=9,8 \text{ Hz}$).
- Un singulet d'un proton indolique à δ_{H} 7,17 ppm(H-2).
- Un groupement méthoxyles dont les protons apparaissent à δ_{H} 3,83 ppm.

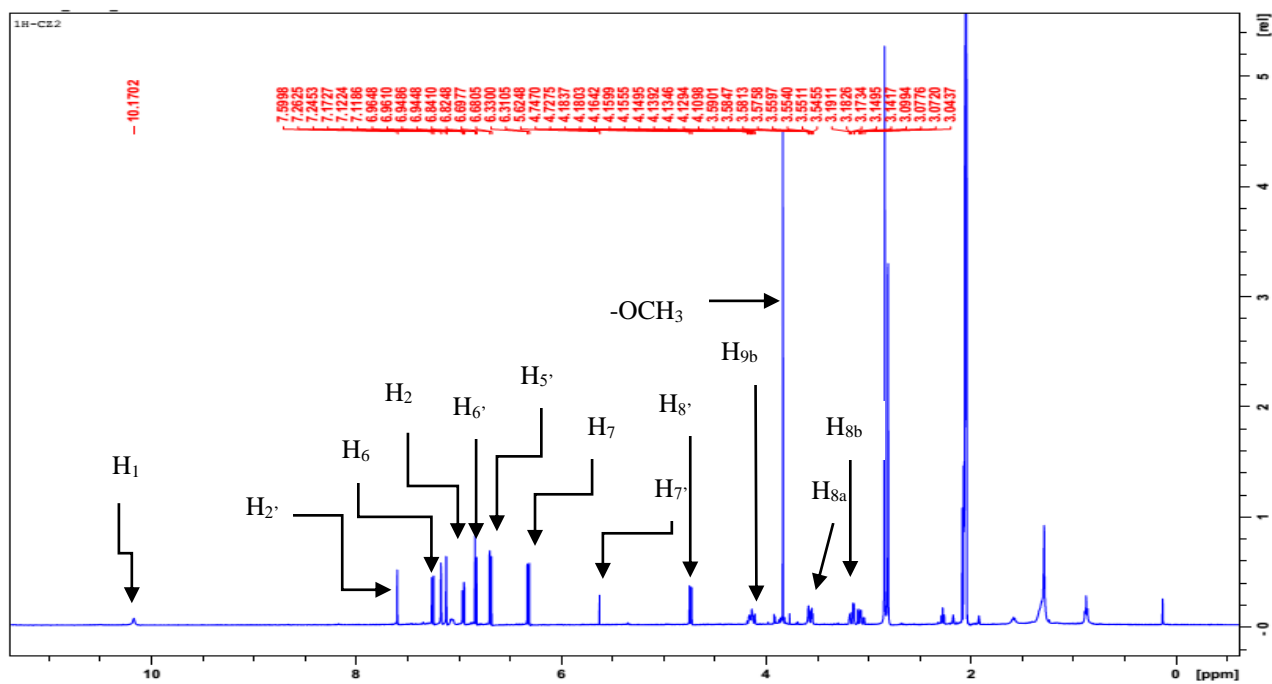
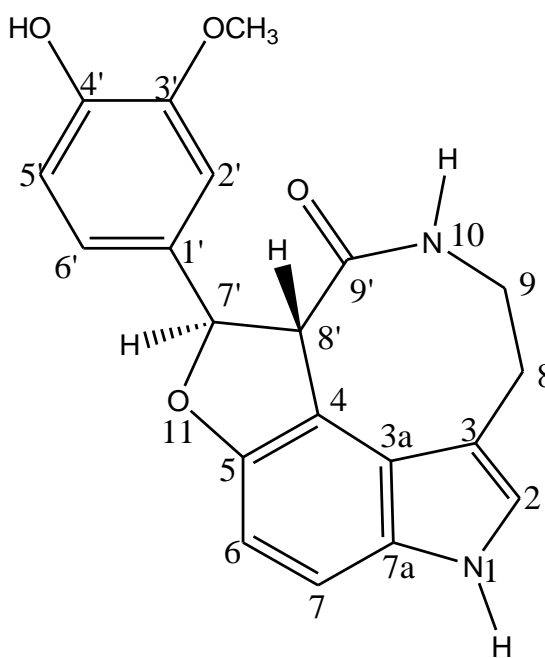


Figure 21: Spectre RMN ^1H de CZ2 (500 MHz, $\text{DMSO-}d_6$)

Le spectre HSQC nous a permis d'attribuer à chaque carbone protoné un déplacement chimique au proton concerné.

Des analyses précédentes, il en ressort que le composé CZ2 est un alcaloïde indolique identifié à la sérotobenine (**18**) isolée pour la première fois des grains de *Carthamus tinctorius L.* par Sato *et al.*, (1985).



Sérotobenine (18)

Tableau 12: Données spectrales RMN ^1H et ^{13}C de CZ2 (500 MHz et 125 MHz, DMSO- d_6) comparé à la sérotobénine (500 MHz et 125 MHz, Acetone- d_6)

N°	CZ2 (exp.)				Sérotobénine (litt.)			
	δ_{C} (ppm)	δ_{H} (ppm)	<i>m</i>	<i>J</i> (Hz)	δ_{C} (ppm)	δ_{H} (ppm)	<i>m</i>	<i>J</i> (Hz)
1		10,2				12,0	<i>brs</i>	
2	125,6	7,2	<i>s</i>		125,7	7,3	<i>brs</i>	
3	112,2				111,8			
3a	123,9				123,8			
4	114,4				114,9			
5	148,8				153,5			
6	104,5	6,7	<i>d</i>	8,6	105,2	7,1		8,5
7	111,2	7,3	<i>d</i>	8,6	112,1	7,5		8,2
7a	134,4				134,0			
8a	30,7	3,0-3,1	<i>m</i>		30,5	3,2	<i>m</i>	
8b	30,7	3,1-3,2	<i>m</i>		30,5	3,2	<i>m</i>	
9a	41,5	3,6-3,6	<i>m</i>	15,2; 4,3	41,1	3,6	<i>m</i>	15,9; 4,4
9b	41,5	4,1-4,2	<i>m</i>	15,2; 4,3	41,1	3,6	<i>m</i>	11,0; 4,4
10		8,17 ; 4,1	<i>dd</i>	10,9; 4,3		8,7	<i>dd</i>	11,0; 4,4
1'	133,9				133,9			
2'	110,7	7,6	<i>d</i>	2,0	110,9	7,5	<i>brs</i>	
3'	153,7				148,8			
4'	147,2				148,1			
5'	120,1	6,9	<i>d</i>	8,2	116,6	7,3	<i>d</i>	8,2
6'	115,1	7,0	<i>dd</i>	8,2 ; 2,0	120,0	7,4	<i>d</i>	8,1
7'	85,4	6,3	<i>d</i>	9,8	85,5	7,1	<i>d</i>	9,7
8'	55,2	4,7	<i>d</i>	9,8	55,7	5,1	<i>d</i>	9,6
9'	171,5				171,8			
O- CH ₃	56,2	3,8	<i>s</i>		55,6	3,7	<i>s</i>	

II.1.2.3. Identification de CZ3 au β -sitostérol 3-O- β -D-glucopyranoside

Le composé CZ3 se présente sous forme de poudre blanche dont le point de fusion se situe entre 257 – 259 °C. Son spectre de masse HR-ESIMS en mode positif (figure 22) indique la présence du pic de l'adduit sodique à $[M+Na]^+$ à m/z 599,4283 (calc. 599,4288) correspondant à la formule brute $C_{35}H_{60}O_6$ renfermant 6 insaturations.

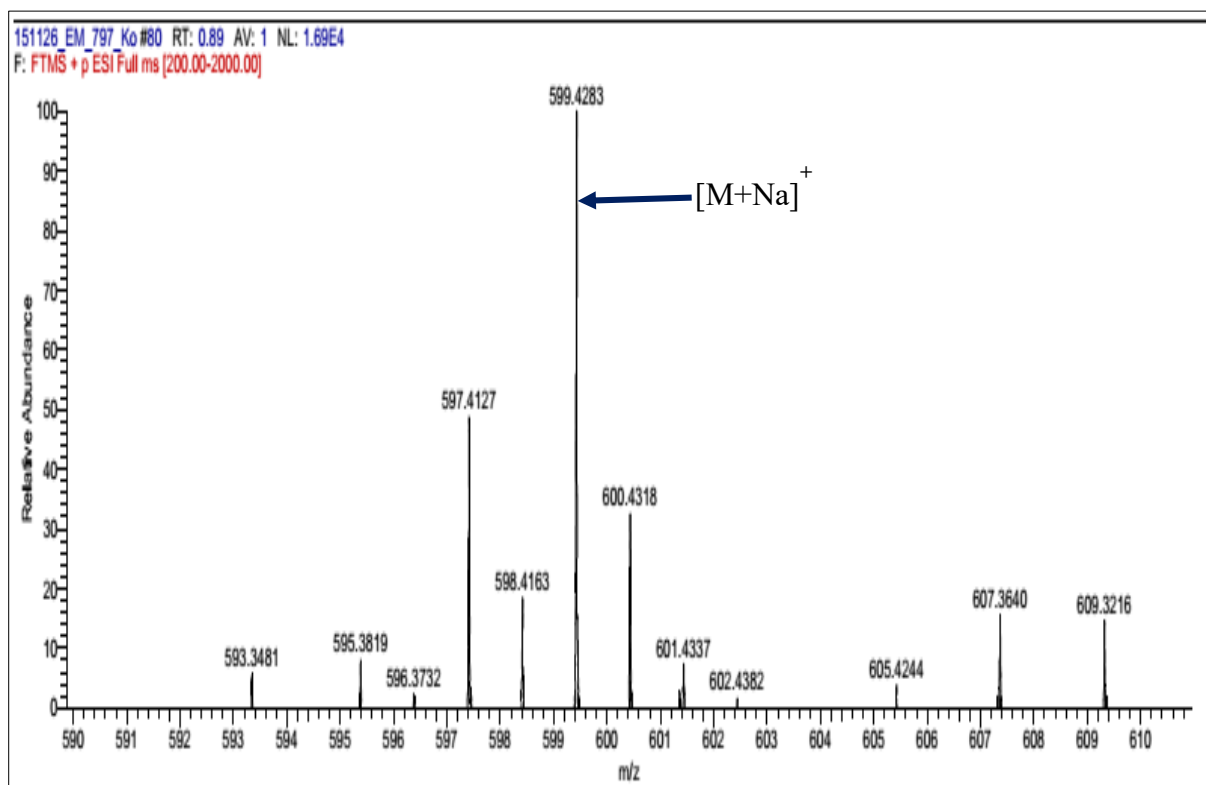


Figure 22: Spectre de masse (+)-HRESIMS du composé CZ3

Le spectre RMN 1H (figure 23) révèle la présence de :

- trois signaux méthyles sous forme de doublet à δ_H 0,76 ppm (H-26) ; 0,77 ppm (H-27) et 0,82 ppm (H-21) ppm ;
- deux signaux méthyles apparaissant sous forme de singulet à δ_H 0,66 ppm (H-18) et 0,96 ppm (H-19);
- le signal du méthyle terminal à δ_H 0,79 ppm (H-29).
- le signal d'un proton méthine apparaissant sous forme de multiplet à δ_H 3,47 ppm, appartenant au proton H-3 de l'aglycone;
- un signal sous forme de multiplet à δ_H 5,32 ppm (H-6), indiquant la présence d'une double liaison trisubstituée.

Ce spectre a également montré la présence d'un proton anomérique (H-1') d'une unité glycosidique et qui apparaît à 4,22 ppm. Les protons H-6' méthylène ont été observés sous

forme de deux doublets dédoublés à δ_H 3.61 (1H, *dd*, $J = 11,4$ et $5,6$ Hz, H-6'a) et 3,41 (1H, *dd*, $J = 11,4$ et $5,6$ Hz, H-6'b).

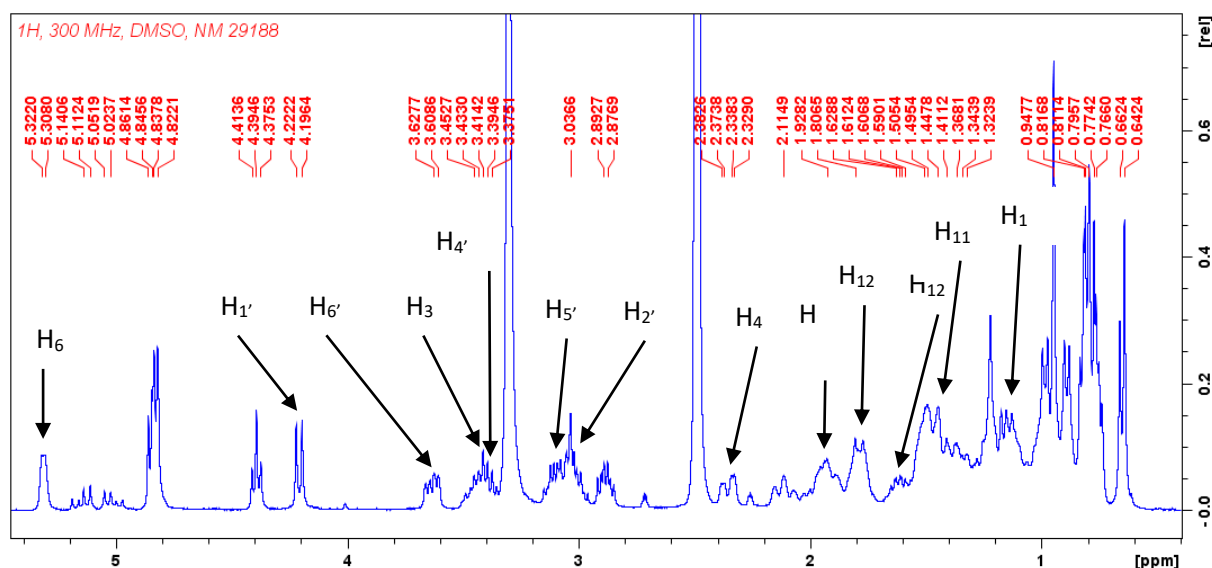
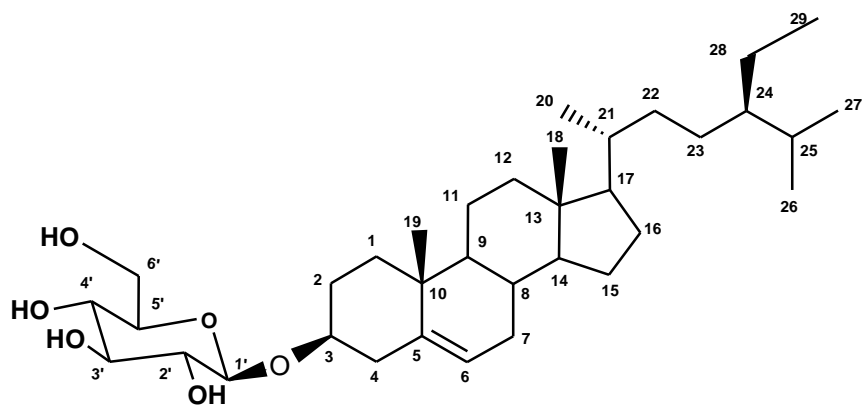


Figure 23: Spectre RMN ^1H de CZ3 (500 MHz, DMSO- d_6)

Les spectres RMN ^{13}C et les séquences DEPT montrent la présence de deux atomes de carbones éthylénique. Le premier correspondant à un CH à $\delta_c = 122,2$ ppm et le second à un atome de carbone quaternaire à $\delta_c 140,5$ ppm, soit des valeurs de déplacement chimiques caractéristiques des positions C-5 et C-6 d'un stérol. Par ailleurs, on note la présence de six groupements méthyles. Le spectre HMBC du composé CZ3 présente une corrélation entre le signal du proton résonnant à $\delta_H 3,47$ ppm (H-3) et celui du carbone anomérique apparaissant à $\delta_c 101,6$ ppm (C-1') : ce qui démontre l'emplacement du glucosyle sur l'oxygène de l'aglycone et permet d'en déduire que l'on est en présence d'un *O*-glucoside (Tableau 13).

L'analyse des données spectrales nous permet alors d'en déduire que l'aglycone comprend : une double liaison trisubstituée, six groupements méthyles, huit carbones méthyniques dont un situé à côté d'un hétéroatome, onze carbones méthyléniques et deux carbones quaternaires. La comparaison des données spectrales 1D et 2D du composé CZ3 avec celles de la littérature nous a permis de l'identifier au β -sitostérol 3-*O*- β -D-glucopyranoside (**55**), composé isolé de *Urtica dioica* (Kavtaradze *et al.*, 2020).



β -sitostérol 3-O- β -D-glucopyranoside (55)

Tableau 13: Données spectrales RMN ^1H et ^{13}C de CZ3 (500 MHz et 125 MHz, DMSO- d_6) comparé au β -sitostérol 3- O - β -D-glucopyranoside (500 MHz et 125 MHz, CDCl_3)

N°C	CZ3 (exp)				β -sitostérol 3- O - β -D-glucopyranoside (litt.)			
	δ_{C} (ppm)	δ_{H} (ppm)	m	J (Hz)	δ_{C} (ppm)	δ_{H} (ppm)	m	J (Hz)
1	38,8	1,81; 1,01	<i>m</i>		37,6	1,83; 1,05	<i>m</i>	
2	29,9	1,90; 1,50	<i>m</i>		30,2	1,87; 1,54	<i>m</i>	
3	81,1	3,47	<i>m</i>		79,4	3,52	<i>m</i>	
4	44,0	2,27; 2,38	<i>m</i>		40,1	2,23; 2,36	<i>m</i>	
5	140,5				140,7			
6	122,2	5,32	<i>m</i>		122,4	5,33	<i>m</i>	
7	33,2	1,93; 1,45	<i>m</i>		32,2	1,93; 1,44	<i>m</i>	
8	33,1	1,42	<i>m</i>		32,2	1,42	<i>m</i>	
9	50,2	0,91	<i>m</i>		50,5	0,92	<i>m</i>	
10	37,2				37			
11	21,8	1,42; 1,50	<i>m</i>		21,4	1,41; 1,48	<i>m</i>	
12	40,3	1,80; 1,13	<i>m</i>		39	1,98; 1,13	<i>m</i>	
13	42,9				42,6			
14	57,3	0,99	<i>m</i>		57,1	0,97	<i>m</i>	
15	25,7	1,01	<i>m</i>		24,6	1,05; 1,55	<i>m</i>	
16	29,7	1,93; 1,23	<i>m</i>		29,2	1,82; 1,24	<i>m</i>	
17	56,3	1,07	<i>m</i>		56,2	1,10	<i>m</i>	
18	12,5	0,66	<i>s</i>		12,3	0,70	<i>s</i>	
19	19,4	0,96	<i>s</i>		19,5	0,97	<i>s</i>	
20	37,4	1,33	<i>d</i>		36,5	1,33	<i>d</i>	
21	19,8	0,82	<i>m</i>	6,3	19	0,88	<i>m</i>	6,7
22	39,7	1,29; 0,98	<i>m</i>		34,2	1,30; 0,98	<i>m</i>	
23	25,5	1,16	<i>m</i>		26,3	1,13	<i>m</i>	
24	45,6	0,89	<i>m</i>		46,2	0,90	<i>m</i>	
25	29,9	1,62	<i>m</i>		29,4	1,63	<i>m</i>	
26	18,4	0,76	<i>d</i>	6,5	19,2	0,76	<i>d</i>	6,2
27	20,5	0,77	<i>d</i>	4,7	20	0,80	<i>d</i>	5,1
28	23,7	1,18; 1,16	<i>m</i>		23,3	1,25; 1,20	<i>m</i>	
29	11,6	0,79	<i>t</i>	7,2	12,3	0,81	<i>t</i>	7,7
1'	101,6	4,22	<i>d</i>	7,8	101,4	4,36	<i>d</i>	7,0
2'	74,7	3,13	<i>t</i>	7,8	73,9	3,19	<i>t</i>	7,0
3'	77,0	3,40	<i>m</i>		76,8	3,38	<i>m</i>	
4'	70,9	3,38	<i>m</i>		70,6	3,36	<i>m</i>	
5'	76,6	3,04	<i>m</i>		76,3	3,24	<i>m</i>	
6'	61,6	3,61; 3,41	<i>dd</i>	5,6; 11,4	62,1	3,80; 3,70	<i>dd</i>	2,8; 12

II.1.2.4. Identification de CZ4 à la lophirone A

Le composé CZ4 se présente sous forme de cristaux oranges solubles dans le méthanol. Son spectre de masse ESI-MS en mode positif (figure 24) indique la présence du pic de l'adduit sodique $[M+Na]^+$ à m/z 533,3 (calc. 533,1) correspondant à la formule brute $C_{30}H_{22}O_8$.

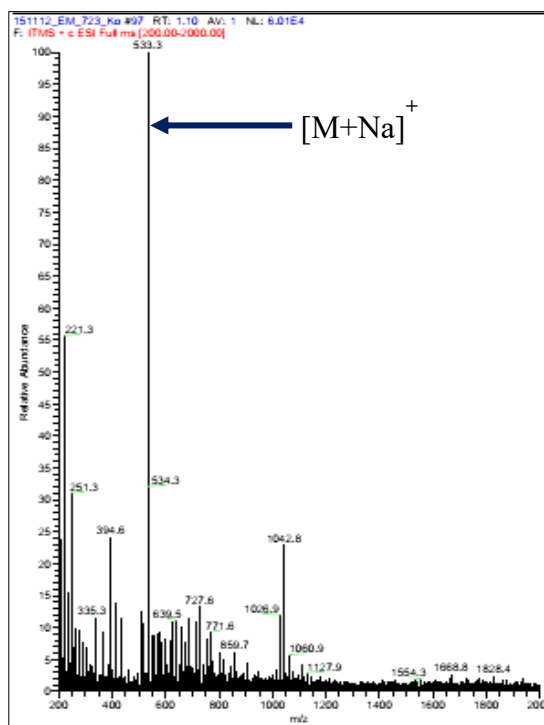


Figure 24: Spectre de masse ESI-MS du composé CZ4

Son spectre IR montre des bandes d'absorption à ν_{\max} : 3302 (-OH), 1699 (C=O conjugué), 1656 (C=C), 1629 (C=O conjugué et chélaté) et 1510 cm^{-1} (noyaux benzéniques).

Son spectre RMN ^1H présente les systèmes de protons suivants :

- Huit protons aromatiques 1,4-disubstitués (noyaux B et B') formant deux systèmes AA'BB'.
- Six protons aromatiques 1,2,4-trisubstitués (noyau A et A') formant deux systèmes ABX.
- Deux protons aliphatiques (H-10 et H-18) formant un système AB.
- Un singulet à δ_{H} 8,33 ppm (H-1) caractéristique des protons des isoflavones (**Ghogomu et al., 1997**).

Le spectre RMN ^{13}C (figure 25) présente :

- deux carbonyles à δ_{C} 203,2 ppm (C-11) et δ_{C} 173,9 ppm (C-3) attribuables respectivement aux fonctions carbonyle chélaté du noyau A' et à un carbonyle d'un motif isoflavone.
- deux carbones méthines formant deux doublets chacun à δ_{C} 42,9 ppm (C-10) et 51,3 ppm (C-18)

- les 26 autres sont des carbones sp^2 dont sept d'entre eux portent un atome d'oxygène (δ_c 155,4-165,0 ppm). (Ghogomu *et al.*, 1987)

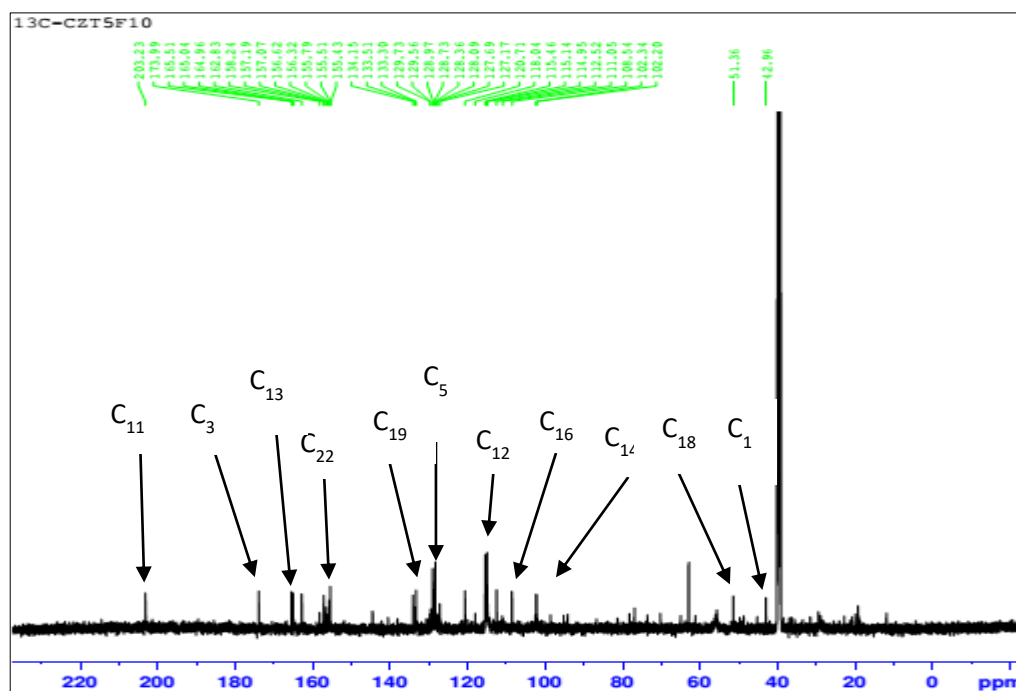
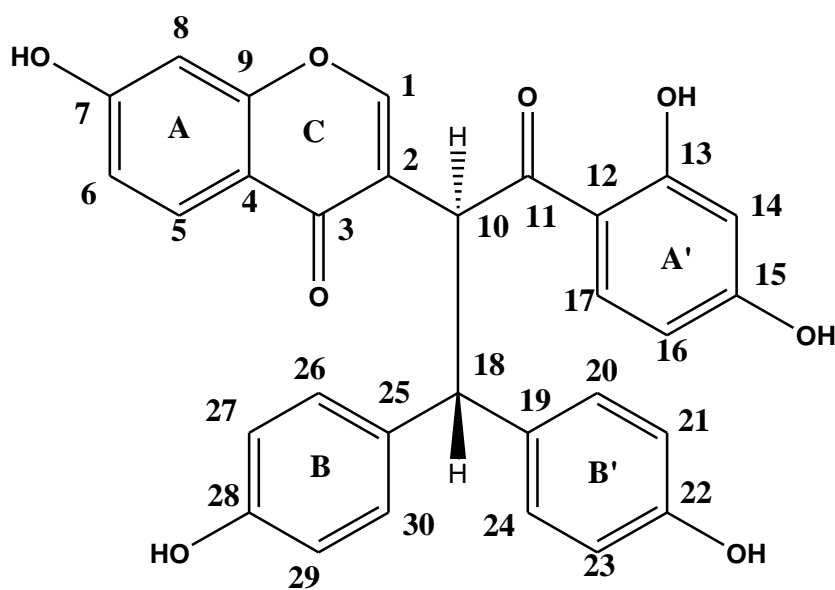


Figure 25: Spectre RMN ^{13}C de CZ4 (500 MHz, DMSO- d_6)

L'ensemble des informations obtenues après analyse de toutes les données spectrales (RMN 1D et 2D) et des données de la littérature ont permis d'identifier CZ4 à un biflavonoïde nommé lophirone A (50), isolé des écorces de *Lophira lanceolata* (Ghogomu *et al.*, 1987).



Lophirone A (50)

Tableau 14: Données spectrales RMN ^1H et ^{13}C de CZ4 (500 MHz et 125 MHz, DMSO- d_6) comparées à la lophirone A (400 MHz; 100 MHz, Acétone- d_6)

N°C	CZ4 (exp.)				Lophirone A (litt.)			
	δ_{C} (ppm)	δ_{H} (ppm)	<i>m</i>	J(Hz)	δ_{C} (ppm)	δ_{H} (ppm)	<i>m</i>	J (Hz)
1	157,0	8,33	<i>s</i>		156,4	8,27	<i>s</i>	
2	120,7				122,1			
3	173,9				175,4			
4	118,0				117,2			
5	128,4	7,80	<i>d</i>	8,72	128,2	7,94	<i>d</i>	8,8
6	118,0	6,84	<i>dd</i>	8,72 ; 2,25	115,9	6,91	<i>dd</i>	8,8 ; 2,3
7	162,8				163,4			
8	102,3	6,72	<i>d</i>	2,25	103,2	6,77	<i>d</i>	2,3
9	158,2				158,5			
10	42,9	5,93	<i>d</i>	12,4	43,9	6,14	<i>d</i>	12,3
11	203,2				204,5			
12	114,9				114,1			
13	165,5				166,8			
14	102,2	6,19	<i>d</i>	2,20	103,3	6,20	<i>d</i>	2,4
15	165,0				166,1			
16	108,5	6,37	<i>dd</i>	8,90; 2,20	109,0	6,44	<i>dd</i>	9,0; 2,4
17	134,2	8,21	<i>d</i>	8,90	134,4	8,34	<i>d</i>	9,0
18	51,3	4,66	<i>d</i>	12,27	53,4	4,79	<i>d</i>	12,3
19	133,3				134,6			
20	128,7	7,24	<i>m</i>		130,0	7,26	<i>m</i>	
21	115,4	6,53	<i>m</i>		115,8	6,61	<i>m</i>	
22	155,4				156,4			
23	115,4	6,53	<i>m</i>		115,8	6,61	<i>m</i>	
24	128,9	7,24	<i>m</i>		130,0	7,26	<i>m</i>	
25	133,3				135,6			
26	129,6	7,24	<i>m</i>		129,4	7,26	<i>m</i>	
27	115,1	6,53	<i>m</i>		115,9	6,65	<i>m</i>	
28	155,5				156,5			
29	115,1	6,53	<i>m</i>		115,9	6,65	<i>m</i>	
30	129,7	7,24	<i>m</i>		129,4	7,26	<i>m</i>	

II.1.2.5. Identification de CZ5 à la lophirone F

Le composé CZ5 se présente sous forme d'une poudre blanche soluble dans le méthanol. Son spectre de masse ESI-MS en mode négatif (figure 26) indique la présence du pic de l'adduit sodique à $[M+Na+2H]^{3+}$ à m/z 553.3 (calc. 553,1) suggérant la formule brute $C_{30}H_{24}O_9$.

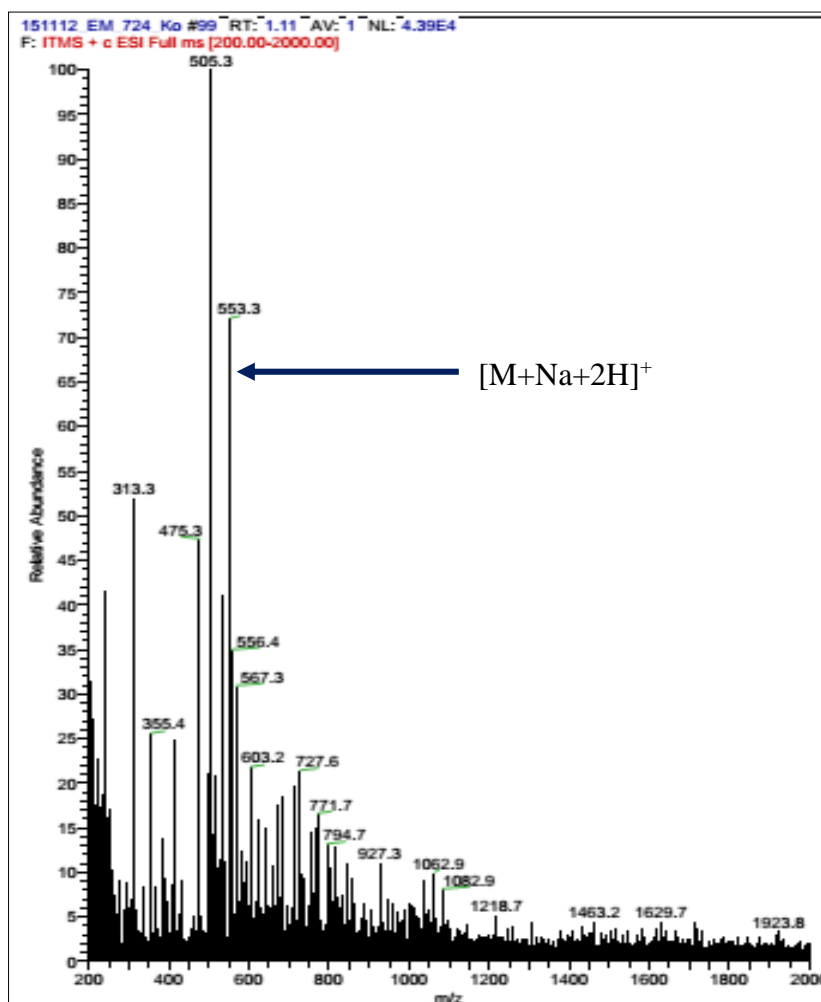


Figure 26: Spectre de masse ESI-MS du composé CZ5

Son spectre IR montre des bandes d'absorptions à ν_{\max} : 3370 cm^{-1} (groupe hydroxyl), 1620 cm^{-1} (groupe carbonyle chélaté et conjugué), 1518 cm^{-1} (noyau aromatique).

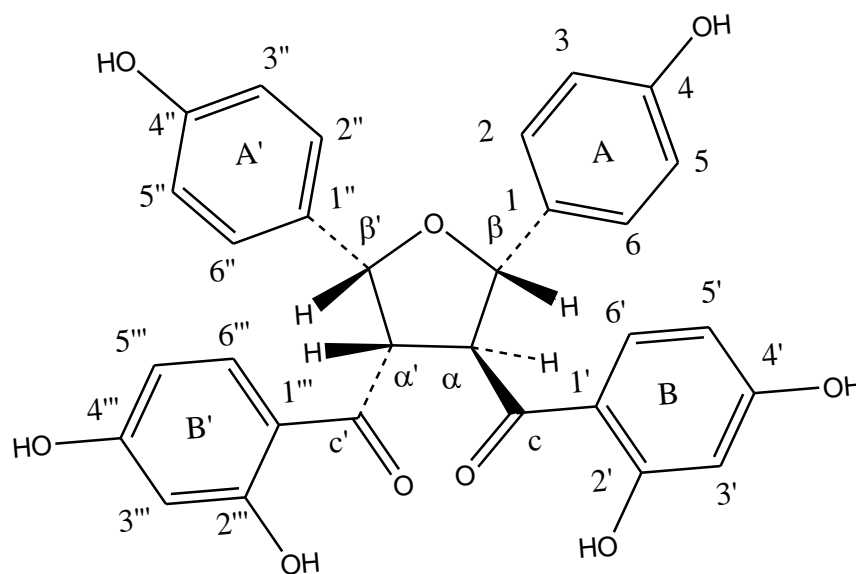
Son spectre RMN ^{13}C présente les signaux de 30 atomes de carbone parmi lesquels on retrouve :

- deux carbonyles à δ_c 202,5 C(c') et 203,0 ppm C(c).
- quatorze carbones méthines aromatiques.
- six carbones quaternaires portant des atomes d'oxygène situés entre δ_c 156,0 et 167,9 ppm..
- quatre méthines sp^3 dont deux sont liés à un atome d'oxygène entre δ_c 84,0 et 84,3 ppm.

L'analyse des spectres RMN ^1H et COSY présente :

- Deux noyaux (A et A') portant chacun un groupe hydroxyphenyl et possédant chacun un système A_2B_2 ;
- deux noyaux (B et B') portant chacun un groupe *o,p*-dihydroxybenzoyl possédant chacun un système ABX ;
- un noyau tetrahydrofurane tétrasubstitué portant α et α' deux carbonyles à δ_c 202,5 ppm C(β); 203,0 C(α) ;
- deux signaux de protons hydroxy fortement chelaté à δ_H 12,54 et 12,74 ppm sur le spectre RMN ^1H .

L'ensemble des résultats obtenues après analyse spectrale (RMN 1D et 2D) et des données issues de la littérature ont permis d'identifier CZ5 à un dimère de chalcone nommé Lophirone F (**74**), précédemment isolé des écorces de *Lophira lanceolata* (**Ghogomu et al., 1990**).



Lophirone F (74)

Tableau 15: Données spectrales RMN ^1H et ^{13}C (300 MHz et 75 MHz, DMSO- d_6) de CZ5 comparé à la Lophirone F (400 MHz et 100 MHz, Acétone- d_6)

N°C	CZ5 (exp.)				Lophirone F (litt.)			
	δ_{C} (ppm)	δ_{H} (ppm)	<i>m</i>	<i>J</i> (Hz)	δ_{C} (ppm)	δ_{H} (ppm)	<i>m</i>	<i>J</i> (Hz)
1'	114,8				114,1			
2'	167,9				166,9			
3'	103,9	6,10	<i>d</i>	2,2	103,4	6,24	<i>d</i>	2,4
4'	165,2				166,5			
5'	107,3	6,10	<i>dd</i>	8,8; 2,2	109,0	6,20	<i>dd</i>	8,8; 2,4
6'	133,9	7,26	<i>d</i>	8,8	134,2	7,41	<i>d</i>	8,8
c	203,0				203,4			
α	56,0	4,66	<i>dd</i>	9,8; 8,0	56,1	4,88	<i>dd</i>	9,9; 7,9
β	84,3	5,40	<i>d</i>	9,0	85,0	5,13	<i>d</i>	9,0
1	132,5				131,0			
2	127,8	7,02	<i>m</i>		129,0	7,43	<i>m</i>	
3	114,9	6,73	<i>m</i>		116,1	6,83	<i>m</i>	
4	156,3				158,4			
5	114,9	6,73	<i>m</i>		116,1	6,83	<i>m</i>	
6	127,8	7,02	<i>m</i>		129,0	7,43	<i>m</i>	
1'''	114,8				114,4			
2'''	167,9				166,1			
3'''	103,9	6,79	<i>d</i>	2,2	103,1	6,08	<i>d</i>	2,4
4'''	164,8				165,8			
5'''	108,3	6,00	<i>dd</i>	8,8; 2,2	108,7	6,33	<i>dd</i>	8,9; 2,4
6'''	133,1	7,81	<i>d</i>	8,8	134,4	7,78	<i>d</i>	8,9
c'	202,5				202,3			
α'	56,7	4,65	<i>dd</i>	9,6; 8,0	57,3	5,02	<i>dd</i>	9,2; 7,9
β'	84,0	5,54	<i>d</i>	9,0	83,9	5,64	<i>d</i>	9,2
1''	130,4				129,7			
2''	127,4	6,96	<i>m</i>		129,6	7,21	<i>m</i>	
3''	115,5	6,79	<i>m</i>		115,2	6,59	<i>m</i>	
4''	156,0				157,8			
5''	115,5	6,79	<i>m</i>		115,2	6,59	<i>m</i>	
6''	130,4	6,96	<i>m</i>		129,6	7,21	<i>m</i>	

II.1.2.6. Détermination structurale de CZ6A

Le composé CZ6A a été obtenu sous forme d'une poudre orange, soluble au méthanol et répondant positivement au test de neu caractérisant les biflavonoïdes. Le spectre de masse HR-ESI-MS en mode négatif (figure 27) présente le pic de l'ion *pseudo*-moléculaire à m/z 559,1150 $[M-H]^-$ (calcd. 559,1147) suggérant une formule moléculaire $C_{30}H_{24}O_{11}$.

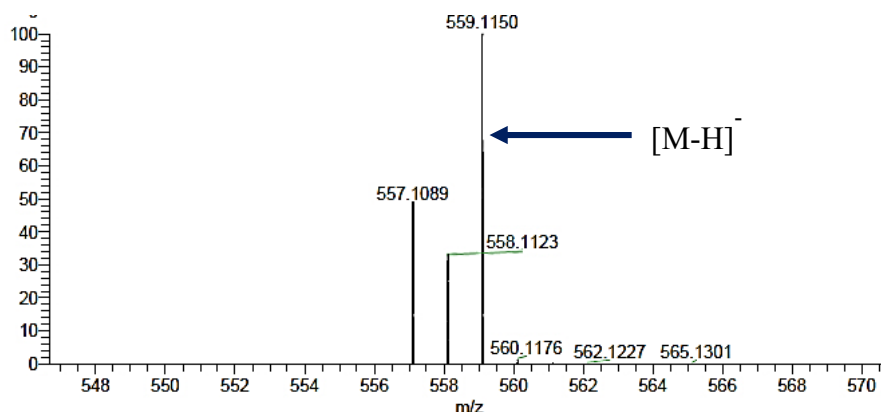


Figure 27: Spectre de masse du composé CZ6A

Son spectre IR (figure 28) présente des bandes d'absorption à 3267 cm^{-1} caractéristiques d'un groupement -OH phénolique, à 2923 cm^{-1} caractéristiques d'un groupement -CH aromatique, à 1595 cm^{-1} caractéristique d'un groupement C=C aromatique, et à 1159 cm^{-1} caractéristiques d'un groupement C-O des éthers.

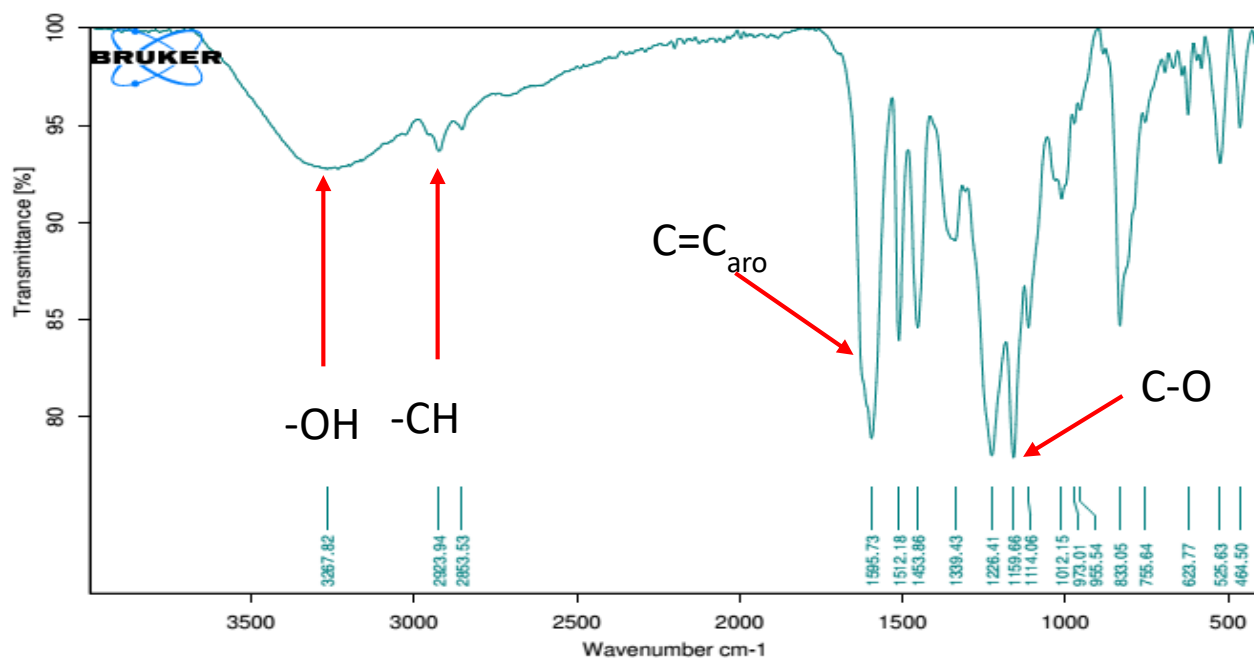


Figure 28: Spectre IR du composé CZ6A

L'allure du spectre RMN ^1H (figure 29) du composé CZ6A présente des signaux qui indiquent la possible présence de dimères au sein de la molécule. En effet, on note :

- des signaux à δ_{H} 2,47/2,68 et δ_{H} 3,20 ppm correspondants aux protons H-4'' $_{\alpha/\beta}$ et H-4 respectivement ;
- les signaux à δ_{H} 4,02/4,03 ppm correspondant aux protons H-3/H-3'' ;
- les signaux à δ_{H} 4,75/4,67 ppm correspondant aux protons H-2/H-2'' ;
- des signaux à δ_{H} 5,91 et δ_{H} 5,74 ppm attribuables aux protons aromatiques H-6 et H-8 du cycle A de l'unité supérieure (sous-structure I) et à 6,22 ppm (H-6'') du cycle A de l'unité inférieure (sous-structure II) ;
- des signaux entre δ_{H} 6,91 ; 6,68 et 6,89 ppm attribuables aux protons aromatiques H-2', H-5' et H-6' respectivement et appartenant deux cycles B ;
- des signaux entre δ_{H} 8,73 - 9,12 ppm attribuables aux groupements hydroxyles (OH) des 4 cycles aromatiques.

Sur ce spectre on note également l'absence d'un proton en H-8'' du cycle D de l'unité flavane à la sous-structure II ce qui montre que ce composé est dérivé de la série procyanidine B3. (Cádiz-Gurrea *et al.* 2014; Klika *et al.* 2015).

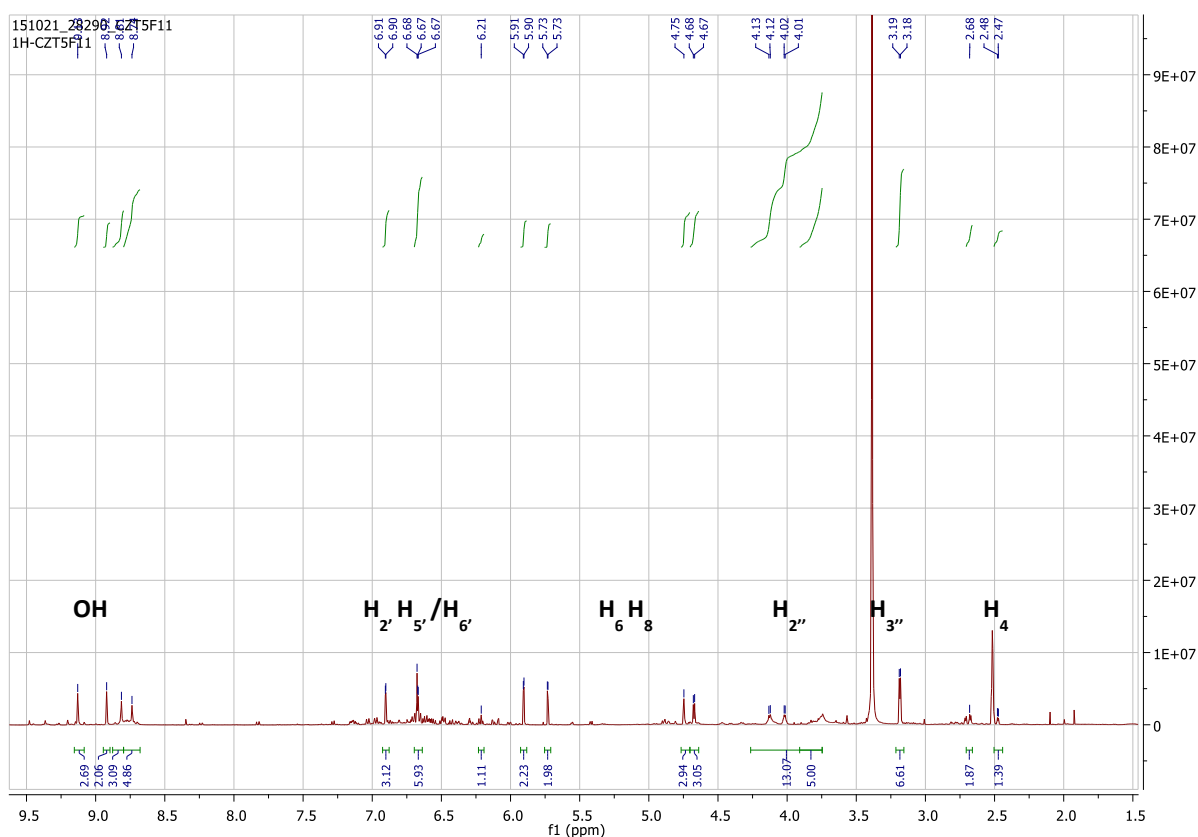


Figure 29: Spectre RMN ^1H de CZ6A (500 MHz, DMSO- d_6)

L'examen du spectre COSY (^1H - ^1H) (figure 30) montre que le composé CZ6A présente une corrélation entre :

- les protons H-2' ($\delta_{\text{H}} = 6,91$ ppm) et H-6' ($\delta_{\text{H}} = 6,67$ ppm) ;
- les protons H-6 ($\delta_{\text{H}} = 5,91$ ppm) et H-8 ($\delta_{\text{H}} = 5,74$ ppm) ;
- les protons H-2 ($\delta_{\text{H}} = 4,75$ ppm) et H-3 ($\delta_{\text{H}} = 4,02$ ppm) ;
- les protons H-2'' ($\delta_{\text{H}} = 4,67$ ppm) et H-3'' ($\delta_{\text{H}} = 4,03$ ppm) ;
- les protons H-3'' ($\delta_{\text{H}} = 4,03$ ppm) et H-4'' ($\delta_{\text{H}} = 2,47$ ppm).

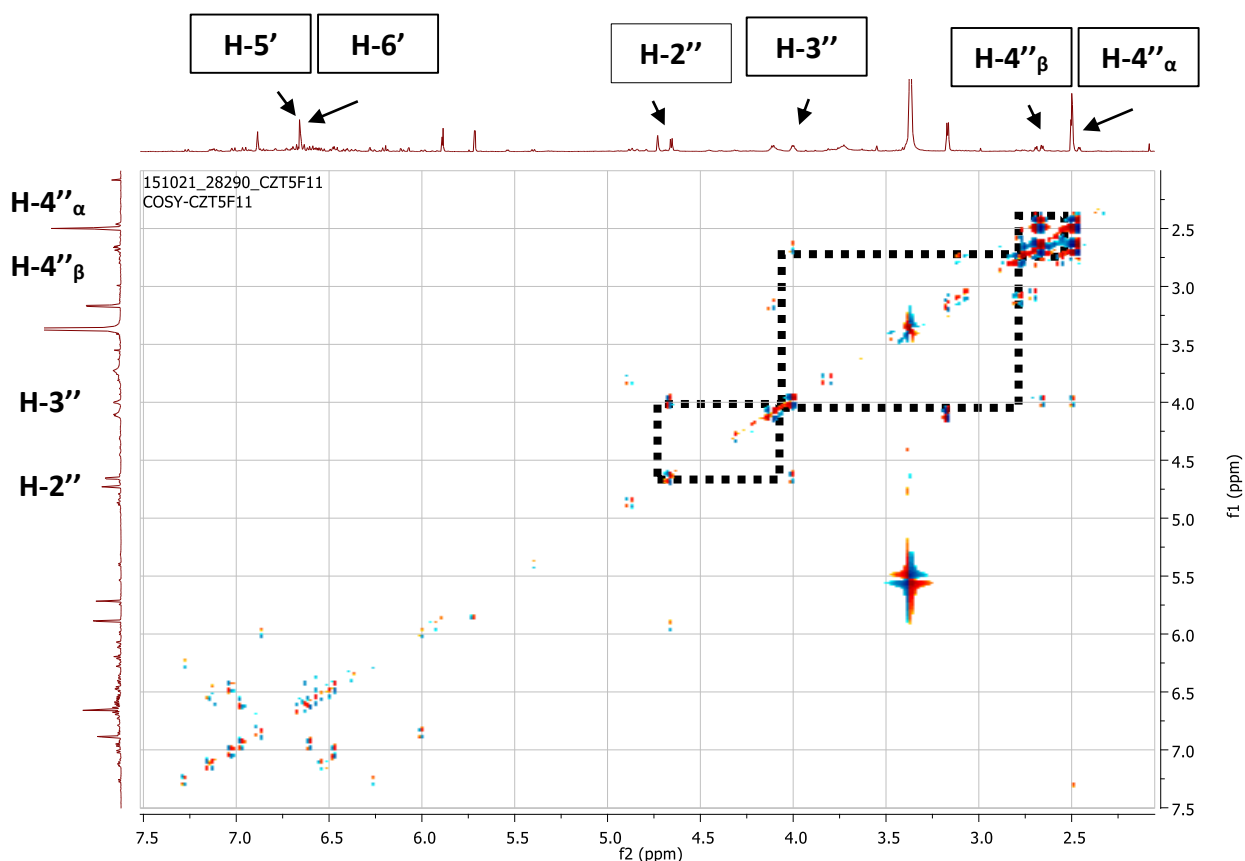


Figure 30: Spectre COSY de CZ6A (500 MHz, DMSO- d_6)

Sur le spectre RMN ^{13}C (figure 31) nous observons des signaux à $\delta_{\text{C}} = 78,5/78,3$ et $65,4/65,1$ ppm correspondant respectivement aux carbones C-2/2'' et C-3/3''. De même, observons le signal caractéristique du carbone C-4'' à $\delta_{\text{C}} = 28,7$ ppm d'une unité de type catéchine.

Les signaux des carbones CH aromatiques apparaissent respectivement à :

- 115,3/115,2 ppm et 118,4 ppm pour les carbones C-2'/C-2''', C- 5'/C-5''' et C-6'/C-6''' ;
- 95,5/98,9 ppm et 94,5 ppm pour les carbones C-6/C-6'' et C-8.

Les signaux des carbones quaternaires aromatiques :

- 156,7/157,0 ppm pour les carbones C-5/C-5''; 156,7/156,2 ppm pour les carbones C-7/C-7'', 156,0/156,7 ppm pour C-8a/C-8a''; et 99,7/98,9 ppm pour les carbones C-4a/C-4a'';
- 104,3 ppm pour C-8'' ;
- 120,3/131,0 ppm pour C-1'/C-1''' ; 145,0 ppm et 144,9 pour les carbones C-3'/C-3''' et C-4'/C-4'''.

Ce spectre révèle la présence de deux unités flavonoïdiques presque similaires: celle des unités flavanol à δ_C 78,2 (C-2''), 63,2 (C-3''), 28,7 (C-4'') (noyau F) et à δ_C 78,2 (C-2''), 63,2 (C-3''), 28,7 (C-4'') (noyau F)

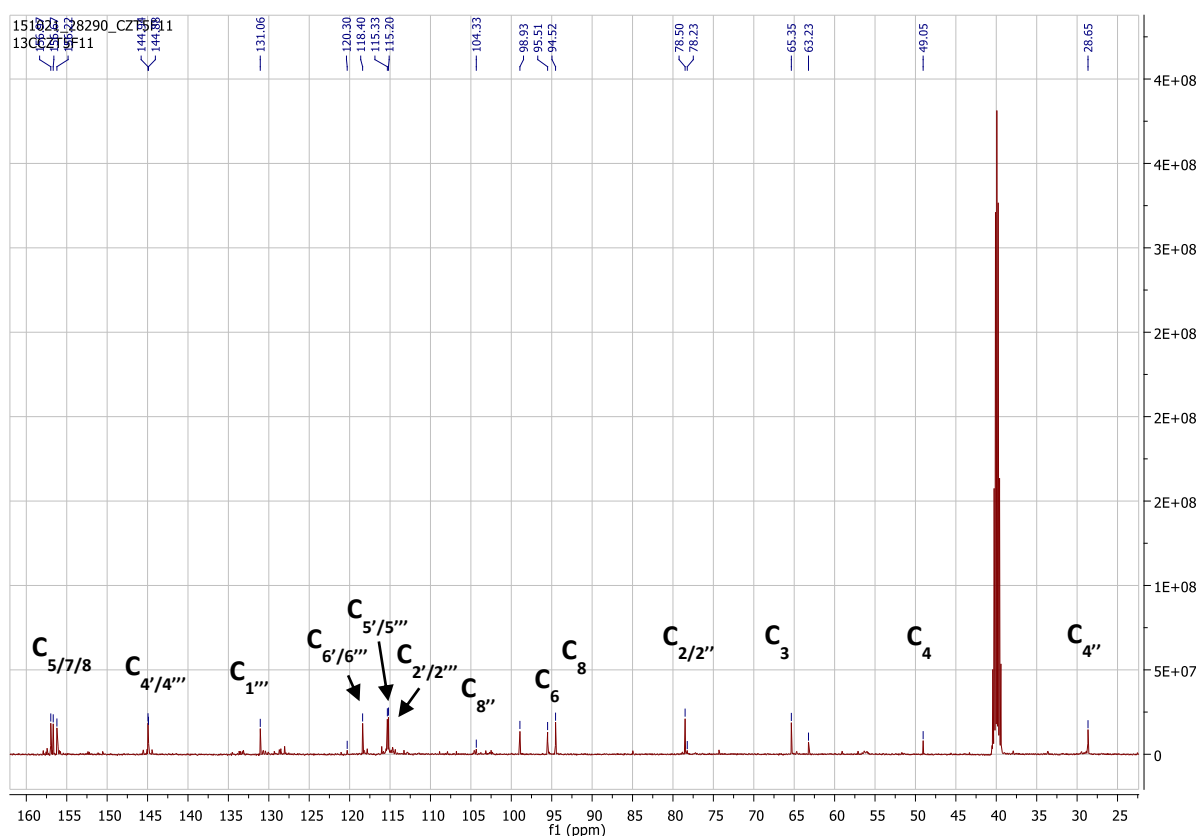


Figure 31: Spectre RMN ^{13}C de CZ6A (125 MHz, DMSO- d_6)

Sur le spectre HSQC (figure 32), les signaux à δ_H 4,65 (H-2''), 4,01 (H-3''), 2,66 et 2,46 (H-4'') de la sous structure II présentent des corrélations avec les carbones à δ_C 78,3 (C-2''), 63,0 (C-3'') et 28,5 ppm (C-4'') respectivement qui appartiennent à la sous-structure II du groupe catéchine (Mello *et al.* 1999; Wang *et al.* 2015).

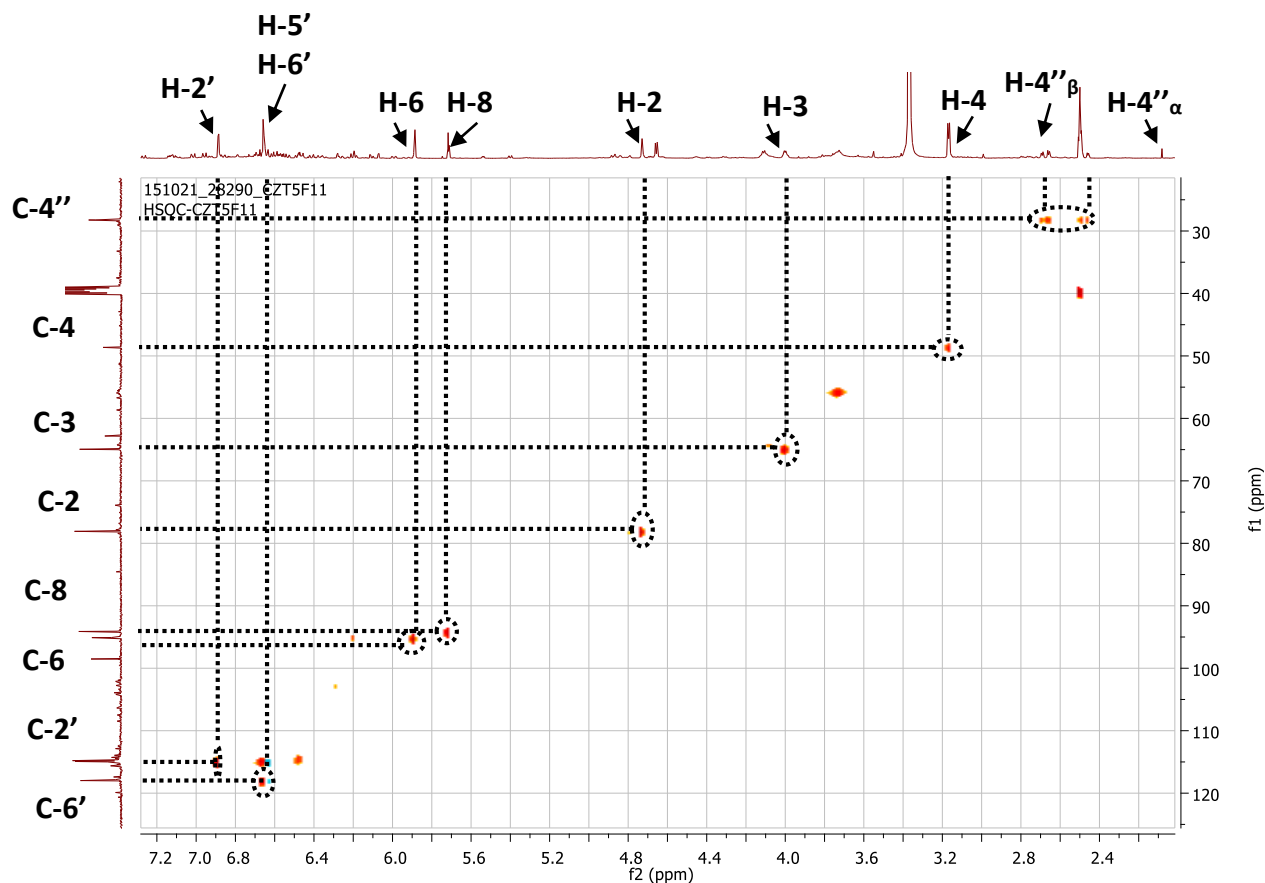


Figure 32: Spectre HSQC de CZ6A

Sur le spectre HMBC (figure 33), on note des corrélations entre les signaux à δ_H 5,91 (H-6) et les carbones à δ_C 156,7 (C-7), 94,5 (C-8) et 156,7 ppm (C-5). La présence d'un proton à δ_H 3,20 ppm lié au carbone C-4 de la sous-structure I indique une liaison inter flavonoïdique C-4→C-8'' au sein de ce composé. Ceci est confirmé avec la corrélation qui existe entre le proton H-6'' à δ_H 6,22 et le carbone C-8'' à δ_C 104,3 ppm (figure 34). Les déplacements chimiques dans les champs faibles des carbones C-4a et C-8'' en particulier à δ_C 99,9 et 104,3 ppm comparé à la littérature et aux vues du spectre de masse du composé indiquent la présence d'une liaison C-O-C confirmant la présence d'un cycle pyranique additionnel dans ce composé (Malan *et al.*, 1996; Messanga *et al.*, 1998; Taniguchi *et al.*, 2007; Ragab *et al.*, 2013; Wang *et al.*, 2015).

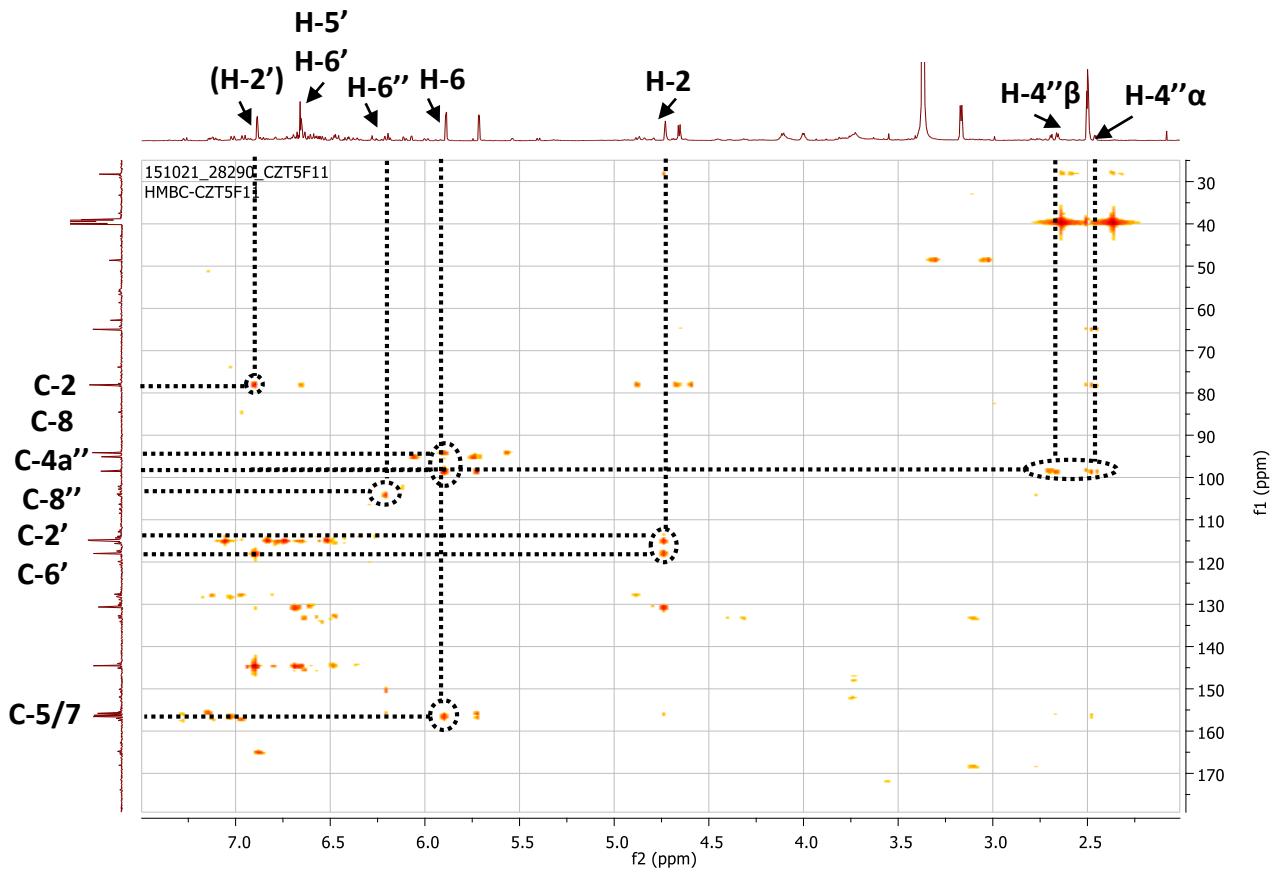


Figure 33: Spectre HMBC de CZ6A

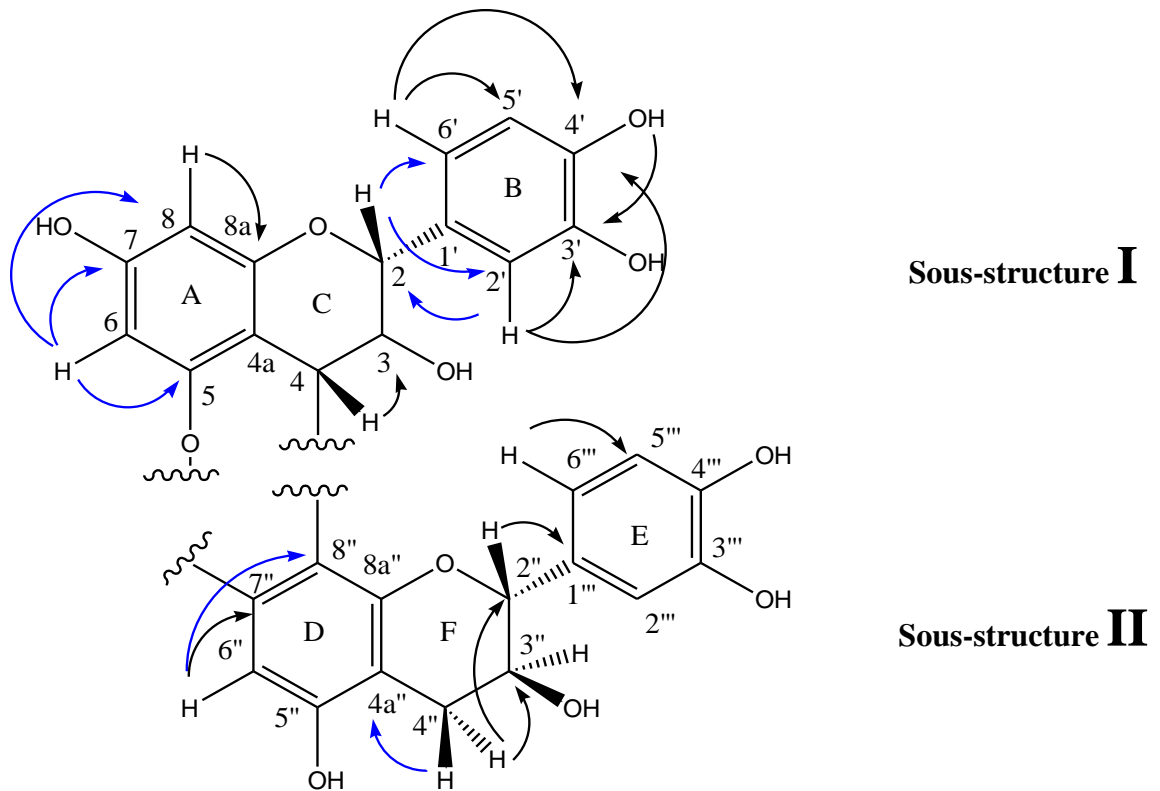


Figure 34: Principales corrélations (\rightarrow) HMBC observées sur les sous-structure I et II

Ces données confirment le fait que la catéchine constitue le squelette de base de cette molécule avec perte d'une molécule d'eau en vue de former un cycle pyranique supplémentaire.

Sur le spectre NOESY (figure 35), on note une corrélation entre les protons H-2'' ($\delta_H=4,68$; $J=9,5$ Hz) et H-3'' ($\delta_H=4,03$; $J=9,5$; $4,2$ Hz), entre H-4'' α ($\delta_H=2,47$; $J=16,5$; $4,2$ Hz) et H-3'' ($\delta_H=4,03$; $J=9,5$; $4,2$ Hz). En effet, Les constantes de couplage des protons des groupes cyclohexyls indiquent l'existence de positions *trans*-diaxiale (Tableau 16).

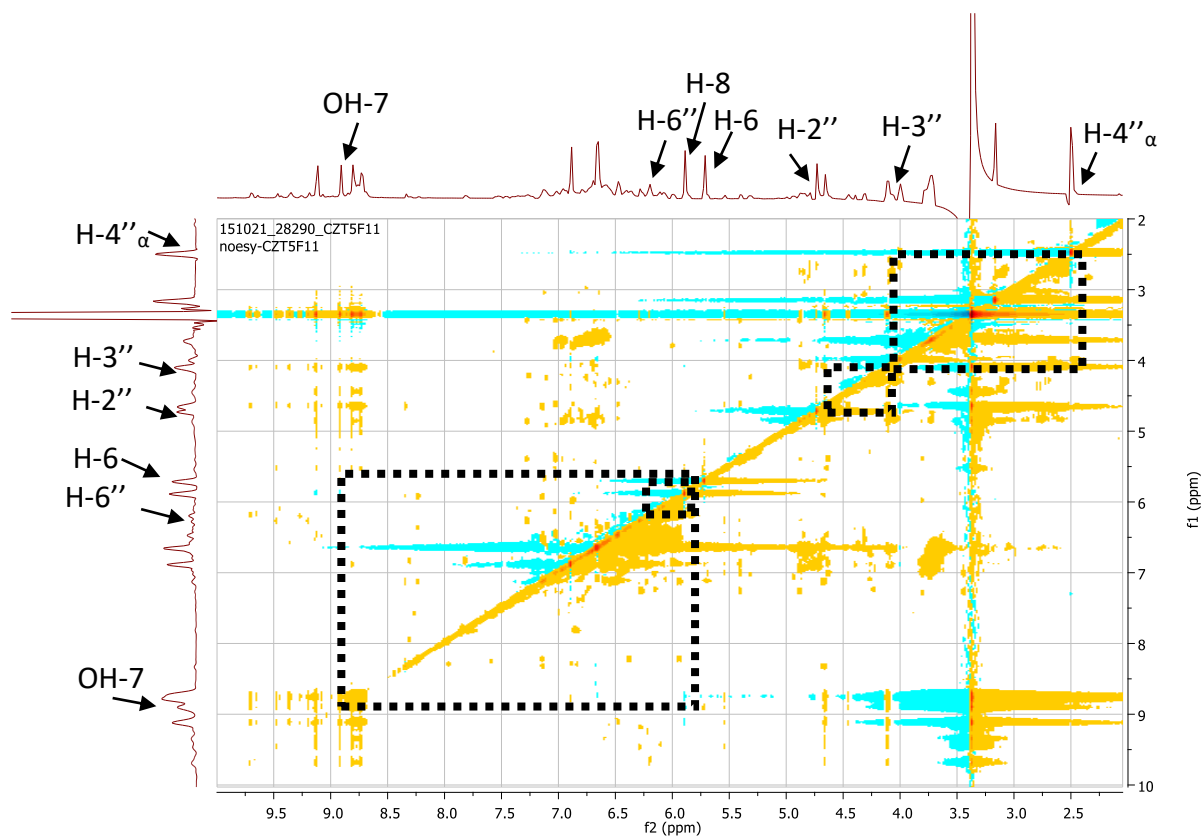


Figure 35: Spectre NOESY du composé CZ6A

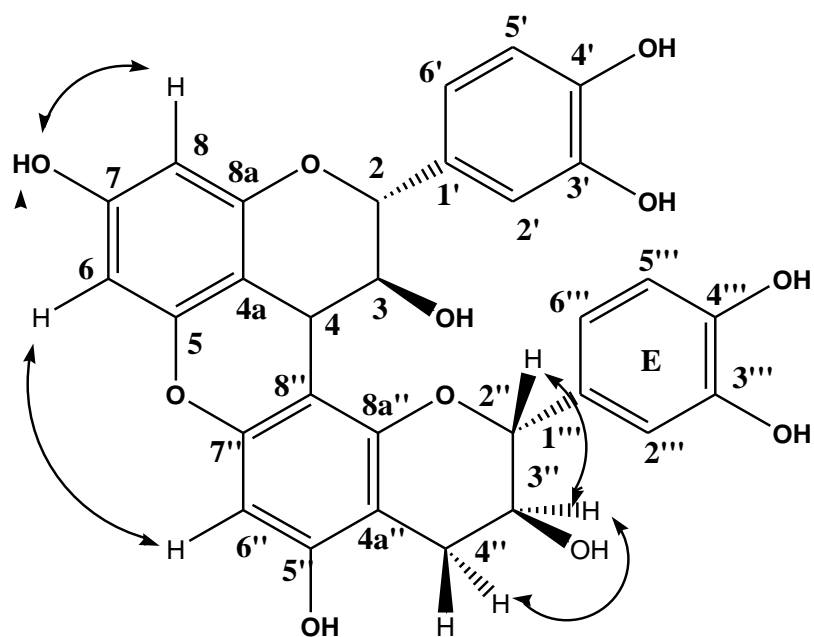
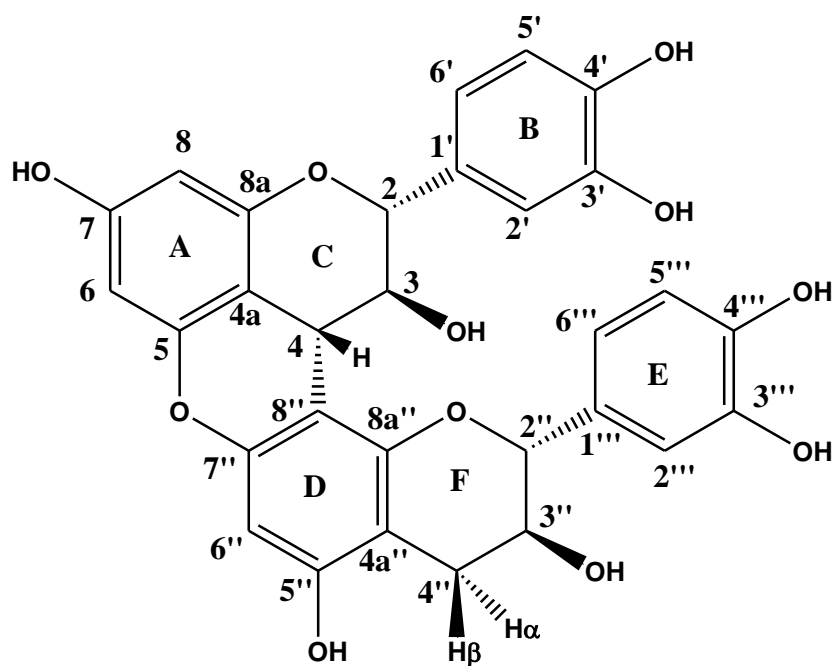


Figure 36: Principales corrélations NOESY observées du composé CZ6A

Ces données (HMBC et NOESY) corroborent la stéréochimie *trans* retrouvée dans des structures analogues décrites dans la littérature (Messanga *et al.*, 1998, Ragab *et al.*, 2013, Mbabi *et al.*, 2017). Cet attachement ($4a \rightarrow 8$) entre les deux sous unités nous a permis d'identifier le composé CZ6A comme un nouveau dérivé de biflavonoïde de type de procyanidine B3. La structure du composé CZ6A a donc été déterminée comme étant la catechin-($4a \rightarrow 8$)-(5-*O*-7'')-catechin, dénommé Dihydrozenkerinol (**75**). (Mbabi *et al.*, 2018).



Dihydrozenkerinol (**75**)

II.1.2.7. Détermination structurale de CZ6B

Le composé CZ6B a été obtenu sous forme de cristaux orangés, soluble dans le méthanol. La formule brute $C_{30}H_{22}O_{11}$ a été obtenue à partir du pic de l'ion *pseudo*-moléculaire à m/z : 557,1089 $[M-H]^-$ (calcd. 557,1084) observé sur le spectre HR-ESIMS mode négatif (figure 37).

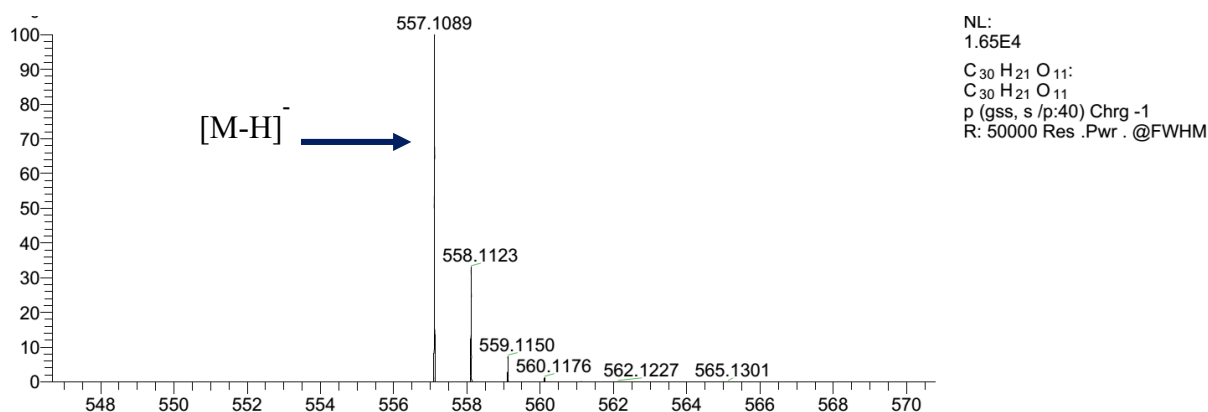


Figure 37: Spectre HR-ESIMS du composé CZ6B

En effet, les composés CZ6A et CZ6B étant difficilement séparables après chromatographie sur gel de sephadex LH20, nous avons eu recours à une CCM préparative pour les isoler, d'où la présence dans le spectre de masse de traces du composé CZ6A en minorité.

De plus, le spectre RMN 1H du composé CZ6A est *quasi*-similaire à celui de CZ6B (figure 38), mais diffère de ce dernier par la présence de deux hydrogènes supplémentaires dans le noyau C d'un squelette de type flavanol avec des protons en position 2 et 3 d'une unité (+)-catéchine. On y observe ainsi des déplacements chimiques des protons H-2 à δ_H 4,75 ppm et H-3 à δ_H 4,02 ppm apparaissant sous forme de doublet ($J_{2,3} = 9,4$ Hz), d'où la stéréochimie *trans* du composé correspondant à une unité (+)-catechine (Shen *et al.*, 1993).

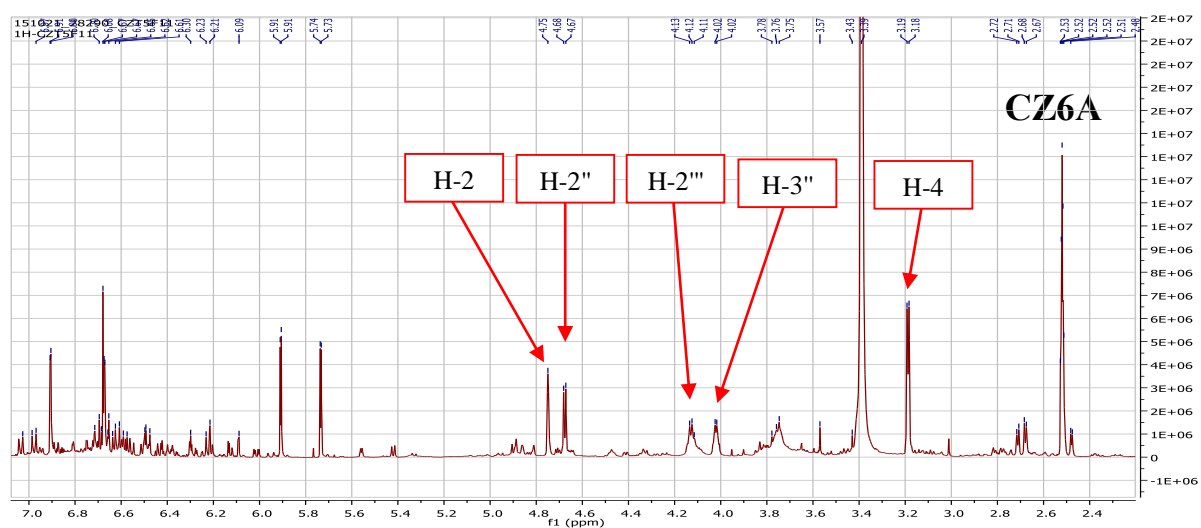
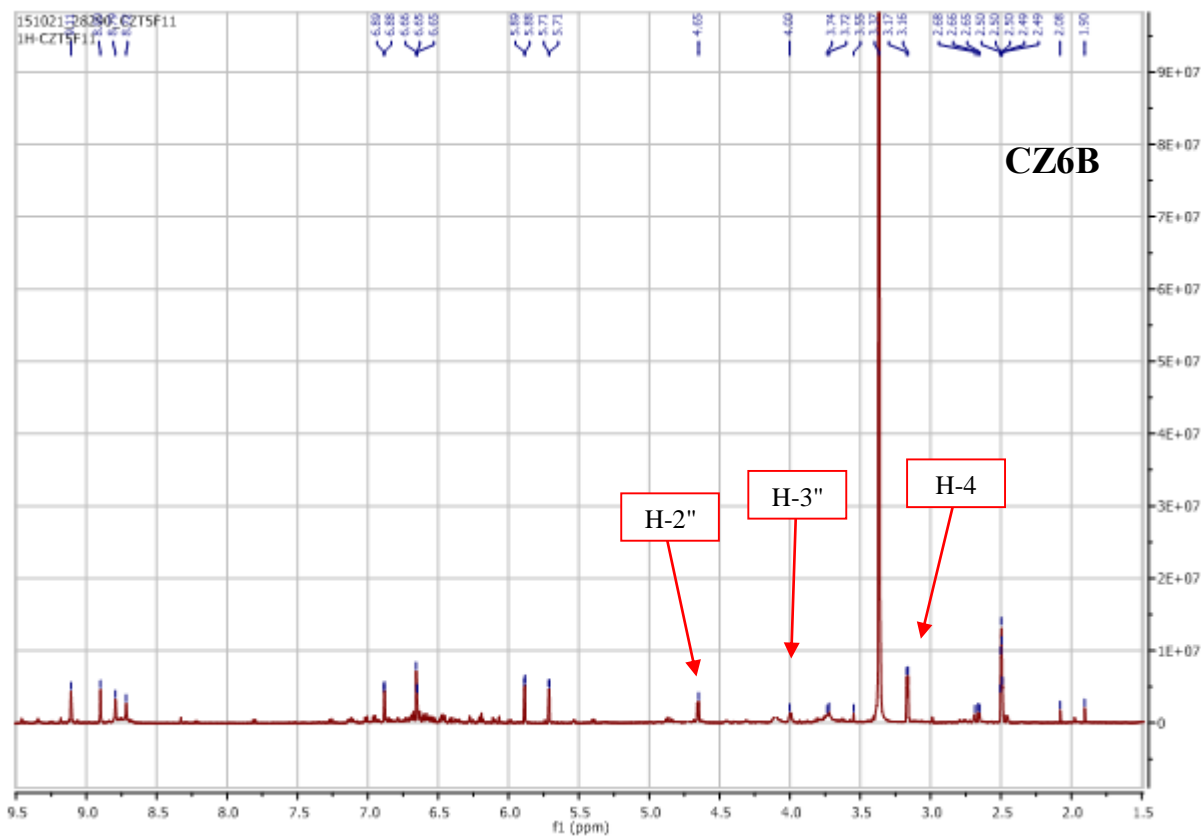


Figure 38: Superposition des spectres RMN ^1H de CZ6A et CZ6B (500MHz, $\text{DMSO}-d_6$)

Le spectre RMN ^{13}C de CZ6A superposé à celui de CZ6B (figure 39) présente des signaux supplémentaires de carbones de l'unité flavan-3-ol de l'unité supérieure à δ_{C} 49,1 (C-4), 65,4 (C-3), et 78,5 (C-2) (noyau C) tandis que les signaux de l'unité inférieure à δ_{C} 78,2 (C-2''), 63,2 (C-3''), 28,7 (C-4'') (noyau F) corroborent la structure de type dimère.

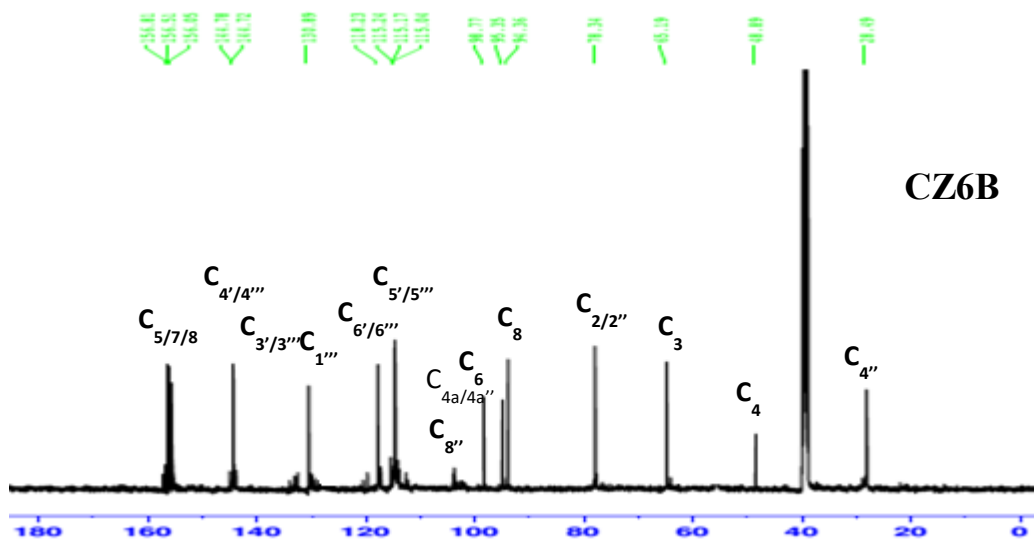
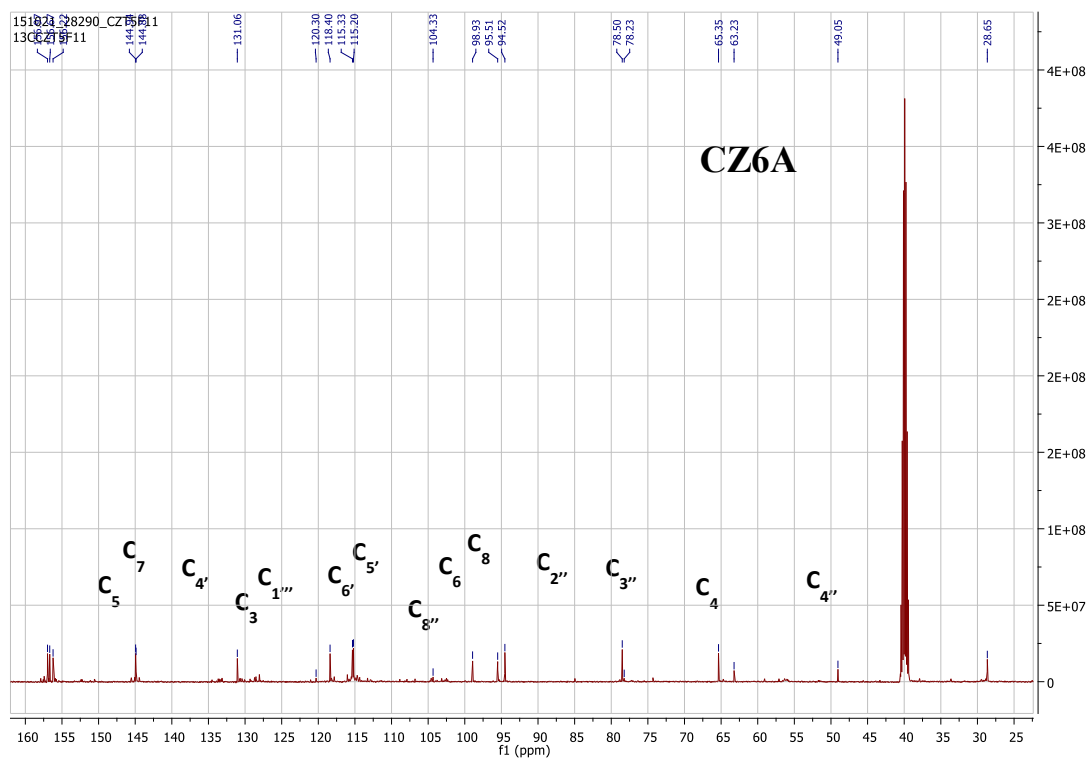
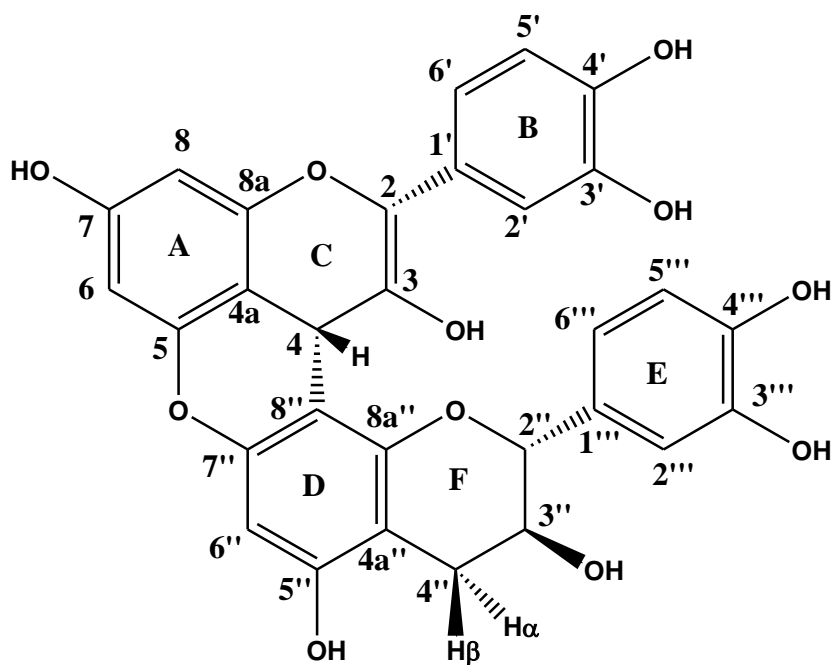


Figure 39: Superposition des spectres RMN ^{13}C des composés CZ6A et CZ6B (125 MHz, DMSO- d_6)

Ces données confirment que le composé CZ2B est également un dérivé de type procyanidine B3 possédant les unités flav-2-èn-3-ol et flavan-3-ol. De même, elles confirment la stéréochimie retrouvée dans les composés analogues précédemment décrits dans la littérature (Messanga *et al.*, 1998; Mello De *et al.* 1999; Cádiz-Gurrea *et al.* 2014; Klika *et al.*, 2015; Wang *et al.* 2015).

Sur la base de ces données spectrales, et par comparaison avec la littérature, le composé CZ6B a été caractérisé comme suit : cyanidin-(4 α →8'')-(5-O-7'')-catéchine, dénommé zenkerinol (**76**) (Mbabi *et al*, 2017). À notre connaissance, c'est la première fois que l'on note l'isolement de biflavonoïdes de type procyanidine B3 dans le genre *Campylospermum*.



Zenkerinol (**76**)

Tableau 16: Données spectrales RMN ^1H et ^{13}C de CZ6A et CZ6B (500 MHz et 125 MHz, DMSO- d_6)

N°C	CZ6B (exp.)					CZ6A (exp.)				
	δ_{C} (ppm)	δ_{H} (OH) (ppm)	m	J (Hz)	HMBC (C→H)	δ_{C} (ppm)	δ_{H} (-OH) (ppm)	m	J (Hz)	HMBC (C→H)
1	/	/				/	/			/
2	140,0				H-C(2')	78,5	4,75	<i>d</i>	9,4	H-C(2')
3	133,1				H-C(4)	65,4	4,02	<i>m</i>	9,4; 8,3	H-C(4)
4	48,8	3,18	<i>s</i>		OH-C(3)	49,1	3,20	<i>d</i>	8,3	H-C(3); OH-C(3)
4a	99,9	/			H-C(3); H-C(6); H-C(8)	99,7	/			H-C(3); H-C(6); H-C(8)
5	156,5*	/			H-C(6)	156,7*	/			H-C(6)
6	95,4	5,88	<i>d</i>	2,3	/	95,5	5,91	<i>d</i>	2,3	/
7	156,5*	(8,90) OH			H-C(6); OH-C(7)	156,7*	(8,91)			H-C(6); HO-C(7)
8	94,4	5,71	<i>d</i>	2,3	H-C(6)	94,5	5,74 ;	<i>d</i>	2,3	H-C(6)
8a	156,0*	/			H-C(8); OH-C(7)	156,2*	/			H-C(8); H-C(2); OH-C(7)
1'	120,2	/			H-C(2')	120,3	/			H-C(2'); H-C(2)
2'	115,2	6,89	<i>d</i>	1,7	H-C(6'); OH-C(3')	115,3	6,91	<i>d</i>	1,7	H-C(6'); OH-C(3')
3'	144,8	(8,80)			H-C(2'); OH-C(3')	145,0	(8,81)			H-C(2'); OH-C(4')
4'	144,7	(8,74)			OH-C(5'); OH-C(4')	144,9	(8,73)			H-C(5'); OH-C(3')
5'	115,2	6,65	<i>d</i>	7,2	H-C(6'); OH-C(4')	115,4	6,68	<i>d</i>	7,2	H-C(6'); OH-C(4')
6'	118,2	6,66	<i>dd</i>	7,2; 1,7	H-C(2'); H-C(5')	118,4	6,67	<i>dd</i>	7,2; 1,7	H-C(2); OH-C(5')
1''	/	/			/	/	/			/
2''	78,3	4,65	<i>d</i>	9,5	H-C(2'')	78,2	4,67	<i>d</i>	9,5	H-C(2'')
3''	65,1	4,01	<i>m</i>	9,5 ; 4,2	H-C(4 β ''); H-C(4 α '')	63,2	4,03	<i>m</i>	9,5 ; 4,2	H-C(4' β); H-C(4' α)
4''	28,5	2,46 2,66	<i>dd</i>	16,7 ; 4,2 ; 16,7 ; 5,9	H-C(2'')	28,7	2,47 ; 2,68	<i>dd</i>	16,7 ; 5,9 16,7 ; 4,2	H-C(2'')
4a''	99,7	/			H-C(4 β ''); H-C(4 α '')	98,9	/			H-C(4' β ''); OH-C(5''); H-C(4' α)
5''	156,8*	(9,06)			H-C(4 β ''); H-C(4 α ''); OH-C(5'')	157,0*	(9,12)			H-C(4' β ''); H-C(4' α); OH-C(5'')
6''	98,8	6,18	<i>s</i>		OH-C(5'')	98,9	6,22	<i>s</i>		OH-C(5'')
7''	156,0*	/			H-C(6''); OH-C(4)	156,2*	/			H-C(6''); OH-C(4)
8''	102,4	/			H-C(4); H-C(6'')	104,3	/			H-C(4); H-C(6'')
8a''	156,5*	/			/	156,7*	/			/
1'''	130,9	/			H-C(2''); H-C(5''')	131,0	/			H-C(2''), H-C(5''')
2'''	115,2	6,89	<i>d</i>	7,2 ; 1,7	H-C(2''); H-C(6''')	115,2	6,91	<i>d</i>	1,7	H-C(2''); OH-C(2'''); H-C(6''')
3'''	144,8	(8,80)	<i>d</i>	7,2	H-C(2''); OH-C(3''')	145,0	(8,81)			H-C(4'''); OH-C(3''')
4'''	144,7	(8,74)			OH-C(3'''); OH-C(4'''); OH-C(5''')	144,9	(8,73)			H-C(5'''); OH-C(3'''); OH-C(4''')
5'''	115,2	6,65	<i>d</i>	7,2	OH-C(4''')	115,2	6,68	<i>d</i>	7,2	H-C(6'''); OH-C(4''')
6'''	118,2	6,66	<i>d</i>	7,2 ; 2,1	H-C(2'''); H-C(5''')	118,4	6,67	<i>dd</i>	1,7	H-C(2'''); H-C(5''')

* : signaux interchangeables

II.1.2.8. Identification de CZ7 à l'agathisflavone

Le composé CZ7 se présente sous forme d'une poudre jaune soluble dans le méthanol. Son P_f se situe entre 257-258°C. Son spectre de masse ESI-MS en mode négatif (Figure 40) indique la présence d'un ion *pseudo*-moléculaire $[M-H]^-$ à m/z 537,3 (calc.537,1) correspondant à la formule brute $C_{30}H_{18}O_{10}$.

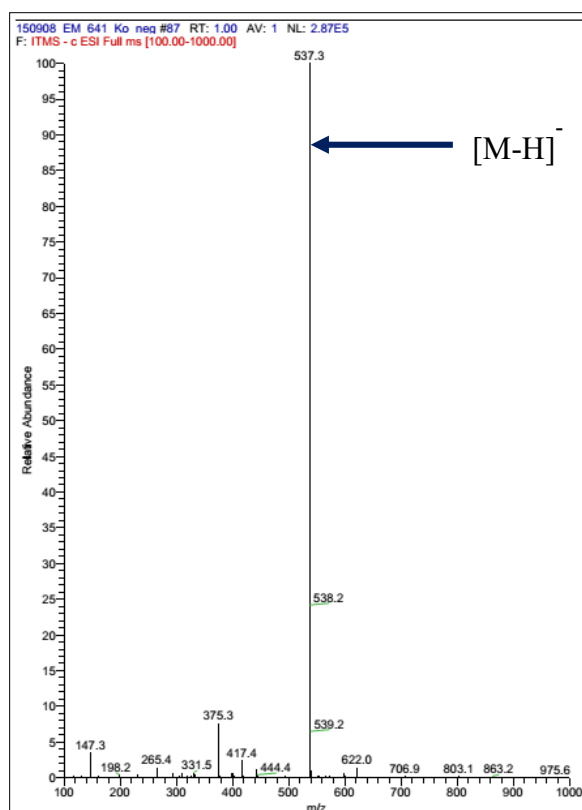


Figure 40: Spectre de masse ESI-MS du composé CZ7

Son spectre IR présente des bandes d'absorptions à ν_{\max} : 3077 (hydroxyle -OH); 1645 (carbonyle C=O); 1600 (C=C aromatique); 1092 cm^{-1} (C-O).

Son spectre RMN ^1H (figure 41) couplé au spectre COSY nous fait ressortir :

- deux noyaux aromatiques para-substitués présentant quatre protons chacun avec des signaux à δ_{H} 7,99 (2H, *d*, $J = 8,8$ Hz) et δ_{H} 6,94 (2H, *d*, $J = 8,8$ Hz) ppm (noyau B) et à δ_{H} 7,58 (2H, *d*, $J = 8,9$ Hz) et δ_{H} 6,72 (2H, *d*, $J = 8,9$ Hz) ppm (noyau E).
- deux noyaux aromatiques penta-substitués présentant un proton chacun sous forme de singulet apparaissant à δ_{H} 6,54 (noyau A) et à δ_{H} 6,20 ppm (noyau D).
- deux singulets à δ_{H} 6,80 ppm (1H, *s*) et à δ_{H} 6,71 ppm (1H, *s*), caractéristiques des protons des noyaux C et F des flavones.
- deux singulets déblindés à δ_{H} 13,05 et à δ_{H} 13,43 ppm caractéristique des OH chélatés.

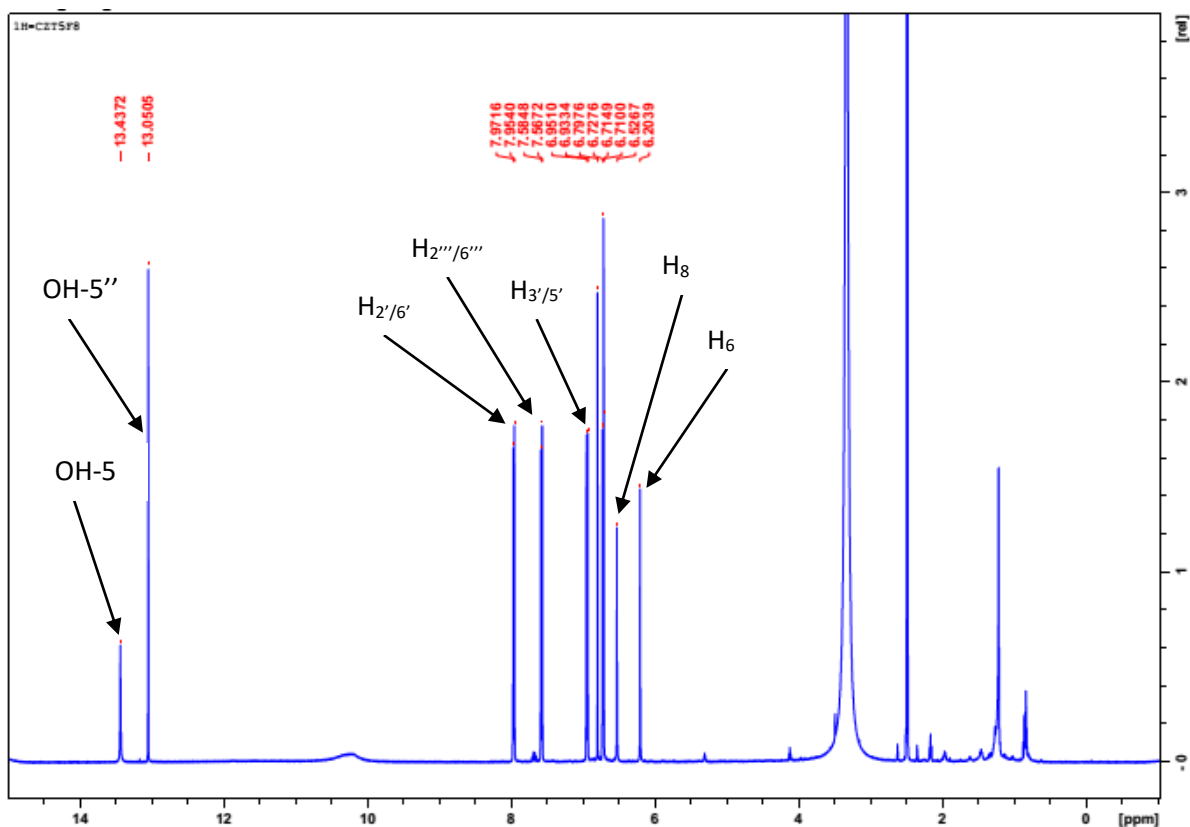
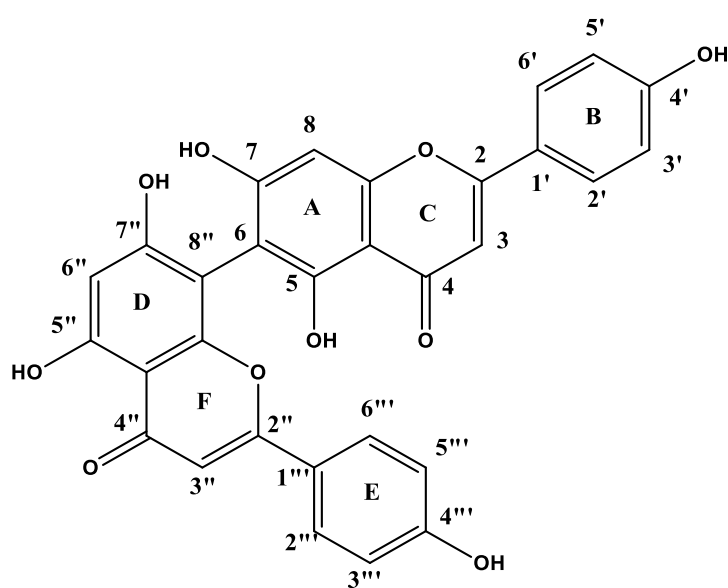


Figure 41: Spectre RMN ^1H de CZ7 (500 MHz, $\text{DMSO-}d_6$)

Le spectre de RMN ^{13}C de CZ7 présente 12 carbones de type methines et 18 carbones de type quaternaires. L'ensemble de ces données spectrales, cumulées aux spectres RMN 1D et 2D et des données de la littérature nous conduisent à l'identification du composé CZ7 à l'agathisflavone (**44**) récemment isolée de *Ochna schweinfurthiana* (Ndongo *et al.*, 2015).



Agathisflavone (44)

Tableau 17: Données spectrales RMN ^1H et ^{13}C de CZ7 (500 MHz et 125 MHz, DMSO- d_6) comparé à l'agathisflavone (500 MHz et 125 MHz; CD_3OD)

N°	CZ7 (exp.)				agathisflavone (litt.)			
	δ_{C} (ppm)	δ_{H} (ppm)	<i>m</i>	<i>J</i> (Hz)	δ_{C} (ppm)	δ_{H} (ppm)	<i>m</i>	<i>J</i> (Hz)
2	166,2				165,9			
3	102,6	6,80	<i>s</i>		103,3	6,8	<i>s</i>	
4	181,6				183,7			
5	162,4				162,4			
4a	104,1				103,8			
6	100,8				100,0			
7	165,3				165,4			
8	95,0	6,54	<i>s</i>		94,8	6,68	<i>s</i>	
8a	157,0				156,9			
1'	123,4				123,2			
2'	129,4	7,96	<i>d</i>	8,81	129,1	7,52	<i>d</i>	8,80
3'	116,7	6,94	<i>d</i>	8,81	116,8	6,72	<i>d</i>	8,80
4'	164,1				164,4			
5'	116,7	6,94	<i>d</i>	8,81	116,8	6,72	<i>d</i>	8,80
6'	129,4	7,96	<i>d</i>	8,81	129,1	7,52	<i>d</i>	8,80
2''	168,0				166,0			
3''	103,1	6,71	<i>s</i>		105,1	6,63	<i>s</i>	
4''	182,0				184,1			
5''	163,0				162,3			
4a''	102,7				103,6			
6''	100,1	6,20	<i>s</i>		100,5	6,35	<i>s</i>	
7''	165,4				164,3			
8''	105,1				104,8			
8a''	160,7				158,9			
1'''	121,7				123,3			
2'''/6'''	128,9	7,58	<i>d</i>	8,85	129,4	7,87	<i>d</i>	8,70
3'''/5'''	116,2	6,72	<i>d</i>	8,85	116,9	6,92	<i>d</i>	8,70
4'''	164,8				164,8			
5-OH		13,44						
5''-OH		13,05						

II.2. Etude phytochimique des feuilles de *Campylospermum dybowskii*

L'isolement des différents composés issus des feuilles de *Campylospermum dybowskii* a été menée à travers les étapes d'extraction, de fractionnement et de purification.

II.2.1. Extraction, fractionnement et purification des composés

La poudre sèche des feuilles de *C. dybowskii* (400 g) a subi une extraction au méthanol par macération à froid pendant 48 heures. Cette opération s'est répétée trois fois avec à chaque fois renouvellement du solvant. Après filtration et évaporation du solvant, 43 g d'extrait brut a été obtenu. L'extrait méthanolique a ensuite été partitionné à l'hexane, au chlorure de méthylène et à l'acétate d'éthyle (Schéma 6).

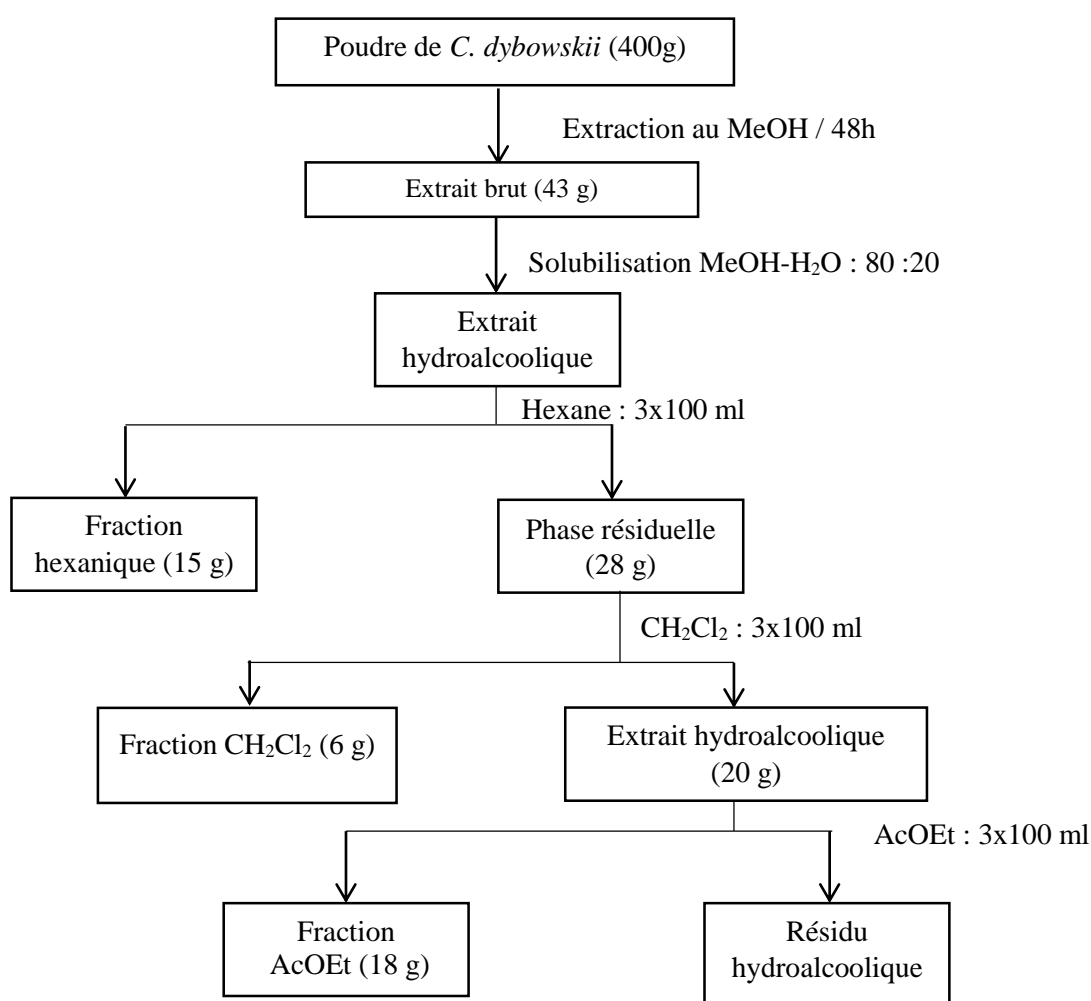


Schéma 6: Protocole de partition de l'extrait brut de *C. dybowskii*

La fraction AcOEt résultante (18 g) a subi une chromatographie sur colonne (CC) sur gel de silice en utilisant le système de solvant CH₂Cl₂-MeOH de polarité croissante conduisant à quatre fractions indexés D1 (2.9 g), D2 (2.6 g), D3 (6.8 g) et D4 (4.6 g). La purification des

fractions D2 et D3 a conduit à l'isolement de sept composés. Le schéma 7 ci-après présente les différentes étapes de purification des composés isolés de *C. dybowskii*.

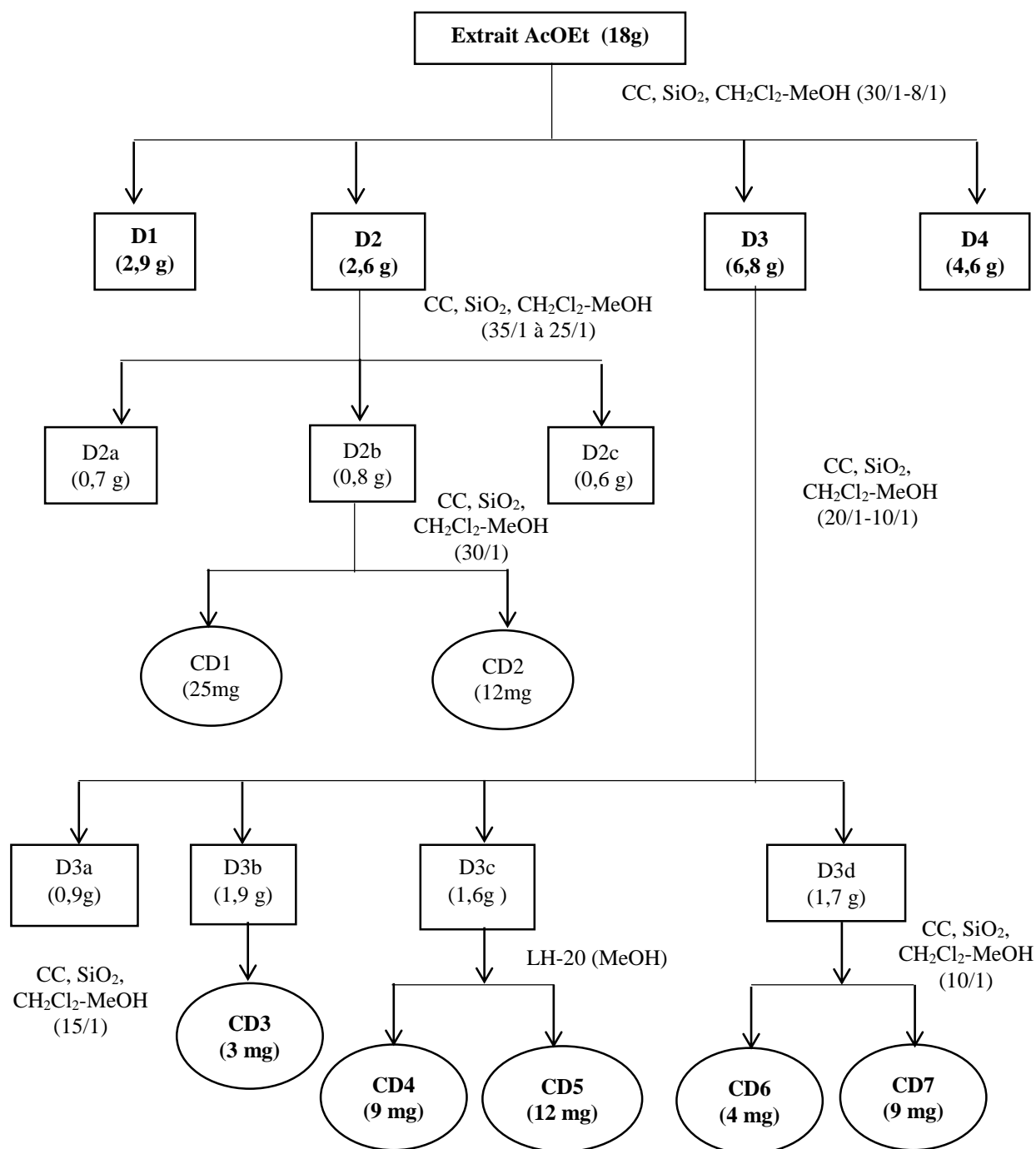


Schéma 7: Protocole d'isolement des composés de *C. dybowskii*

Légende : ○ composés isolés ; □ Fractions / sous-fractions

II.2.2 Identification des composés isolés

II.2.2.1 Identification de CD1 à la serotobenine

Le composé CD1 a été identifié à la serotobenine (**18**) (voir tableau 12).

II.2.2.2 Identification de CD2 au β -sitosterol-3-O- β -D-glucopyranoside

Le composé CD2 a été identifié au β -sitosterol-3-O- β -D-glucopyranoside (**55**); (tableau 13).

II.2.2.3 Identification de CD3 à la Lanceoline C

Le composé CD3 se présente sous forme d'un solide blanc. Son Pf se situe entre 297-299°C. Son spectre de masse HR-ESI présente le pic de l'ion *pseudo*-moléculaire à m/z 452,1554 $[M+H]^+$ (calc.452,1557) suggérant la formule brute $C_{21}H_{25}O_{10}N$.

Son spectre IR présente des bandes d'absorption à 3320 cm^{-1} (groupe hydroxyle), 2215 cm^{-1} (groupe cyano), 1718 cm^{-1} (groupe carbonyle d'un ester conjugué), 1623 cm^{-1} (double liaison conjuguée), 1602 cm^{-1} (noyau aromatique).

Sur le spectre RMN ^1H (400 MHz) du composé CD3 (figure 42), on note la présence d'un groupe benzoyl à δ_{H} 8,05 ppm (2H, *ortho*), 7,55 ppm (2H, *mé*ta), et 7,67 ppm (1H, *para*) et un trihydroxy méthylène cyclohexane lié à un substituant vinyl nitrile. La présence du groupe glucopyranosyl est indiquée par le signal du proton anomérique à δ_{H} 4,39 ppm (*d*, $J = 8,0\text{ Hz}$, H-1'') et en accord avec les signaux des carbones à δ_{C} 101,4 (C-1''), 77,3 (C-5''), 77,0 (C-3''), 73,8 (C-2''), 70,3 (C-4'') et 61,4 (C-6''). La présence d'un noyau aromatique mono-substitué suggère la présence du signal ^1H à δ_{H} 8,04 ppm (m, $J = 8,0$ et $1,0\text{ Hz}$, H-2', H-6'), 7,55 (m, $J = 7,5$ et $1,0\text{ Hz}$, H-3', H-5') et 7,67 (m, $J = 7,5$ et $1,0\text{ Hz}$, H-4').

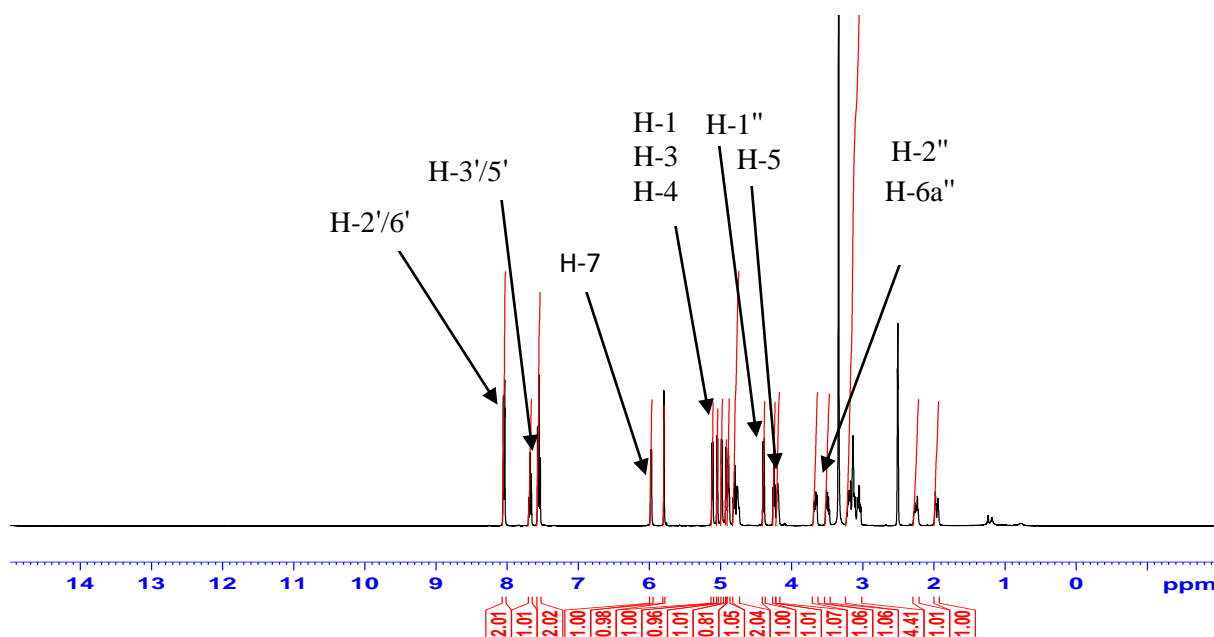
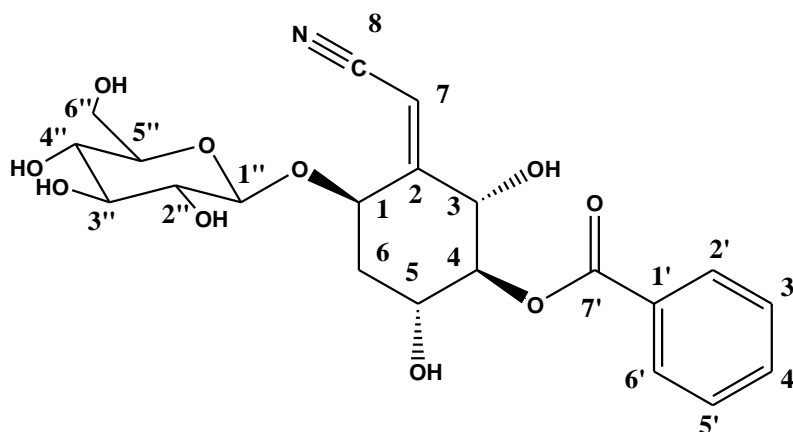


Figure 42: Spectre RMN ^1H de CD3 (400 MHz, DMSO- d_6)

Sur le spectre RMN ^{13}C , on note la présence de quatre signaux à δ_{C} 77,9 (C-4), 73,9 (C-1), 67,8 (C-3), 66,1 (C-5) appartenant au carbone lié à un atome d'oxygène, un autre à δ_{C} 33,8 (C-6) appartenant au groupe méthylène, un autre à δ_{C} 165,7 ppm appartenant au carbonyle d'un ester conjugué. Ceci est confirmé par le groupe benzoyle avec les carbones à δ_{C} 133,8 (C-4'), 130,5 (C-1'), 130,0 (C-2', C-6'), 129,1 ppm (C-3', C-5').

Sur le spectre RMN ^1H , on note également la présence d'une double liaison trisubstituée contenant un méthine à δ_{H} 5,79 (d, $J = 1,0$ Hz, H-7) et δ_{C} 95,4 (C-7) lié à un carbone quaternaire à δ_{C} 163,6 (C-2). Sur le spectre HMBC, on note la présence d'une corrélation entre le proton anomérique à δ_{H} 4,39 ppm et le carbone à δ_{C} 73,9 (C-1), le proton à δ_{H} 4,80 ppm ($J = 8,5$ et $8,3$ Hz, H-4) et le carbonyle du groupe benzoyl à δ_{C} 165,7 (C-7').

Les constantes de couplage des protons du groupe cyclohexyl indiquent la position *trans* entre H-5 (δ_{H} 4,19; $J = 8,8$; $8,3$ et $3,8$ Hz) et H-4 de même qu'avec H-3 (δ_{H} 4,75; $J = 8,5$ et $4,0$ Hz), confirmant l'absence d'une corrélation NOESY entre H-3 et H-4 ou entre H-4 et H-5. L'ensemble des données spectrales RMN 1D et 2D, comparées avec celles de la littérature nous a permis de conclure que le composé CD3 a été identifié à la 4-benzoyloxy-2-cyanométhylène 3,5-dihydroxycyclohexyl-1-*O*- β -glucopyranoside encore appelé Lanceoline C (**60**) précédemment isolé de *Lophira alata* (Messanga *et al.*, 1998).



Lanceoline C (**60**)

Tableau 18: Données spectrales RMN ^1H et ^{13}C de CD3 (400 MHz et 125 MHz; DMSO- d_6) comparé à la lanceoline C.

N°C	CD3 (exp.)				lanceolin C (litt.)			
	δ_{C} (ppm)	δ_{H} (ppm)	<i>m</i>	<i>J</i> (Hz)	δ_{C} (ppm)	δ_{H} (ppm)	<i>m</i>	<i>J</i> (Hz)
1	73.9	4.88	<i>dd</i>	4	75,3	4,87	<i>dd</i>	4.6
2	163.6				165,0			
3	67.8	4.75	<i>dd</i>	8.3, 4.0	69,2	4,74	<i>dd</i>	8,5; 1,5
4	77.9	4.80	<i>dd</i>	8.3, 8.1	79,2	4,79	<i>dd</i>	8,5; 8,3
5	66.1	4.19	<i>m</i>	8,6; 8,1; 5,1	66,9	3,08	<i>m</i>	8,8; 8,3; 5,3
6a	33.8	2.25	<i>dt</i>	14.5, 5.0	35,3	2,23	<i>ddd</i>	14,6; 5,3 ; 4,6
6b		1.96	<i>dt</i>	14.5, 3.5	35,3	1,94	<i>ddd</i>	14,6; 10,7; 8,8; 1,5
7	95.4	5.79	<i>d</i>	1.0	96,3	5,77	<i>d</i>	1,5
8	116.3				117,7			
1'	130.5				131,3			
2'/6'	130.0	8.05	<i>dd</i>	8.0, 1.0	130,8	8,04	<i>m</i>	8,2 ; 1,6 ; 1,5
3'/5'	129.1	7.55	<i>t</i>	7.5	129,9	7,53	<i>m</i>	8,2 ; 8,0 ; 1,1
4'	133.8	7.67	<i>dt</i>	7.5, 1.0	134,6	7,66	<i>m</i>	8,0 ; 1,5
7'	165.7				166,5			
1''	101.4	4.39	<i>d</i>	8.0	102,2	4,38	<i>d</i>	7,8
2''	73.8	3.05	<i>td</i>	8.0; 3.5	74,6	3,03	<i>ddd</i>	8,5 ; 7,8 ; 3,3
3''	77.0	3.19	<i>m</i>		77,9	3,18	<i>ddd</i>	8,5; 8,5; 4,5
4''	70.3	3.12	<i>m</i>		71,2	3,10	<i>m</i>	
5''	77.3	3.14	<i>m</i>		78,3	3,12	<i>m</i>	
6a''	61.4	3.66	<i>ddd</i>	11.0, 5.5, 1.0	62,3	3,64	<i>dd</i>	11,2
6b''		3.48	<i>dd</i>	11.0, 5.0	62,3	3,47	<i>m</i>	

II.2.2.4 Identification de CD4 à la 4'-O-méthylvitexine

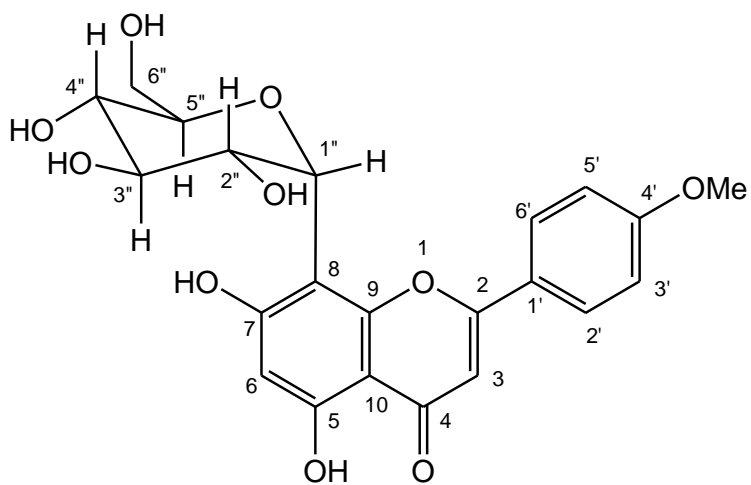
Le composé CD4 se présente sous forme de cristaux jaunes. Son P_f se situe entre 180-182°C. Il donne un test positif au réactif de Shinoda caractéristique des flavonoïdes. Son spectre IR présente des bandes d'absorption à 3305 (groupe hydroxyl), à 1715 (groupe carbonyle) et 1607 (-CH aromatique) cm^{-1} . Sa formule moléculaire $\text{C}_{22}\text{H}_{22}\text{O}_{10}$ a été déduite de son spectre de masse en impact électronique EI-MS qui présente le pic de l'ion moléculaire $[\text{M}]^+$ à m/z : 446,0 (calc. 446,1).

Le spectre RMN ^1H du composé présente quatre protons aromatiques formant un système AA'BB' du cycle B à δ_{H} 7,52 (2H, d , $J = 8,5$ Hz) et δ_{H} 6,76 (2H, d , $J = 8,5$ Hz). Deux protons singulets à δ_{H} 6,82 ppm attribuable à H-3 et à δ_{H} 6,08 ppm attribuable à H-6 caractéristiques du flavone de l'aglycone (**Kumamoto *et al.* 1985**). La constante de couplage $J = 8,5$ Hz du doublet qui apparaît à δ_{H} 6,76 ppm permet de confirmer l'attribution du signal d'intégration 2H à H-3' et H-5'. La même constante de couplage apparaît à δ_{H} 7,52 ppm permet l'attribution de ce signal intégrant 2H à H-2' et H-6' appartenant à la partie aglycone. Un signal doublet avec une constante de couplage $J=7,5$ Hz à δ_{H} 4,71 ppm, correspond au proton anomérique H-1'' de forme β -osidique. Des signaux multiples entre δ_{H} 3,36 - 4,12 ppm sont attribuables aux autres protons du sucre. De même, on note la présence du groupe méthoxy à δ_{H} 3,79 ppm.

Le spectre RMN ^{13}C couplé au spectre COSY45 révèle la présence de 22 signaux comprenant un carbonyle à $\delta_{\text{C}} = 182,3$ ppm, 8 carbones non-protonés à $\delta_{\text{C}} = 162,0$; 160,9 ; 162,8 ; 106,2 ; 158,9 ; 105,1 ; 122,9 ; 160,3 ppm, 11 carbones méthines à $\delta_{\text{C}} = 104,1$, 98,1 ; 127,2 ; 116,8 ; 76,0 ; 74,1 ; 75,2 ; 69,9 ; 77,2 ; 62,9 ; 61,9 ppm, un carbone méthylène à $\delta_{\text{C}} = 62,9$ ppm, un méthyl lié à l'oxygène à $\delta_{\text{C}} = 56,4$ ppm.

Le spectre HMBC présente les corrélations entre les protons H-3 (δ_{H} 6,82) et les carbones C-1' (δ_{C} 122,9)/C-2 (δ_{C} 162,0)/C-4 (δ_{C} 182,3)/C-10 (δ_{C} 105,1); entre les protons H-6 (δ_{H} 6,08) et les carbones C-5 (δ_{C} 160,9)/C-7 (δ_{C} 162,8)/C-8 (δ_{C} 106,2)/C-10 (δ_{C} 105,1), ce qui confirme l'attribution des signaux protons aux carbones C₃ et C₆. Les valeurs des déplacements chimiques des carbone du sucre (δ_{C} 76,0 ; 74,1 ; 75,2 ; 69,9 ; 77,2 ; et 62,9 ppm) confirment la structure du groupement C-glucopyranosyl. De plus, l'attachement du sucre à l'aglycone en C-8, est confirmé par les corrélations HMBC entre le proton anomérique H-1'' (δ_{H} 4,71 ppm) et le carbone C-8 (δ_{C} 106,2 ppm).

Sur la base de toutes ces données spectrales, le composé CD4 a été identifiée à la 4'-O-méthylvitexine (**77**), précédemment isolé de *Fortunella japonica* (Rutaceae) (**Kumamoto et al. 1985**).



4'-O-methylvitexine (77**)**

Tableau 19: Données spectrales de CD4 (400 MHz et 100 MHz, DMSO-*d*₆) comparé à 4'-*O*-methylvitexine (300 MHz et 75 MHz, DMSO-*d*₆)

N°C	CD4 (exp)				4'- <i>O</i> -methylvitexine			
	δ_C (ppm)	δ_H (ppm)	<i>m</i>	<i>J</i> (Hz)	δ_C (ppm)	δ_H (ppm)	<i>m</i>	<i>J</i> (Hz)
2	162,0				163,5	-		
3	104,1	6,82 (s)	<i>s</i>		103,1	6,57 (s)	<i>s</i>	
4	182,3				182,0	-		
5-OH	160,9				160,6	13,37	<i>s</i>	
6	98,1	6,08	<i>s</i>		98,2	6,25	<i>s</i>	
7	162,8				162,2	-		
8	106,2				104,2	-		
9	158,9				155,7	-		
10	105,1				104,4	-		
1'	122,9				123,1	-		
2'/6'	127,2	7,52	<i>d</i>	8.5	128,7	8,01	<i>d</i>	8,0
3'/5'	116,8	6,76	<i>d</i>	8.5	114,4	7,02	<i>d</i>	8,0
4'	160,3				162,2	-		
1''	76,0	4,71	<i>d</i>	7.5	71,4	4,98	<i>d</i>	10,0
2''	74,1	3,96	<i>t</i>	9.3	75,1	5,28	<i>t</i>	9,3
3''	75,2	3,42	<i>m</i>		79,8	3,53	<i>m</i>	
4''	69,9	3,40	<i>m</i>		70,5	3,51	<i>m</i>	
5''	80,1	3,36	<i>m</i>		81,6	3,34	<i>m</i>	
6''	62,9	4,12	<i>dd</i>	10.5, 2.0	61,0	3,81	<i>dd</i>	16,9; 11,2
6''	62,9	3,95	<i>dd</i>	10.5, 2.0	61,0	3,59	<i>dd</i>	5; 16,9
-OCH ₃	56,4	3,79	<i>s</i>		55,5	3,86	<i>s</i>	

II.2.2.5. Identification de CD5 à la 2''-O-acétyl-7-O-méthylvitexine

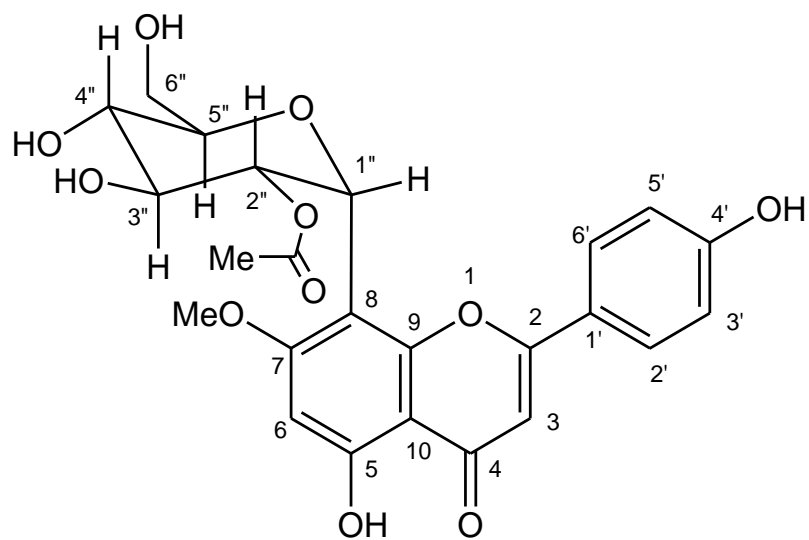
Le composé CD5 se présente sous forme de cristaux jaunes. Son P_f se situe entre 180-182°C. Il donne un test positif au réactif de Shinoda caractéristique des flavonoïdes. Sa formule moléculaire $C_{24}H_{24}O_{11}$ a été déduite de son spectre de masse en impact électronique EI-MS qui présente le pic de l'ion moléculaire $[M]^+$ à m/z : 488,0 (calc. 488,1).

Les données du spectre RMN 1H permettent de mettre en évidence :

- un noyau benzénique *para*-substitué formant un système AA'BB' : [$\delta_H = 8,11$ ppm (2H) ; d ; $J = 8,8$ Hz et $\delta_H = 6,91$ ppm (2H) d ; $J = 8,8$ Hz].
- un noyau benzénique pentasubstitué indiquant un proton à $\delta_H = 6,51$ ppm.
- un singulet à $\delta_H 6,82$ ppm caractérisant un proton porté par le carbone C-3 du noyau C des flavones.
- un singulet à $\delta_H 2,02$ ppm caractérisant le méthyle proche d'un carbonyle faisant partie du groupement acétyle.
- un singulet appartenant au groupe méthoxy à $\delta_H 3,73$ ppm.

Le spectre RMN ^{13}C présente 22 signaux parmi lesquelles cinq méthines à $\delta_c 62,9$; 69,9 ; 74,1 ; 75,2 ; 76,1 ; 80,2 ppm correspondant au groupe hexosyle. Tous les carbones protonés ont été attribués sur la base du spectre HSQC. Les groupements méthoxy et acétoxy ont été attribués grâce au spectre NOESY. Les principales corrélations ont été observées entre les protons à $\delta_H = 8,11$ ppm (H-2') et $\delta_H 6,91$ ppm (H-3'), entre $\delta_H 6,82$ ppm (H-3) et $\delta_H 8,11$ ppm (H-2'), puis entre $\delta_H 6,51$ (H-6) et $\delta_H 3,73$ ppm (MeO-7); indiquant la présence du groupe méthoxy lié au carbone C-7 de l'unité flavone. D'autre part, on observe au sein de l'unité glucosidique des corrélations entre les protons à $\delta_H 4,39$ (H-2'') et 3,32 (H-4''), entre $\delta_H 3,81$ (H-3'') et $\delta_H 2,02$ (MeCO₂-2'') indiquant l'attachement du groupe acétoxy au carbone C-2'' du sucre.

Par ailleurs, sur le spectre HMBC, les corrélations sont observées entre les protons à $\delta_H 4,85$ (H-1'') et le carbone à $\delta_c 106,8$ (C-8) indiquent l'attachement de l'hexosyle au carbone C-8 de l'aglycone. Sur la base de toutes ces données spectrales, le composé CD5 a été identifiée à la 2''-O-acétyl-7-O-méthylvitexine (**29**), précédemment isolé de *Sorindeia juglandifolia* (Anacardiaceae) (Ndongo *et al.*, 2013).



2''-O-acétyl-7-O-méthylvitexine (29)

Tableau 20: Données spectrales de CD5 (400 MHz et 100 MHz, DMSO-*d*₆) comparé à la 2''-*O*-acétyl-7-*O*-méthylvitexine (500 MHz et 125 MHz, DMSO-*d*₆)

N°C	CD5 (exp.)				2''- <i>O</i> -acétyl-7- <i>O</i> -méthylvitexine (litt.)			
	δ _C (ppm)	δ _H (ppm)	<i>m</i>	<i>J</i> (Hz)	δ _C (ppm)	δ _H (ppm)	<i>m</i>	<i>J</i> (Hz)
2	164,1				164,2	-		
3	102,1	6,82	<i>s</i>		102,3	6,84 (s)	<i>s</i>	
4	182,1				182,0	-		
5-OH	161,6				161,5	13,37	<i>s</i>	
6	96,8	6,51			94,7	6,50	<i>s</i>	
7	165,2				162,6	-		
8	106,8				103,4	-		
9	155,4				155,4	-		
10	104,4				104,2	-		
1'	122,9				121,3	-		
2'/6'	129,2	8,11	<i>d</i>	8,8	129,0	8,10	<i>d</i>	8,9
3'/5'	115,8	6,91	<i>d</i>	8,8	115,7	6,93	<i>d</i>	8,9
4'	161,3				161,1	-		
1''	76,1	4,85	<i>d</i>	10,3	70,6	4,88	<i>d</i>	10,6
2''	74,1	4,39	<i>m</i>	9,0	72,4	5,28	<i>t</i>	9,3
3''	75,2	3,81	<i>m</i>		75,5	3,53	<i>m</i>	
4''	69,9	3,32	<i>m</i>		70,3	3,51	<i>m</i>	
5''	80,2	3,80	<i>m</i>		82,0	3,34	<i>m</i>	
6''	62,9	3,82	<i>dd</i>	10,4 2,0	60,9	3,81	<i>dd</i>	16,9; 11,2
	62,9	3,54	<i>dd</i>	10,4 2,0	60,9	3,59	<i>dd</i>	16,9 ; 5
7-OCH ₃	56,4	3,73	<i>s</i>		56,6	3,91	<i>s</i>	
2''-O-CO-CH ₃	170,1				168,9	-		
2''-O-CO-CH ₃	20,9	2,02	<i>s</i>		20,3	1,68	<i>s</i>	

II.2.2.6 Identification de CD6 à l'amentoflavone

Le composé CD6 est un solide jaune amorphe soluble dans le méthanol. Son point de fusion se situe entre 253-254°C. Sa formule brute $C_{30}H_{18}O_{10}$ a été déduite de son spectre de masse ESI-TOF qui présente l'ion *pseudo*-moléculaire $[M+H]^+$ à m/z 539,0969 (calc. 539,0978) impliquant une masse moléculaire de 538 g/mol. Il répond positivement au test de Neu caractéristique des biflavonoïdes.

Le spectre RMN 1H (figure 43) présente dix protons aromatiques et deux protons oléfiniques. L'analyse de ce spectre couplé au spectre COSY du composé CD6 montre la présence de :

- Un noyau benzénique *para*-substitué formant un système AA'BB' : [$\delta_H = 7,57$ ppm (2H) *d* ; $J = 8,7$ Hz et $\delta_H = 6,71$ ppm (2H) *d* ; $J = 8,7$ Hz].
- Un noyau benzénique *ortho, para*-trisubstitué formant un système ABX : [$\delta_H = 8,00$ ppm (1H) *dd* ; $J = 9,3$ Hz et $J = 2,3$ Hz puis $\delta_H = 7,14$ ppm (1H) *d* ; et $\delta_H = 8,10$ ppm (1H) *d*, $J = 2,4$ Hz].
- Un noyau benzénique *tétra*-substitué formant un système AB : [$\delta_H = 6,46$ ppm (1H) *d* ; $J = 2,0$ Hz et $\delta_H = 6,18$ ppm (1H) *d* ; $J = 2,0$ Hz].
- Un noyau benzénique *penta*-substitué portant un proton à δ_H 6,39 ppm.

Par ailleurs, nous notons aussi la présence de deux singulet à δ_H 6,79 et 6,84 ppm caractéristiques des H-3 des flavones, ainsi que deux hydroxyles chélatés apparaissant à δ_H 12,97 et 13,10 ppm respectivement.

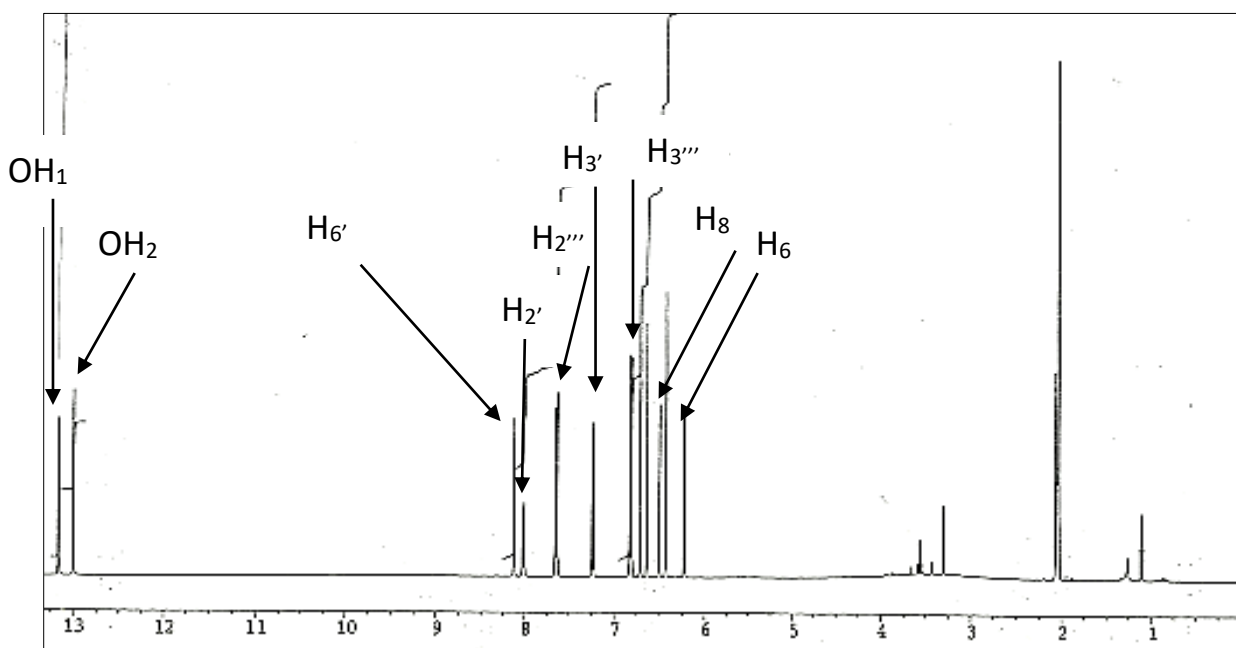
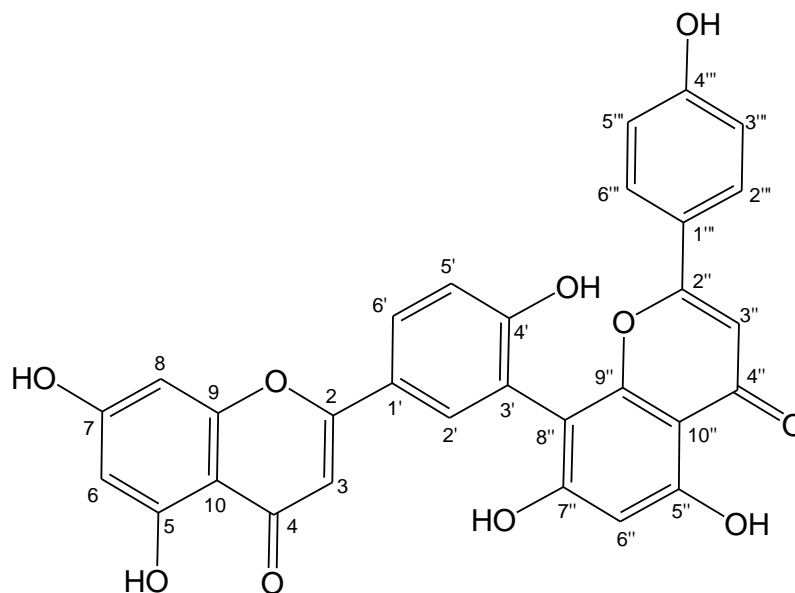


Figure 43: Spectre RMN 1H de CD6 (400 MHz, Acétone- d_6)

Son spectre RMN ^{13}C totalement découplé présente 30 signaux correspondant à 30 atomes de carbone répartis comme suit :

- 2 carbonyles à δ_{C} 183,1 et 183,4 ppm respectivement.
- 14 atomes de carbone sp^2 quaternaires dont huit sont porteurs d'un atome d'oxygène entre δ_{C} 103,6 et 162,5 ppm.
- 10 atomes de carbone aromatiques sp^2 tertiaires entre $\delta_{\text{C}} = 94,0$ et $\delta_{\text{C}} = 132,6$ ppm.
- 4 atomes de carbone sp^2 oléfiniques dont deux sont liés à un atome d'oxygène entre δ_{C} 163,9 et 164,9 ppm.

Sur la base de toutes ces données et par comparaison directe avec les données de la littérature, le composé CD6 a été identifié à l'amentoflavone (**35**) précédemment isolé de *Campylospermum calanthum* (Bayiha et al., 2013).



Amentoflavone (35)

Tableau 21: Données spectrales RMN ^1H et ^{13}C de CD6 (400 MHz et 100 MHz, Acetone- d_6) comparé à l'amentoflavone (500 MHz et 125 MHz, DMSO- d_6)

N°C	CD6 (exp.)				Amentoflavone (litt.)			
	δ_{C} (ppm)	δ_{H} (ppm)	<i>m</i>	<i>J</i> (Hz)	δ_{C} (ppm)	δ_{H} (ppm)	<i>m</i>	<i>J</i> (Hz)
4a-I	104,2				104,2			
5-I	163,3				163,5			
6-I	99,9	6,18	<i>d</i>	2,0	99,7	6,23	<i>d</i>	2,1
7-I	162,7				164,4			
8-I	94,8	6,46	<i>d</i>	2,0	94,6	6,51	<i>d</i>	2,1
8a-I	161,8				161,8			
3-I	104,3	6,79	<i>s</i>		104,4	6,72	<i>s</i>	
2-I	164,9				163,5			
4-I	183,4				184,6			
1'-I	120,9				122,3			
2'-I	132,6	8,10	<i>d</i>	2,3	132,6	8,13	<i>d</i>	2,4
3'-I	116,7				116,7			
4'-I	160,4				159,2			
5'-I	117,6	7,14	<i>d</i>	9,3	117,8	7,20	<i>d</i>	8,7
6'-I	128,7	8,00	<i>dd</i>	9,3; 2,3	128,8	8,01	<i>dd</i>	8,7; 2,4
4a''-II	104,5				104,5			
5''-II	163,3				162,5			
6''-II	99,8	6,39	<i>s</i>		99,8	6,44	<i>s</i>	
7''-II	162,5				163,3			
8''-II	103,8				103,6			
8a''-II	156,1				155,5			
3''-II	103,8	6,84	<i>s</i>		103,8	6,64	<i>s</i>	
2''-II	164,9				164,2			
4''-II	183,1				182,7			
1'''-II	123,3				122,5			
2'''-II	129,1	7,57	<i>d</i>	8,7	129,3	7,64	<i>d</i>	8,8
3'''-II	116,1	6,71	<i>d</i>	8,7	116,8	6,82	<i>d</i>	8,8
4'''-II	160,4				161,1			
5'''-II	116,1	6,71	<i>d</i>	8,7	116,8	6,82	<i>d</i>	8,8
6'''-II	129,1	7,57	<i>d</i>	8,7	129,3	7,64	<i>d</i>	8,8
OH ₁ -IA		12,97	<i>s</i>					
OH ₂ -IIA		13,10	<i>s</i>					

II.2.2.7. Identification de CD7 à la robustaflavone

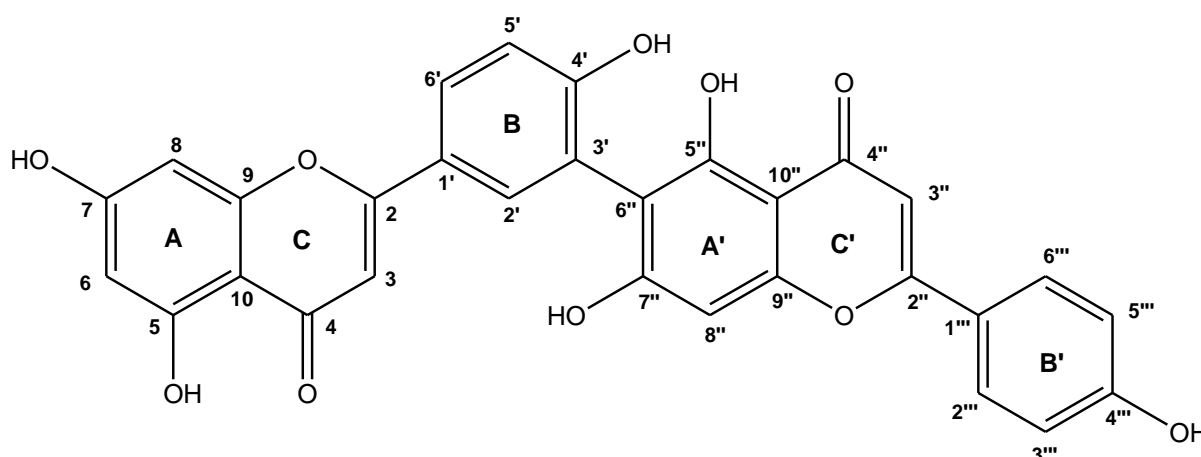
Le composé CD7 se présente sous forme d'une poudre jaune. Le test positif de Neu confirme la présence d'un biflavonoïde. Le spectre de masse HRESI de CD7 présente un ion *pseudo*-moléculaire $[M+H]^+$, à m/z 539,0970 (calc. 539,0978) permettant d'en déduire la formule brute $C_{30}H_{18}O_{10}$. Le spectre IR de spectre CD7 présente une large bande d'absorption du groupe hydroxyle à 3250 cm^{-1} et une bande d'absorption d'un carbonyle conjuguée à 1650 cm^{-1} .

Le spectre RMN ^1H du composé révèle la présence de :

- quatre protons du noyau benzénique 1,4-disubstitué qui apparaissent à δ_{H} 7,44 (*d*, $J=8,6\text{ Hz}$, 2H) et 6,68 (*d*, $J=8,6\text{ Hz}$, 2H) ;
- trois protons du noyau benzénique 1,3,4-trisubstitué apparaissant à δ_{H} 8,11 (1H, *d*, 2,2 Hz), à 7,92 (1H, *dd*, 8,4; 2,2 Hz) et à 7,09 (1H, *d*, 8,4 Hz) formant ainsi un système ABX;
- deux protons aromatiques apparaissant sous forme de doublets couplés en position *mé*ta ($J=2,2\text{ Hz}$) à 6,19 (1H) et à 6,52 (1H) respectivement ;
- Un noyau benzénique pentasubstitué portant un proton à δ_{H} 6,04 ppm (1H) ;

Par ailleurs, nous notons aussi la présence de deux singulet à δ_{H} 6,68 et 6,69 ppm caractéristiques des H-3 des flavones, ainsi que deux hydroxyles chélatés apparaissant à δ_{H} 13,06 ppm (*s*, 1H, H-5''), et à δ_{H} 13,01 ppm (*s*, 1H, H-5) ppm respectivement.

Les données ci-dessus suggèrent que le composé CD7 se compose de deux unités apigénine reliées par une liaison interflavonyl de type C3'-C6''. Sur la base de toutes ces données et par comparaison directe avec les données de la littérature, le composé CD7 a été identifié à la robustaflavone (**40**) (isomère de l'amentoflavone) précédemment isolé par **Zheng et al. (2007)**.



Robustaflavone (40)

Tableau 22: Données spectrales RMN ^1H et ^{13}C de CD7 (400MHz et 100 MHz, DMSO- d_6) comparé à la robustaflavone (400 MHz et 100 MHz ; DMSO- d_6)

N°C	CD7 (exp.)				Robustaflavone (litt.)			
	δ_c (ppm)	δ_H (ppm)	<i>m</i>	J (Hz)	δ_c (ppm)	δ_H (ppm)	<i>m</i>	J (Hz)
2	163,7	-		-	163,9	-		-
3	104,5	6,68	<i>s</i>		102,8	6,78	<i>s</i>	
4	182,4	-		-	181,7	-		-
5	163,7	13,01			161,5	12,99	<i>s</i>	
6	98,7	6,19	<i>d</i>	2,2	98,8	6,19	<i>d</i>	2,1
7	164,9	-		-	164,1	-		-
8	94,2	6,52	<i>d</i>	2,2	94,0	6,48	<i>d</i>	2,1
9	160,1	-		-	157,4	-		-
10	103,5	-		-	103,7	-		-
1'	121,3	-		-	120,8	-		-
2'	128,6	8,11	<i>d</i>	2,2	130,9	7,79	<i>d</i>	2,4
3'	116,2	-		-	121,0	-		-
4'	155,9	-		-	159,8	-		-
5'	126,9	7,09	<i>d</i>	8,4	116,2	7,04	<i>d</i>	8,7
6'	128,2	7,92	<i>dd</i>	8,4; 2,2	127,5	7,91	<i>dd</i>	8,7; 2,4
2''	163,7	-		-	163,6	-		-
3''	104,3	6,69	<i>s</i>		102,8	6,81		
4''	182,1	-		-	181,8	-		-
5''	162,9	13,06	<i>s</i>		159,1	13,23	<i>s</i>	
6''	105,9	-		-	109,0	-		
7''	164,0	-		-	162,4	-		
8''	96,9	6,04	<i>s</i>		93,5	6,63	<i>s</i>	
9''	159,5	-		-	156,4	-		
10''	104,8	-		-	103,5	-		
1'''	121,9	-		-	121,3	-		
2'''/6'''	128,3	7,44	<i>d</i>	8,6	128,5	7,96	<i>d</i>	8,8
3'''/5'''	116,1	6,68	<i>d</i>	8,6	116,0	6,95	<i>d</i>	8,8
4'''	158,2	-		-	161,2	-		

II.3. Etude phytochimique de des racines de *Campylospermum vogelii*

L'isolement des différents composés issus des racines de *Campylospermum vogelii* a été menée à travers les étapes d'extraction, de fractionnement et de purification.

II.3.1. Extraction, fractionnement et purification des composés

La poudre sèche des racines (330 g) de *C. vogelii* a subi une extraction au méthanol par macération à froid pendant 48 heures. Cette opération s'est répétée trois fois avec à chaque fois renouvellement du solvant. Après filtration et évaporation du solvant, 18 g d'extrait brut a été obtenu. L'extrait brut des racines de *C. vogelii* a été fractionné par chromatographie sur colonne de gel de silice avec pour système de solvant $\text{CH}_2\text{Cl}_2/\text{MeOH}$ de polarité croissante, donnant cinq fractions indexées I à V. La fraction II a été purifiée par chromatographie sur colonne de gel de silice avec pour système de solvant $\text{CH}_2\text{Cl}_2/\text{MeOH}$ au 40/1 donnant deux composés indexés CV1 (8 mg) et CV2 (15 mg). De même, la fraction III a été purifiée grâce au système de solvant $\text{CH}_2\text{Cl}_2/\text{MeOH}$ du 30/1-20/1 pour donner deux composés indexés CV3 (6 mg) et CV4 (10 mg). Par ailleurs, la fraction IV ($\text{CH}_2\text{Cl}_2\text{-MeOH}$ au 15/1-10/1) a donné lieu au composé indexé CV5 (4 mg) tandis que la fraction V à l'aide du système de solvant $\text{CH}_2\text{Cl}_2\text{-MeOH}$ au 5/1 a permis d'isoler le composé indexé CV6 (12 mg) (Schéma 8).

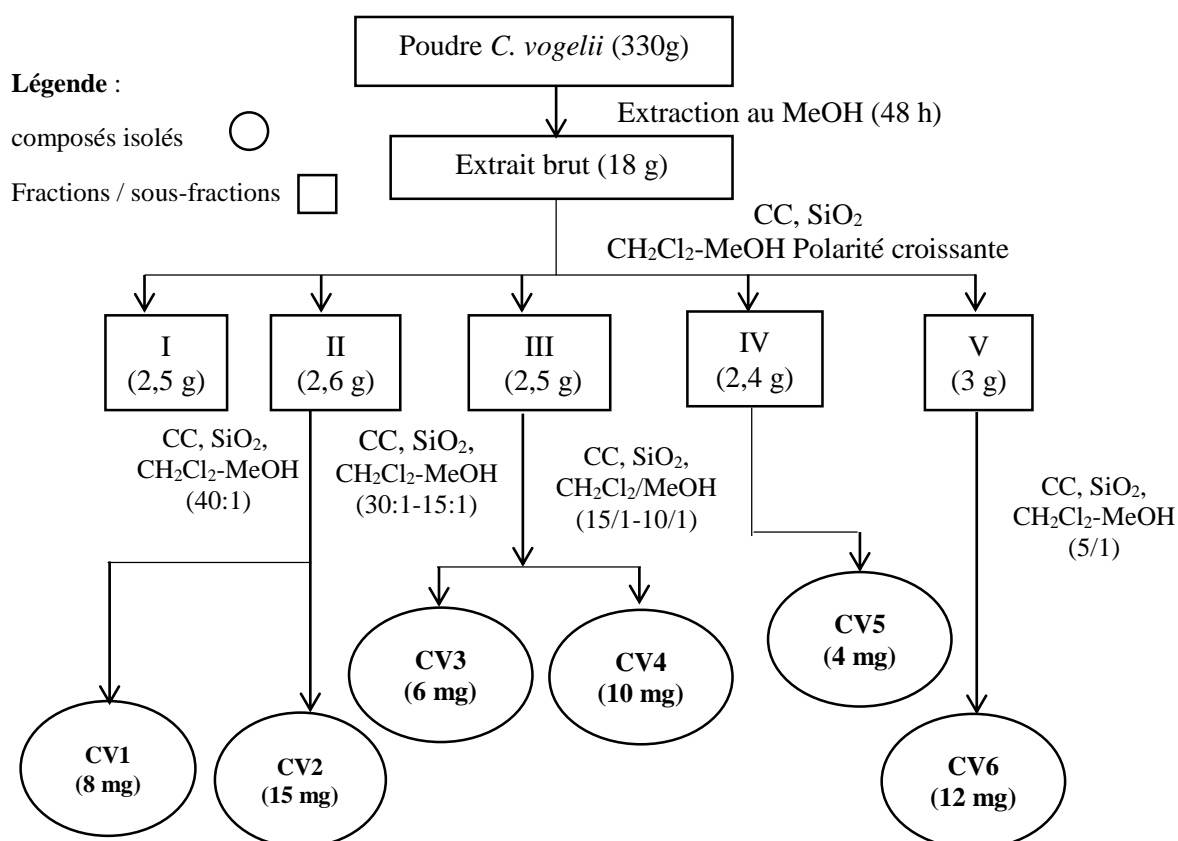


Schéma 8: Protocole d'isolement des composés des racines de *C. vogelii*

II.3.2 Identification des composés isolés

II.3.2.1. Identification de CV1 à la serotobenine

Le composé CV1 a été identifié à la serotobenine (**17**) (voir tableau 12).

II.3.2.2. Identification de CV2 à la campylopermine

Le composé CV2 se présente sous forme d'une poudre amorphe jaune. Son point de fusion se situe entre 209 - 212°C. En IR, il présente des bandes d'absorption à : ν_{\max} (KBr) cm^{-1} : 3398 (O-H), 3199 (N-H), 3005 (C=C-H), 2988 (CH), 1678 (N-C=O), 1639 (C=C), 1479 (C-C), 1095 (C-O). Son spectre de masse en impact électronique EI-MS présente le pic de l'ion moléculaire $[M^+]$ à m/z 160,0 (calc.160,1) correspondant à la formule brute $\text{C}_6\text{H}_{12}\text{O}_3\text{N}_2$.

Le spectre de RMN ^1H indique la présence de :

- Un système de protons AB avec des signaux à δ_{H} 7,46 (H-3, d , $J = 15,1$ Hz) et 6,97 ppm (H-2, d , $J = 15,1$ Hz) qui indique la présence d'un groupement oléfinique dont les protons couplent en *trans* ;
- Un système de protons A_2B_2 aliphatique méthyléniques à δ_{H} 3,45 (H-2', q , $J = 9,6 ; 5,9$ Hz) et 3,23 ppm (H-1', q , $J = 9,5 ; 5,7$ Hz) ;
- Un proton de type triplet à δ_{H} 8,77 ppm ($J = 11,0 ; 5,5$ Hz) qui est caractéristique d'une fonction amide secondaire ;
- Un méthyle singulet se trouvant à δ_{H} 3,13 ppm, lié à un atome d'azote. Le déplacement chimique de ce dernier montre que cet atome d'azote porte un hétéroatome.

Le spectre RMN ^{13}C (figure 44) révèle la présence de six carbones dont l'un est attribuable à une fonction carbonyle à δ_{C} 164,6 ppm ; deux méthines oléfiniques à δ_{C} 140,1 et 136,3 ppm ; deux méthylènes à δ_{C} 61,2 ppm et 43,5 ppm, ainsi que le groupe méthyle à δ_{C} 42,5 ppm.

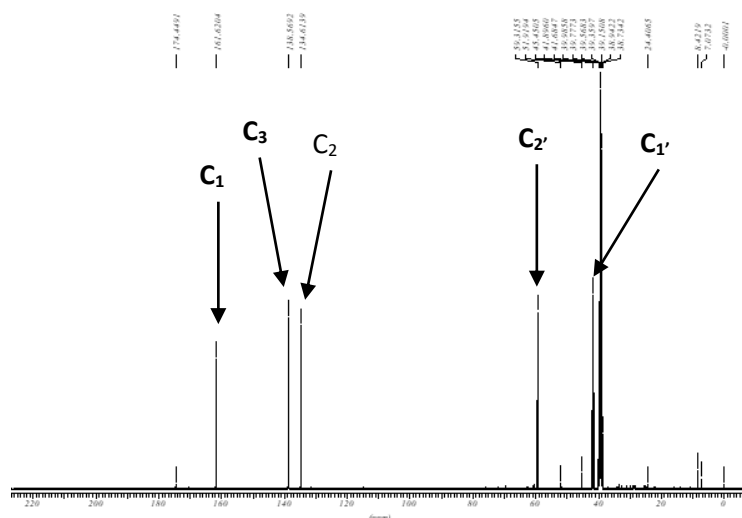
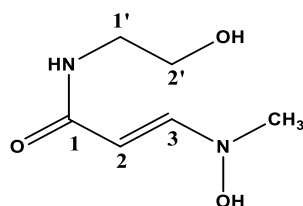


Figure 44: Spectre RMN ^{13}C de CV2 (100 MHz, CD_3OD)

Sur le spectre HMBC, plusieurs corrélations ont été observées. Entre les protons méthyliques à δ_{H} 3,13 ppm et le carbone en position 3 ($\delta_{\text{C}} = 138,6$ ppm) d'un côté, entre le proton en position 3 ($\delta_{\text{H}} = 7,46$ ppm) et les atomes de carbone en position 1 ($\delta_{\text{C}} = 161,6$ ppm) et celui du méthyle ($\delta_{\text{C}} = 41,7$ ppm) d'autres parts. Le groupe hydroxy-éthyl lié au carbone C-1 est justifié par les corrélations du proton à δ_{H} 4,79 ppm (hydroxyle terminal) avec les signaux des carbones de méthylène à δ_{C} 59,3 (C-2') et 42,0 ppm (C-1'). En outre, on observe une corrélation entre le proton du méthylène à δ_{H} 3,23 (H-1') et carbone du carbonyle à δ_{C} 161,6 ppm (C-1) confirmant l'attachement de ce groupe au squelette principal du composé.

Sur la base de ces données, la structure du composé CV2 a été identifiée à (*E*)-3-[(*N*-hydroxy)-*N*-méthylamino)-*N*-(2-hydroxyéthylène)] acrylamide, encore appelé campylospermine (**22**) précédemment isolé des feuilles de *Campylospermum densiflorum* (Ngono *et al.*, 2014).



Campylospermine (22)

Tableau 23: Données spectrales de CV2 (400 MHz et 100 MHz, DMSO-*d*₆) comparé à la campylospermine (400 MHz et 100 MHz, CD₃OD)

N°C	CV2 (exp.)				Campylospermine (litt.)			
	δ_C (ppm)	δ_H (ppm)	<i>m</i>	<i>J</i> (Hz)	δ_C (ppm)	δ_H (ppm)	<i>m</i>	<i>J</i> (Hz)
1	161,6	-		-	164,6	-		-
2	134,6	6,97	<i>d</i>	15,1	136,3	7,01	<i>d</i>	15,0
3	138,6	15,1	<i>d</i>	15,1	140,1	7,44	<i>d</i>	15,0
1'	42,0	3,23	<i>t</i>	9,5 ; 5,7	43,5	3,41	<i>t</i>	5,6
2'	59,3	3,45	<i>t</i>	9,6 ; 5,9	61,2	3,65	<i>t</i>	5,6
N-Me	41,7	3,13	<i>s</i>		42,5	3,08	<i>s</i>	
N-H		8,77	<i>t</i>	11,0 ; 5,5				
O-H		4,79	<i>t</i>	10,5 ; 5,2				

II.3.2.3. Identification de CV3 au stigmastérol

Le composé CV3 se présente sous forme de poudre blanche et répond positivement au test de Libermann Buchard. Son spectre de masse LC-MS (figure 45) indique la présence d'un signal à $[M+H]^+$ à m/z 413,0 (calc.413,1) correspondant à la formule brute C₂₉H₄₈O soit 6 degrés d'insaturations.

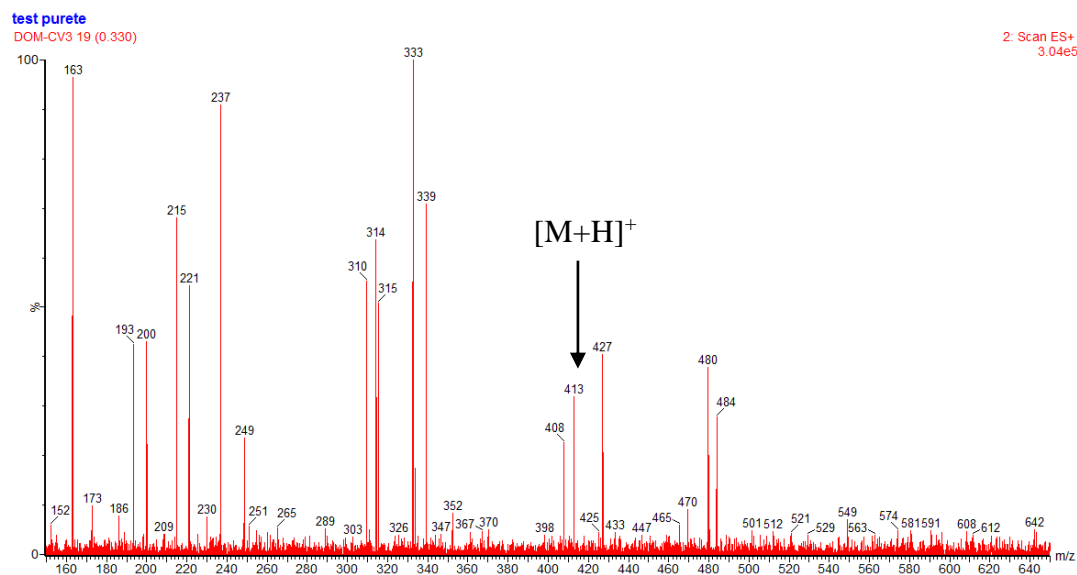


Figure 45: Spectre de masse LC-MS du composé CV3

Sur le spectre RMN ¹H, le proton H-3 apparaît à δ_H 3,67 ppm. De même, on note la présence du multiplet d'un proton oléfinique à δ_H 5,32 ppm (H-6), de deux protons oléfiniques apparaissant dans les champs faibles à δ_H 5,05 (*m*) et 5,18 (*m*) et correspondant aux protons H-

22 et H-23 respectivement. De même, on note la présence de six protons méthyliques apparaissant entre δ_H 0,71 et 1,02 ppm.

Sur le spectre DEPT 135 (figure 46) on observe un signal dans les champs faibles à δ_C 142,2 ppm attribué à un carbone sp^2 des oléfines (C-5), de même à δ_C 138,9 ppm et à 129,5 ppm attribuables aux carbones C-22 et C-23 respectivement. Le signal à δ_C 121,0 ppm est attribuable au carbone C-6. Le carbone oxygéné (C-3) présente également un signal dans les champs forts à δ_C 71,1 ppm. De même, les autres carbones du squelette stéroïde appartiennent à la région située entre δ_C 30 - 60 ppm. Les groupements méthyles apparaissent dans la région δ_C 13 - 21 ppm.

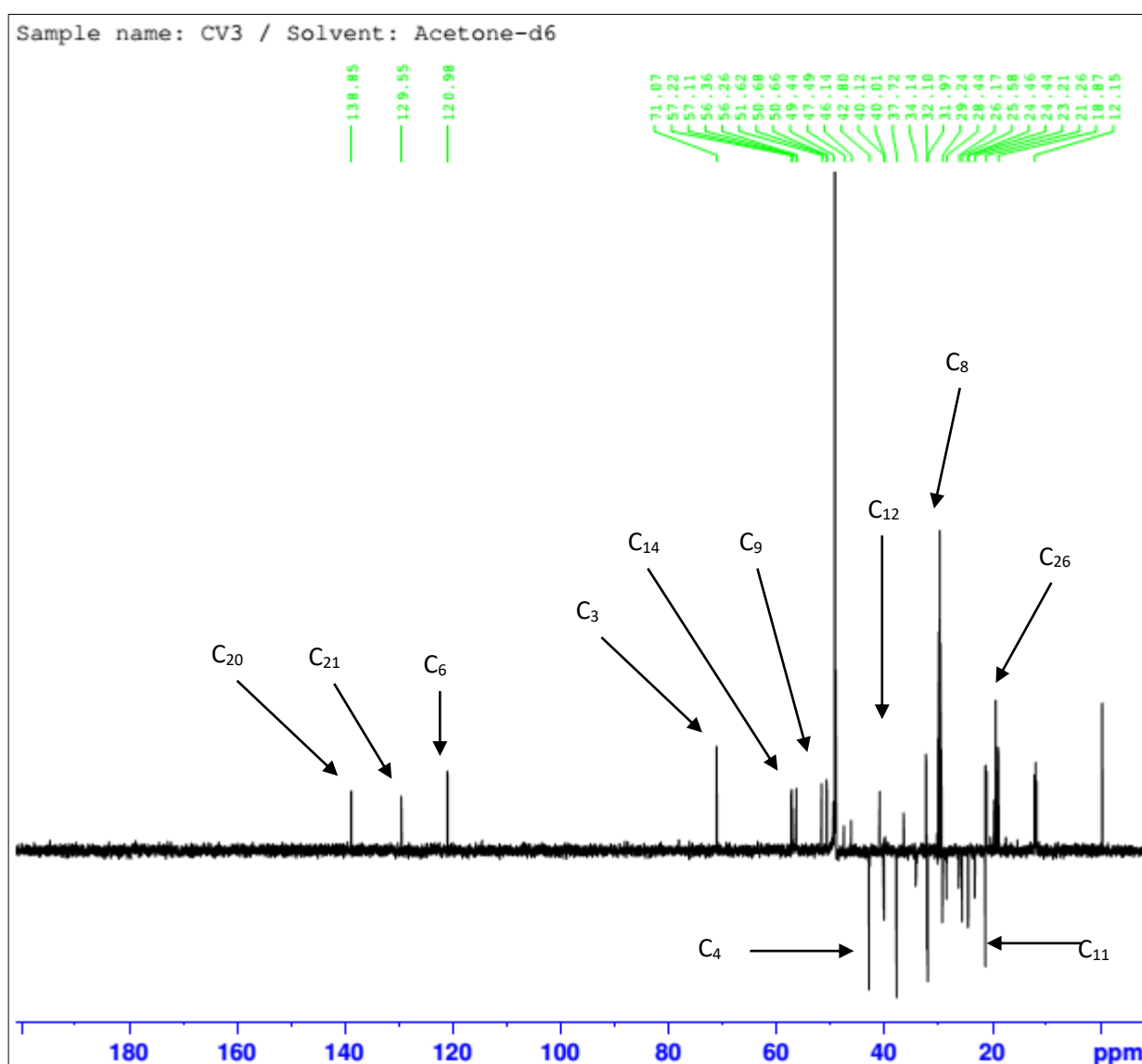
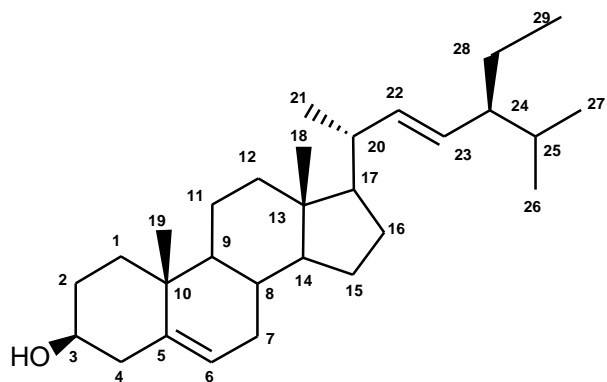


Figure 46: Spectre DEPT-135 de CV3 (300 MHz, Acetone- d_6)

L'ensemble des données spectrales RMN 1D et 2D, comparées avec celles de la littérature nous a permis de l'identifier du composé CV3 au stigmasterol (**78**), précédemment isolé des écorces des tiges de *Phyllanthus reticulatus* (Euphorbiaceae) (**Khatun et al., 2012**).



Stigmasterol (78)

Tableau 24: Données spectrales RMN ^1H et ^{13}C de CV3 (500MHz et 125 MHz, Acétone- d_6) comparé au stigmastérol (600 MHz et 150 MHz, CDCl_3)

N°C	CV3 (exp.)				Stigmastérol (litt.)			
	δ_{C} (ppm)	δ_{H} (ppm)	m	J (Hz)	δ_{C} (ppm)	δ_{H} (ppm)	m	J (Hz)
1	37,7	1,20	<i>m</i>		37,3	1,15	<i>m</i>	
2	32,0	1,40			31,7	1,44		
3	71,1	3,67	<i>m</i>		71,9	3,51	<i>m</i>	
4	42,8	2,00	<i>m</i>		42,4	1,98	<i>m</i>	
5	142,2				141,0			
6	121,0	5,32	<i>brs</i>		121,7	5,34	<i>brs</i>	
7	31,9	1,80	<i>m</i>		31,7	1,85	<i>m</i>	
8	29,7	1,40	<i>m</i>		31,8	1,44	<i>m</i>	
9	50,6	1,40	<i>m</i>		50,2	1,44	<i>m</i>	
10	38,0				36,2			
11	21,3	1,40	<i>m</i>		21,1	1,44	<i>m</i>	
12	40,0	1,40	<i>m</i>		40,1	1,44	<i>m</i>	
13	42,8				42,4			
14	57,1	1,40	<i>m</i>		56,1	1,44	<i>m</i>	
15	24,4	1,50	<i>m</i>		23,1	1,53	<i>m</i>	
16	29,2	1,50	<i>m</i>		29,7	1,53	<i>m</i>	
17	56,3	1,50	<i>m</i>		56,1	1,53	<i>m</i>	
18	12,1	0,89	<i>s</i>		12,0	0,69	<i>s</i>	
19	21,2	0,99	<i>d</i>		19,9	1,00	<i>d</i>	
20	46,1	2,25	<i>m</i>		41,1	2,27	<i>m</i>	
21	25,6	0,85	<i>d</i>		21,1	0,86	<i>d</i>	
22	138,9	5,18	<i>dd</i>	12 ; 8	138,0	5,14	<i>dd</i>	12 ; 8
23	129,5	5,05	<i>dd</i>	12 ; 8	129,0	5,04	<i>dd</i>	12 ; 8
24	49,4	2,20	<i>m</i>		50,2	2,22	<i>m</i>	
25	28,7	1,84	<i>m</i>		31,7	1,85	<i>m</i>	
26	20,0	0,84	<i>d</i>	6,7	21,3	0,84	<i>d</i>	6,8
27	19,7	0,80	<i>d</i>	6,7	19,1	0,82	<i>d</i>	6,8
28	25,6	1,23	<i>m</i>		25,4	1,25	<i>m</i>	
29	12,3	1,80	<i>t</i>	7,0	12,3	1,82	<i>t</i>	6,9

II.3.2.4. Identification de CV4 au β -sitosterol

Le composé CV4 a été identifié au β -sitosterol (**79**) (voir tableau 27).

II.3.2.5. Identification de CV5 au β -D-fructofuranosyl-(2 \rightarrow 1)- α -D-glucopyranoside

Le composé CV5 se présente sous forme d'un solide cristallin blanc. Son spectre IR présente des bandes d'absorption dans les régions allant de 3545 à 3196 cm^{-1} (-OH), 1100 à 900 cm^{-1} (liaisons C-O et C-C). Son spectre de masse LC-MS présente le pic de l'ion *pseudo*-moléculaire à $[M+H]^+$ $m/z = 343,0$ (calc. 343.1) en accord avec la formule brute de $\text{C}_{12}\text{H}_{22}\text{O}_{11}$.

Les spectres RMN ^1H (figure 47) et RMN ^{13}C présentent des signaux dans les régions allant de δ_{H} 3 à 5 ppm et de δ_{C} 60 à 110 ppm respectivement. Ces observations suggèrent la présence du groupement fructose. Ce spectre montre également la présence d'un signal dans les champs faibles correspondant à un doublet à δ_{H} 5,37 ppm, donc à celui d'un proton anomérique (H-1), avec une constante de couplage de 8,0 Hz caractéristique d'une liaison α du noyau glucopyranose. Le signal à $\delta_{\text{C}} = 93,7$ ppm appartenant au carbone C_1 du α -glucose corrèle avec le proton à 5,37 (H₁) ppm dans le spectre HSQC, confirmant la présence du carbone anomérique dans le sucre.

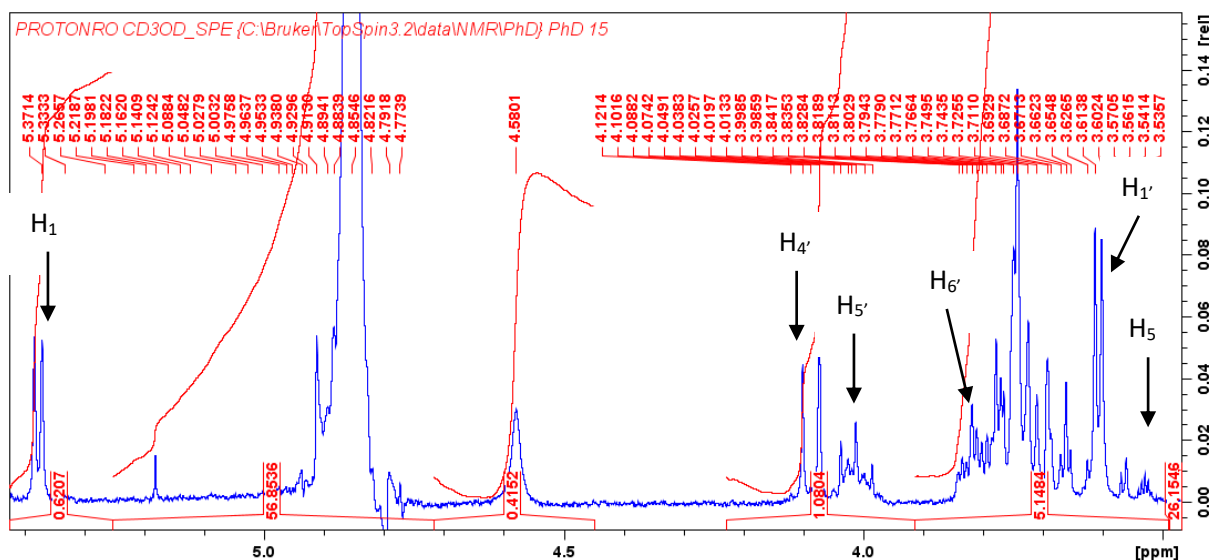


Figure 47: Spectre RMN ^1H de CV5 (300 MHz, CD_3OD)

Le spectre DEPT-135 (figure 48) permet de visualiser la présence des signaux concernant l'unité fructose et l'unité osidique à savoir :

- 5 groupements CH du glucose à : δ_{C} 93,7 (C-1) ; 72,8 (C-2) ; 74,3 (C-3) ; 70,9 (C-4) ; 74,0 (C-5).
- 5 groupements CH du fructose à δ_{C} 61,8 (C-1') ; 105,4 (C-2') ; 78,9 (C-3') ; 75,3 (C-4') et 83,5 ppm (C-5').

- 2 groupements CH₂ dont l'un appartient à l'unité fructose à δ_c 63,7 (C-6') et à δ_c 63,0 (C-6).

Sample name: CV5 / Solvent: CD3OD

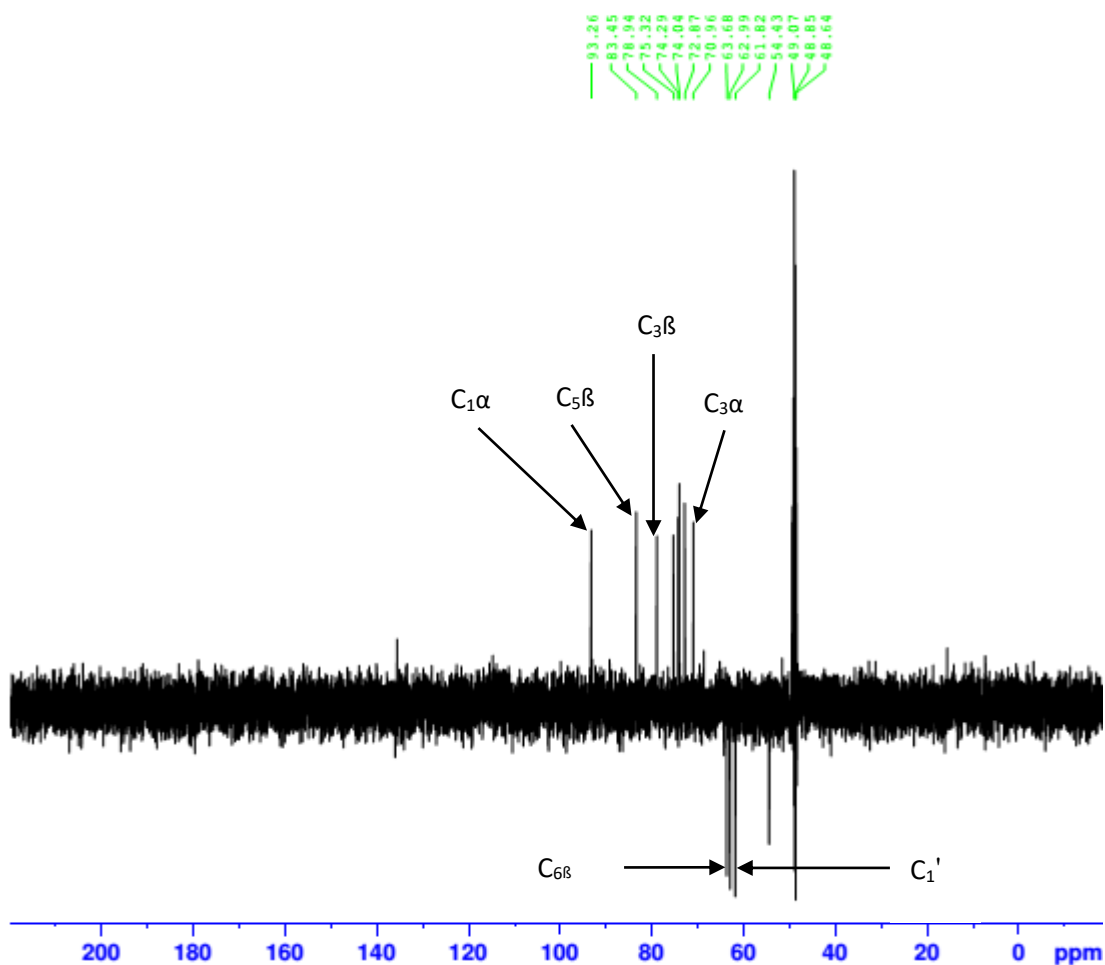
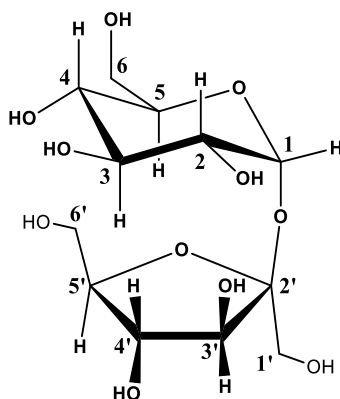


Figure 48: Spectre DEPT-135 de CV5 (400 MHz, CD₃OD)

Ces faits corroborent la présence du β -D-fructofuranosyl-(2→1)- α -D-glucopyranoside (**79**) précédemment isolé par Yamamori *et al.* en 2017.



β -D-fructofuranosyl- α -D-glucopyranoside (**79**)

Tableau 25: Données spectrales RMN ^1H et ^{13}C de CV5 (400MHz et 100 MHz, CD_3OD) comparé au β -D-fructofuranosyl- α -D-glucopyranoside (500 MHz et 125 MHz, CD_3OD)

N°C	CV5 (exp.)				β -D-fructofuranosyl- α -D-glucopyranoside (litt.)			
	δ_{C} (ppm)	δ_{H} (ppm)	<i>m</i>	<i>J</i> (Hz)	δ_{C} (ppm)	δ_{H} (ppm)	<i>m</i>	<i>J</i> (Hz)
α -Glu								
1	93,7	5,37	<i>d</i>	8,0	95,4	4,87	<i>d</i>	8,1
2	72,8	3,38	<i>dd</i>	9,1; 8,0	73,6	3,35	<i>dd</i>	9,3; 8,1
3	74,3	3,56	<i>dd</i>	9,0; 8,9	76,6	3,54	<i>dd</i>	9,3; 9,0
4	70,9	3,42	<i>dd</i>	9,9; 8,9	70,4	3,41	<i>dd</i>	9,9; 9,0
5	74,0	3,53	<i>ddd</i>	9,9; 5,6; 2,1	76,5	3,47	<i>ddd</i>	9,9; 5,6; 2,3
6	63,0	3,84; 3,74	<i>dd</i>	12,0; 2,1; 5,6	61,3	3,89; 3,71	<i>dd</i>	12,4; 2,3; 5,6
β -Fru								
1'	61,8	3,81; 3,61	<i>d</i>	12,5	62,0	3,79; 3,68	<i>d</i>	12,7
2'	105,4				105,4			
3'	78,9	4,22	<i>d</i>	8,5	76,6	4,28	<i>d</i>	8,7
4'	75,3	4,10	<i>dd</i>	8,5; 8,1	74,5	4,15	<i>dd</i>	8,7; 8,4
5'	83,5	3,99	<i>ddd</i>	8,1; 6,6; 3,1	82,5	3,93	<i>ddd</i>	8,4; 6,6; 3,0
6'	63,7	3,83; 3,77	<i>dd</i>	12,2; 3,1; 6,6	63,0	3,83; 3,78	<i>dd</i>	12,5; 3,0; 6,6

II.3.2.6. Détermination structurale de CV6

Le composé CV6 se présente sous forme d'un solide amorphe jaune, répondant positivement au test de Neu caractéristique des biflavonoïdes. Son spectre de masse LC-MS en mode négatif (figure 49) présente le pic de l'ion *pseudo*-moléculaire $[M-H]^-$ à m/z : 571,0872 (calc. 571,0877) en accord avec la formule brute $C_{30}H_{20}O_{12}$, soit 21 insaturations.

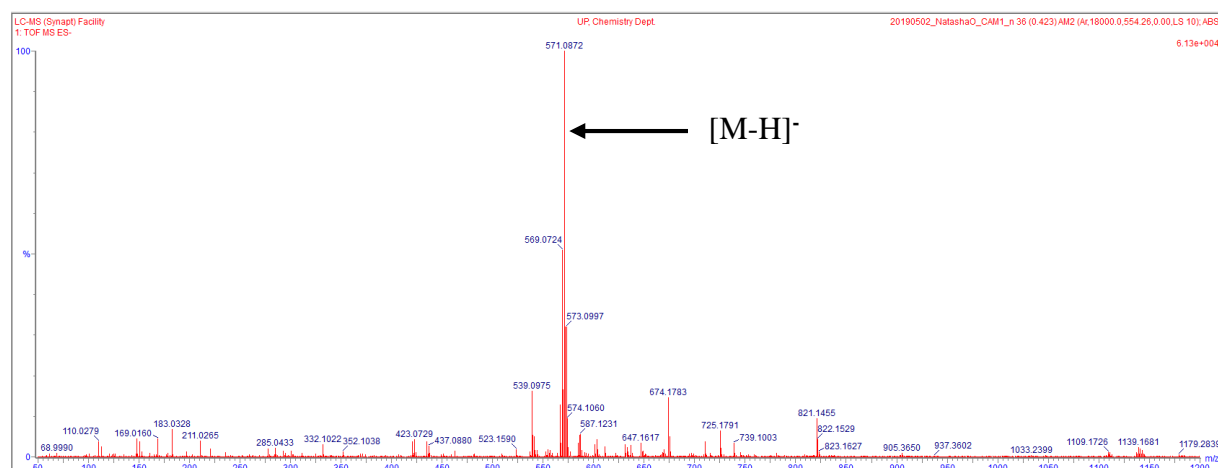


Figure 49: Spectre de masse (LC-MS) du composé CV6

Les spectres RMN 1H (figure 50) et COSY90 (figure 51) présentent le signal d'un proton apparaissant sous forme de doublet à δ_H 4,62 ppm (1H, *d*, 11,5 Hz, H-3''), de même qu'un autre signal à δ_H 5,10 ppm (1H, *d*, $J = 11,5$ Hz, H-2'') caractérisant un noyau flavanonol (Sievers *et al.*, 1992). De même, on note la présence de deux signaux à δ_H 11,89 ppm (H-5) et à δ_H 13,06 ppm (H-5'') qui ont été assignés à des hydroxyles chelatés. Quatre protons comprenant un ensemble de deux doublets *mé*ta-substitués à δ_H 5,87 et δ_H 5,91 ppm ($J = 2,2$ Hz), sont attribuables aux protons (H-6) et (H-8) du cycle A et aux protons (H-6'') et (H-8'') du noyau D d'une unité flavone, formant des systèmes AB. D'autres signaux sont aussi observés dans la zone aromatique à δ_H 7,00 (1H, *d*, $J = 8,5$ Hz), 7,17 (1H, *d*, $J = 2,1$ Hz) et 7,23 (1H, *dd*, $J = 8,5 ; 2,1$ Hz) correspondant aux protons (H-5'), (H-2') et (H-6') du noyau B appartenant au système ABM. De même, on note la présence d'un système AA'BB' intégrant deux protons chacun à δ_H 6,88 et 2H à δ_H 7,45 ppm respectivement appartenant au cycle E.

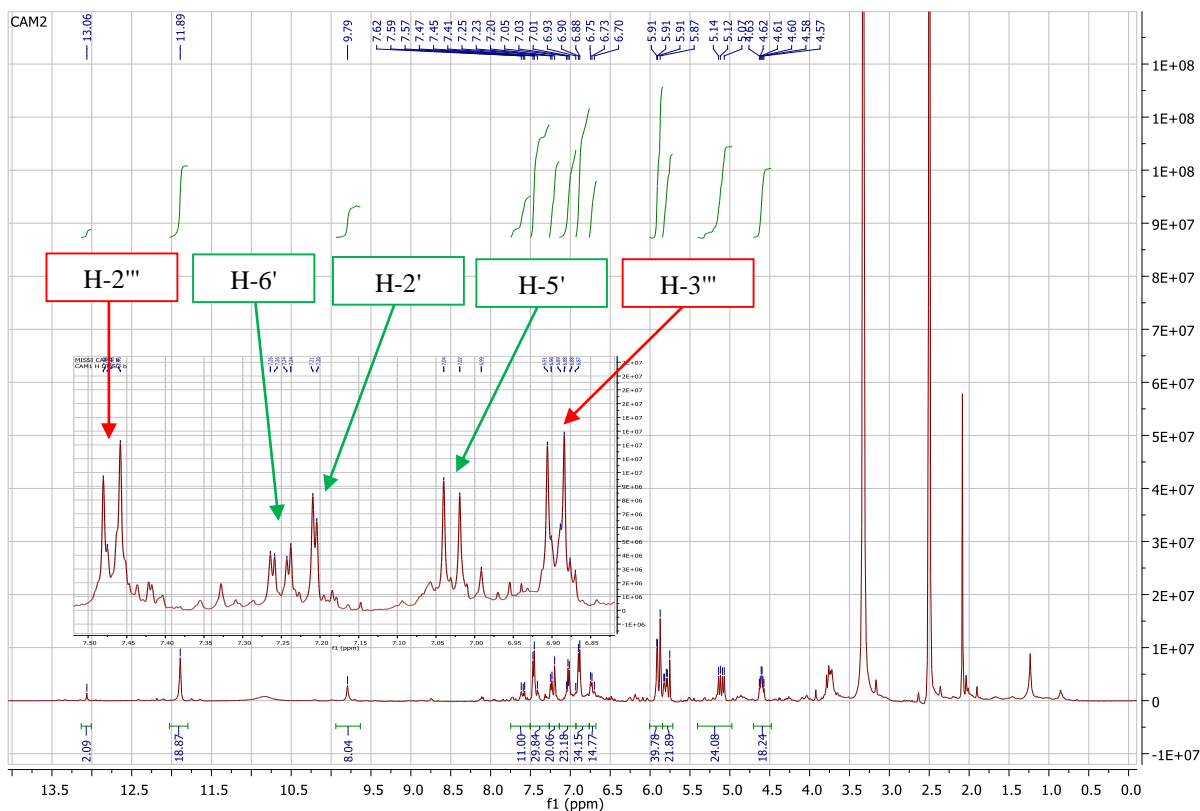


Figure 50: Spectre RMN ^1H du composé CV6 (500 MHz, DMSO- d_6)

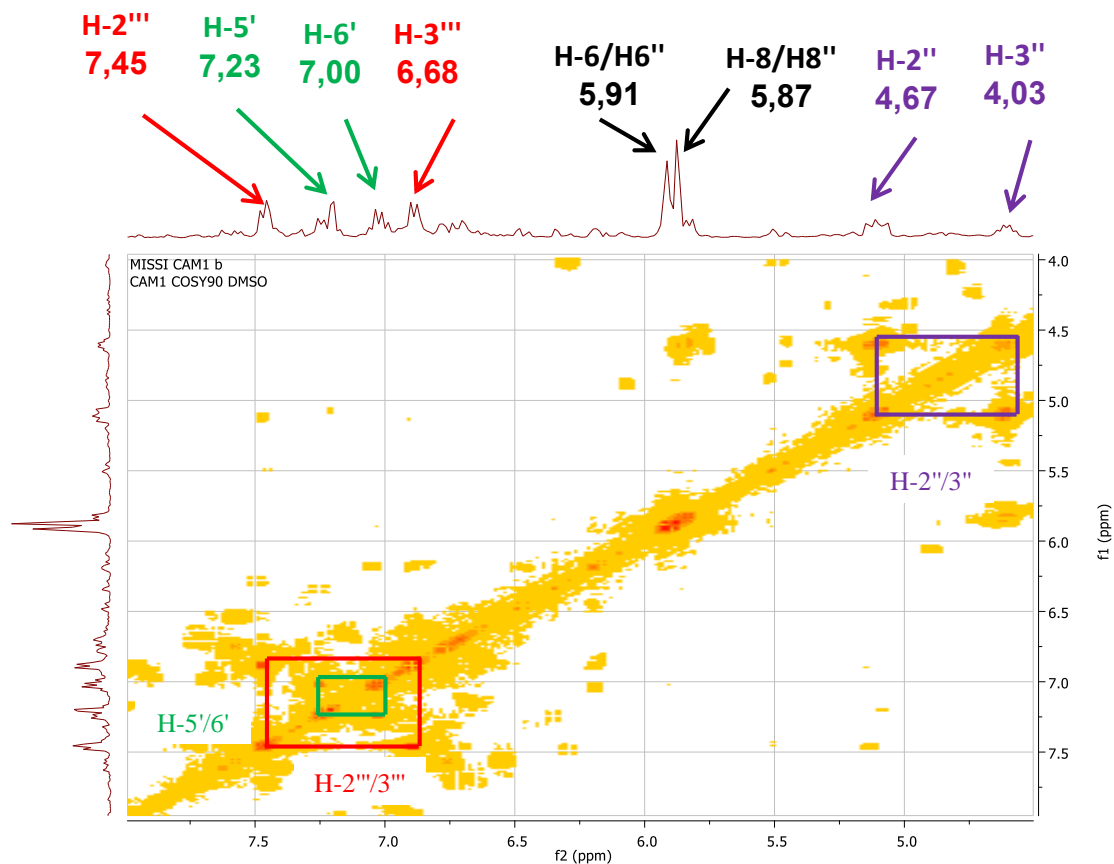


Figure 51: Spectre COSY90 de CV6 (500 MHz, DMSO- d_6)

Les spectres RMN ^{13}C et DEPT (Figure 52 et 53) indiquent la présence des signaux comprenant 13 méthines, 17 carbones quaternaires dont deux carbonyles qui apparaissent à δ_{C} 173,9 et 197,8 ppm appartenant aux noyaux C et F respectivement. Ainsi, des signaux typiques d'une unité flavonoïdique portant les protons de type méthine appartenant au noyau C sont observés à δ_{C} 82,5 ppm (C-2'') et 71,5 ppm (C-3'') et respectivement. Par ailleurs, sur le spectre RMN ^{13}C , la résonance dans les champs faibles des carbones appartenant aux noyaux B et E sont observés à δ_{C} 141,6 ppm (C-3') et à δ_{C} 158,2 ppm (C4'''), montrant ainsi que ces carbones sont impliqués dans la liaison interflavonoïdique.

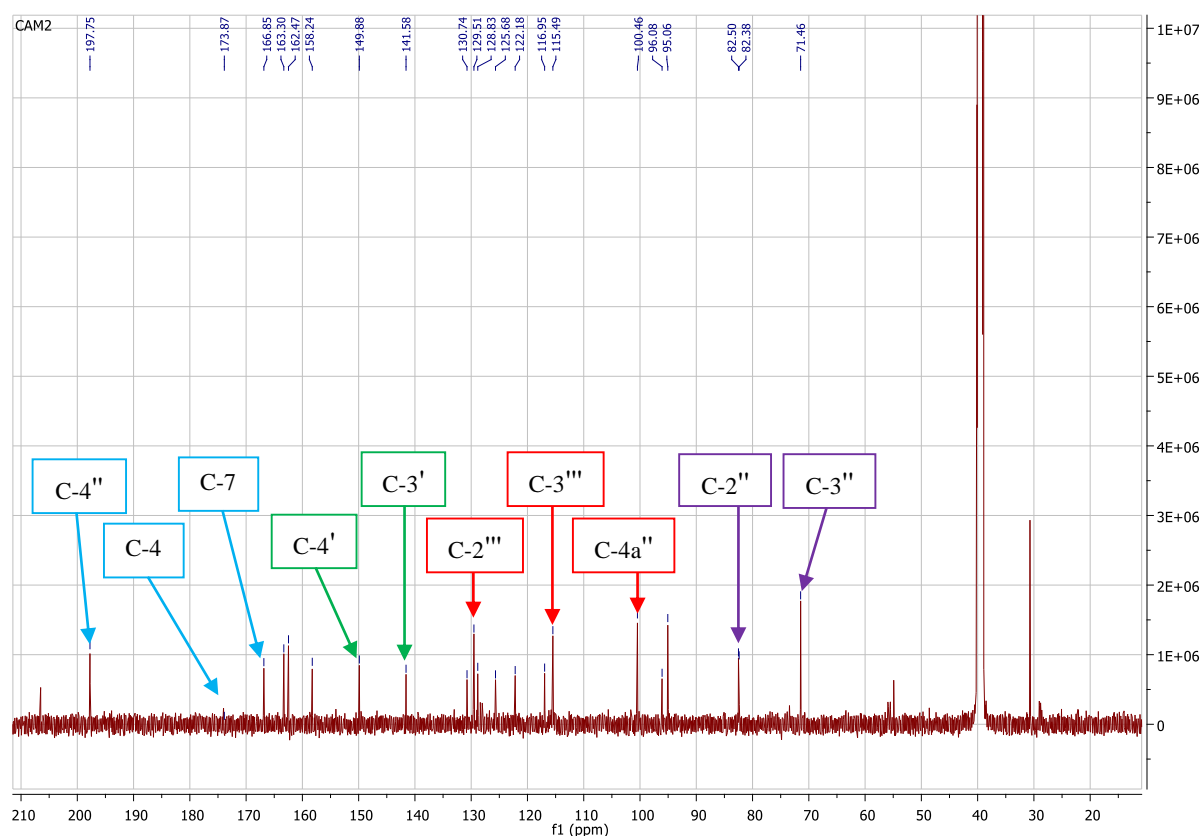


Figure 52: Spectre RMN ^{13}C de CV6 (125 MHz ; DMSO- d_6)

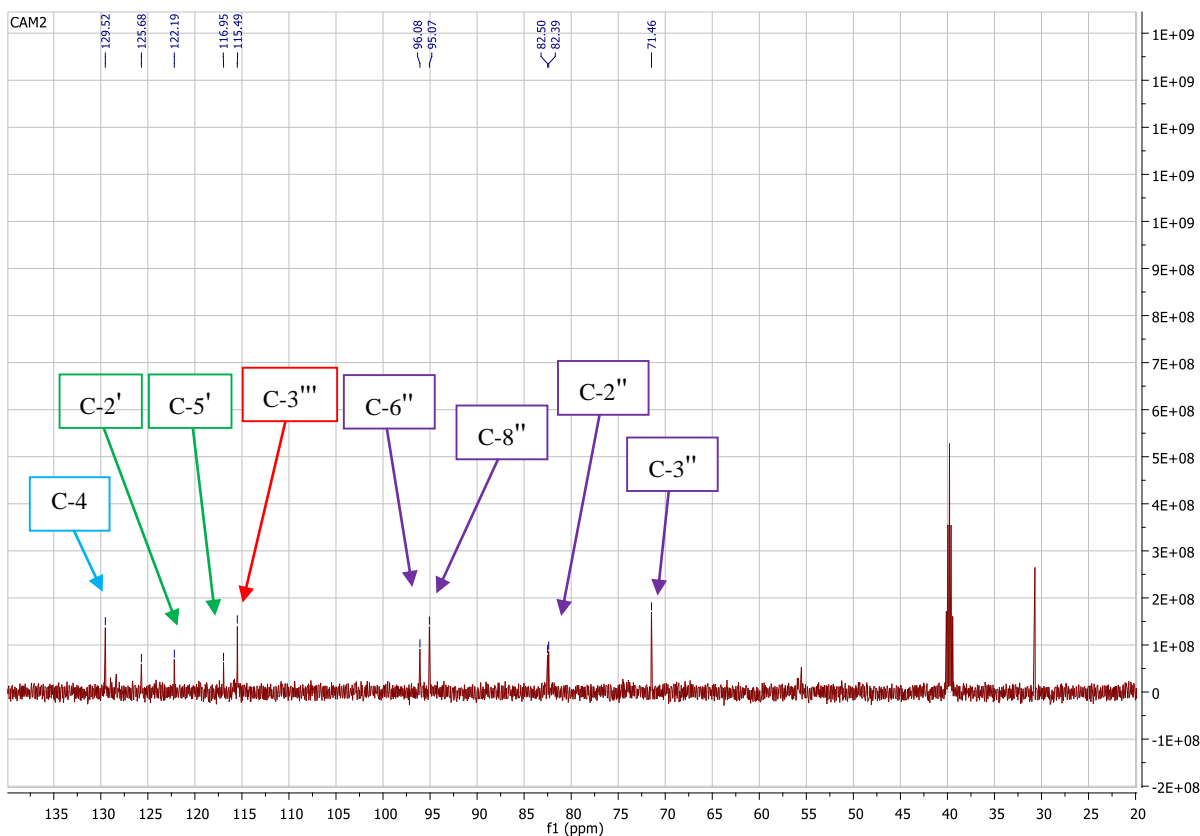


Figure 53: Spectre DEPT-135 de CV6 (125 MHz, DMSO- d_6)

Le spectre HSQC (figure 54) présente :

- des taches de corrélation entre le proton H-2' ($\delta_H = 7,17$ ppm) et le carbone C-2' ($\delta_C = 122,1$ ppm) ; entre le proton H-5' ($\delta_H = 7,03$ ppm) et le carbone C-5' ($\delta_C = 117,0$ ppm) et entre le proton H-6' ($\delta_H = 7,23$ ppm) et le carbone C-6' ($\delta_C = 125,7$ ppm) du noyau B.
- une tache de corrélation entre le proton H-6 ($\delta_H = 5,91$ ppm) et le carbone C-6 ($\delta_C = 96,1$ ppm) appartenant au noyau A.
- une tache de corrélation entre le proton H-2''' ($\delta_H = 7,45$ ppm) et le carbone C-2''' ($\delta_C = 129,5$ ppm) appartenant au noyau E.
- une tache de corrélation entre le proton H-3'' ($\delta_H = 4,62$ ppm) et le carbone C-3'' ($\delta_C = 71,5$ ppm) de même qu'entre le proton H-2'' ($\delta_H = 5,10$ ppm) et le carbone C-2'' ($\delta_C = 82,5$ ppm) du cycle C.

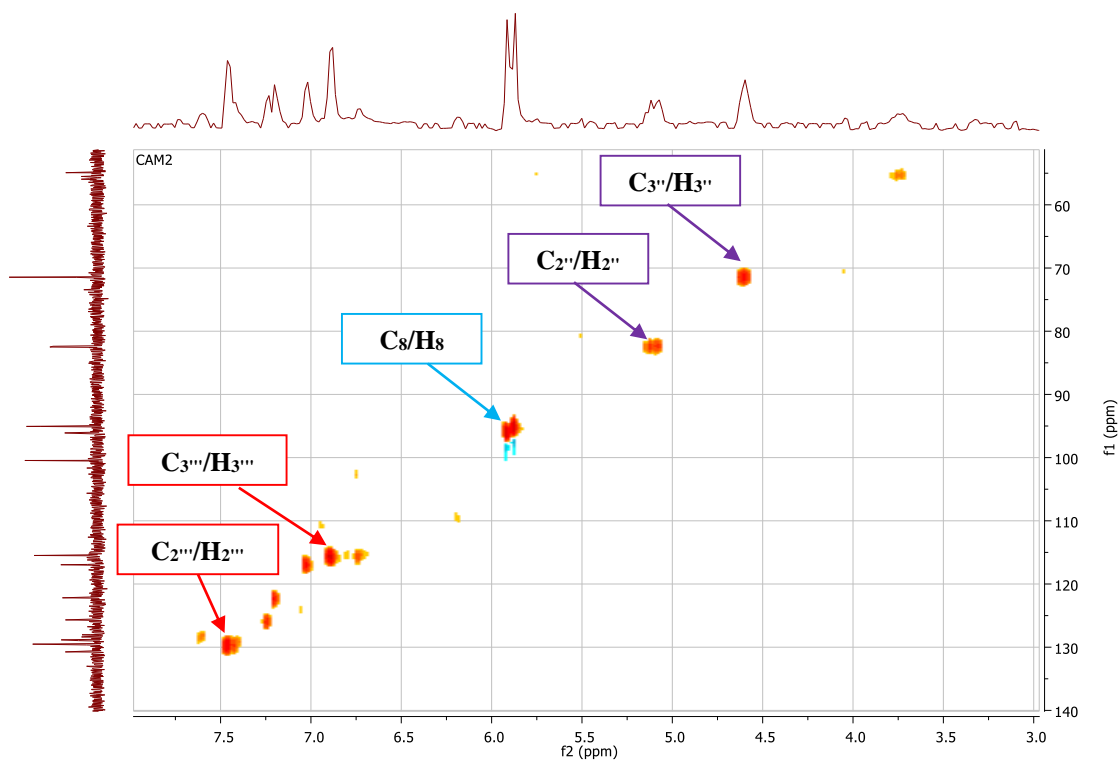
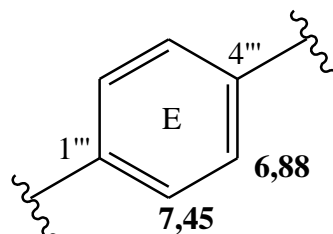


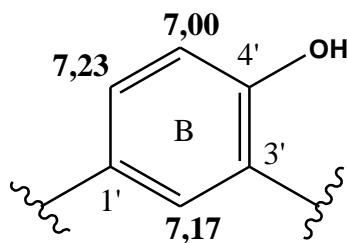
Figure 54: Spectre HSQC de CV6

Toutes ces informations confirment l'existence des sous-structures suivantes :

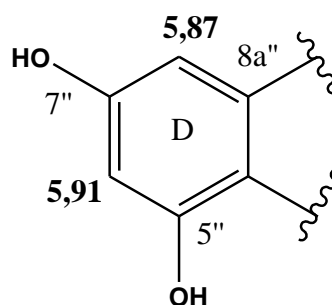
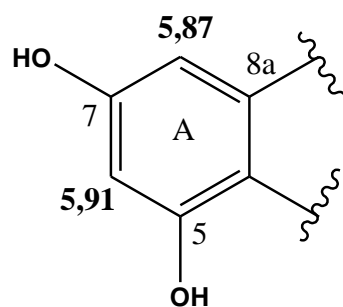
- Un noyau aromatique 1,4-disubstitué (noyau E) ;



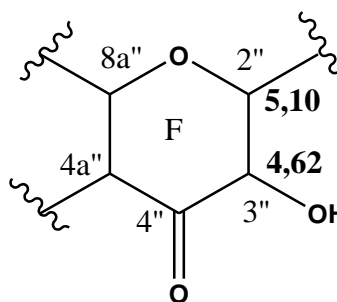
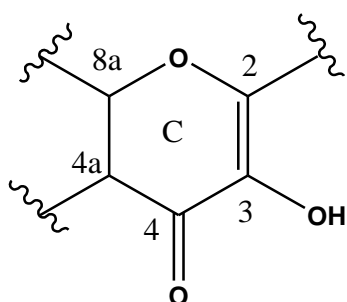
- Un noyau aromatique 1,2,4-trisubstitué (noyau B) ;



- Deux noyaux aromatique 1,2,3,5-tétrasubstitué (noyaux A et D) ;



- Deux cycles hydroxypyran-4-one dont un porte une double liaison en position 2 et 3 (cycles C et F) ;



Par ailleurs, l'étude du spectre de corrélation hétéronucléaire à longue distance HMBC (figure 55) présente :

- des taches de corrélation observées entre le proton H-8 ($\delta_H = 5,87$ ppm) et les carbones C-8a ($\delta_C = 162,5$ ppm), C-4a ($\delta_C = 100,5$ ppm), C-7 ($\delta_C = 166,9$ ppm), et C-6 ($\delta_C = 96,1$ ppm).
- une tache de corrélation observée entre le proton H-2''' ($\delta_H = 7,45$ ppm) et le carbone C-2'' ($\delta_C = 82,5$ ppm) ; de même, on observe une corrélation entre le proton H-2'' ($\delta_H = 5,10$ ppm) et le carbone C-2''' ($\delta_C = 129,5$ ppm) justifiant la jonction entre le cycle F et le noyau aromatique E de la sous-structure I.
- une tache de corrélation observée entre le proton H-5' ($\delta_H = 7,00$ ppm) et le carbone C-3' ($\delta_C = 141,6$ ppm) appartenant au noyau aromatique B.
- deux taches de corrélation observées entre les protons H-2' ($\delta_H = 7,17$ ppm) et H-6' ($\delta_H = 7,23$ ppm) le carbone C-2 ($\delta_C = 150,0$ ppm) justifiant ainsi la jonction entre le cycle C et le noyau aromatique B de la sous-structure I (figure 56).

Par ailleurs, la constante de couplage des protons du cycle F indique l'existence de positions *trans*-diaxiale entre H-2'' ($\delta_H = 5.10$ ppm ; $J = 11.5$ Hz) et H-3'' ($\delta_H = 4.62$; $J = 11.5$ Hz).

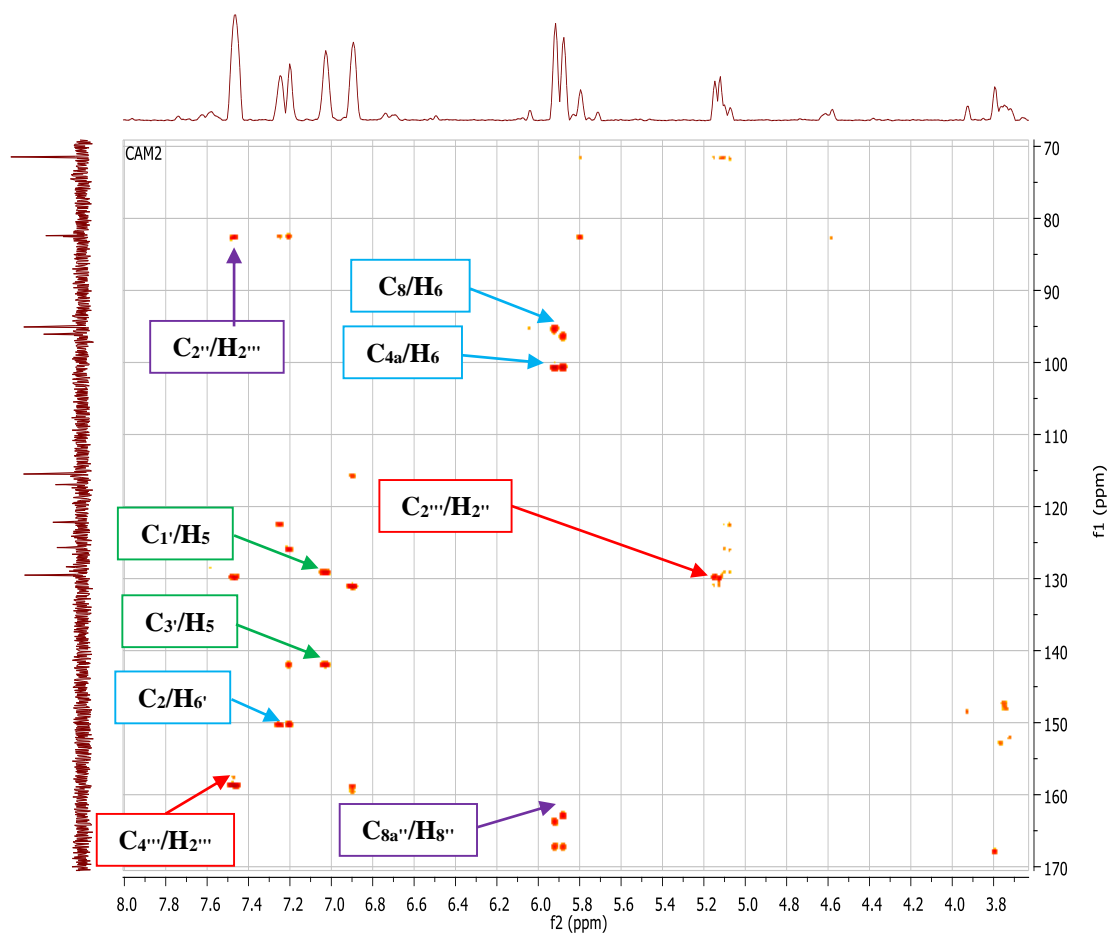


Figure 55: Spectre HMBC de CV6

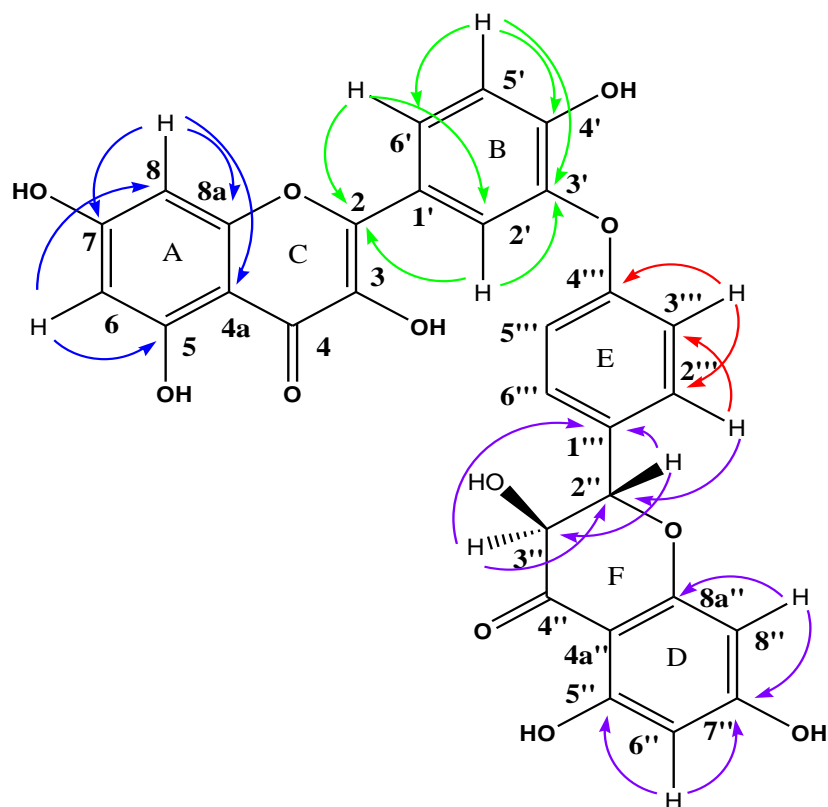
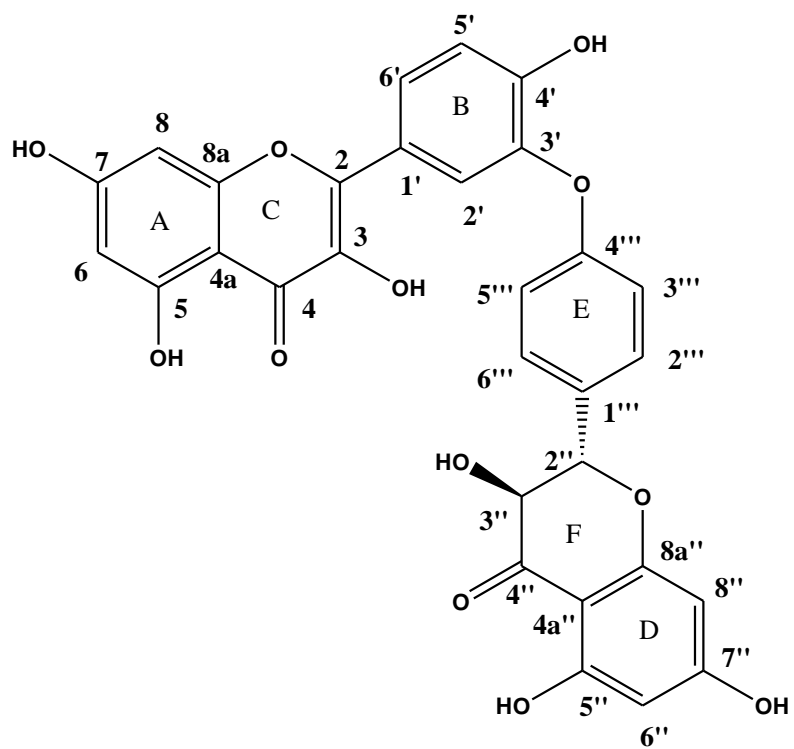


Figure 56: Quelques corrélations HMBC de CV6

Sur la base de ces informations, et en accord avec le spectre de masse, le composé CV6 possède une liaison éther de type 3'-O-4'' qui lie les unités de l'apigénine et de la dihydrokaempférol. De plus, le signal à $\delta_c = 141,6$ ppm du carbone C-3' vers les champs faibles confirme qu'il est impliqué dans la liaison éther. Le composé CV6 a ainsi été caractérisé comme un biflavonoïde de type flavonol-flavanonol, nommé *trans*-3-hydroxyapigényl-3'-O-4''-dihydrokaempférol (**80**), un nouveau biflavonoïde dérivé de l'ochnaflavone auquel nous avons donné le nom de Vogelone. En effet, ce composé est similaire à la 3,5,7,4',3'',5'',7''-Heptahydroxy-3'-O-4''-biflavanone (Sievers, *et al.* 1992) isolé pour la première fois des mousses de *Hypnum cupressiforme* (Hypnaceae). La différence avec ce dernier composé réside dans l'existence d'une double liaison entre les carbones C-2 ($\delta_c = 150,0$ ppm), et C-3 ($\delta_c = 133,1$ ppm) de l'unité quercétine du composé CV6 (tableau 26).



trans-3-hydroxyapigenyl-3'-*O*-4'''-dihydrokampférol (**80**)

Tableau 26: Données spectrales RMN ^1H et ^{13}C de CV6 (500 et 125 MHz, DMSO- d_6)

N°C	CV6 (exp.)				
	δ_{C} (ppm)	δ_{H} (ppm)	m	J (Hz)	HMBC (C→H)
2	150,0				H-2' ; H-6'
3	133,1				
4	173,9				
4a	100,5				H-6 ; H-8
5	163,3				H-6
6	96,1	5,91	d	2,2	H-8
7	166,9				H-6 ; H-8
8	95,1	5,87	d	2,2	H-6
8a	162,5				H-8
1'	128,8				
2'	122,1	7,17	d	2,1	H-6'
3'	141,6				H-5' ; H-2'
4'	149,9				H-5' ; H-2' ; H-6'
5'	117,0	7,00	d	8,5	
6'	125,7	7,23	dd	8,5 ; 2,5	H-5'
2''	82,5	5,10	d	11,5	H-3 ; H-2'''
3''	71,5	4,62	d	11,5	H-2''
4''	197,8				
4a''	100,5				
5''	163,3				H-6''
6''	96,1	5,91	d	2,2	H-8''
7''	166,9				H-6'' ; H-8''
8''	95,1	5,87	d	2,2	H-6''
8a''	162,5				H-8''
1'''	130,7				H-2'' ; H-3''
2'''	129,5	7,45	d	10,0	H-3''' ; H-2''
3'''	115,5	6,88	d	10,0	
4'''	158,2				H-3'''
5'''	115,5	6,88	d	10,0	
6'''	129,5	7,45	d	10,0	H-3''' ; H-2''

II.4. Etude phytochimique des tiges de *Campylospermum vogelii*

L'isolement des différents composés issus des tiges de *Campylospermum vogelii* a été menée à travers les étapes d'extraction, de fractionnement et de purification.

II.4.1. Extraction, fractionnement et purification des composés

La poudre sèche des tiges de *C. vogelii* (412g) a subi une extraction au méthanol par macération à froid pendant 48 heures. Cette opération s'est répétée trois fois avec à chaque fois renouvellement du solvant. Après filtration et évaporation du solvant, un extrait brut de 22 g a été obtenu. L'extrait méthanolique brut des tiges de *C. vogelii* a été fractionné par chromatographie sur colonne gel de silice avec pour système de solvant $\text{CH}_2\text{Cl}_2/\text{MeOH}$ de polarité croissante, donnant cinq fractions indexées I à V. La fraction II a été purifiée par chromatographie sur colonne de gel de silice avec pour système de solvant $\text{CH}_2\text{Cl}_2/\text{MeOH}$ au 40/1-30/1 donnant deux composés : le composé **CVT1** (12 mg) et le composé **CVT2** (15 mg). De même, la fraction III a été purifiée à l'aide du système de solvant $\text{CH}_2\text{Cl}_2/\text{MeOH}$ au 20/1 donnant deux composés **CVT3** (22 mg) et **CVT4** (9 mg). La fraction V a été également purifiée par chromatographie sur colonne de gel de silice avec pour système de solvant $\text{CH}_2\text{Cl}_2/\text{MeOH}$ au 5/1 donnant le composé **CVT5** (8 mg) (Schéma 9).

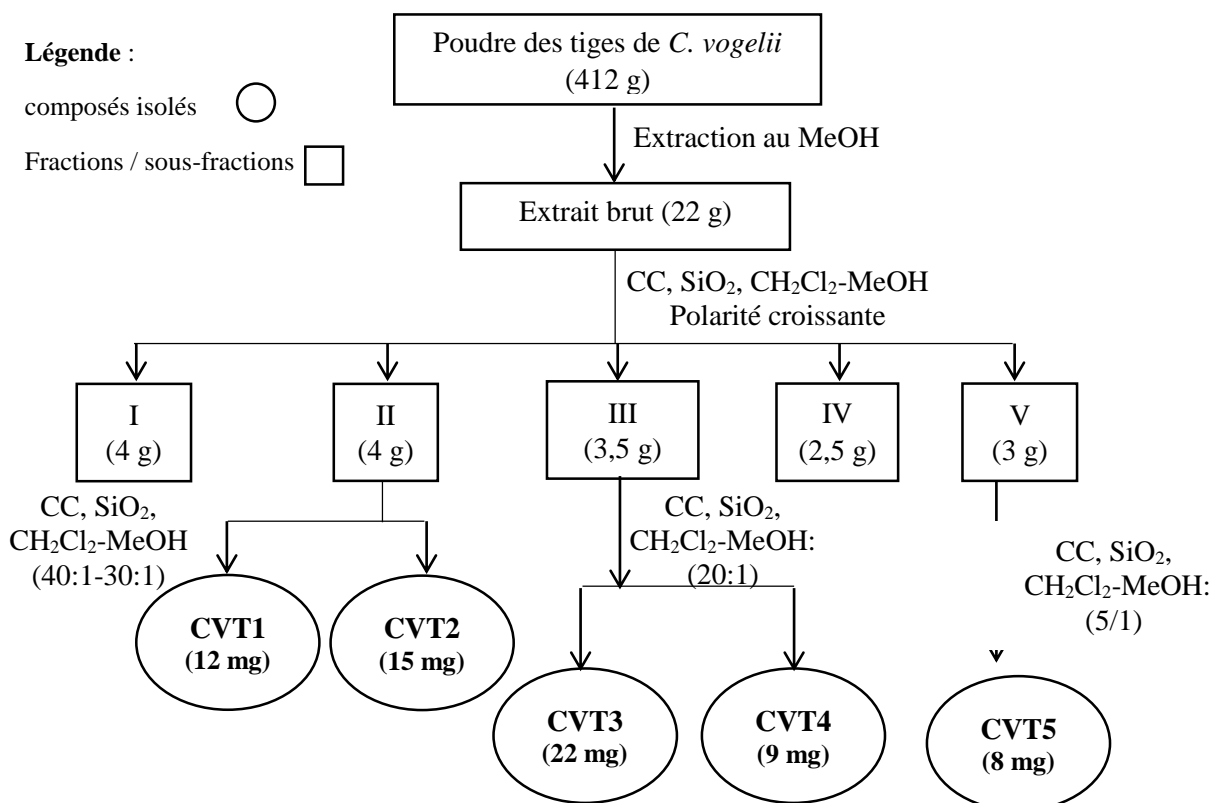


Schéma 9: Protocole d'isolement des composés des tiges de *C. vogelii*

II.4.2. Identification des composés isolés des tiges de *C. vogelii*

II.4.2.1. Identification de CVT1 à la serotobenine

Le composé CVT1 a été identifié à la serotobenine (**18**) (voir tableau 12).

II.4.2.2. Identification de CVT2 au β -sitostérol

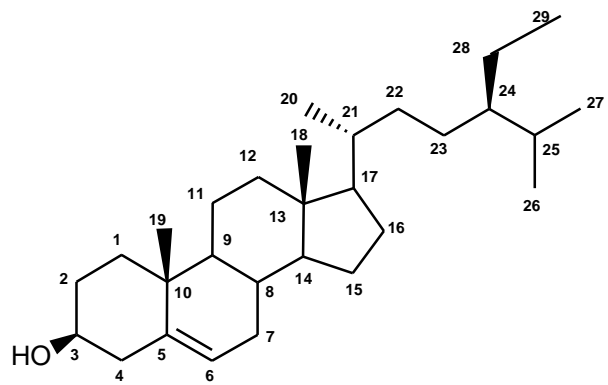
Le composé CVT2 a été obtenu sous forme d'une poudre blanche, soluble au méthanol. Son point de fusion se situe entre 134-136°C. Il répond positivement au test de Libermann-Buchard. Son spectre IR présente des bandes d'absorption à 3400 cm⁻¹ caractéristique du groupe -OH, à 2899 cm⁻¹ caractéristique du groupe CH-, à 1460 cm⁻¹ caractéristique de la double liaison C=C, et à 1041 cm⁻¹ caractéristique du groupe C-O. Son spectre de masse IE, présente le pic de l'ion moléculaire [M]⁺ à $m/z = 414,4$ (calc. 414,5) conduisant à la formule moléculaire C₂₉H₅₀O soit cinq degrés d'insaturation.

Son spectre RMN ¹H présente :

- un doublet large à $\delta_H = 5,56$ ppm (1H, $J = 6,1$ Hz) correspondant au proton éthylénique H-6.
- un multiplet d'intégration 1H à $\delta = 3,59$ ppm correspondant à un proton sur un carbone oxygéné, notamment le H-3 d'un stérol.
- deux singulets à $\delta_H = 1,03$ ppm et $\delta_H = 0,70$ ppm d'intégration 3H chacun, attribuables aux méthyles 19 et 18 respectivement.
- Deux doublets et un triplet superposés d'intégration 9H centrés à $\delta_H = 0,81$ et $\delta_H = 0,70$ ppm correspondant aux deux méthyles isopropyliques (H-27 et H-28) qui sont diastéréotopiques et par conséquent magnétiquement non équivalents et à $\delta_H = 1,01$ du méthyle (H-29).

Son spectre RMN ¹³C a montré 29 signaux de carbones dont un signal de type oxyméthine à $\delta_C 72,0$ ppm et deux carbones oléfiniques à $\delta_C 140,9$ et $\delta_C 121,9$ ppm. Cette double liaison insaturée est caractéristique du spirostène. Les expériences DEPT 135 et DEPT 90 du composé CVT2 confirment que ce composé présente six groupes (CH₃) méthyleniques, onze groupes du méthylène (CH₂), neuf groupes du méthine (CH) et trois groupes carbones quaternaires (C).

Les données RMN étaient très semblables à celles du stigmastérol (**78**) à l'exception des protons oléfiniques absents dans ce dernier. En effet, on note la présence de deux signaux méthylène pour H-22 et H-23 et deux multiplets d'un proton chacun à $\delta_H 3,59$ ppm et à $\delta_H 5,56$ ppm typique des H-3 et H-6 d'un noyau stéroïdique. Par comparaison avec les données de la littérature, l'ensemble de ces données sont en accord avec la structure du β -sitostérol (**81**) (Ahmed *et al.*, 2013).



β -sitosterol (81)

Tableau 27: Données spectrales RMN ^1H et ^{13}C de CVT2 (300 MHz et 75 MHz, DMSO- d_6) comparé au β -sitosterol

N°C	CVT2 (exp.)				β -sitosterol (litt.)			
	δ_{C} (ppm)	δ_{H} (ppm)	<i>m</i>	J (Hz)	δ_{C} (ppm)	δ_{H} (ppm)	<i>m</i>	J (Hz)
1	37,5				35,5	1,05-1,79		
2	31,9				29,7	1,42-1,80		
3	72,0	3,59	<i>tdd</i>		71,8	3,45	<i>tdd</i>	4,5; 4,2; 3,8
4	42,5	2,27			37,0	2,27		
5	140,9				140,8			
6	121,9	5,56	<i>t</i>	6,0	121,7	5,26	<i>t</i>	6,1
7	32,1				31,7	1,47-1,92		
8	32,1				31,9	1,39-1,55		
9	50,3				50,2	0,81-0,89		
10	36,7				34,0			
11	21,3				21,2	1,36-1,58		
12	39,9				39,8	1,10-1,98		
13	42,6				42,3			
14	56,9				56,5	0,91-0,99		
15	26,3				24,3	1,49-1,58		
16	28,5				28,3	1,22-1,79		
17	56,3				54,4	1,03-1,08		
18	12,3				11,9	0,67		
19	19,2	0,87	<i>d</i>	6,4	19,4	1,00	<i>d</i>	6,5
20	34,2				36,2	1,26-1,30		
21	18,3	0,94			18,8	0,92		
22	35,1				34,0	1,02-1,26		
23	23,3				26,1	1,08-1,19		
24	42,2	0,84	<i>t</i>	7,0	44,9	0,81-0,89	<i>t</i>	7,2
25	29,4				29,2	1,63		
26	20,1	0,83	<i>d</i>	6,2	19,0	0,75-0,85	<i>d</i>	6,4
27	19,6	0,81	<i>d</i>	6,2	19,8	0,75-0,85	<i>d</i>	6,4
28	19,0	0,70	<i>s</i>		23,1	1,20	<i>s</i>	
29	12,2	1,02	<i>s</i>		12,0	0,75-0,85	<i>s</i>	

II.4.2.3. Identification de CVT3 à l'acide bétulinique

Le composé CVT3 a été isolé sous forme de poudre blanche, soluble dans le méthanol. Il répond positivement au test de Liebermann-Burchard qui caractérise les triterpènes. Son spectre de masse LC-MS en mode négatif (figure 57) présente le pic de l'ion *pseudo*-moléculaire $[M-H]^-$ à m/z : 455,3533 (calc. 455,3535) en accord avec la formule brute $C_{30}H_{48}O_3$.

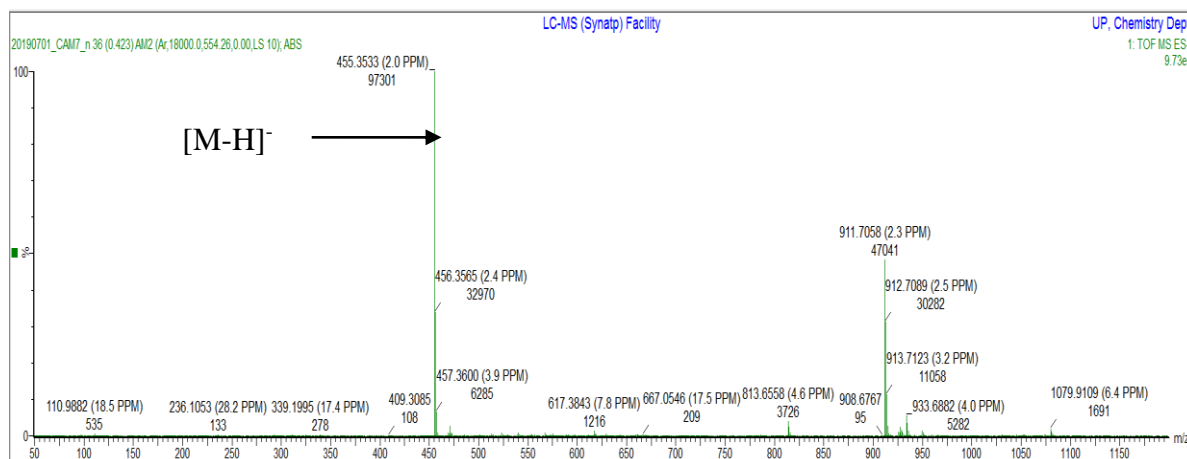


Figure 57: Spectre de masse LC-MS du composé CVT3

Sur le spectre RMN 1H du composé, on retrouve le triplet de doublet du proton méthine H-19 à δ_H 2,68 ppm (*m*) et les deux singulets des protons H-29 à δ_H 4,44 ppm (*s*) et δ_H 4,32 ppm (*s*) de la chaîne isopropényle caractéristique des lupanes (Ndiaye *et al.*, 2017). De même, sur ce spectre, on y distingue les six singulets d'intensité 3H dans la zone située aux environs de 1,00 ppm.

L'analyse du spectre RMN ^{13}C (figure 58) et DEPT-135 permet d'identifier sept carbones quaternaires, dix carbones méthylènes CH_2 , quatre CH et six CH_3 . Sur ce spectre, on note la présence du carbone de l'acide (C28) à $\delta_C = 177,3$ ppm. De même, les signaux des méthylènes en C20 et C29 sont retrouvés à $\delta_C = 150,4$ et 109,3 ppm respectivement.

Sur le spectre HMBC, les corrélations sont observées entre les protons H-1, H-5, H-9 et le carbone C-25 (jonction des cycles AB), entre les protons H-9 et 26 ; entre H-7 et C-14 puis C-8 (jonction des cycles BC), entre H-15 et puis entre H-13 et C-8 (jonction cycles CD) et entre les protons H-22, H-16, H-18 et le carbone C-28 (jonction des cycles DE), la jonction des cycles ABCDE a ainsi été établie. L'attribution de la position de l'isopropényle se fait avec la corrélation HMBC de C-30/H-29 et H-19.

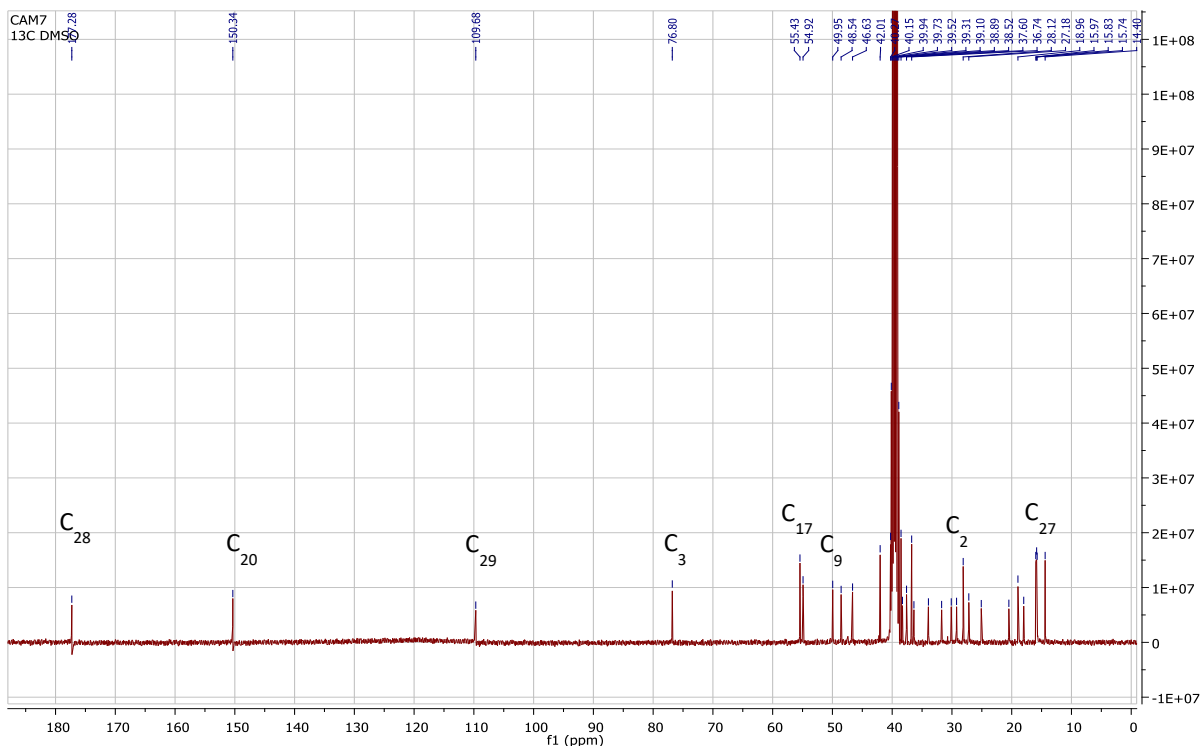
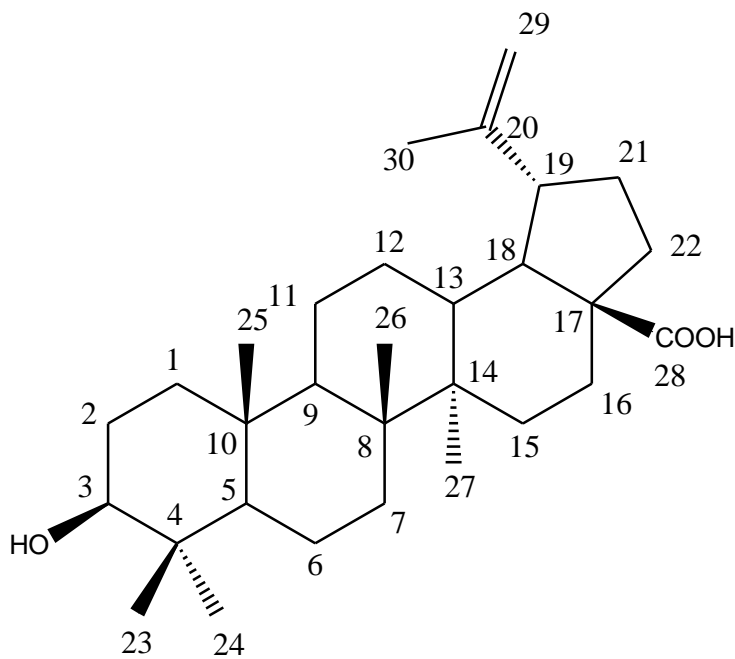


Figure 58: Spectre RMN ^{13}C de CVT3 (125 MHz, $\text{DMSO-}d_6$)

Sur la base de ces données et par comparaison à celles de la littérature, le composé CVT3 a été identifié à l'acide bétulinique (**82**) précédemment isolée des branches de *Alphitonia xerocarpa* de la famille des Rhamnaceae (Muhammad, 2013).



Acide bétulinique (82)

Tableau 28: Données spectrales RMN ^1H et ^{13}C de CVT3 (500MHz et 75 MHz, DMSO- d_6) comparé à la l'acide bétulinique

N°C	CVT3 (exp.)				Acide bétulinique (litt.)			
	δ_{C} (ppm)	δ_{H} (ppm)	<i>m</i>	J (Hz)	δ_{C} (ppm)	δ_{H} (ppm)	<i>m</i>	J (Hz)
1	38,5	0,86	<i>m</i>		38,7	0,87	<i>ddd</i>	12,7-6,7-5,1
		1,60			38,7	1,63	<i>dd</i>	12,4-3,4
2	27,2	1,53	<i>m</i>		26,9	1,55	<i>m</i>	
3	76,5	2,70	<i>m</i>		78,8	3,13	<i>t</i>	8,2
4	38,0				38,7			
5	54,7	0,95	<i>m</i>		55,3	0,65	<i>dd</i>	10,7-1,9
6	17,7	1,33	<i>m</i>		18,2	1,35	<i>m</i>	
	17,7	1,32			18,2	1,47	<i>m</i>	
7	33,7	1,36	<i>m</i>		34,3	1,33	<i>td</i>	8,2-4,7
8	42,0				40,6			
9	49,7	1,23			50,5	1,25	<i>dd</i>	11,1-2,9
10	37,6				37,1			
11	20,1	1,20	<i>m</i>		20,8	1,21	<i>td</i>	11,5-5,3
		1,37				1,39	<i>m</i>	
12	24,8	1,10	<i>m</i>		25,5	0,98	<i>td</i>	12,8-6,4
		1,70				1,66	<i>ddd</i>	
13	38,1	1,95	<i>m</i>		38,3	2,21	<i>td</i>	13,1-3,1
14	42,0				42,4			
15	29,8	1,24	<i>m</i>		29,6	1,14	<i>dt</i>	13,3
		1,40				1,47	<i>td</i>	
16	31,4	1,30	<i>m</i>		32,2	1,36	<i>td</i>	13,1-3,5
		2,29				2,21	<i>dt</i>	
17	55,4				56,2			
18	49,3	1,25	<i>m</i>		49,2	1,55	<i>t</i>	11,0
19	46,9	2,68	<i>m</i>		47,0	2,97	<i>td</i>	10,8-4,6
20	150,4				150,7			
21	30,1	1,27	<i>m</i>		30,5	1,35	<i>m</i>	
		1,85	<i>m</i>			1,93	<i>td</i>	9,7-4,5
22	36,2	1,41	<i>m</i>		37,1	1,39	<i>dd</i>	9,5-4,5
23	28,2	0,99	<i>s</i>		27,8	0,92	<i>s</i>	
24	15,7	0,73	<i>s</i>		15,3	0,71	<i>s</i>	
25	16,0	0,83	<i>s</i>		16,0	0,79	<i>s</i>	
26	15,8	0,90	<i>s</i>		15,8	0,91	<i>s</i>	
27	14,4	0,96	<i>s</i>		14,6	0,94	<i>s</i>	
28	177,3				179,2			
29	109,3	4,44	<i>s</i>		109,4	4,56	<i>d</i>	2,5
		4,32	<i>s</i>					
30	18,7	1,60	<i>s</i>		19,2	1,65	<i>s</i>	

II.4.2.4. Identification de CVT4 au β -sitosterol-3-O- β -D-glucopyranoside

Le composé CVT4 a été identifié au β -sitosterol-3-O- β -D-glucopyranoside (**55**) (voir tableau 13).

II.4.2.5. Identification de CVT5 à la 3-O-methylquercetine

Le composé CVT5 se présente sous forme d'un solide jaune et répond positivement au test de Shinoda. Son Pf se situe entre 256-257°C. Son spectre d'absorption UV (méthanol) présente deux maxima à $\lambda = 256$ et à $\lambda = 364$ nm. L'analyse de son spectre de masse LC-MS en mode négatif fait ressortir un pic à $[M-H]^-$ à m/z 315,0 (calculé 315,1) correspondant à la formule moléculaire $C_{16}H_{12}O_7$.

Le spectre RMN 1H de CVT5 (figure 59) présente les signaux des protons portés par le noyau A δ_H 5,87 ppm (1H, *d*, $J = 2,0$ Hz, H-6) et δ_H 6,89 ppm (1H, *d*, $J = 2,0$ Hz, H-8), ceux portés par le noyau B δ_H 7,47 ppm (1H, *d*, $J = 2,2$ Hz, H-2'), δ_H 7,03 ppm (1H, *d*, $J = 8,5$ Hz, H-5') et δ_H 7,22 ppm (1H, *dd*, $J = 8,5$ Hz et 2,2 Hz, H-6').

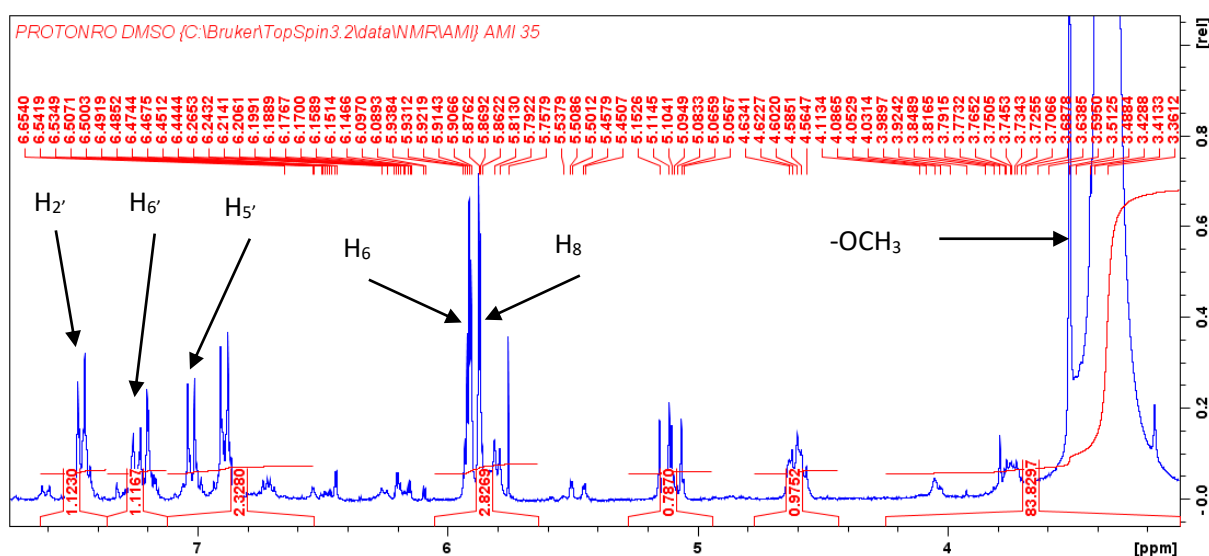
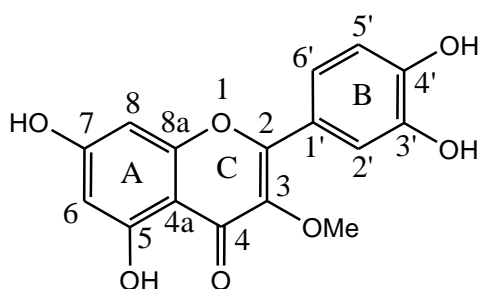


Figure 59: Spectre RMN 1H de CVT5 (300 MHz, DMSO- d_6)

Le spectre RMN ^{13}C présente une quinzaine de signaux correspondant à seize atomes de carbone car deux sont d'intensité double. L'attribution des déplacements chimiques des protons aromatiques est corroborée par les expériences COSY et HMBC. Sur le spectre COSY, le proton H-2' à δ_H 7,47 ppm corrèle avec le proton H-6' à δ_H 7,22 ppm, qui lui-même corrèle avec H-5' résonnant à δ_H 7,03 ppm formant ainsi un système ABX. Le spectre HMBC, montre les corrélations entre le proton H-6 à δ_H 5,87 ppm et les carbones situés à δ_C 105,5 ppm (C-4a) et à δ_C 98,6 ppm (C-8), des corrélations entre le proton H-8 à 6,89 ppm et les carbones à 105,5 ppm (C-4a) et à 100,0 ppm (C-6) formant ainsi le système AB. Au niveau du noyau B le proton

H-2' (7,47 ppm) corrèle avec les carbones C-6' (120,4 ppm), C-4' (147,2 ppm) et C-2 (156,0 ppm). De même, on observe des corrélations entre le proton H-5' (7,03 ppm) et les carbones C-1' (124,4 ppm) et C-3' (146,5 ppm), ainsi qu'entre le proton H-6' et les carbones C-4' (148,0 ppm) et C-2' (113,6 ppm) confirmant la di-substitution du noyau B. Par ailleurs, on observe la corrélation entre le proton du méthyle à δ_H 3,51 ppm et le carbone C-3 à δ_C 136,4 ppm.

L'ensemble des données spectrales 1D et 2D, comparées à celles de la littérature nous a permis de conclure que CVT5 est la 3-*O*-methylquercetine (**83**) ou le 3',4',5,7-tetrahydroxy-3-methoxyflavone, précédemment isolé des fleurs de *Vernonia galamensis* (Cass.) (**Doucouré et al., 2010**).



3-*O*-methylquercetine (83**)**

Tableau 29: Données spectrales RMN ^1H et ^{13}C de CVT5 (300 MHz et 75 MHz, DMSO- d_6) comparé à la 3-*O*-methylquercetine

N°C	CVT5 (exp.)				3- <i>O</i> -methylquercetine (litt.)			
	δ_{C} (ppm)	δ_{H} (ppm)	<i>m</i>	J (Hz)	δ_{C} (ppm)	δ_{H} (ppm)	<i>m</i>	J (Hz)
1								
2	156,0				157,9			
3	136,4				139,5			
4	179,1				179,9			
4a	105,5				105,6			
5	163,5				163,1			
6	100,0	5,87	<i>d</i>	2	100,1	6,18	<i>d</i>	2
7	166,4				166,9			
8	98,6	6,89	<i>d</i>	2	94,9	6,37	<i>d</i>	2
8a	160,1				158,5			
1'	124,4				122,3			
2'	113,6	7,47	<i>d</i>	2,2	116,4	7,61	<i>d</i>	2,2
3'	146,5				146,5			
4'	147,2				150,0			
5'	117,2	7,03	<i>d</i>	8,3	116,4	6,90	<i>d</i>	8,5
6'	120,4	7,22	<i>dd</i>	8,3;2,2	122,9	7,52	<i>dd</i>	8,5;2,2
-OCH ₃		3,51	<i>s</i>			3,77	<i>s</i>	

II.5. Quelques réactions d'hémisynthèse sur la sérotobénine

II.5.1 Réactions d'estérification sur la sérotobénine

II.5.1.1. Application 1 : cas de l'anhydride propanoïque

L'estérification de la sérotobénine CZ2 (**18**) avec l'anhydride propanoïque en présence de la pyridine à température ambiante, pendant 18h a permis d'obtenir le composé CZ2A avec un rendement de 95 %, selon le schéma 10 ci-dessous.

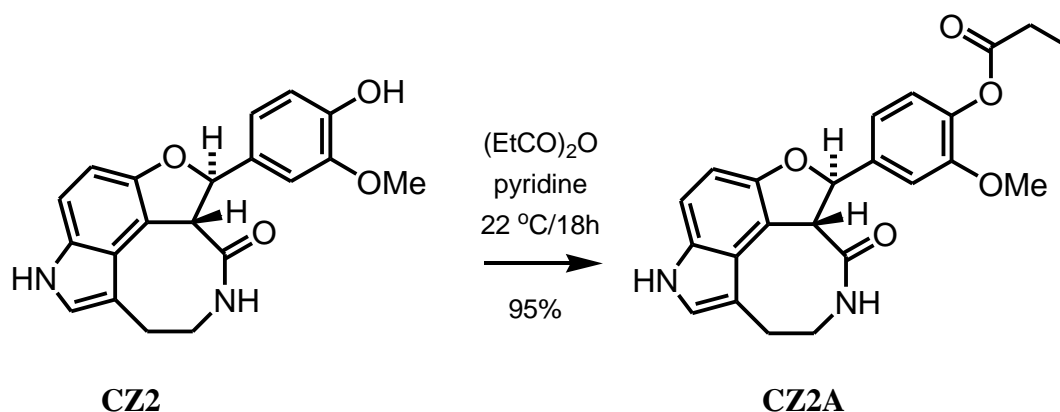


Schéma 10: Estérification de la sérotobénine avec l'anhydride propanoïque

Le composé CZ2A a été obtenu sous forme d'un solide blanc (Pf : $250\text{-}252\text{ °C}$), soluble dans l'acetone. Le spectre de masse ESI-MS en mode négatif (figure 60) présente le pic de l'ion pseudo-moléculaire $[\text{M}-\text{H}]^-$ à m/z 405.2 (calcd. 405.1) suggérant la formule moléculaire $\text{C}_{23}\text{H}_{22}\text{N}_2\text{O}_5$.

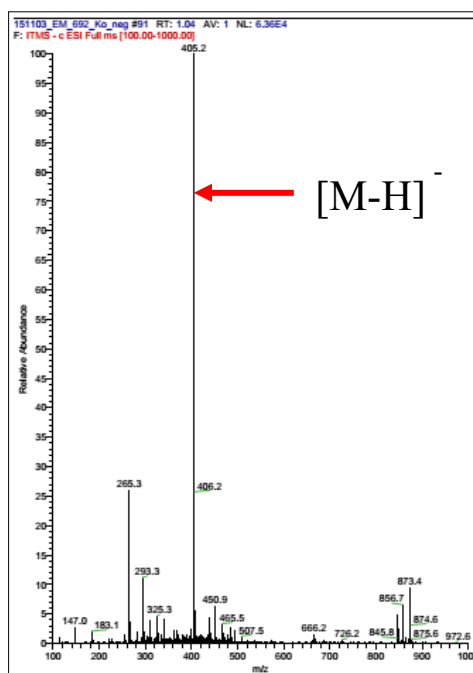


Figure 60: Spectre de masse ESI-MS du composé CZ2A

Son spectre IR (figure 61) on observe de nouvelles bandes d'absorption à 1755, 1187 cm^{-1} attribués respectivement aux groupes élongation C=O et C-O des esters.

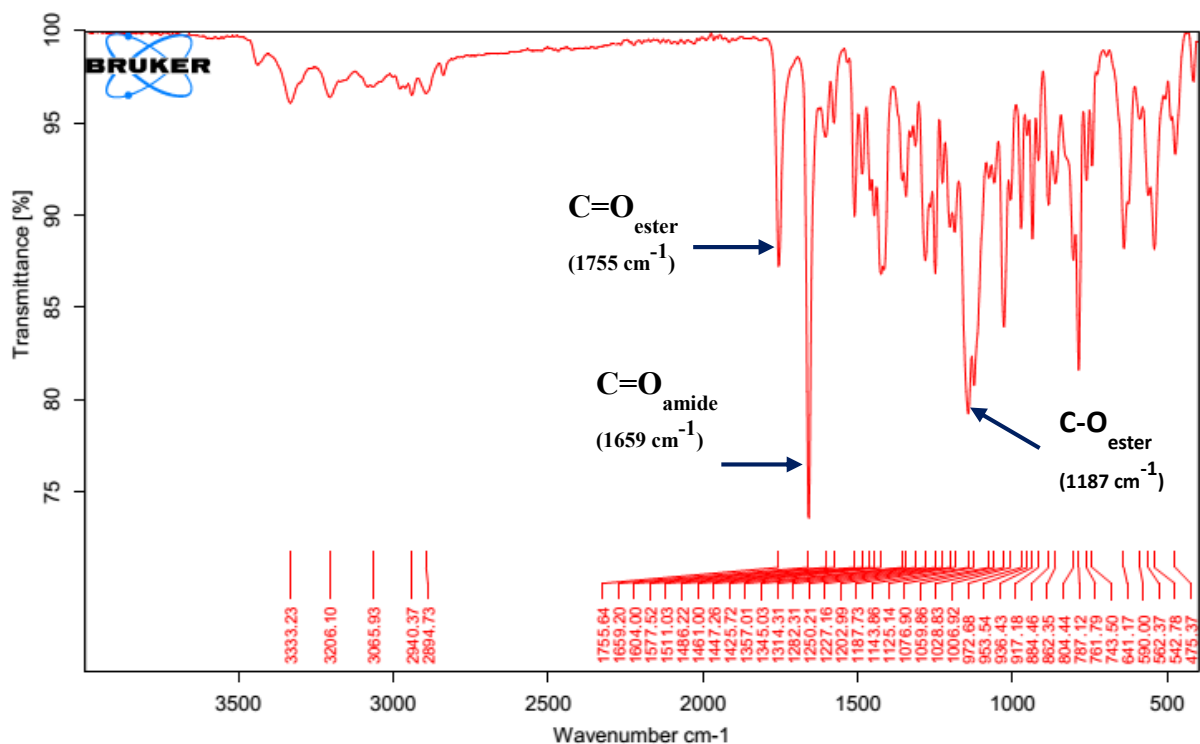


Figure 61: Spectre IR du composé CZ2A

Le spectre UV (figure 62) a été analysé dans le méthanol. On y observe des bandes d'absorption à 203, 279 et 310 nm typiques d'un chromophore indole dans la molécule (**Kerber et al., 2001**).

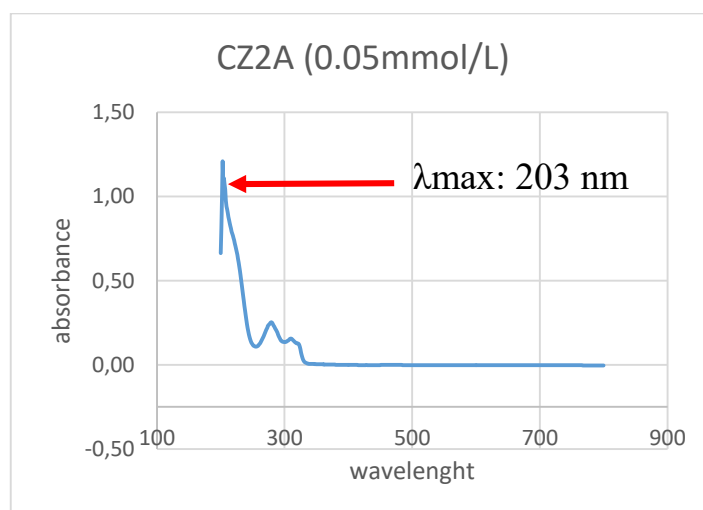


Figure 62: Spectre UV-visible du composé CZ2A

Le spectre RMN ^1H du composé CZ2A (figure 63), comparé à celui de la serotobénine (**1**) (tableau 30) présente un triplet à δ_{H} 1,20 ppm (H-3'') et un quadruplet à δ_{H} 2,58 (H-2'') ppm fortement déblindé, suggérant l'attachement du groupe ethyl au groupe carbonyle de l'ester. En effet, le spectre HMBC confirme la corrélation entre les protons H-2'' et C-1'' ($\delta_{\text{C}} = 172,6$ ppm) et le carbone C-3'' ($\delta_{\text{C}} = 9,4$ ppm), indiquant l'attachement entre le groupe propanoyl et le reste de la molécule de serotobénine. Ce spectre présente un système ABC contenant des protons aromatiques à δ_{H} 6,72 ppm (H-5'); 7,25 ppm (H-2') et 7,27 ppm (H-6'). Ce spectre montre également dans le groupement indolique, un système AB de protons aromatiques à $\delta_{\text{H}} = 7,07$ (H-6) ppm et 7,09 (H-7) ppm. Le proton du groupe pyrrole est observé à δ_{H} 7,18 ppm (H-2). En dehors des signaux du groupement propanoyl, tous les autres signaux sont en accord avec les données de la littérature (Sato *et al.*, 1985).

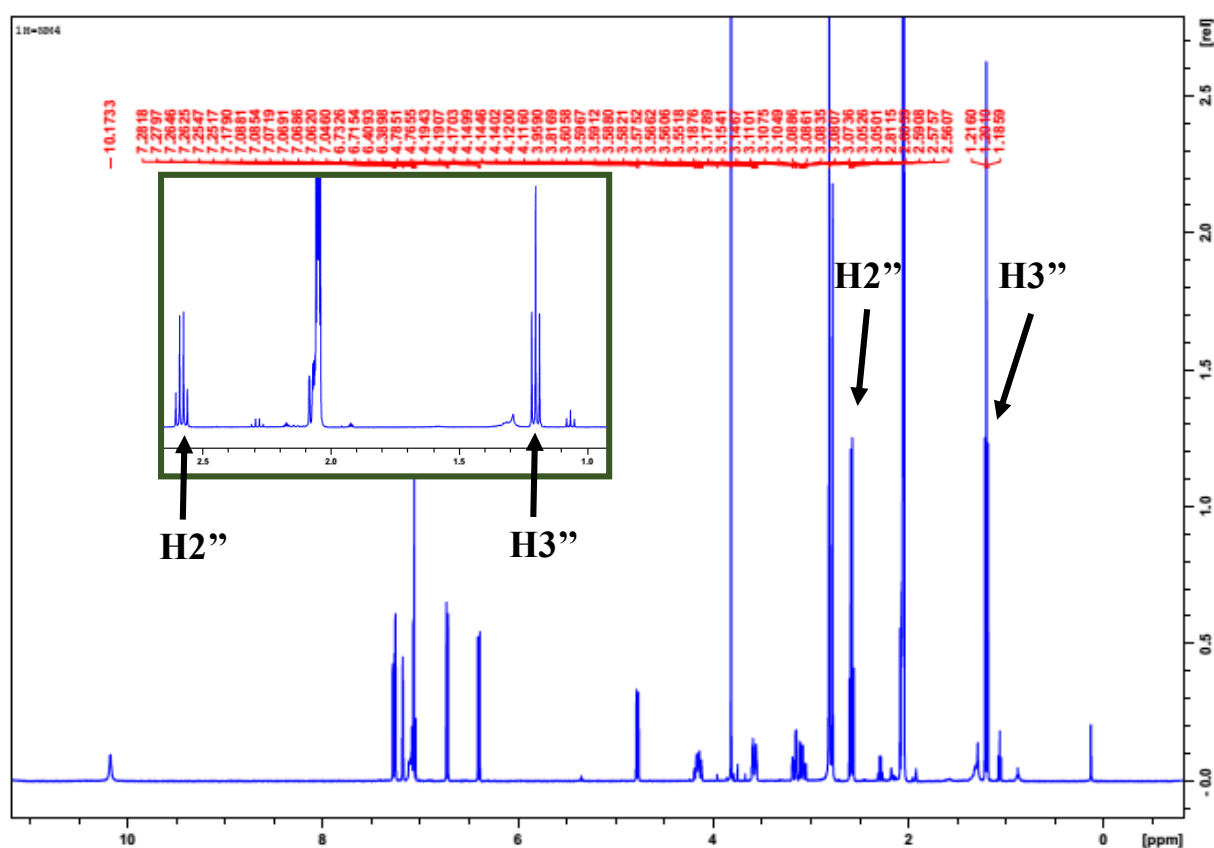


Figure 63: Spectre RMN ^1H de CZ2A (500 MHz, Acetone- d_6)

Le spectre RMN ^{13}C (figure 64) présente les atomes de carbones des groupes amide et esters à δ_{C} 171,4 ppm (C-9') et 172,6 (C-1'') ppm respectivement, les résonances du groupe indolique à δ_{C} 124,9 ppm (C-2) ; le groupe méthoxy à δ_{C} 56,3 ppm; trois groupes méthylènes à 27,6 ppm (C-2'') ; 30,7 ppm (C-8) et 41,5 ppm (C-9) ; de même, le méthyl du groupe propanoyl est observé à δ_{H} 9,4 ppm (C-3'').

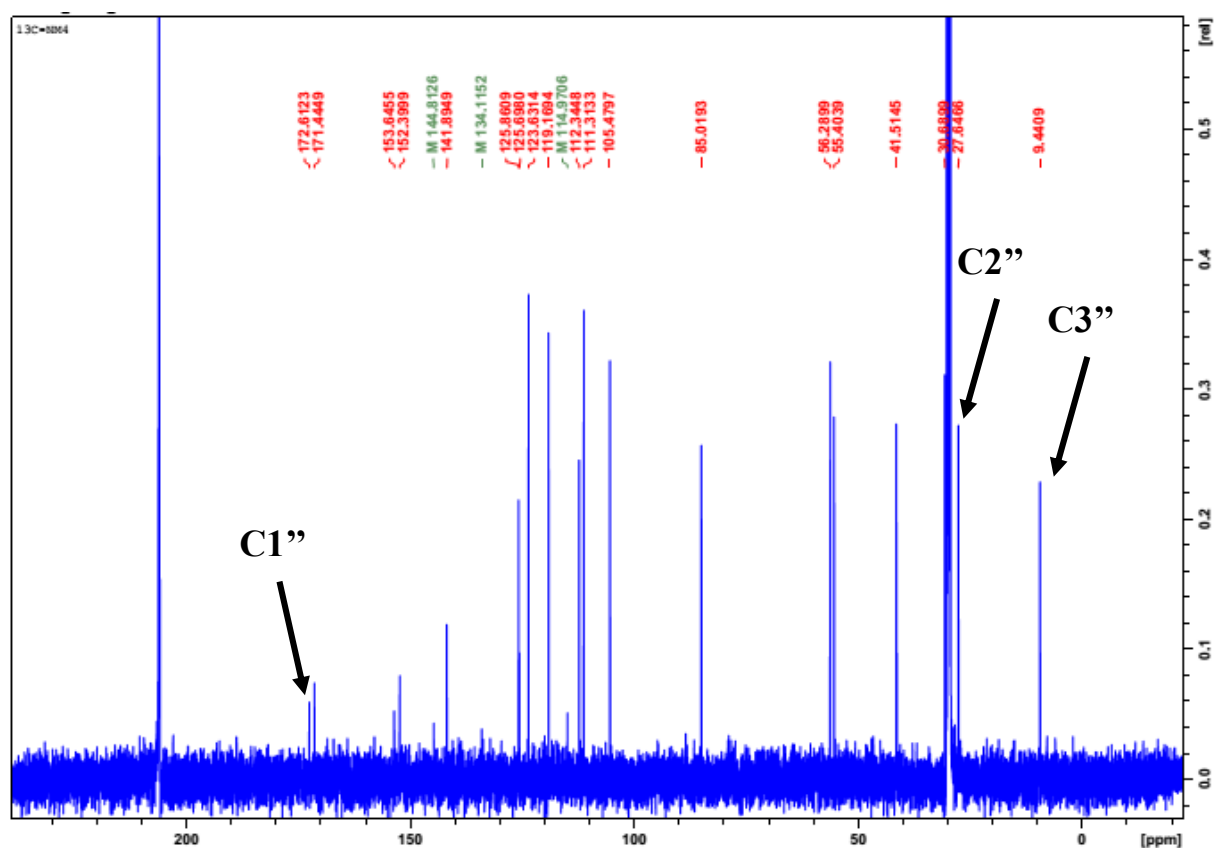
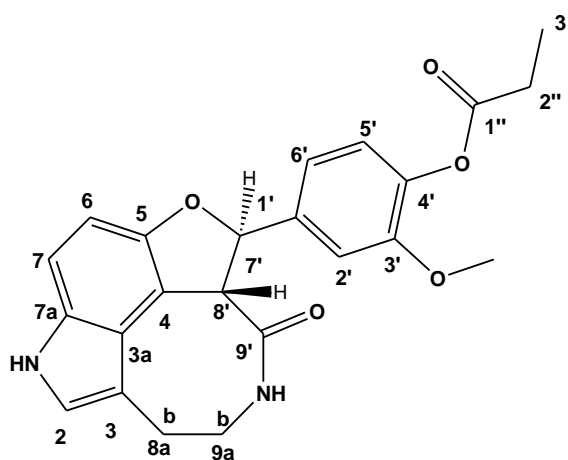


Figure 64: Spectre RMN ^{13}C de CZ2A (125MHz, Acetone- d_6)

Les corrélations importantes observées à travers le spectre HMBC entre les protons H-2'' à $\delta_{\text{H}} = 2,58$ ppm, et H-3'' $\delta_{\text{H}} = 1,20$ ppm et le carbone C-1'' à $\delta_{\text{C}} = 172,6$ ppm révèlent la présence de la fonction ester au sein la structure du composé CZ2A, ce qui est confirmé par les valeurs de déplacement chimiques des carbones C-2'' et C-3'' dans les champs forts. L'ensemble de ces données confirment la structure du composé CZ2A caractérisé comme un nouveau dérivé de la serotobénine, nommé serotobénine monopropionate (**84**) (Mbabi *et al.*, 2017).



Serotobénine monopropionate (84)

Tableau 30: Données spectrales RMN ^1H ; ^{13}C de CZ2A (500 MHz et 125 MHz, Acetone- d_6) comparés à la serotobénine (CZ2)

N°C	CZ2A (exp.)					CZ2 (exp.)				
	δ_{C} (ppm)	δ_{H} (ppm)	<i>m</i>	<i>J</i> (Hz)	HMBC (C→H)	δ_{C}	δ_{H}	<i>m</i>	<i>J</i> (Hz)	HMBC (C→H)
1		10,17					10,17			
2	124,9	7,18	<i>s</i>			125,6	7,17	<i>s</i>		
3	112,3					112,2				
3a	125,9									
4	115,0				H-C(8')	114,4				H-C(8')
5	152,4					148,8				
6	123,6	7,07	<i>d</i>	8,4		111,2	7,27	<i>d</i>	8,60	
7	119,1	7,09	<i>d</i>	8,4		104,5	6,70	<i>d</i>	8,60	
7a	144,8					134,4				
8	30,7	3,05-3,10	<i>m</i>			30,7	3,04-3,09	<i>m</i>		
		3,15-3,18	<i>m</i>			30,7	3,14-3,19	<i>m</i>		
9	41,5	3,58	<i>m</i>			41,5	3,55-3,59	<i>m</i>	15,18; 4,32	
		4,17	<i>m</i>				4,10-4,18	<i>m</i>	15,18; 4,32	
10		8,01					8,17		10,90; 4,30	
1'	141,9				H-C(8')	147,2				H-C(5')
2'	111,3	7,25	<i>d</i>	2,0		110,7	7,12	<i>d</i>	2,0	
3'	153,6				H-MeO	153,7				
4'	134,1				H-C(5')	133,9				H-C(5')
5'	105,4	6,72	<i>d</i>	8,6		120,1	6,85	<i>d</i>	8,2	
6'	125,6	7,27	<i>dd</i>	9,8 ; 8,6		115,1	6,95	<i>dd</i>	8,2 ; 2,0	
7'	85,0	6,40	<i>d</i>	9,8	H-C(6')	85,4	6,32	<i>d</i>	9,8	H-C(8') ; H-C(2')
8'	55,4	4,78	<i>d</i>	9,8		55,2	4,73	<i>d</i>	9,8	
9'	171,4				H-C(8')	171,5				H-C(8') ; H-C(7')
1''	172,6				H-C(2'')					
2''	27,6	2,58	<i>q</i>		H-C(3'')					
3''	9,4	1,20	<i>t</i>		H-C(2'')					
4''										
O- CH ₃	56,3	3,82	<i>s</i>			56,2	3,83	<i>s</i>		

II.5.1.2. Application 2 : cas de l'anhydride pivalique

L'estérification de la sérotobenine **CZ2** (**18**) avec l'anhydride pivalique en présence de la pyridine et du DMAP agissant comme catalyseur, à température ambiante pendant 18h a permis d'obtenir le composé CZ2B avec un rendement de 93 % selon le schéma 11 ci-dessous.

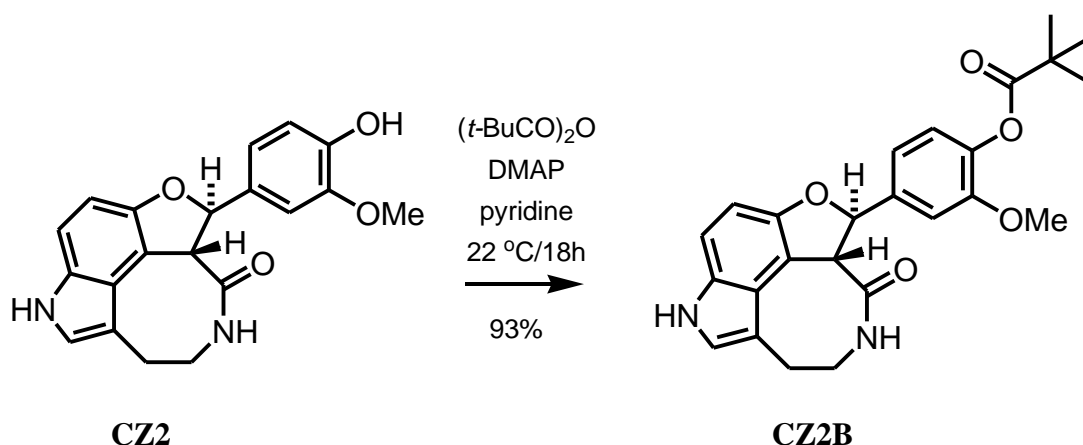


Schéma 11: Estérification de la sérotobenine avec l'anhydride pivalique

Le composé **CZ2B** a été obtenu sous forme d'un solide blanc (Pf: 269-272°C) soluble dans l'acétone. Son spectre de masse ESI-MS en mode négatif (figure 65) présente le pic de l'ion pseudo-moléculaire $[\text{M-H}]^-$ à m/z 433,5 (calcd. 433.2) suggérant la formule moléculaire $\text{C}_{25}\text{H}_{26}\text{N}_2\text{O}_5$.

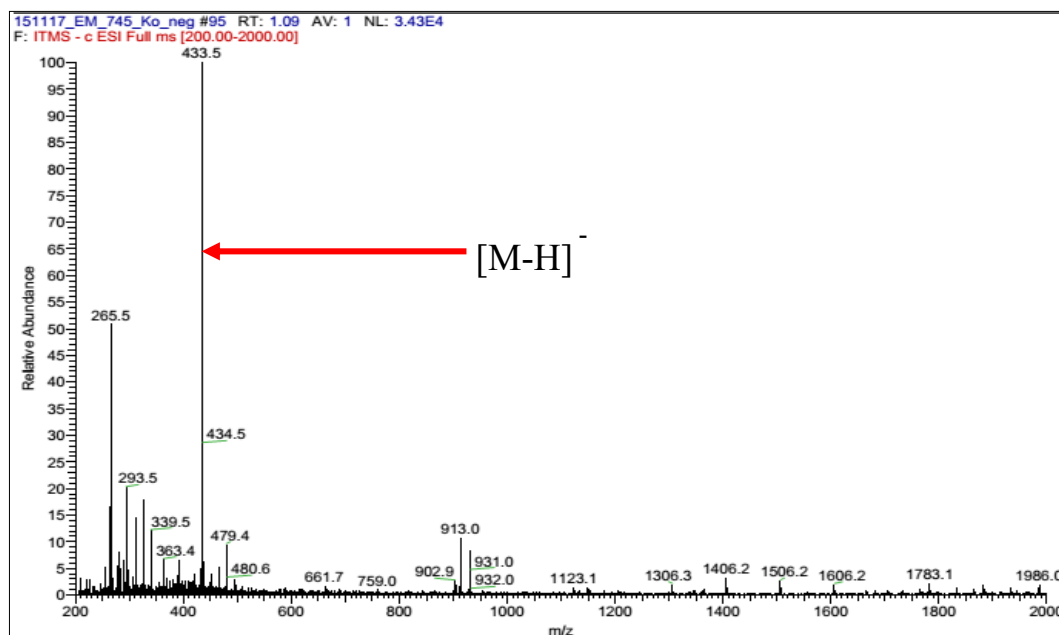


Figure 65: Spectre de masse ESI-MS du composé **CZ2B**

Son spectre IR (figure 66) présente des bandes d'absorptions à 1738 cm^{-1} (C=O, ester), 1157 cm^{-1} (C-O, ester).

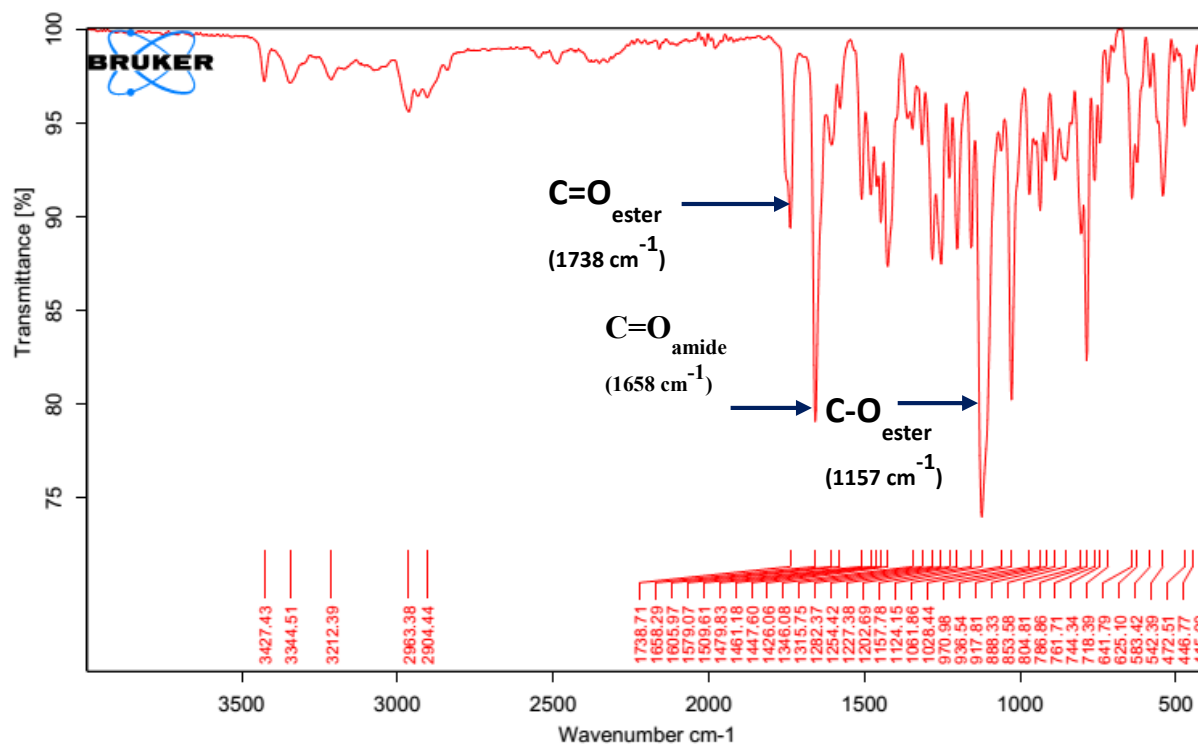


Figure 66: Spectre IR du composé CZ2B

Le spectre UV (figure 67) a été analysé dans le méthanol. On y observe des bandes d'absorption à 203, 279 et 303 nm typiques d'un chromophore indole dans la molécule (**Kerber et al., 2001**).

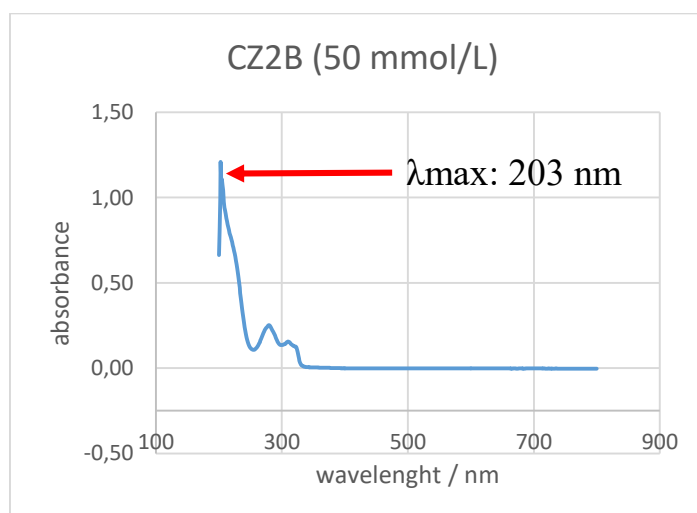


Figure 67: Spectre UV du composé CZ2B

Le spectre RMN ^1H du composé CZ2B (figure 68) présente plusieurs signaux mais par comparaison au spectre RMN ^1H de la serotobenine, nous avons l'apparition d'un singulet intense de neuf protons méthyles à δ_c 1,35 ppm (H-3'') appartenant au groupe *tert*-butyl.

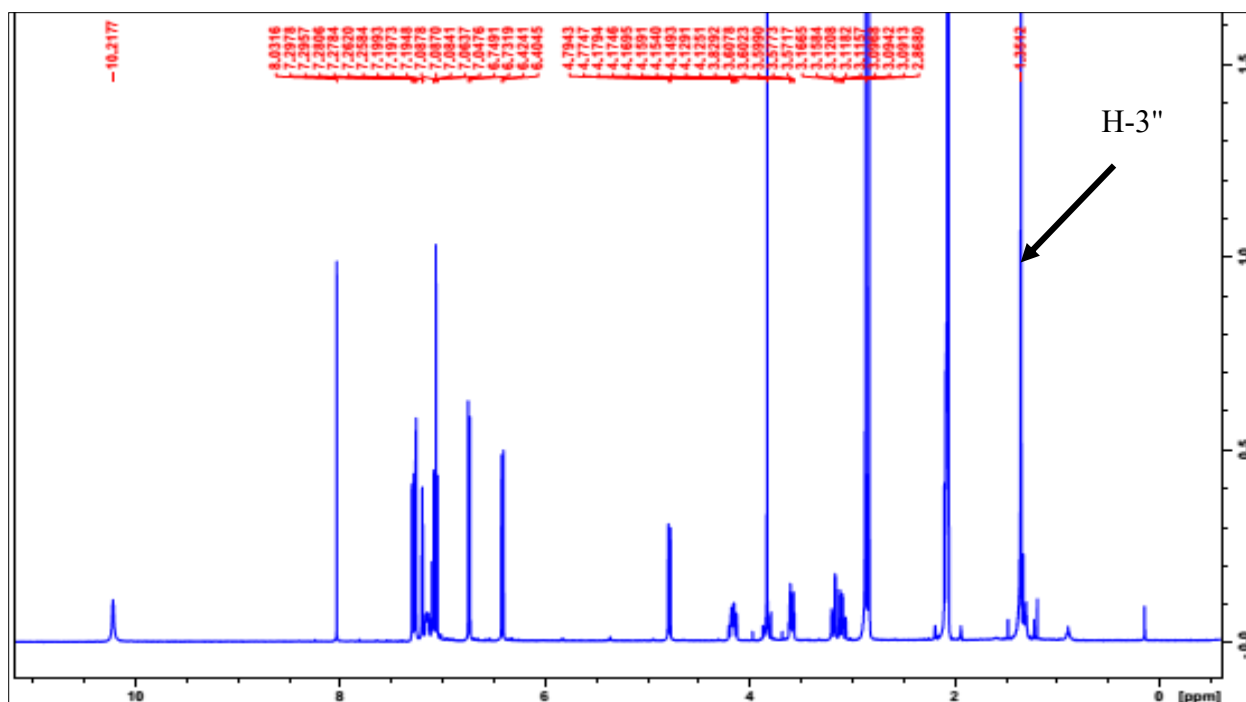


Figure 68: Spectre RMN ^1H de CZ2B (500 MHz, Acetone- d_6)

Par comparaison avec la serotobenine, on observe sur le spectre RMN ^{13}C (figure 69), la présence d'un signal du groupe methyl à $\delta_c = 27,3$ ppm (C-3'') de même qu'un carbone quaternaire à $\delta_c 39,4$ ppm (C-2'') appartenant au groupe *tert*-butyle. De même que l'apparition d'un nouveau signal à $\delta_c 176,4$ ppm (C-1'') caractérisant le carbonyle de l'ester (tableau 31).

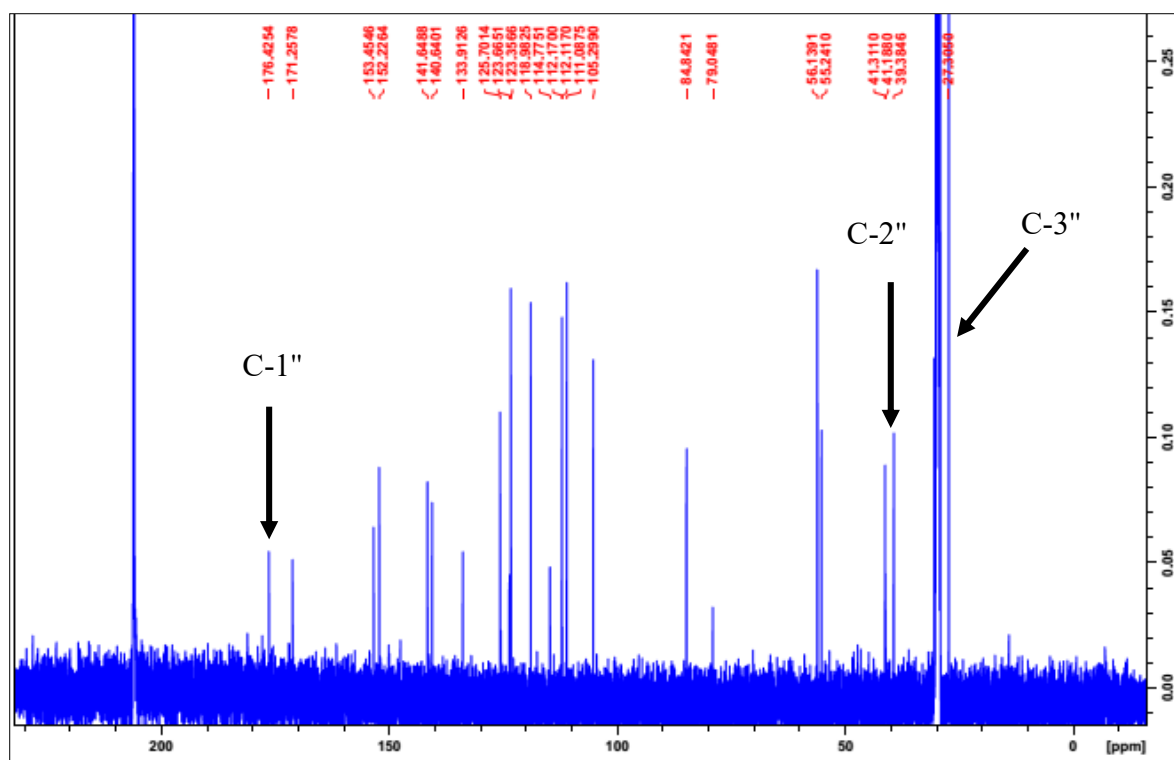
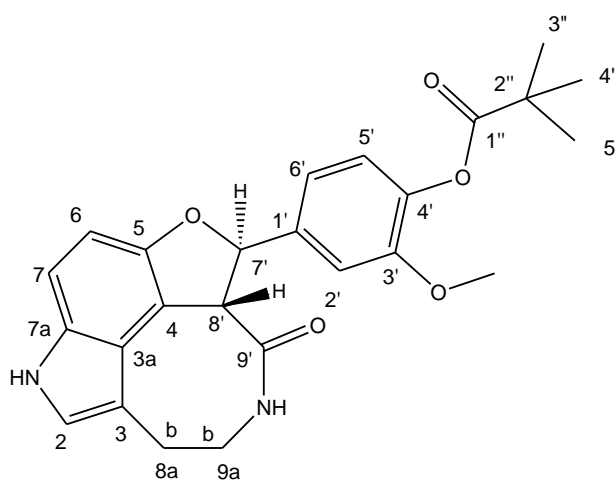


Figure 69: Spectre ^{13}C de CZ2B (125 MHz, Acetone- d_6)

Sur le spectre HMBC, les corrélations importantes sont observées entre les protons en H-3'' (δ_{H} 1,35) et les carbones C-2'' (δ_{C} 39,4) et C-1'' (δ_{C} 176,4) ce qui suggère la présence du groupe *tert*-butylmethanoate. Les autres corrélations observées sur le spectre HMBC confirment la structure du composé CZ2B caractérisé comme un nouveau dérivé de la serotobénine nommé serotobénine monopivalate (**85**) (Mbabi *et al.*, 2017).



Serotobénine monopivalate (85**)**

Tableau 31 : Données spectrales RMN ^1H et ^{13}C de CZ2B (500 MHz et 125 MHz, Acétone- d_6) comparés à la serotobenine (CZ2)

N°C	CZ2B (exp.)					CZ2 (exp.)				
	δ_{C} (ppm)	δ_{H} (ppm)	<i>m</i>	<i>J</i> (Hz)	HMBC (C→H)	δ_{C}	δ_{H}	<i>m</i>	<i>J</i> (Hz)	HMBC (C→H)
1		10,21					10,17			
2	124,9	7,19	<i>s</i>			125,6	7,17	<i>s</i>		
3	112,2					112,2				
3a	123,7									
4	114,7				H-C(8')	114,4				H-C(8')
5	152,2					148,8				
6	123,4	7,08	<i>d</i>	8,4		111,2	7,27	<i>d</i>	8,60	
7	118,9	7,10	<i>d</i>	8,4		104,5	6,70	<i>d</i>	8,60	
7a	140,6					134,4				
8	30,5	3,12-3,09	<i>m</i>			30,7	3,04-3,09	<i>m</i>		
		3,16-3,15	<i>m</i>			30,7	3,14-3,19	<i>m</i>		
9	41,3	3,60-3,57	<i>m</i>			41,5	3,55-3,59	<i>m</i>	15,18; 4,32	
		4,17-4,12	<i>m</i>				4,10-4,18	<i>m</i>	15,18; 4,32	
10		8,03					8,17		10,90; 4,30	
1'	141,6				H-C(6') ; H-C(2')	147,2				H-C(5')
2'	111,1	7,26	<i>d</i>	2,0		110,7	7,12	<i>d</i>	2,0	
3'	153,5					153,7				
4'	133,9				H-C(5')	133,9				H-C(5')
5'	105,3	6,74	<i>d</i>	8,6		120,1	6,85	<i>d</i>	8,2	
6'	125,7	7,29	<i>dd</i>	9,8 ; 8,6		115,1	6,95	<i>dd</i>	8,2 ; 2,0	
7'	84,9	6,41	<i>d</i>	9,8	H-C(8') ; H-C(6')	85,4	6,32	<i>d</i>	9,8	H-C(8') ; H-C(2')
8'	55,2	4,78	<i>d</i>	9,8		55,2	4,73	<i>d</i>	9,8	
9'	171,3					171,5				H-C(8') ; H-C(7')
1''	176,4				H-C(3'')					
2''	39,4				H-C(3'')					
3''	27,3	1,35	<i>s</i>							
4''										
O-CH ₃	56,1	3,83	<i>s</i>			56,2	3,83	<i>s</i>		

II.5.2 Réaction de Mitsunobu sur la Sérotoberine : application au cyclohexanol

La réaction de Mitsunobu sur la sérotoberine **CZ2** (**18**) avec le cyclohexanol (CyOH) en présence du tributylphosphine (Bu₃P) et du diisopropylazodicarboxylate (DIAD) à température ambiante (22°C) pendant 48 h a permis d'obtenir le composé CZ2C avec un rendement de 20% selon le schéma 12 ci-après.

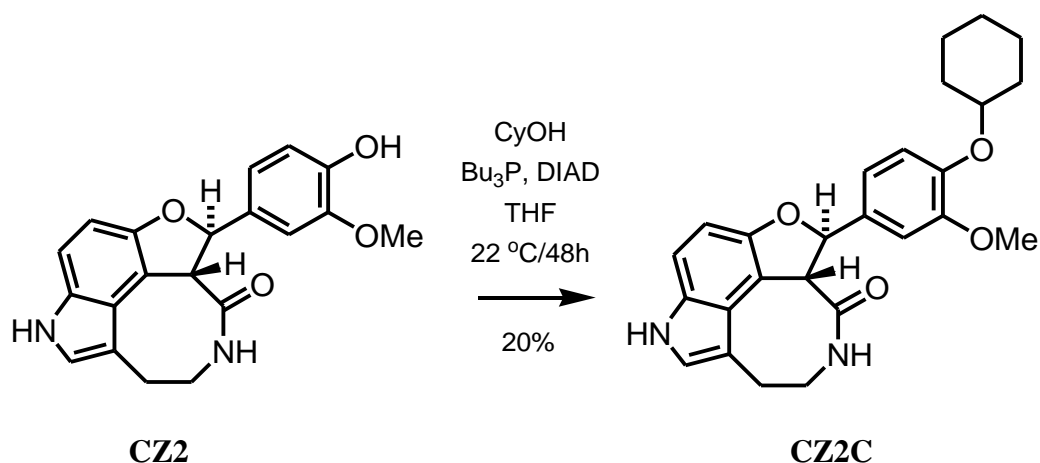


Schéma 12: Réaction de Mitsunobu sur la sérotoberine

Le composé CZ2C a été obtenu sous forme d'un solide blanc soluble dans le méthanol. Le spectre ESI-MS en mode positif (figure 70) présente le pic de l'ion *pseudo*-moléculaire [M+Na]⁺ à *m/z* 455.32 (calc. 455.30) suggérant la formule moléculaire C₂₆H₂₈N₂O₄.

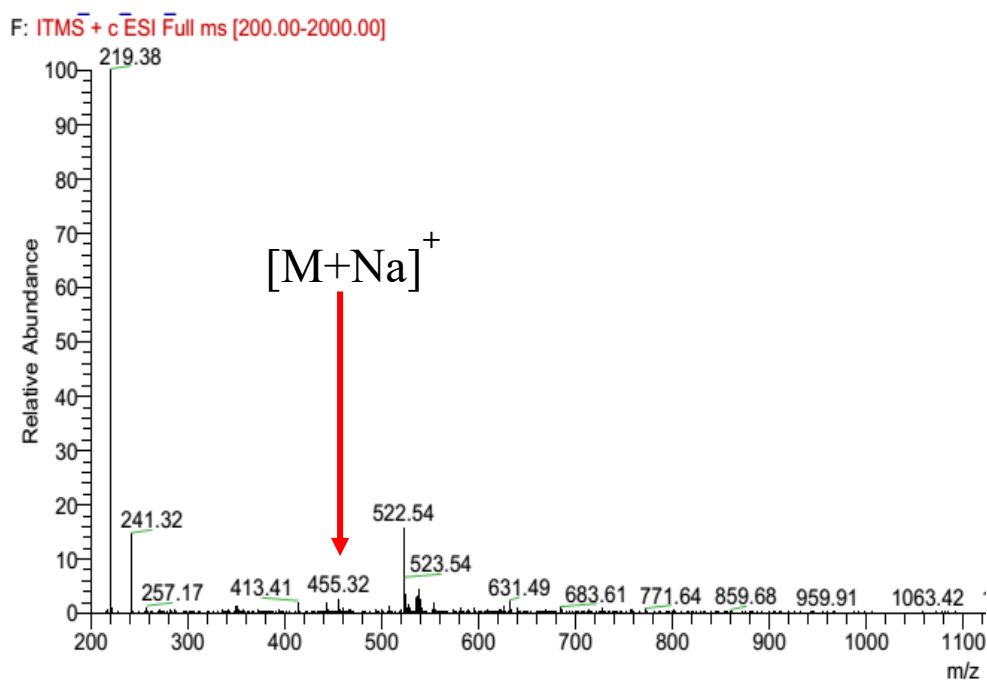


Figure 70: Spectre de masse ESI-MS du composé CZ2C

Le spectre RMN ^1H (figure 71) du composé CZ2C présente plusieurs nouveaux signaux et par comparaison au spectre RMN ^1H de la serotobénine, nous avons l'apparition des multiplets de type méthylène entre δ_{H} 1,39 et 1,67 ppm correspondant aux protons H-2'', H-3'' et H-4''. De même, on observe un signal de type méthine à 3,50 ppm correspondant au proton H-1''.

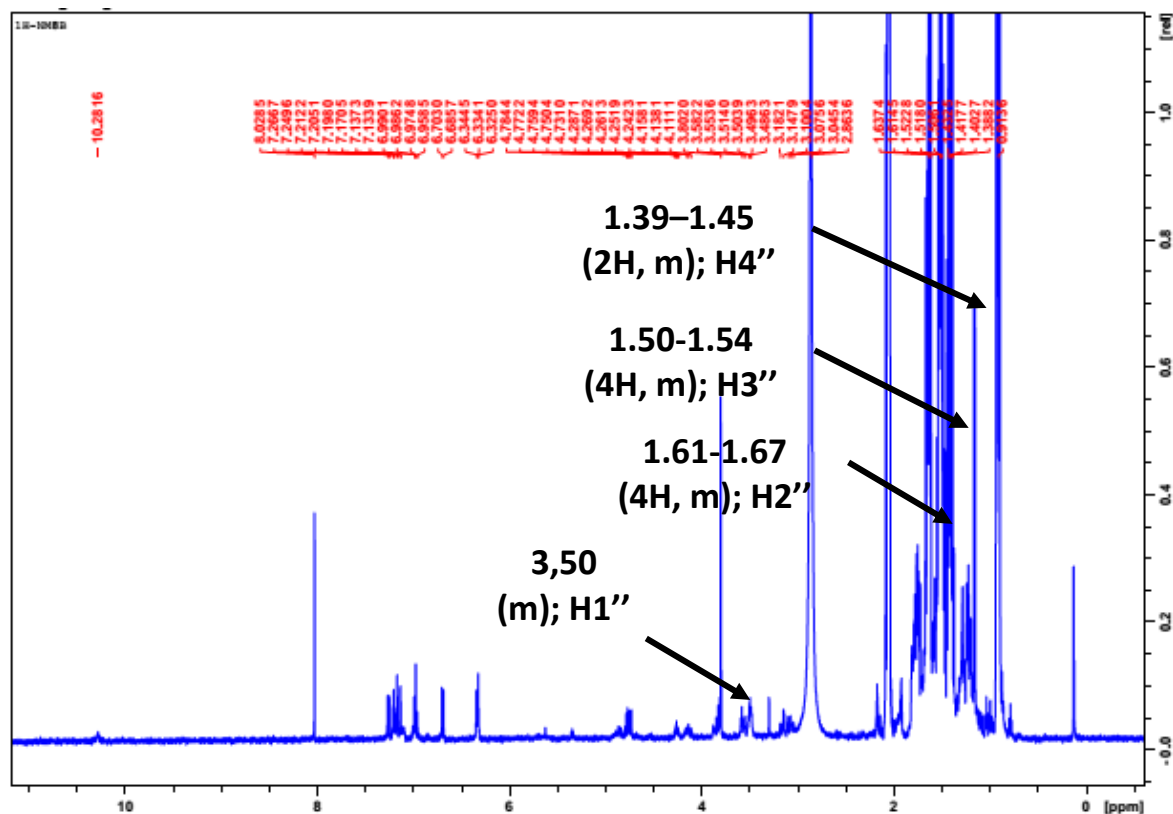


Figure 71: Spectre RMN ^1H de CZ2C (500 MHz, Acetone- d_6)

Sur le spectre RMN ^{13}C (figure 72) le composé CZ2C présente les signaux additionnels du groupement cyclohexyl entre δ_{C} 24,0 et 69,2 ppm (tableau 32).

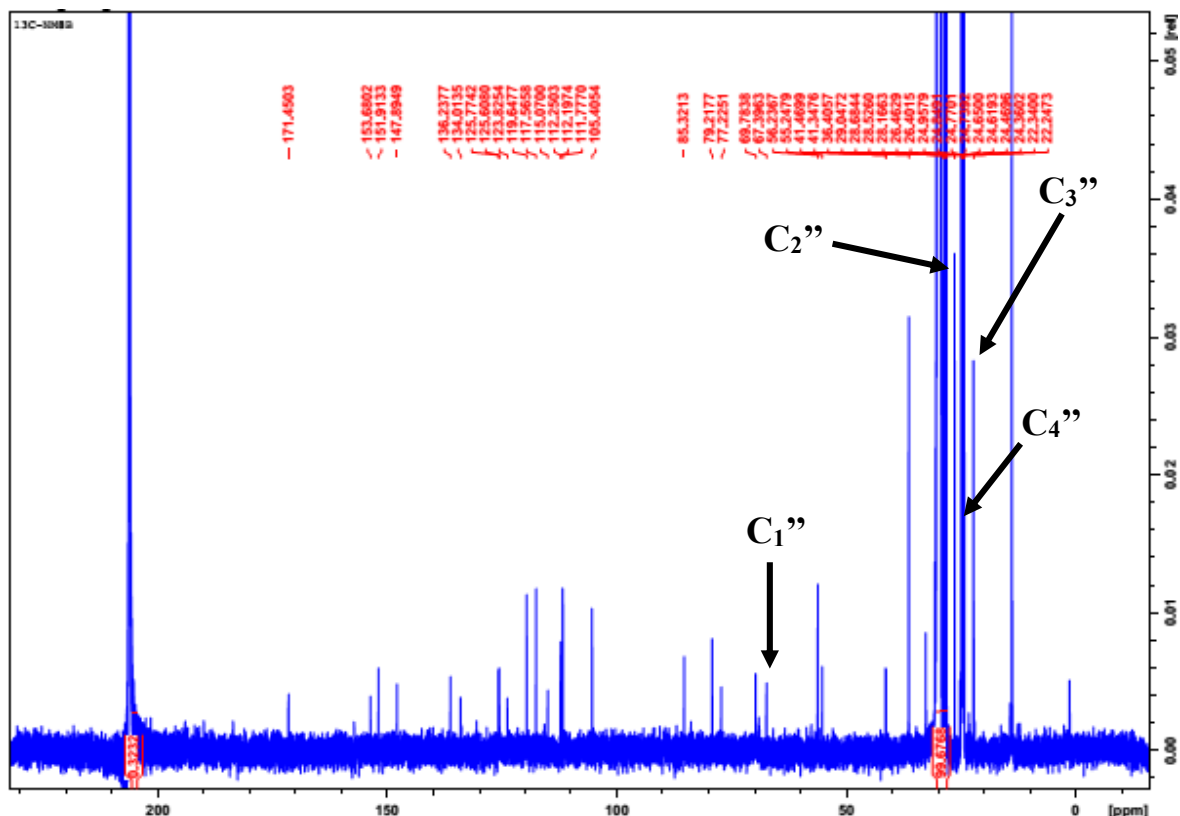
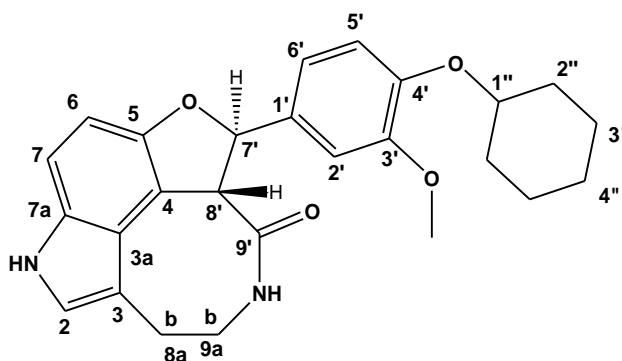


Figure 72: Spectre ^{13}C du composé CZ2C (125 MHz, Acetone- d_6)

Les corrélations observées sur le spectre HMBC entre le proton H-1'' (δ_{H} 3,50 ppm) et les carbones C-4' (δ_{C} 134,0) et C-2'' (δ_{C} 28,2) confirment la structure du composé CZ2C, connu comme un nouveau dérivé de la sérotobénine nommé 4'-O-cyclohexylserotobénine (**86**) (Mbabi *et al.*, 2017).



4'-O-cyclohexylserotobénine (86)

En effet, selon la littérature, la réaction de Mitsunobu utilisant des composés phénoliques avec les alcools secondaires donne généralement de faibles rendements. Il serait donc souhaitable d'utiliser une base telle que la triéthylamine, qui agit comme catalyseur afin d'obtenir des rendements meilleurs (Manivel *et al.*, 2007)

Tableau 32: Données spectrales RMN ^1H et ^{13}C de CZ2C (500 MHz et 125 MHz, Acetone- d_6) comparés à la serotobenine (CZ2)

N°C	CZ2C (exp.)					CZ2 (exp.)				
	δ_{C} (ppm)	δ_{H} (ppm)	<i>m</i>	<i>J</i> (Hz)	HMBC (C→H)	δ_{C}	δ_{H}	<i>m</i>	<i>J</i> (Hz)	HMBC (C→H)
1		10,28					10,17			
2	125,6	7,17	<i>s</i>			125,6	7,17	<i>s</i>		
3	112,2					112,2				
3a	123,8									
4	115,0					114,4				H-C(8')
5	151,9					148,8				
6	119,6	7,00	<i>d</i>	8,4		111,2	7,27	<i>d</i>	8,60	
7	117,6	7,13	<i>d</i>	8,4		104,5	6,70	<i>d</i>	8,60	
7a	147,8					134,4				
8	29,0	3,10-3,05	<i>m</i>			30,7	3,04-3,09	<i>m</i>		
		3,18-3,14	<i>m</i>			30,7	3,14-3,19	<i>m</i>		
9	41,4	3,51-3,49	<i>m</i>			41,5	3,55-3,59	<i>m</i>	15,18; 4,32	
		4,16-4,11	<i>m</i>				4,10-4,18	<i>m</i>	15,18; 4,32	
10		8,02					8,17		10,90; 4,30	
1'	136,2				H-C(8')	147,2				H-C(5')
2'	111,7	7,25	<i>d</i>	2,0		110,7	7,12	<i>d</i>	2,0	
3'	153,7				H-MeO	153,7				
4'	134,0					133,9				H-C(5')
5'	105,4	6,69	<i>d</i>	8,6		120,1	6,85	<i>d</i>	8,2	
6'	125,8	7,26	<i>dd</i>	9,8 ; 8,6		115,1	6,95	<i>dd</i>	8,2 ; 2,0	
7'	85,3	6,34	<i>d</i>	9,8		85,4	6,32	<i>d</i>	9,8	H-C(8') ; H-C(2')
8'	55,2	4,78	<i>d</i>	9,8		55,2	4,73	<i>d</i>	9,8	
9'	171,5				H-C(8')	171,5				H-C(8') ; H-C(7')
1''	69,2	3,50	<i>m</i>							
2''	28,2	1,67-1,61	<i>m</i>		H-C(4'')					
3''	23,8	1,50-1,54	<i>m</i>		H-C(4'')					
4''	24,0	1,45-1,39	<i>m</i>							
O-CH ₃	56,2	3,80	<i>s</i>			56,2	3,83	<i>s</i>		

II.6. Evaluation de l'activité antiplasmodiale

Cette partie du travail a pour but de déterminer l'activité antiplasmodiale des composés isolés et des extraits des plantes du genre *Campylospermum* (*C. dybowskii* Van Tiegh., *C. vogelii* Hook. Fil. Farron. et *C. zenkeri* Van Tiegh. Farron) aux fins de justifier leur utilisation en médecine alternative.

II.6.1. Evaluation de l'activité antiplasmodiale des composés isolés et des extraits bruts

Un screening biologique a tout d'abord été réalisé sur des extraits méthanoliques de *C. zenkeri* (écorces des tiges) et *C. vogelii* (racines) à la concentration de 2000 µg/ml selon la fluorescence du *Sybr Green 1* sur la souche CQR Dd2 de *P. falciparum*. Par cette même méthode d'évaluation, certains composés purs isolés ont également été testés à la concentration de 10 µg/ml. Les résultats de ce screening biologique sont présentés dans le tableau suivant.

Tableau 33: Pourcentage d'inhibition des composés isolés et des extraits sur la souche de *P. falciparum* CQR Dd2

Composés testés (codes)	Inhibition Moyenne (%)	Ecart-type (%)
*Artemisinine (ART)	94,7	2,1
Campylospermine 22 (CV2)	81,4	1,0
Stigmasterol 78 (CV3)	75,8	3,0
Zenkerinol 76 (CZ6B)	73,5	1,0
β -D-fructofuranosyl- α -D-glucopyranoside 79 (CV5)	70,2	1,0
β -sitostérol-3-O- β -D-glucopyranoside 55 (CZ3)	65,4	1,0
Lophirone A 50 (CZ4)	65,0	1,4
Serotobenine 18 (CZ2)	59,7	3,0
3-O-methylquercetine 83 (CVT5)	51,9	4,0
Agathisflavone 45 (CZ7)	32,5	2,0
Extrait <i>C. zenkeri</i> (CZ)	87,7	6,0
Extrait <i>C. vogelii</i> (CV)	64,4	3,5

* Composé de référence

Ces résultats qui sont présentés sur la figure 73 ci-dessous sous forme d'histogramme indiquent le pourcentage d'inhibition de la croissance du *P. falciparum* sur la souche CQR (Dd2) des composés isolés et des extraits bruts.

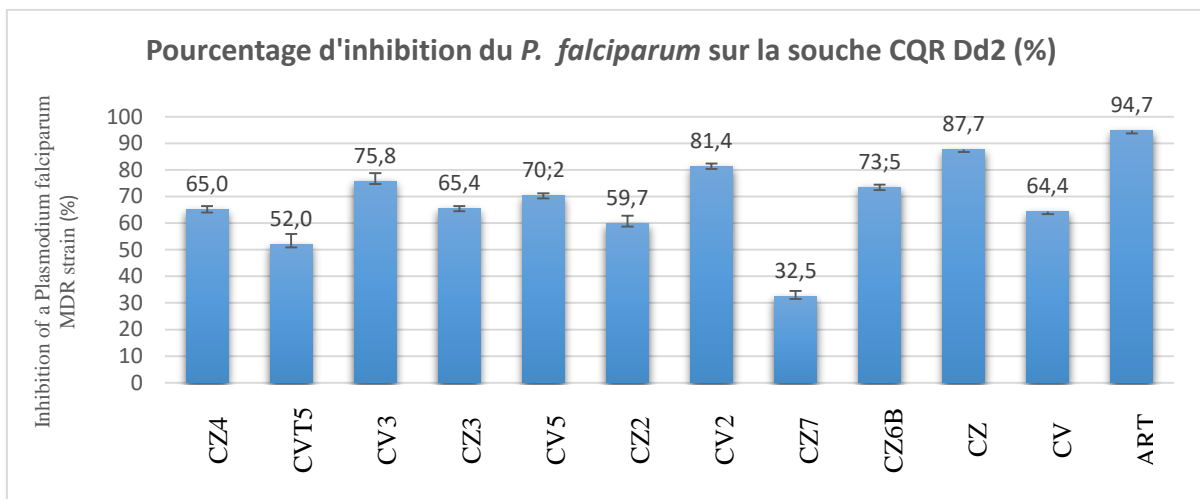


Figure 73: Histogramme des pourcentages d'inhibition des composés isolés et des extraits sur la souche de *P. falciparum* CQR Dd2

Parmi les échantillons testés, quatre composés purs (Campylopermine (22), Stigmasterol (78), Zenkerinol (76) et β -D-fructofuranosyl- α -D-glucopyranoside (79)) et ainsi qu'un extrait méthanolique (*C. zenkeri* : CZ) ont été sélectionnés pour des analyses ultérieures, sur la base des pourcentages d'inhibition les plus élevés (>70%). Ces composés ont ainsi subi une évaluation ultérieure qui a montré une faible activité antiplasmodiale *in vitro* des composés 78, 76 et 79 sur la souche Dd2 CQR de *P. falciparum*. (figure 74 et 75).

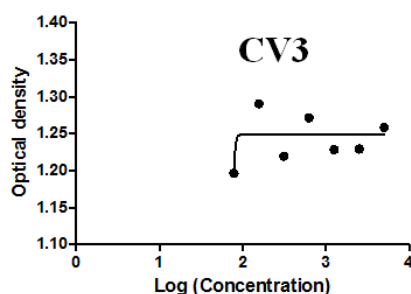


Figure 74: Activité antiplasmodiale du stigmasterol (78) sur la souche CQR Dd2 de *P. falciparum* grâce au Sybr Green 1

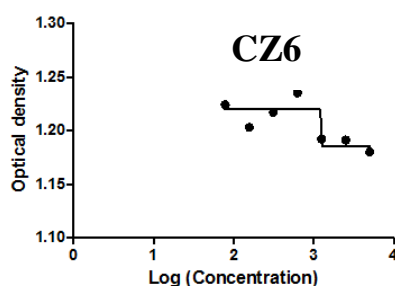


Figure 75: Activité antiplasmodiale du zenkerinol (76) sur la souche CQR Dd2 de *P. falciparum* grâce au Sybr Green 1

Quant aux extraits bruts testés (*C. zenkeri* CZ et *C. vogelii* CV), il ressort que *C. zenkeri* a montré une activité antiplasmodiale modérée sur la souche Dd2 ($IC_{50}= 50 \mu\text{g/mL}$) (figure 76), cela pourrait être due à la présence des polyphénols et des composés azotés en quantité considérable. Quant à *C. vogelii*, on a noté une activité antiplasmodiale faible sur la souche Dd2 ($IC_{50}= 60 \mu\text{g/mL}$) (figure 77) comparé à l'artémisinine ($IC_{50}= 15 \mu\text{g/mL}$) utilisée comme référence.

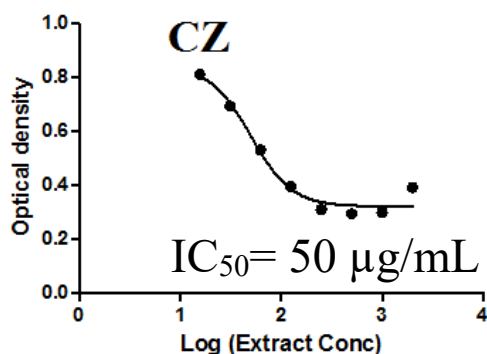


Figure 76: Activité antiplasmodiale de l'extrait méthanolique de *C. zenkeri* sur la souche CQR Dd2 de *P. falciparum*

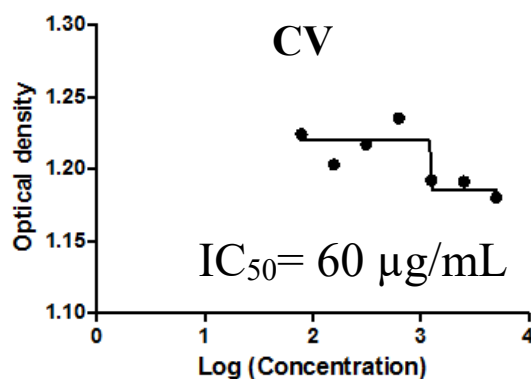


Figure 77: Activité antiplasmodiale de l'extrait méthanolique de *C. vogelii* sur la souche CQR Dd2 de *P. falciparum*

Parmi les composés testés, seule la campylospérmine a présenté une très bonne activité antimalarique sur la souche CQR 7G8 de *P. falciparum* suivant la lactate déshydrogénase parasitaire (*pLDH*). En effet, ce composé a montré une activité proche de la Dihydroartémisinine (DHA) prise comme référence (figure 78).

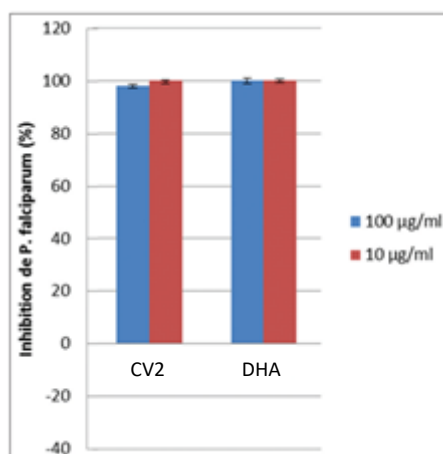


Figure 78: Histogramme des pourcentages d'inhibition de la Campylopermine CV2 (22) comparé à la Dihydroartémisinine (DHA) (12) sur la souche de *P. falciparum* CQR 7G8 selon la *pLDH*.

De cet histogramme, il en résulte la courbe d'inhibition de la croissance du parasite sur la souche de *P. falciparum* CQR 7G8 (figure 79).

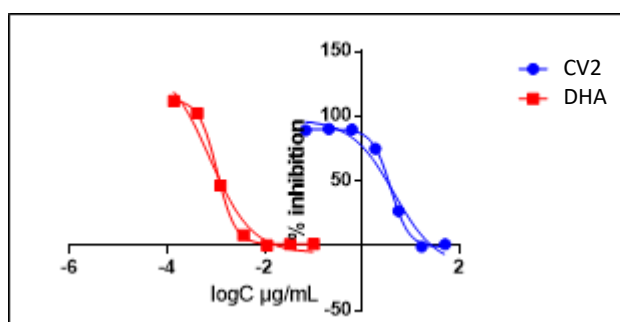


Figure 79: Courbes d'inhibition de croissance du parasite de la campylopermine sur la souche de *P. falciparum* 7G8

De cette courbe, il en résulte une concentration inhibitrice à 50% de la campylopermine suivante : $IC_{50} = 5,9155 \pm 0,1612 \mu\text{g/mL}$ (Mbabi *et al.*, 2018) (tableau 34).

Tableau 34: Concentration inhibitrice de la campylopermine sur une souche de *P. falciparum* CQR 7G8.

	Campylopermine	DHA
IC_{50} ($\mu\text{g/mL}$)	5,9155	0,0021
Ecart-type ($\mu\text{g/mL}$)	0,1612	0,0002

Selon l'OMS, l'activité antipaludique d'un composé est classée comme suit: très actif à $CI_{50} < 5 \mu\text{g / ml}$, prometteur à $5-15 \mu\text{g / ml}$, modéré à $15-50 \mu\text{g / ml}$ et inactif à $> 50 \mu\text{g / ml}$

(Basco, 1994 ; Pink *et al.*, 2005 ; Jonville *et al.*, 2008). Sur cette base, la Campylopermine présente une activité prometteuse. En ce qui concerne la relation structure-activité, la Campylopermine, possède une liaison N-OH qui pourrait influencer l'activité antiplasmodiale (Bero, 2009).

Enfin, en corrélant les résultats du test d'activité antiplasmodiale avec ceux de l'étude phytochimique, nous avons observé que les extraits possèdent des propriétés inhibitrices assez bonnes ce qui serait due à la présence d'alcaloïdes, de biflavonoïdes et de stérols. Ces résultats sont aussi en accord avec les hypothèses antérieurs sur les propriétés antiplasmodiale des composés et des extraits et leur présence dans plusieurs plantes médicinales (Bero *et al.*, 2009). La campylopermine (**22**), présenterait une forte activité antiplasmodiale, ce qui en fait un bon candidat pour des recherches scientifiques ultérieures sur la découverte et le développement de médicaments contre le paludisme.

II.6.2. Evaluation de l'activité antiplasmodiale des composés d'hémisynthèse

Parmi les trois composés hémisynthétisés, deux dérivés de la sérotobenine (**84** et **85**) ont fait l'objet d'une évaluation de l'activité antiplasmodiale sur la souche CQS 3D7 de *P. falciparum* à travers une enzyme : *lactate dehydrogenase* parasitaire (*pLDH*) (Trajer et Jensen, 1976) par comparaison à la décursivine (**19**) de structure *quasi*-similaire à celle de la serotobenine. Les résultats enregistrés en triplicate suivant des concentrations décroissantes sont présentés dans le tableau 35 ci-dessous.

Tableau 35: Pourcentages d'inhibition des composés hémisynthétiques sur *P. falciparum*

Substance Conc [μM]	80		81	
	% Inhibition	SD	% Inhibition	SD
100	45,4	2,1	85,8	11,7
10	0,0	0,0	4,7	0,2
1	4,3	0,7	4,4	0,6
0,1	6,1	1,5	3,6	0,4
0,01	6,8	1,3	3,0	0,1

SD : écart-type

De ce tableau, on en déduit la courbe présentant les pourcentages d'inhibition de la croissance parasitaire en fonction de la concentration des composés hémisynthétiques testés (figure 80).

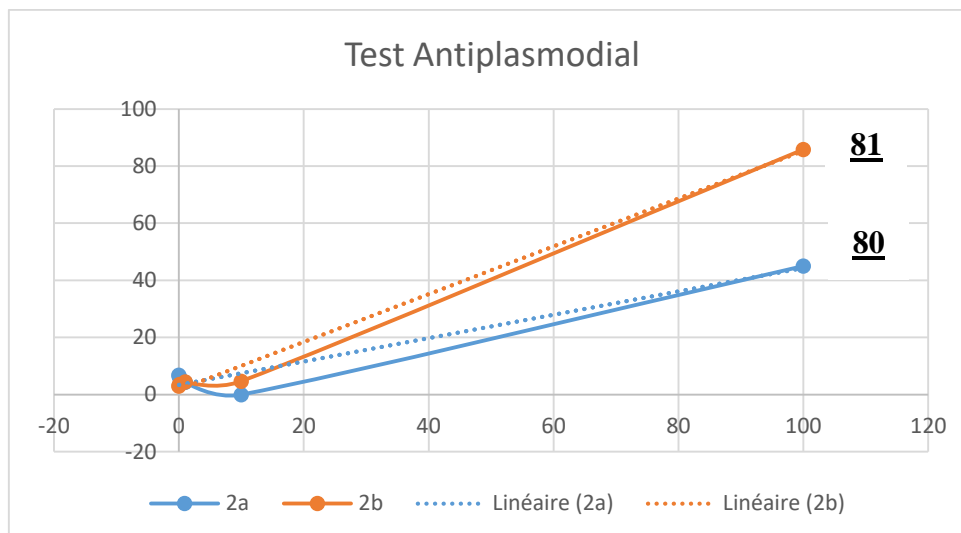
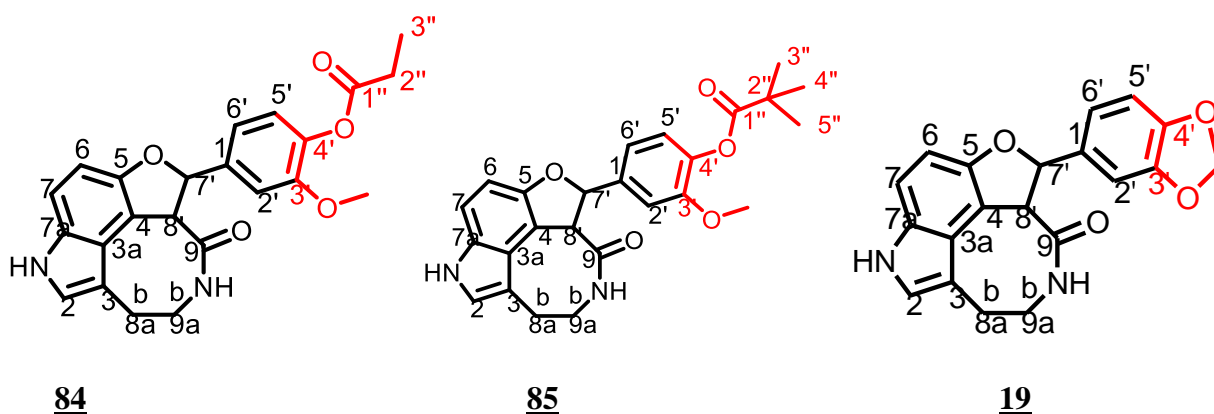


Figure 80: Pourcentages d'inhibition de la croissance parasitaire sur deux composés hémisynthétiques testés (**84** et **85**).



Il en résulte de cette courbe que le composé (**85**) présente une IC_{50} de 36,6 μ M, 10 fois moins active que la décursivine (**19**) dont la valeur est de 3,37 μ M (Zhang, 2002) et est meilleur que celui du composé (**84**) (123 μ M). On pourrait en déduire que contrairement à la chaîne linéaire, la présence d'une chaîne ramifiée conduirait à une légère augmentation de l'activité antimalarique. En plus, selon les critères de Basco *et al.*, (1994), l'activité du composé (**85**) sur les souches de *P. falciparum* CQS 3D7 pourrait être considérée comme modérée. Il est à noter que des études antérieures ont révélé que la sérotobenine (**18**) ne présentait aucune activité sur le *P. falciparum*. (Zhang *et al.*, 2002).

CONCLUSION

Aux termes de nos travaux qui avaient pour but de rechercher les composés à activité antiplasmodiale potentielle émanant de la biodiversité camerounaise aux fins de lutter contre les phénomènes de résistances, les extraits méthanoliques de trois espèces médicinales appartenant au genre *Campylospermum* (Ochnaceae) ont été soumis à une étude phytochimique, à quelques modifications structurales, et à l'évaluation de l'activité antiplasmodiale des composés isolés et hémisynthétisés. Le fractionnement et la purification des constituants chimiques ont été basés sur des méthodes chromatographiques usuelles. La détermination structurale des composés isolés et hémisynthétisés a été réalisée grâce aux techniques physicochimiques et spectroscopiques (UV, IR, SM, RMN 1D et 2D).

Les extraits méthanoliques de *C. dybowskii*, *C. vogelii* et *C. zenkeri* ont permis l'isolement, la purification la caractérisation et l'identification de vingt-deux composés appartenant à plusieurs familles :

- Acides gras : Acide linoléique, Acide palmitique et Acide stearique
- Alcaloïdes : Serotobenine et Campylospermine
- Biflavonoïdes : Amentoflavone, Robustaflavone, Agathisflavone, Lophirone A, Lophirone F, **Zenkerinol, Dihydrozenkerinol, et *trans*-3-hydroxyapigenyl-3'-O-4'''-dihydrokampférol** (nouveaux)
- Stéroïdes : β -sitosterol-3-O- β -D-glucopyranoside, stigmasterol et β -sitosterol
- Diholosite: β -D-fructofuranosyl- α -D-glucopyranoside
- Cyanoglycoside : lanceolin C
- Flavonoïde : 4'-O-methylvitexine, 2''-O-acetyl-7-O-methylvitexine et 3-O-methylquercétine.
- Terpenoïde : acide bétulinique.

Par la suite des modifications structurales à travers des réactions d'estérification et de Mitsunobu sur la serotobenine ont abouti à la synthèse de trois nouveaux dérivés : **Serotobenine monopropionate, Serotobenine monopivalate, 4'-O cyclohexylserotobenine.**

Dans la partie biologique de cette étude, nous avons étudié l'activité antiplasmodiale de certains composés purs (isolés et hémisynthétisés) et des extraits de plantes de (*C. zenkeri* et de *C. vogelii*) à partir d'un criblage biologique *in vitro*. Quatre des neuf composés testés ont montré une assez bonne inhibition sur la souche CQR Dd2 du *P. falciparum*. Quant aux extraits, *C. zenkeri* a montré une bonne activité inhibitrice *in vitro* par rapport à *C. vogelii* qui a montré une activité antiparasitaire faible.

Par la suite, une activité antiplasmodiale prometteuse *in vitro* sur la souche CQR 7G8 a à travers la *lactate deshydrogenase* parasitaire (*pLDH*) été observée avec la campylospérmine avec une IC_{50} de $5,9155 \pm 0,1612 \mu\text{g} / \text{mL}$, comparée à la valeur du contrôle positif DHA ($IC_{50} = 0,0021 \pm 0,0002 \mu\text{g}/\text{mL}$). Ce résultat démontre que la campylospérmine présente un potentiel considérable et pourrait être exploitée comme point de départ pour les hémisynthèses des composés à activité antiplasmodiale potentielle et par ricochet améliorer son efficacité sur le phénomène de la pharmacorésistance. Tester cette molécule en combinaison avec d'autres principes actifs pourrait accroître son efficacité. Enfin, nous avons étudié l'activité antiplasmodiale des composés hémisynthétisés sur la souche CQS 3D7 de *P. falciparum*. Il en résulte que la serotobenine monopivalate présente une activité modérée ($IC_{50} = 36,6 \mu\text{M}$) et par rapport à la serotobenine monopropionate qui présente une activité faible ($IC_{50} = 123,0 \mu\text{M}$) avec la decursivine ($3,37 \mu\text{M}$) utilisé comme composé de référence. Il est à noter que la serotobenine ne présentait aucune activité sur le *P. falciparum*.

En perspective, nous envisageons :

- Poursuivre l'étude phytochimique des parties de plantes non traitées afin d'isoler d'autres métabolites secondaires contenus dans les extraits.
- Réaliser d'autres hémisynthèses afin de mieux appréhender la relation structure-activité des molécules actives telles que campylospérmine, la serotobenine et autres analogues.
- Tester la campylospérmine en combinaison avec d'autres principes actifs afin d'accroître l'efficacité sur le phénomène de résistance.
- Etudier la cytotoxicité des composés isolés et hémisynthétisés.



**CHAPITRE III :
MATERIEL ET METHODES**

III.1. Appareillage

Les spectres de Résonance Magnétique Nucléaire [^1H RMN (500, 400 et 300 MHz), ^{13}C RMN (125, 100 et 75 MHz)] ont été enregistrés sur spectromètre Bruker DRX. Les spectres de masse HR-ESI ont été obtenus sur un spectromètre de marque LTQ-FT (Thermo Scientific). Les spectres de masse haute résolution LC-MS ont été obtenus avec un spectromètre QTOF (Bruker) muni d'une source HR-ESI. Le spectromètre a été exploité en mode positif et négatif (gamme de masse : 100-1500, avec une vitesse de balayage de 1,00 Hz) avec transmission automatique afin de fournir des spectres de masse haute précision avec une déviation de 2 ppm à l'aide du Na comme calibrant. L'analyse CPG/MS a été effectuée à l'aide d'un appareil de marque Hewlett Packard 5973. Les spectres IR ont été enregistrés sur un spectromètre de marque Alpha FT-IR Bruker avec KBr comme pastille (figure 81).

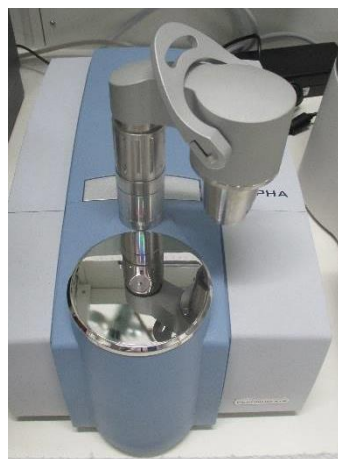


Figure 81: Photo du spectromètre IR de marque Alpha FT-IR Bruker

Les analyses HPLC ont été mesurées grâce à un appareil de marque *Agilent Technologies* 1200 (G1312B Quat pump, G4212B diodearray detector). Les analyses UV (254 et 366 nm) ont été effectuées à l'aide d'un spectrophotomètre de marque Beckmann Coulter DU 800.

Pour la chromatographie, les plaques CCM de marque Merck silica gel 60 F₂₅₄ ont été utilisés pour vérifier la pureté des composés en présence du diiode et du cerium ammonium molybdate pour la révélation. Les mesures des points de fusion ont été effectuées sur un appareil de marque Mettler Toledo (figure 82).



Figure 82: Photo de l'appareil de mesure du point de fusion de marque Mettler Toledo

L'évaporation s'est faite grâce à un évaporateur rotatif de marque Buchi (figure 83).



Figure 83: Photo de quelques évaporateurs rotatif de marque Buchi

Les différentes masses des extraits et des composés isolés ont été pesées sur un appareil de marque KERN PKT.

Les systèmes d'élution utilisées ont été $\text{CH}_2\text{Cl}_2/\text{MeOH}$ pour l'étude phytochimique et $\text{CHCl}_3/\text{MeOH}$ lors des réactions d'hémisynthèses avec à chaque fois des polarités croissantes. Toutes les réactions sensibles à l'oxygène ou à l'humidité ont été effectuées sous atmosphère d'Argon. De même, des colonnes en verre de dimensions diverses ont été utilisées.

III.2. Matériel végétal, extraction et purification des composés

III.2.1. Matériel végétal

Les écorces des tiges de *Campylospermum zenkeri* ont été collectées au Mont *Pala* près de Kribi, dans le département de l'Océan, région du Sud du Cameroun en Avril 2015. Le matériel végétal a été ensuite séché à l'air libre et à l'abri de la lumière du soleil pendant 2 semaines puis broyé.

Les feuilles de *Campylospermum dybowski* ont été récoltées à Akonolinga, région du Centre du Cameroun en décembre 2012. Un spécimen and (N° 30053/HNC) a été déposé à l'Herbier national du Cameroun à Yaoundé. Le matériel végétal a été ensuite séchées à l'air libre et à l'abri de la lumière du soleil pendant deux semaines puis broyées au moulin à écraser.

Les tiges et les racines de *Campylospermum vogelii* ont été récoltées à Akonolinga, région du Centre du Cameroun en février 2013. Un spécimen (N° 29205/HNC) a été déposé à l'Herbier National du Cameroun à Yaoundé. Le matériel végétal a été ensuite séché à l'air libre et à l'abri de la lumière du soleil pendant 2 semaines puis broyé.

III.2.2. Extraction et purification des écorces des tiges de *Campylospermum zenkeri*

La poudre sèche (300 g) a subi une extraction au méthanol par macération à froid pendant 48 heures. Cette opération s'est répétée trois fois avec à chaque fois renouvellement du solvant. Après filtration et évaporation du solvant, 20 g d'extrait brut a été obtenu. L'extrait méthanolique (20 g) a été fractionné sur colonne ouverte de silice selon un gradient CH₂Cl₂/MeOH de polarité croissante. Cinq principales fractions (indexées I à V) ont été obtenues suivant leur profil chromatographique (tableau 36).

Tableau 36: Chromatogramme de l'extrait brut de *C. zenkeri*

Eluants	Séries	Fractions	Observations
CH ₂ Cl ₂ pur	1-17	I : 1-29	Huiles + Chlorophylle
CH ₂ Cl ₂ /MeOH : 50/1	18-29		
CH ₂ Cl ₂ /MeOH : 40/1	30-39	II : 30-62	Huiles + Chlorophylle
CH ₂ Cl ₂ /MeOH : 30/1	40-62		
CH ₂ Cl ₂ /MeOH : 25/1	63-83	III : 63-102	Stéroïdes + Alcaloïdes
CH ₂ Cl ₂ /MeOH : 20/1	84-102		
CH ₂ Cl ₂ /MeOH : 15/1	103-119	IV : 103-148	Polyphenols
CH ₂ Cl ₂ /MeOH : 10/1	120-140		
CH ₂ Cl ₂ /MeOH : 5/1	141-148		
CH ₂ Cl ₂ /MeOH : 2/1	149-161	V : 149-172	Polyphenols
CH ₂ Cl ₂ /MeOH : 1/1	162-166		
MeOH pur	167-172		

La fraction II (1,5 g) a été soumise à une CC sur gel de silice à l'aide du système de solvant pentane/acétate d'éthyle (40/1 à 30/1) pour donner un mélange de trois acide gras (acide linoléique, palmitique et stéarique) (**CZ1** : 120 mg). La fraction III (2,5 g) a été soumise à une CC sur gel de silice à l'aide du système de solvant CH₂Cl₂/MeOH (25/1 à 20/1) pour donner trois sous-fractions (IIIa, IIIb, et IIIc). La sous-fraction IIIa (0,7 g) a été purifiée par CC sur gel de silice avec le système CH₂Cl₂/MeOH (25/1) pour donner la sérotobenine (**CZ2** : 70 mg). De même, la sous-fraction IIIb (0,6 g) a donné le composé le β -sitosterol-3-O- β -D-glucopyranoside (**CZ3** : 35 mg) avec le système CH₂Cl₂/MeOH (20/1). A l'aide du même procédé, la fraction IV (6,5 g) a donné deux sous-fractions (IVa, IVb). La sous-fraction IVa (3g) a été soumise à une CC sur gel de silice à l'aide du système de solvant CH₂Cl₂/MeOH (15/1) pour donner 4 autres sous-fractions. La sous-fraction IVa₁ été purifiée sur CC gel de silice à l'aide du système CH₂Cl₂/MeOH (12/1) pour donner la Lophirone A (**CZ4** : 13 mg). La sous-fraction IVa₂ (0,8g) a aussi été purifiée par CC sur gel de silice (10/1) pour donner la Lophirone F (**CZ5** : 7 mg). De même, la sous-fraction IVa₃ (0,4 g) été purifiée par CC sur gel de silice (8/1) pour donner l'Agathisflavone (**CZ7** : 6 mg). Par ailleurs, la sous-fraction IVb (2,5 g) a été soumise à une CC sur gel de silice à l'aide du système CH₂Cl₂/MeOH (5/1) pour obtenir un mélange de deux composés. Une Chromatographie sur gel de Sephadex LH20, suivit d'une chromatographie sur couche mince préparative à l'aide du système CH₂Cl₂/MeOH (5/1-3/1) suivit nous a permis de

purifier le mélange, donnant séparément la Zenkerinol (**CZ6B** : 11 mg) et la Dihydrozenkerinol (**CZ6A** : 10 mg).

III.2.3. Extraction et purification des feuilles de *Campylospermum dybowskii*

Les feuilles de *Campylospermum dybowskii* ont été séchées à l'air libre et à l'abri de la lumière du soleil pendant 2 semaines puis broyées. La poudre sèche obtenue (400 g) a subi une extraction au méthanol par macération à froid pendant 48 heures. Le solvant a été évaporé et un extrait de 43 g a été obtenu. Une partition liquide-liquide de cet extrait été effectué à l'hexane, au chlorure de méthylène et à l'acétate d'éthyle. L'extrait à l'acétate d'éthyle (18 g) a été chromatographié sur colonne de silice avec le système de solvant CH₂Cl₂/MeOH de polarité croissante conduisant à quatre fractions D1 (2,9 g), D2 (2,6 g), D3 (6,8 g) et D4 (4,6 g). (Tableau 37).

Tableau 37: Chromatogramme de l'extrait brut de *C. dybowskii*

Eluants	Séries	Fractions	Observations
CH ₂ Cl ₂ pur	1-6	I :	Huiles + Chlorophylle
CH ₂ Cl ₂ /MeOH : 50/1	7-10	1-10	
CH ₂ Cl ₂ /MeOH : 35/1	11-26	II :	Stéroïdes + Alcaloïdes
CH ₂ Cl ₂ /MeOH : 25/1	27-51	11-51	
CH ₂ Cl ₂ /MeOH : 20/1	52-79	III :	Polyphenols
CH ₂ Cl ₂ /MeOH : 15/1	80-96	52-133	
CH ₂ Cl ₂ /MeOH : 10/1	97-133		
CH ₂ Cl ₂ /MeOH : 5/1	134-168	IV :	Polyphenols
CH ₂ Cl ₂ /MeOH : 2/1	169-194	134-202	
MeOH pur	195-202		

La fraction D₂ a subi une chromatographie sur colonne de silice avec le système de solvant CH₂Cl₂/MeOH (35/1 au 25/1) pour donner trois sous-fractions D2a (0,7 g), D2b (0,8 g), D2c (0,6 g). La sous-fraction D2b (0,8 g) après purification dans le même système de solvant a donné deux composés : la serotobenine (**CD1** : 25 mg) et le β-sitosterol-3-O-β-D-glucopyranoside (**CD2** : 12 mg). La fraction D₃ (6,8 g) après chromatographie sur colonne de gel de silice avec le système de solvant CH₂Cl₂/MeOH (20/1 au 10/1) a permis d'obtenir quatre sous-fractions D3a (0,9 g), D3b (1,9 g), D3c (1,6 g) et D4d (1,7 g). La sous-fraction D3b (1,9 g) a été purifiée de la même manière que précédemment au système de solvant CH₂Cl₂/MeOH (15/1) pour donner la Lanceolin C (**CD3** : 3 mg). La sous-fraction D3c (1,6 g) après purification au LH20 (MeOH) a donné deux composés : la 4'-O-methylvitexine (**CD4** : 9 mg) et la 2''-O-

acetyl-7-*O*-methylvitexine (**CD5** : 12 mg). De même, la sous-fraction D3d (1,7 g) après purification au système de solvant CH₂Cl₂/MeOH (10/1) a permis d'obtenir deux composés : l'amentoflavone (**CD6** : 4 mg) et la Robustaflavone (**CD7** : 9 mg).

III.2.4. Extraction et purification des racines de *Campylospermum vogelii*

Les racines de *Campylospermum vogelii* ont été découpées, puis séchées à l'air libre et broyées finement. La poudre obtenue (330g) a subi une macération à froid au méthanol pendant 48 heures. Après filtration et évaporation du solvant, un extrait brut de 18 g a été obtenu. L'extrait brut a été fractionné sur une colonne de gel de silice. L'élution a été faite grâce au système de solvant CH₂Cl₂/MeOH de polarité croissante. Sur la base du profil chromatographique, cinq fractions majeures ont été obtenues : I (2,5g), II (2,6g), III (2,5g), VI (2,4g), V (3g) (tableau 38).

Tableau 38: Chromatogramme de l'extrait brut des racines de *C. vogelii*

Eluants	Séries	Fractions	Observations
CH ₂ Cl ₂ pur	1-10	1-21	Huiles + Chlorophylle
CH ₂ Cl ₂ /MeOH: 50/1	11-21		
CH ₂ Cl ₂ /MeOH: 40/1	22-34	22-34	Alcaloïdes
CH ₂ Cl ₂ /MeOH: 30/1	35-46	35-57	Stéroïdes
CH ₂ Cl ₂ /MeOH: 20/1	47-57		
CH ₂ Cl ₂ /MeOH: 15/1	58-68	58-89	Stéroïdes + Polyphenols
CH ₂ Cl ₂ /MeOH: 10/1	79-89		
CH ₂ Cl ₂ /MeOH: 5/1	90-96	90-101	Polyphenols
MeOH pur	97-101		

La fraction II (2,6 g) a été soumise à une purification par CC de gel de silice grâce au système de solvant CH₂Cl₂/MeOH (40/1) pour donner la serotobenine (**CV1** : 8 mg) et la campylospermine (**CV2** : 15 mg). De même, la fraction III (2,5 g) après purification sur une colonne de gel de silice, grâce au système de solvant CH₂Cl₂/MeOH (30/1-20/1) a permis d'isoler deux composés : le stigmastérol **CV3** (6 mg) et le β -sitostérol (**CV4** : 10 mg) respectivement. Par le même procédé, la fraction IV (2,4 g) après purification sur une colonne de gel de silice, et grâce au système de solvant CH₂Cl₂/MeOH (15/1-10/1) a permis d'isoler le β -D-fructofuranosyl- α -D-glucoopyranoside (**CV5** : 5 mg) tandis que la fraction V (3g) a permis

d'isoler la quercetyl-3'-*O*-4'''-dihydrokaempferol (**CV6** : 12 mg) grâce au système de solvant CH₂Cl₂/MeOH (5/1).

III.2.5. Extraction et purification des tiges de *Campylospermum vogelii*

Les tiges de *Campylospermum vogelii* ont été découpées et séchées à l'air libre. La poudre (412g) obtenu a été macérée à froid au méthanol pendant 48h pour donner un extrait brut (22 g) après évaporation du solvant. Cet extrait méthanolique a été chromatographié sur une colonne de gel de silice grâce au système de solvant CH₂Cl₂/MeOH de polarité croissante. Des flacons de 100 mL ont été recueillis et regroupées en cinq fractions indexés de I (4g), II (4g), III (3,5 g), IV (2,5 g) et V (3g) (tableau 39).

Tableau 39: Chromatogramme de l'extrait brut de des tiges de *C. vogelii*

Eluants	Séries	Fractions	Observations
CH ₂ Cl ₂ pur	1-6	I : 1-21	Huiles + Chlorophylle
CH ₂ Cl ₂ /MeOH : 50/1	7-21		
CH ₂ Cl ₂ /MeOH : 40/1	22-33	II : 22-46	Alcaloïdes
CH ₂ Cl ₂ /MeOH : 30/1	34-46		
CH ₂ Cl ₂ /MeOH : 20/1	47-58	III : 47-58	Stéroïdes
CH ₂ Cl ₂ /MeOH : 15/1	59-70	IV : 59-80	Polyphenols
CH ₂ Cl ₂ /MeOH : 10/1	71-80		
CH ₂ Cl ₂ /MeOH : 5/1	81-112	V : 81-120	Polyphenols
MeOH pur	113-120		

La fraction II (4 g) a été purifiée sur CC de gel de silice grâce au système de solvant CH₂Cl₂/MeOH (40/1-30/1) pour donner deux produits : la serotobenine (**CVT1** :12mg) et le β -sitosterol (**CVT2** : 15mg). De même, la fraction III (3,5 g) a été purifiée sur CC de gel de silice grâce au système de solvant CH₂Cl₂/MeOH (20/1) pour donner l'acide bétulinique (**CVT3** :22 mg) et le β -sitosterol-3-*O*- β -D-glucopyranoside (**CVT4** : 9 mg). Il en est de même de la fraction V (3 g) qui après purification au CH₂Cl₂/MeOH (5/1) a donné la quercetine-3-*O*-methylether (**CVT5** : 8 mg).

III.3. Réactions d'hémisynthèse

III.3.1. Estérification de la Serotobenine avec l'anhydride propanoïque

5 mg de Serotobénine (14,29 μmol) ont été dissous dans la pyridine (0,83 mL) et l'anhydride propanoïque (0,75 mL) a été ajouté à 0°C. À la suite, la solution a été maintenue à la température ambiante (22°C) pendant 18 heures jusqu'à la fin de la réaction repéré par une plaque CCM. Par la suite, une solution d'acide chlorhydrique (1M, 5 mL) a été ajoutée. Après séparation des phases, la phase organique a été extraite au *tert*-butylmethyl ether (TBME) (2x10 mL). L'extrait obtenu a été lavé à l'hydrogencarbonate de sodium NaHCO_3 (1M, 10 mL) et au NaCl (10 mL). La phase organique a été ensuite séchée au sulfate de magnésium, filtré et le solvant évaporé sous pression réduite. Le résidu a été purifié par CC sur gel de silice ($\text{CHCl}_3/\text{MeOH}$:15:1) donnant un solide blanc nommé serotobenine monopropionate **CZ2A** (5,5 mg, 95%).

III.3.2. Estérification de la Serotobenine avec l'anhydride pivalique

5 mg de Serotobenine (14,29 μmol) ont été dissous dans la pyridine (0,83 mL) et l'anhydride pivalique (1,00 mL) à 0°C. Par la suite, 0,17 mg de DMAP (1,429 μmol) a été utilisé comme catalyseur. La solution a été maintenue à la température ambiante (22°C) pendant 18 heures jusqu'à la fin de la réaction repéré par une plaque CCM. Le. Par la suite, une solution d'acide chlorhydrique (1M, 5 mL) a été ajoutée. Après séparation des phases, la phase organique a été extraite au *tert*-butylmethyl ether (TBME) (2x10 mL). L'extrait obtenu a été lavé au NaHCO_3 (1M, 10 mL) et au NaCl (10 mL). La phase organique a été ensuite séchée au sulfate de magnésium, filtré et le solvant évaporé sous pression réduite. Le résidu a été purifié par CC sur gel de silice ($\text{CHCl}_3/\text{MeOH}/15:1$), pour donner un solide blanc nommé serotobenine pivalate **CZ2B** (5,8 mg, 93%).

III.3.3. Etherification de la serotobenine *via* la réaction de Mitsunobu

10 mg de Serotobenine (28,56 μmol) ont été ajoutée à une solution de cyclohexanol (5,72 mg; 57,12 μmol), et de tributylphosphine (9,5 μL ; 57,12 μmol) contenus dans du THF anhydre sous atmosphère d'azote (N_2). La solution résultante a ensuite été traitée au DIAD (11,2 μL ; 57,12 μmol) et le mélange réactionnel a été continuellement agité pendant 48 h à température ambiante jusqu'à la fin de la réaction repéré par une plaque CCM. Le solvant a ensuite été évaporé et le résidu dissous dans du *tert*-butylmethyl ether (TBME) (2 x 3mL). L'extrait obtenu a été lavé au NaHCO_3 (1M, 2 mL) et au NaCl (3 mL). La phase organique a été ensuite séchée au sulfate de magnésium, filtré et le solvant évaporé sous pression réduite.

Le résidu a été purifié par CC sur gel de silice ($\text{CHCl}_3/\text{MeOH}$: 50/1), pour donner un solide blanc nommé serotobenine cyclohexylether **CZ2C** (2,5 mg, 20 %).

III.4. Méthodes chromatographiques

III.4.1. Chromatographie sur couche mince

Les CCM ont été effectuées au moyen de couches minces (0.2 mm d'épaisseur) avec le gel de silice 60 F254 sur aluminium (Merck). Après élution dans le solvant, les plaques ont été révélées par une lampe UV (254 nm et/ou 366 nm) puis aux vapeurs d'iode ou à l'aide d'une solution aqueuse de CAM (Cerium Ammonium Molybdate). Les plaques sont ensuite chauffées à l'aide d'une plaque chauffante jusqu'à apparition de tâches de diverses couleurs.

III.4.2. Chromatographie sur colonne ouverte

Différentes colonnes ouvertes sur gel de silice 60 (230-400 msh) ont été utilisées lors des étapes de fractionnement des extraits méthanolique, et aussi lors des étapes de purification. La taille des colonnes, la granulométrie de la phase solide, le débit de la phase mobile et la taille des fractions ont été ajustés à la quantité et à la nature (extrait, fraction) des échantillons à séparer. Le choix des conditions d'élution, le suivi de la séparation et la collecte des fractions ont été effectués sur la base du profil chromatographique en CCM.

III.5. Méthodes physico-chimiques

Les points de fusion ont été mesurés à l'aide d'un appareil électronique de marque Buchi. Les valeurs ont été notées après fusion complète de l'échantillon.

Les spectres ultraviolets UV des composés hémisynthétiques ont été effectués grâce à un spectrophotomètre UV/VIS de marque Beckmann Coulter DU 800 dans le méthanol.

Les spectres infra-rouge (IR) ont été effectués avec un spectromètre de marque Alpha FT-IR Bruker avec KBr comme pastille et une résolution de 2 cm^{-1} . Les bandes d'absorption sont données en longueur d'onde entre 400 et 4000 cm^{-1} .

Spectres de RMN ^1H et ^{13}C ont été enregistrés à 500/400 MHz sur un spectromètre de marque Bruker DRX 500. Les échantillons ont été dissous dans des solvants deutérés. Les déplacements chimiques δ ont été exprimés en ppm par rapport au signal du TMS utilisé comme référence interne.

III.6. Méthodes biologiques : Evaluation de l'activité antiplasmodiale

L'activité antiplasmodiale des composés purs (CV2, CV3, CZ6A, CV5, CZ3, CZ4, CZ2, CVT5 et CZ7) testés *in vitro* sur le *P. falciparum* est exprimée en concentration inhibitrice 50% (IC₅₀), c'est-à-dire la concentration nécessaire d'un composé pour réduire de 50% la croissance d'une population de parasites. Selon l'OMS (Bero *et al.*, 2009), l'activité antiplasmodiale des composés purs et des extraits est présenté selon le tableau ci-après (tableau 40).

Tableau 40: Classification de l'activité antiplasmodiale des extraits bruts

EXTRAITS BRUTS	
IC ₅₀ (µg/mL)	Activité
> 50	Inactif
15 < IC ₅₀ < 50	Modéré
5 < IC ₅₀ < 15	Prometteur
< 5	Puissant

Les souches de *P. falciparum* utilisées sont les suivantes :

- La souche 3D7 (souche chloroquino-sensible CQS) lors de l'évaluation de l'activité antiplasmodiale sur les composés hémisynthétiques.
- Les souches Dd2 et 7G8 (Souches chloroquino-résistantes CQR) lors de l'évaluation de l'activité antiplasmodiale sur les composés purs isolés et les extraits.

Pour l'évaluation de l'activité antiplasmodiale des composés isolés, le *Sybr Green 1* a été utilisé. Les parasites synchronisés au sorbitol ont été incubés sous conditions normales de culture à 2% d'hématocrite et 1% de parasitémie l'absence ou la présence de concentrations croissantes de composés. La chloroquine (CQ) et l'artémisinine (ART) ont été utilisés comme positifs contrôles, tandis que 0,4% de DMSO a été utilisé comme contrôle négatif. Après 48 h d'incubation, 100 µL de solution *Sybr Green 1* a été ajouté à chaque puits et mélangé deux fois et lentement avec une micro-pipette et incubé dans l'obscurité à 37°C pendant 1 h. La fluorescence a été mesurée avec un lecteur de plaque fluorescence de Victor à puits multiples (Perkin Elmer) avec des bandes de longueurs d'onde d'excitation et d'émission réglées à 485 et 530 nm, respectivement. Les décomptes de fluorescence ont été tracés en fonction de la concentration du composé et la concentration inhibitrice à 50% (IC₅₀) a été déterminée par l'analyse des courbes dose-réponse et de l'estimateur IC₅₀. Les résultats ont été validés au

microscope par examen de frottis coloré au *Giemsa* de cultures de parasites extraites / traitées par fraction. Les composés purs et la référence (Artémisinine) ont été analysés à une concentration de 10 µM contre 2000 µg/ml pour les extraits (**Smilkstein et al., 2004**).

Deux dérivés hémisynthétiques ont été testés pour leur activité antimalarique sur la souche CQS 3D7 du *P. falciparum* à travers le test *parasite lactate dehydrogenase* (pLDH). Les parasites ont été cultivés pendant 72 h dans des érythrocytes humains à 4% d'hématocrite dans un milieu de RPMI (PAA) avec pour supplément 10% A + sérum humain, 200 hypoxanthine µM et 20 µg.ml⁻¹ gentamycine en présence et en absence des composés respectivement (**Trager et Jensen, 1976**). Des cultures ont été développées à 0,1% de parasitémie dans des plaques à 96 puits à un hématocrite de 3%. Des parasites ont été cultivés en présence ou en absence des composés pendant 72 heures. Par la suite, les cellules ont été cultivées, lavées puis gelées à -20°C jusqu'à l'analyse. La pLDH a été détecté et mesuré (**Makler et al. 1993; Arnot et al. 2008**). La croissance parasitaire a été calculée comme suit à 650 nm :

$$G = (ODa-ODb) / (ODc-ODb)$$

ODa = Densité Optique de l'échantillon; **ODb** = Densité Optique de la référence ;

ODc = Densité Optique du blanc **G** = Croissance ;

Les résultats ont été analysés en utilisant le Tableau Windows Microsoft Excel 2013 pour les représentations graphiques des différentes courbes et les analyses statistiques ont été effectuées en utilisant le logiciel ANOVA Windows SPSS 20.

III.7. Screening phytochimique des extraits

Un screening phytochimique (tableau 41) des extraits a permis de déterminer les grands groupes de composés présents (N'guessan *et al.*, 2009).

Tableau 41: Protocole du screening phytochimique préliminaire des extraits de plantes

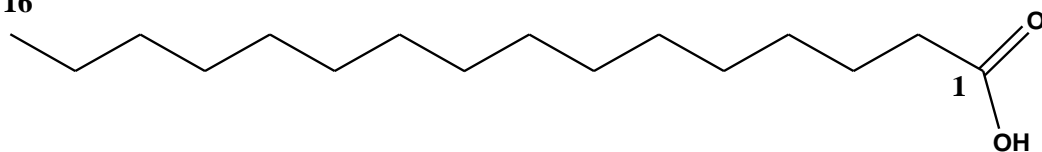
Classe des composés	Tests caractéristiques
Alcaloïdes (test de Mayer)	A quelques ml de l'extrait, deux gouttes du réactif de Mayer (tétra-iodomercurate de potassium) sont ajoutés le long d'un tube à essai. La formation d'un précipité jaunâtre indique la présence des alcaloïdes.
Sucres (test de Molisch)	A 2 ml de l'extrait contenu dans un tube à essai, on y ajoute deux gouttes de solution alcoolique de α -naphthol (20%). Le mélange est agité, puis 1 ml d'acide sulfurique concentré est ajouté lentement le long du tube puis refroidi dans de la glace. La présence des sucres est indiquée par la formation d'une interface de couleur rouge-violacée.
Phytosterols (Test de Liebermann-Burchard)	A 2 ml de l'extrait contenu dans un tube à essai, on y ajoute 2 ml de chloroforme. Le filtrat est par la suite traité avec quelques ml d'anhydride acétique à chaud, puis est refroidi. La formation d'un interface rouge foncé indique la présence de phytosterols.
Composés Phenoliques (Test au chlorure Ferrique)	A 2 ml de l'extrait contenu dans un tube à essai, on y ajoute 3 à 4 gouttes d'une solution de chlorure Ferrique (5%). La présence de composés phénoliques est indiquée par la formation d'une coloration verdâtre.
Flavonoïdes (Test de Shinoda)	A 2 ml d'une solution alcoolique de l'extrait contenu dans un tube à essai, on y ajoute quelques copeaux de magnésium et d'acide sulfurique concentré (gouttes à gouttes). La présence de flavonoïdes est indiquée par la formation d'une coloration rouge (flavonols), orange (flavones) ou rouge violacée (flavanone).
Biflavonoïdes (Test de Neu)	Prélever 0,5g d'extrait et dissoudre dans 100 mL d'éthanol, puis pulvériser avec le réactif de Neu (solution d'acide amino-2-ethyl-diphénylborique dans 10 mL de méthanol). La plaque est ensuite chauffée à 110°C pendant 2 min environ. On observe à la lampe UV à 365 nm, des taches fluorescentes jaunes.

III.8 Caractérisation des composés isolés et hémisynthétiques

N° Code COMPOSES ISOLES DE *C. ZENKERI* (ECORCES DES TIGES)

1 CZ1A

16



Acide palmitique

Aspect physique : huile beige

Solubilité : chloroforme

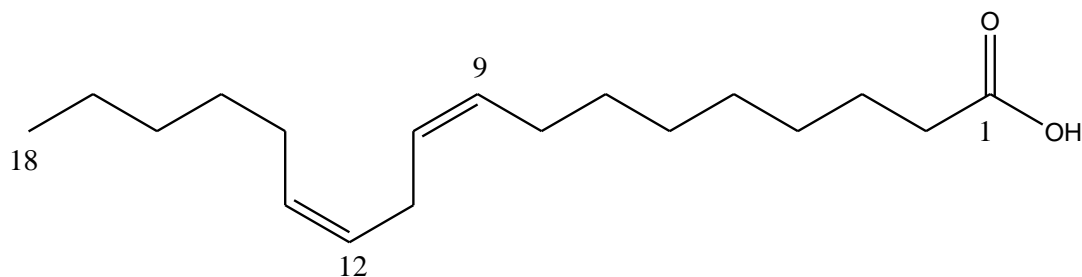
GC/MS : m/z : 256.23983 (calc. 256.2537)

Formule brute : $C_{16}H_{32}O_2$

RMN 1H (500 MHz) et ^{13}C (125 MHz) dans $DMSO-d_6$: Tableau 11

2

CZ1B



Acide linoléique

Aspect physique : huile beige

Solubilité : chloroforme

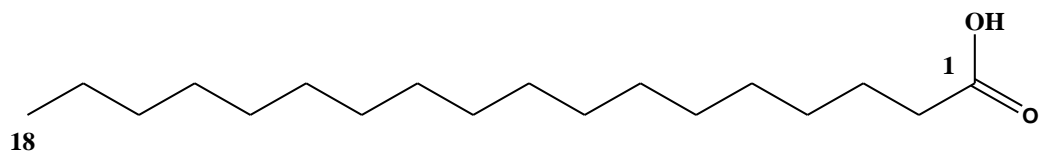
GC/MS m/z : 280.23938 (calc. 280.2521)

Formule brute : $C_{18}H_{32}O_2$

IR (KBr) ν_{max} : 3008 cm^{-1} , 2916, 2849, 1705, 1462 cm^{-1} .

RMN 1H (500 MHz) et ^{13}C (125 MHz) dans $DMSO-d_6$: Tableau 11

3



CZ1C

Acide stearique

Aspect physique : huile beige

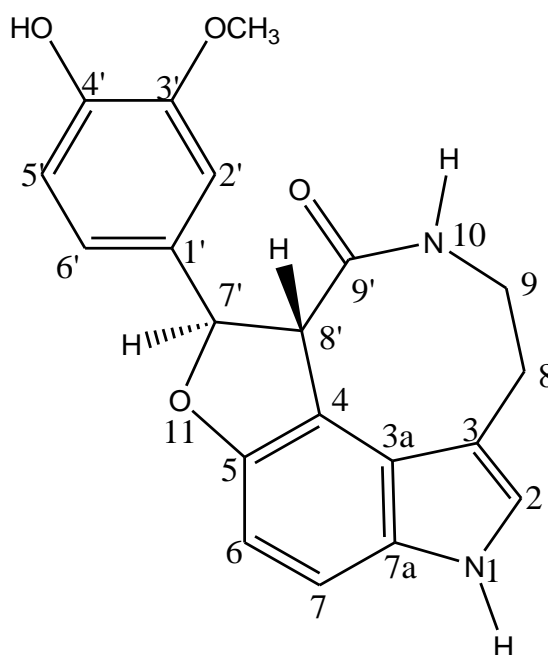
Solubilité : chloroforme

GC/MS : m/z : 284,2727 (calc. 284,2729)

Formule brute : $C_{18}H_{36}O_2$

RMN 1H (500 MHz) et ^{13}C (125 MHz) dans DMSO- d_6 : Tableau 11

4 **CZ2**



Serotobenine

Aspect physique: solide blanche

Solubilité: acétone

Test positif : test de Mayer

Point de fusion: 282-284°C

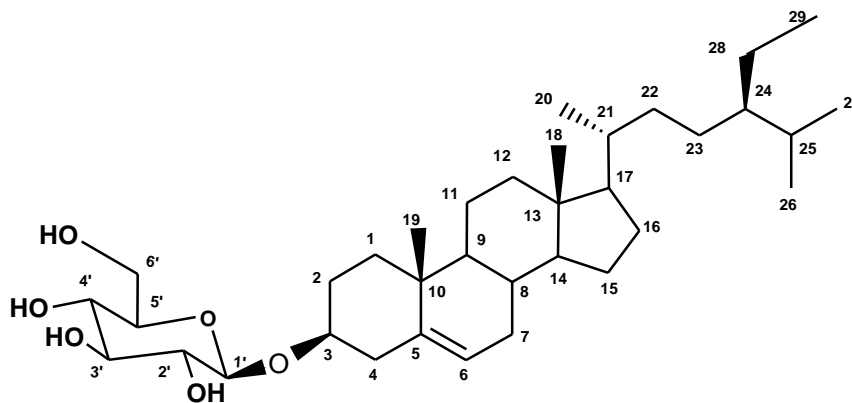
(ESI): $[M-H]^-$ à m/z 349,2 (calc. 349,1)

Formule brute : $C_{20}H_{18}O_4N_2$

IR (KBr) ν_{max} : 3374 ; 1648

RMN 1H (500 MHz) et ^{13}C (125 MHz) dans DMSO- d_6 : Tableau 12

5 CZ3



sitostérol-3-β-O-D-glucopyranoside

Aspect physique: poudre blanche

Solubilité: MeOH

Test positif : Libermann-Buchard

Point de fusion: 257-258°C

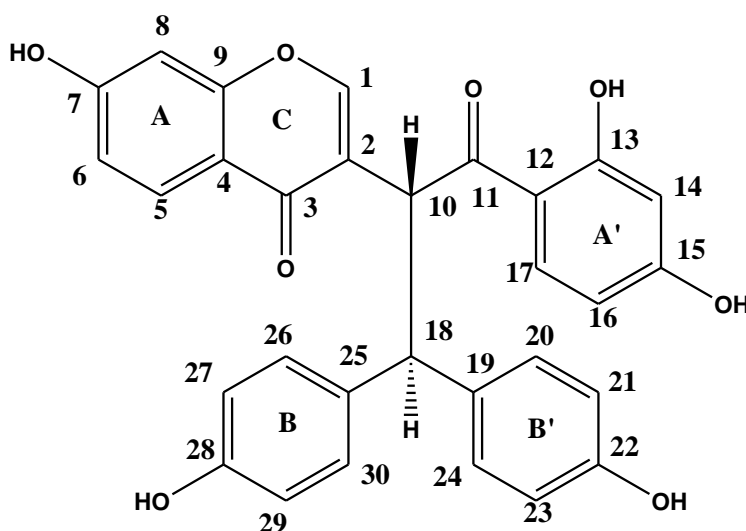
MS : HRESI (mode positif) $[M+Na]^+$ à m/z 599,4283 (calc. 599,4288)

Formule brute : $C_{35}H_{60}O_6$

IR (KBr) ν_{max} : 3430, 2931, 2865, 1465, 1629, 1375, 1100, 1055, 883 cm^{-1}

RMN 1H (500Mhz) et ^{13}C (125 MHz) dans DMSO- d_6 : Tableau 13

6 CZ4



Lophirone A

Aspect physique: cristaux orange

Solubilité: méthanol

Test positif : Neu

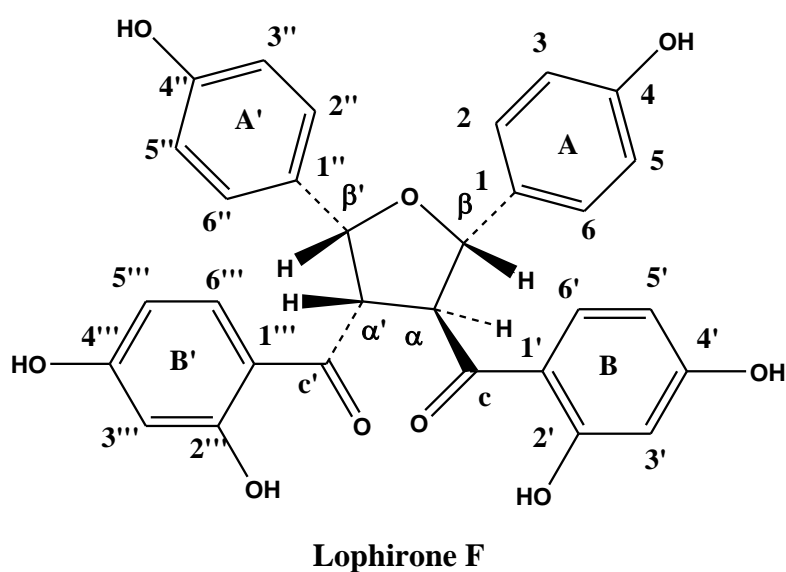
Spectre de masse (ESI): 533,3 $[M+Na]^+$; (calcd. 533,1).

Formule brute : $C_{30}H_{22}O_8$

IR (KBr) ν_{max} : 3300, 1697 1659,1629, 1513 et 1234 cm^{-1} .

RMN 1H (500MHz) et ^{13}C (125 MHz) dans $DMSO-d_6$: Tableau 14

7 CZ5



Aspect physique: poudre blanche

Solubilité: MeOH

Test positif : Neu

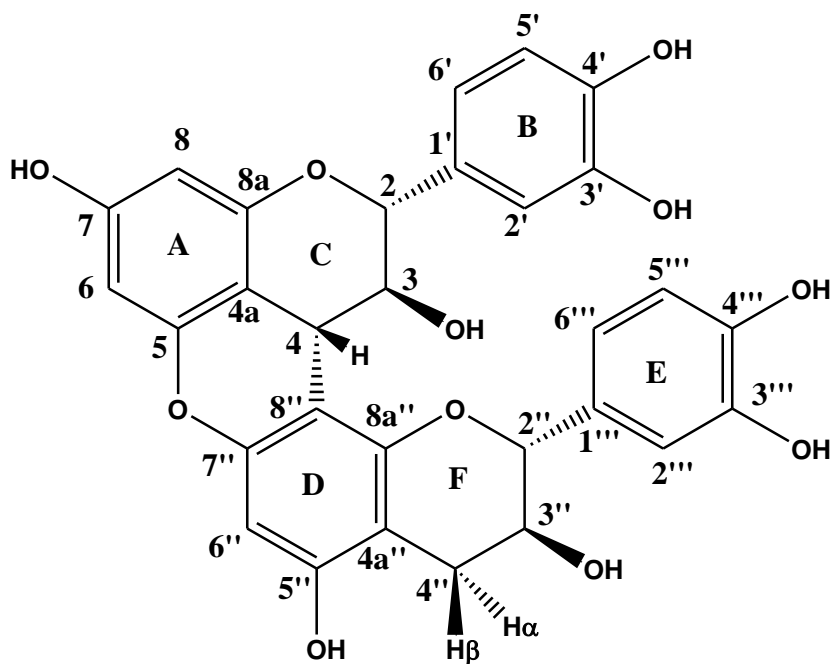
Spectre de masse (ESI): $[M+Na+2H]^+$ à m/z 553,3 (calc. 553,2)

Formule brute : $C_{30}H_{24}O_9$

IR (KBr) ν_{max} : 3370, 1620, 1518, 1451, 1362, 1231, 1172, 1139, 834. cm^{-1}

RMN 1H (500 MHz) et ^{13}C (125 MHz) dans $DMSO-d_6$: Tableau 15

8 **CZ6A**



Dihydrozenkerinol

Aspect physique: cristaux orange

Solubilité: méthanol

Test positif : Neu

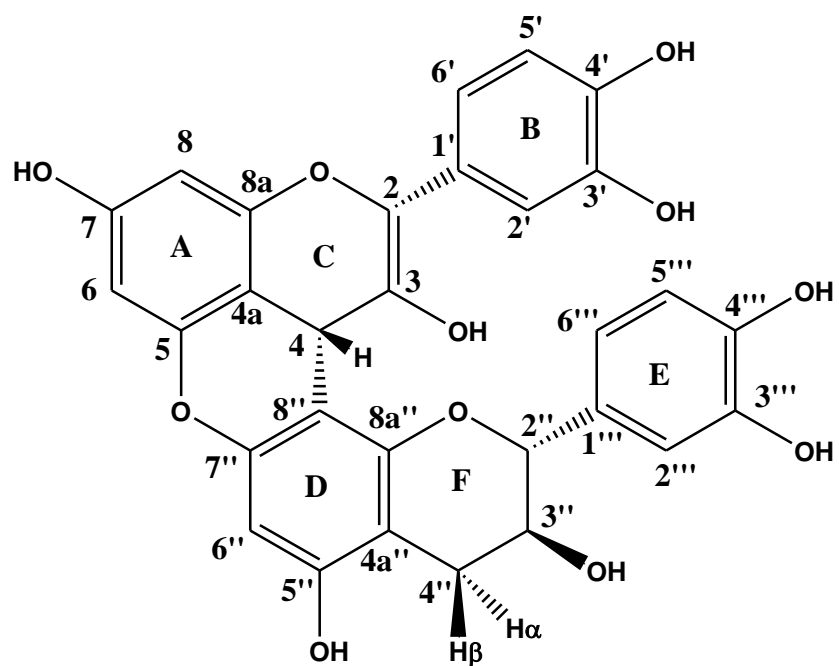
Spectre de masse (ESI): $[M-H]^-$ à m/z 557,1089 ; (calcd. 557,1084)

Spectre de masse (ESI): $[M-H]^-$ à m/z 559,1150 (calcd. 559,1147)

Formule brute : $C_{30}H_{24}O_{11}$

RMN 1H (500 MHz) et ^{13}C (125 MHz) dans $DMSO-d_6$: Tableau 16

9 **CZ6B**



Zenkerinol

Aspect physique: poudre orange

Solubilité: Méthanol

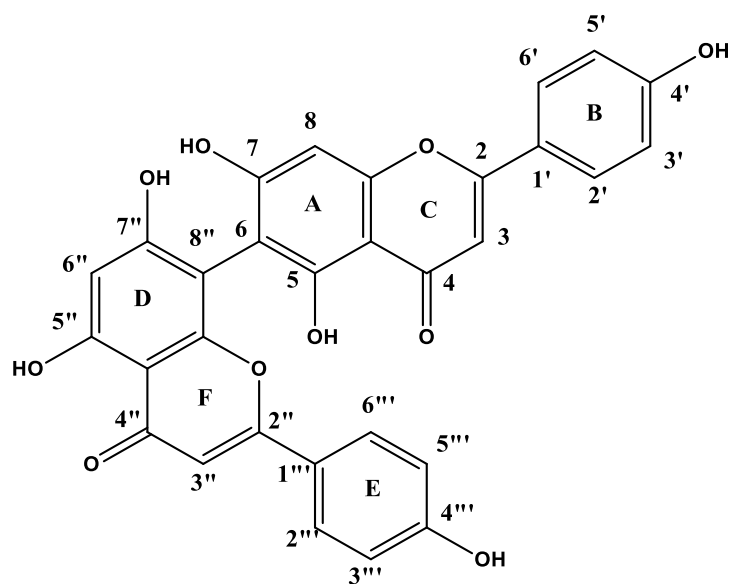
Test positif : Neu

Spectre de masse (ESI): $[M-H]^-$ à m/z 557,1089 ; (calcd. 557,1084)

Formule brute : $C_{30}H_{22}O_{11}$

IR (KBr) ν_{\max} : 3267 ; 2923 ; 1512 ; 1159 cm^{-1}

RMN 1H (500 MHz) et ^{13}C (125 MHz) dans $DMSO-d_6$: Tableau 16



Agathisflavone

Aspect physique: poudre jaune

Solubilité: méthanol

Test positif : Neu

Point de fusion: 257-258°C

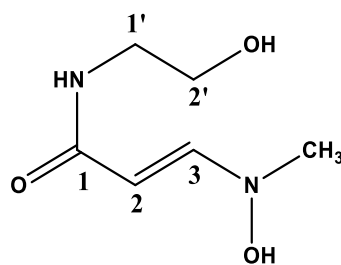
Spectre de masse (ESI): $[M-H]^-$ à m/z 537,3 (calc. 537,1)

Formule brute : $C_{30}H_{18}O_{10}$

IR (KBr) ν_{\max} : 3077 ; 1645 ; 1600 ; 1505 ; 1092 cm^{-1} .

RMN 1H (500 MHz) et ^{13}C (125 MHz) dans $DMSO-d_6$: Tableau 17

COMPOSES ISOLEES DE *C. VOGELII* (RACINES)



Campylospermine

Aspect physique: poudre jaune

Solubilité: MeOH

Test positif : Mayer

Point de fusion: 209-212°C

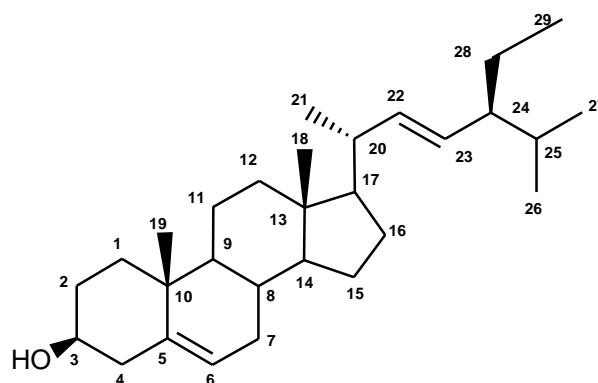
EI-MS : $[M^+]$ à m/z 160, (calc.160,1)

Formule brute : $C_6H_{12}O_3N_2$

IR (KBr) ν_{max} (cm^{-1}): 3398, 1678, 1639

RMN 1H (400 MHz) et ^{13}C (100 MHz) dans $DMSO-d_6$: Tableau 23

12 CV3



Stigmastérol

Aspect physique: solide blanc

Solubilité: MeOH

Test positif : Libermann Buchardt.

Point de fusion: 174-176°C

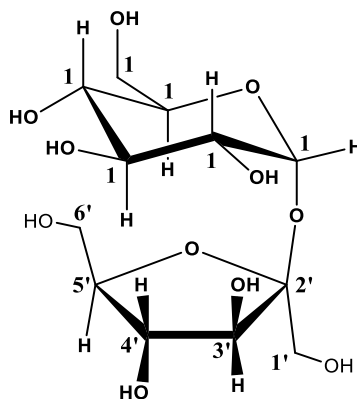
Spectre de masse (ESI): $[M+H]^+$ à m/z 413,0 (calc.413,1)

Formule brute : $C_{29}H_{48}O$

IR (KBr) ν_{max} : 3476, 2944, 1646, 1556, 1370, 1214, 1168, 1114, 1062, 894 cm^{-1}

RMN 1H (300 MHz) et ^{13}C (75 MHz) dans $Acétone-d_6$: Tableau 24

13 CV5



β -D-fructofuranosyl- α -D-glucopyranoside

Aspect physique: solide blanc

Solubilité: MeOH

Test positif : FeCl₃

Point de fusion: 160-161°C

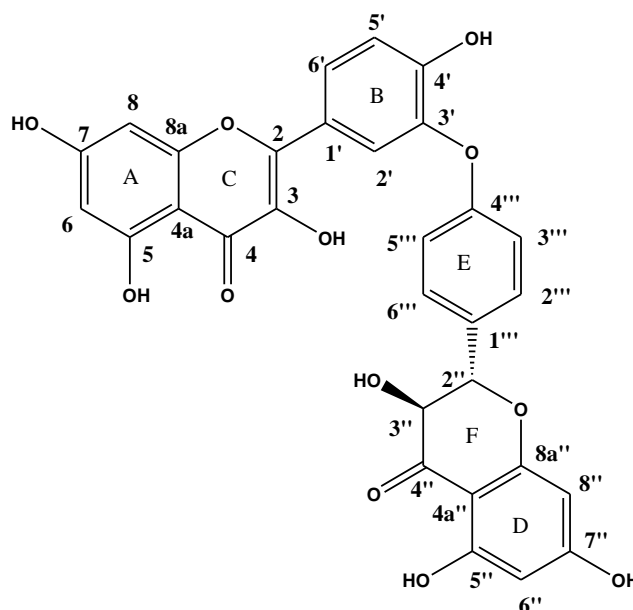
Spectre de masse LC-MS : [M+H]⁺ m/z = 343,0 (calc. 343,1)

Formule brute : C₁₂H₂₂O₁₁

IR (KBr) ν_{\max} : 3545 ; 3196 ; 1100 ; 900 cm⁻¹

RMN ¹H (300MHz) et ¹³C (75 MHz) dans CD₃OD: Tableau 25

14 CV6



***trans*-3-hydroxyapigenyl-3'-O-4'''-dihydrokampférol**

Aspect physique: solide jaune

Solubilité: MeOH

Test positif : Neu

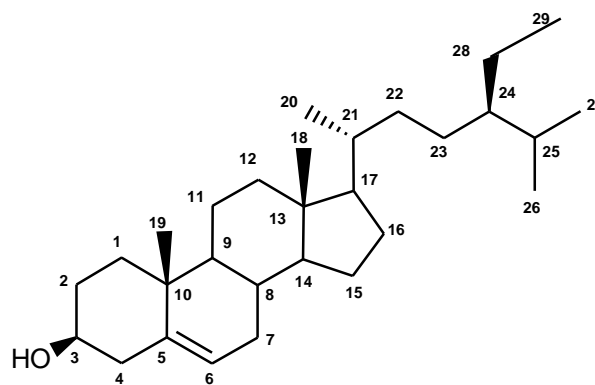
SM : HR-MS [M-H]⁻ à m/z : 573,1211 (calc. 573,1595)

Formule brute : C₃₀H₂₂O₁₂

RMN ¹H (500 MHz) et ¹³C (125 MHz) dans DMSO-*d*₆: Tableau 26

COMPOSES ISOLES DE *C. VOGELII* (TIGES)

15 CVT2



***β*-sitosterol**

Aspect physique: poudre blanche

Solubilité: MeOH

Test positif : Libermann-Buchard

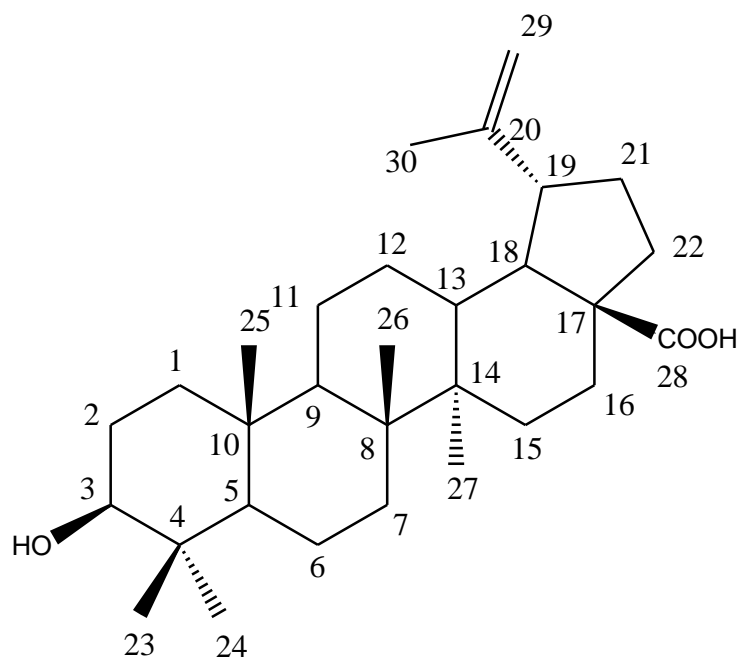
Point de fusion: 134-136 °C

EI-MS [M]⁺ m/z = 414,4 (calc. 414,5)

Formule brute : C₂₉H₅₀O

IR (KBr) ν_{\max} (cm⁻¹): 3400 cm, 2899cm, 1679, 1460, 1041

RMN ¹H (500 MHz) et ¹³C (125 MHz) dans DMSO-*d*₆: Tableau 27



Acide bétulinique

Aspect physique: poudre blanche

Solubilité: MeOH

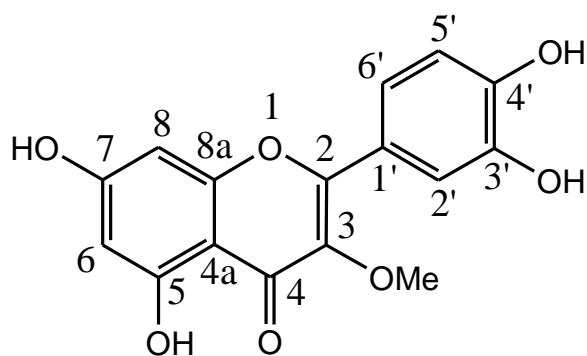
Test positif : Libermann-Buchard

Point de fusion: 316-318 °C

SM : LC-MS $[M-H]^-$ $m/z = 455,3533$ (calc. 455,3535)

Formule brute : $C_{30}H_{48}O_3$

RMN 1H (500 MHz) et ^{13}C (125 MHz) dans DMSO- d_6 : Tableau 28



3-O-methylquercetine

Aspect physique: cristaux jaunes

Solubilité: MeOH

Test positif : Shinoda

Point de fusion: 256-257°C

Spectre de masse (ESI): $[M-H]^-$ $m/z = 315,0$ (calculé 315,1)

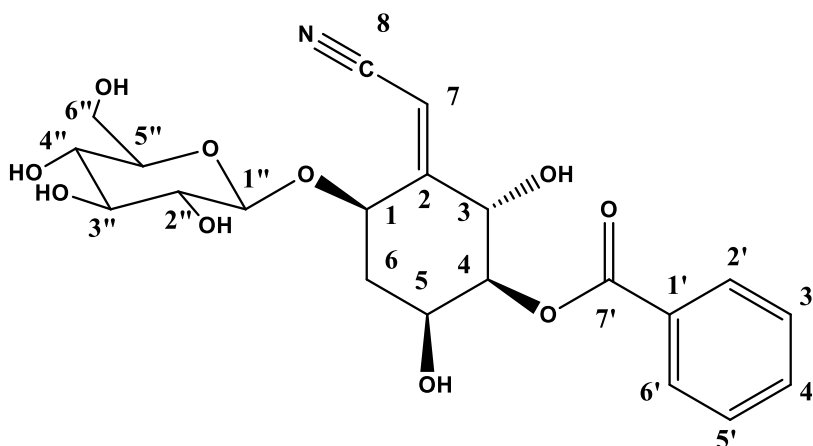
Formule brute : $C_{16}H_{12}O_7$

UV (MeOH) λ_{max} (log ϵ): 256, 364

RMN 1H (300 MHz) et ^{13}C (75 MHz) dans DMSO- d_6 : Tableau 29

COMPOSES ISOLES DE *C. DYBOWSKII* (FEUILLES)

18 CD3



Lanceolin C

Aspect physique: solide blanc

Solubilité: MeOH

Point de fusion: 297-299°C

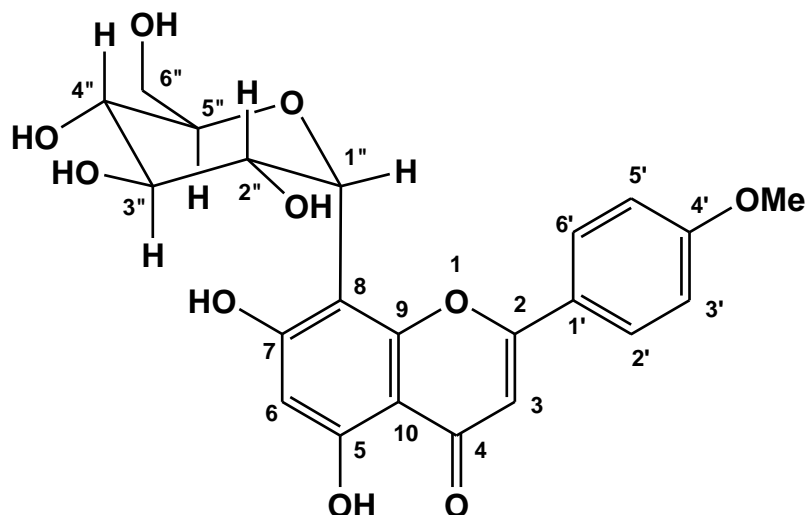
HR-ESI: $[M+H]^+$ $m/z = 452.1534$ (calc. 452,1557)

Formule brute : $C_{21}H_{25}O_{10}N$

IR (KBr) ν_{max} : 3320 ; 2215 ; 1718, 1623, 1602 cm^{-1}

RMN 1H (400 MHz) et ^{13}C (100 MHz) dans DMSO- d_6 : Tableau 18

19 CD4



4'-O-methylvitexine

Aspect physique: cristaux jaunes

Solubilité: MeOH

Test positif : Shinoda

Point de fusion: 180-182°C.

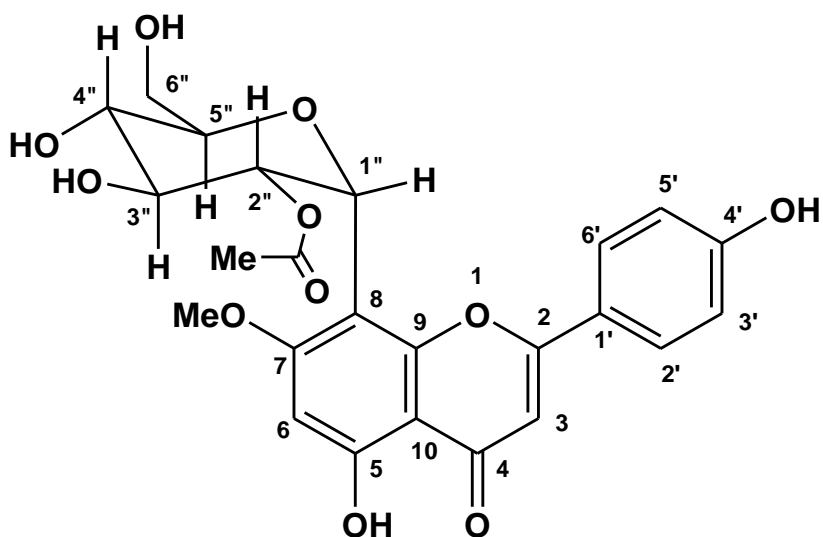
EI-MS : $[M]^+$ à m/z : 446,0 (calc. 446.1)

Formule brute : $C_{22}H_{22}O_{10}$

IR (KBr) ν_{\max} : 3305 ; 1705 ; 1607 cm^{-1}

RMN 1H (400MHz) et ^{13}C (100 MHz) dans $DMSO-d_6$: Tableau 19

20 CD5



2''-O-acetyl-7-O-methylvitexine

Aspect physique: cristaux jaunes

Solvant de solubilité: MeOH

Test positif : shinoda

Point de fusion: 180-182°C

Spectre de masse (EI): $[M]^+$ à m/z : 488,0 (calc. 488,2)

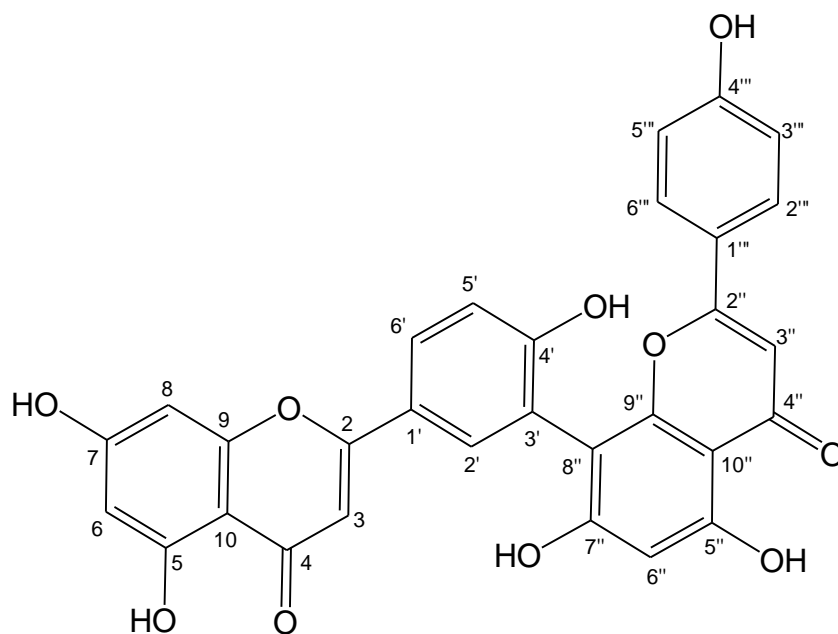
Formule brute : $C_{24}H_{24}O_{11}$

UV (MeOH) λ_{max} (log ϵ): 266, 298, 333

IR (KBr) ν_{max} : 3400, 1745, 1655 cm^{-1}

RMN 1H (400MHz) et ^{13}C (100 MHz) dans DMSO- d_6 : Tableau 20

21 **CD6**



Amenthoflavone

Aspect physique: solide jaune

Solubilité: méthanol

Test positif : Neu

Point de fusion: 253-254°C

HR-ESI : $[M+H]^+$ à m/z 539,0969 (calc. 539,0978)

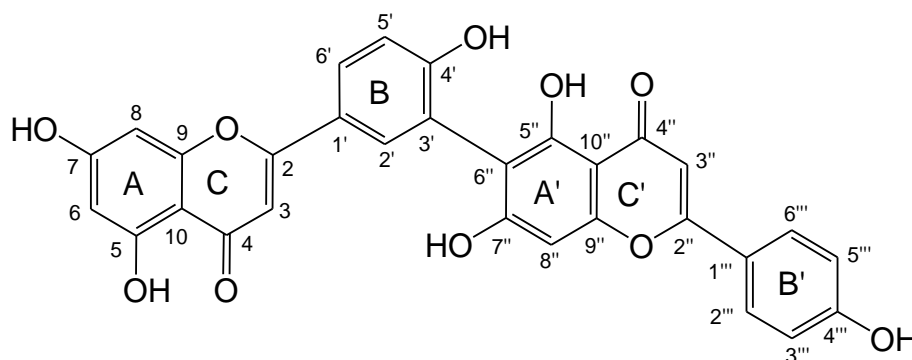
Formule brute : $C_{30}H_{18}O_{10}$

UV (MeOH) λ_{max} : 223 ; 320

IR (KBr) ν_{max} : 3318, 1682, 1628, 1508

RMN 1H (400MHz) et ^{13}C (100 MHz) dans $DMSO-d_6$: Tableau 21

22 **CD7**



Robustaflavone

Aspect physique: solide jaune

Solubilité: MeOH

Test positif : Neu

Point de fusion: 350-352°C

HR-ESI: $[M+H]^+$, à m/z 539,0970, (calc. 539.0978)

Formule brute : $C_{30}H_{18}O_{10}$

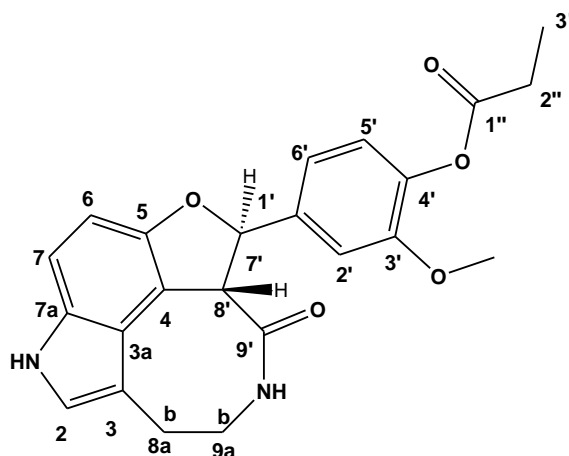
UV (MeOH) λ_{max} : 223 , 320

IR (KBr) ν_{max} : 3250; 1650

RMN 1H (400 MHz) et ^{13}C (100 MHz) dans $DMSO-d_6$: Tableau 22

COMPOSES D'HEMISYNTHESE

23 CZ2A



Serotobenine monopropionate

Aspect physique: solide blanc

Solubilité: acétone

Test positif : test de Mayer

Point de fusion: 250-252°C

ESI-MS: $[M-H]^-$ à m/z 405.2 (calcd. 405.1).

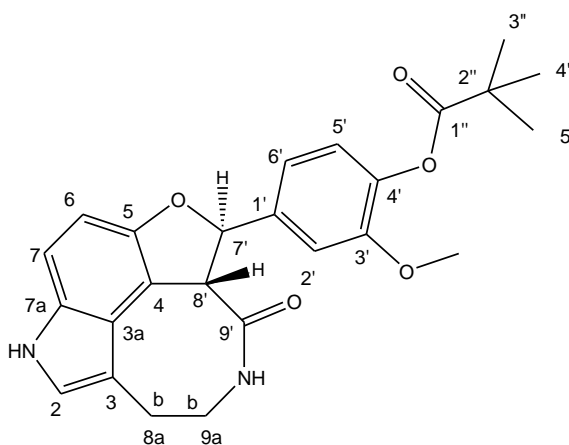
Formule brute : $C_{23}H_{22}N_2O_5$

UV (MeOH) λ_{max} (log ϵ): 203, 279 et 310 nm

IR (KBr) ν_{max} : 3333, 1187, 1755, 1659 cm^{-1}

RMN 1H (500 MHz) et ^{13}C (125 MHz) dans DMSO- d_6 : Tableau 30

24 CZ2B



Serotobenine monopivalate

Aspect physique: solide blanc

Solubilité: acétone

Test positif : test de Mayer

Point de fusion: 269-272°C

ESI-MS: $[M-H]^-$ à m/z : 433,5 (calcd. 433,2)

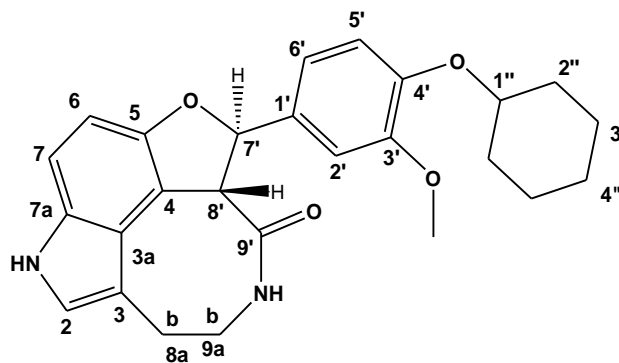
Formule brute : $C_{25}H_{26}N_2O_5$

UV (MeOH) λ_{max} (log ϵ) : 203 ; 279 ; 310 nm

IR (KBr) ν_{max} : 3427 ; 1738 ; 1157; 1669 cm^{-1} .

RMN 1H (500MHz) et ^{13}C (125 MHz) dans $DMSO-d_6$: Tableau 31

25 **CZ2C**



4'-O-cyclohexylserotobenine

Aspect physique: solide blanc

Solubilité: Méthanol

Test positif : test de Mayer

Spectre de masse (ESI): $[M+Na]^+$ à m/z 455.32 (calc. 455.30).

Formule brute : $C_{26}H_{28}N_2O_4$

RMN 1H (500 MHz) et ^{13}C (100 MHz) dans $DMSO-d_6$: Tableau 32



REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

Abdul A. M., Amir H. K., Muhammad A., Izatullah I. **2017**. Traditional uses of medicinal plants reported by the indigenous communities and local herbal practitioners of Bajaur Agency, Federally Administrated Tribal Areas. *Pakistan Journal of Ethnopharmacology*. 198: 268–281.

Abouem Z. A., Ngonon B. D., Atchadé A. T., Ngo Mbing J., Gangoue-Pieboji J., Ghogomu T. R., Blond A., Pegnyemb D. E., Bodo B. **2008**. Nitrile glucosides and serotobenine from *Campylosperrum glaucum* and *Ouratea turnarea*. *Phytochemistry*. 69: 2209–2213.

Arnot D., Cavanagh D., Remarque E., Creasey A., Sowa M., Morgan W., Holder A., Longacre S., Thomas A. **2008**. Comparative testing of six antigen-based malaria vaccine candidates directed toward merozoite-stage *Plasmodium falciparum*. *Clinical and Vaccine Immunology*. 15:1345–1355.

Ayad R. **2008**. Recherche et Détermination structurale des métabolites secondaires de l'espèce *Zygophyllum cornutum* (zygophyllaceae). Mémoire de Magister en Chimie Organique Option Phytochimie. Université Mentouri de Constantine. 124 pages.

Badiaga M. **2011**. Etude ethnobotanique, phytochimique et activités biologiques de *Nuclea Latilolia* Smith, Une plante médicinale Africaine récoltée au Mali. Thèse (Cotutelle) Doctorat Chimie Organique. Université de Bamako/Université Blaise Pascal de Clermont-Ferrand. 183 pages.

Basco L., Mitaku S., Skaltsounis A. L., Ravelomanantsoa N., Tillequin R., Koch M., Le Bras J. **1994**. *In vitro* activities of furoquinoline and acridone alkaloids against *Plasmodium falciparum*. *Antimicrobial Agents Chemotherapy*. 38 (5). 1169– 1171.

Bayiha Ba N. G., Bartholomeusz T. A.; Ngonon Bikobo D.; Foroozandeh M.; Shivapurkar R.; Christen P.; Pegnyemb D. E.; Jeannerat D. **2013**. Structure and Dynamic of Three Indole Alkaloids from the *Campylosperrum* Genus (Ochnaceae). *Helvetica Chimica Acta*. 96 : 7. 1.

Bayiha Ba N. G., Grougnet R., Efstathiou A., Despina A., Genta-Jouve G., Michel S., Ngo Mbing J., Kritsanida M. **2017**. A nitrile glucoside and biflavones from the leaves of *Campylosperrum excavatum* (Ochnaceae). *Chemistry and biodiversity*. 14: (11).

Bero J., Frédéricich M., Quetin-Leclercq J. **2009**. Antimalarial compounds isolated from plants used in traditional medicine. *Journal of Pharmacy and Pharmacology*. 61: 1401–1433.

Bissiengou P. **2014**. Systematics, evolution and historical biogeography of the family Ochnaceae with emphasis on the genus *Campylospermum*. Thèse de Doctorat, Université de Wageningen-Belgique. 213 pages.

Bissiengou P., Chatrou L.W., Wieringa J.J., Sosef M.S.M. **2013**. Taxonomic novelties in the genus *Campylospermum* (Ochnaceae). *Blumea*. 58: 1–7.

Bouquet A. **1969**. Féticheurs et médecine traditionnelle du Congo (Brazzaville). *O.R.S.T.O.M., Paris*. 177-178.

Brahim H. **2011**. Valorisation et identification structurale des principes actifs de la plante de la famille asteraceae: *scorzonera undulata*. Thèse de Doctorat, Chimie Organique ; Mentouri-Constantine. 145 pages.

Cádiz-Gurrea M. L., Fernández-Arroyo S., Segura-Carretero A. **2014**. Pine bark and green tea concentrated extracts: antioxidant activity and comprehensive characterization of bioactive compounds by HPLC–ESI-QTOF-MS. *International Journal of Molecular Sciences*. 15: 20382–20402.

Chang M. H., Wang G. J., Kuo Y. H., Lee C. K. **2000**. The Low Polar Constituents from *Bidens Pilosa* L. var. *Minor* (Blume) Sherff. *Journal of the Chinese Chemical Society*. 47: 1131-1136.

Chaturvedula V. S. P., Prakash I. **2012**. Isolation of Stigmasterol and β -Sitosterol from the dichloromethane extract of *Rubus suavissimus*. *International Current Pharmaceutical Journal*. 1(9): 239-242.

Cheesbrough M. **1987**. Medical laboratory manual for tropical countries. Second edition. Cambridge University Press, Cambridge, Great Britain. 1; 605 pages.

Coates P. M. **2002**. Trees of southern Africa. Struik Publishers, Struik, South Africa. 3^e édition. 1000 pages.

Cronquist, A. **1981**. An Integrated System of Classification of Flowering Plants. *Columbia University Press*. New York. 248-250.

Kavtaradze N., Alaniya M., Masullo M., Cerulli A., and piacente S. **2020**. New flavone glycosides from *Astragalus tanae* endemic to Georgia. *Chemistry of Natural Compounds*. vol. 1(56).

Doucouré A., Garcia J, Koné,D., A. K. Aliou et J. N. Keïta. **2010**. Isolement de la 3-O-méthylquercétine des fleurs de *Vernonia galamensis* (Cass.) Less. *Journal de la Société Ouest-Africaine de Chimie*. 30 : 93 – 102.

El Gharras H. **2009**. Polyphenols: Food sources, properties and applications - A review. *International Journal of Food Science and Technology*. 44 (12): 2512-2518.

Elo Manga S. S., Tih A. E., Bintou A., Ghogomu R. T., Blond A., Bodo B. **2012**. Flavonoid Glycosides and their *p*-Coumaroyl Esters from *Campylospermum calanthum* leaves. *Zeitschrift fur Naturforschung C*. 67: 5-6.

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

Elo Manga S. S., Tih A.E., Ghogomu R.T., Blond A., Bodo B. **2016**. Chemical constituents of the leaves of *Campylospermum elongatum*. *Zeitschrift fur Naturforsch C*. 72 (1). 71 - 75.

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 : (1).

Farron, **1965**. In: Bulletin du Jardin Botanique de l'Etat à Bruxelles. *Botanic Garden Meise*. 35: 404 pages

Fensterbank L., Jullien L. **2007**. Document d'accompagnement de chimie organique. Université Pierre et Marie Curie PCEM 1. 171 pages.

Frederich M. **2018**. L'ethnopharmacologie, à l'origine de nombreux médicaments : recherches dans le domaine des antipaludiques. <http://hdl.handle.net/2268/232454>.

Gangoué-Piéboji J., Eze, Ngongang Djintchui A., Ngameni B., Tsabang N., Pegnyemb D.E., Biyiti B., Ngassam P., Koulla-Shiro S., Galleni M. **2009**. The *in-vitro* antimicrobial activity of some traditionally used medicinal plants against *beta-lactam*-resistant bacteria. *Journal of Infection in Developing Countries*. 3(9): 671-680.

Garcia P. A., Oliveira A. B. D., Batista R. **2007**. Occurrence, Biological Activities and Synthesis of kaurane diterpenes and their glycosides. *Molecule*. 12. 455-483.

Gbenoudon S. S. J., Padonou G. G., Azonvide, Kouakanou, Sina H. , Degbelo J., Deh-Tchokpon J., Walther M., Baba-Moussa, Nwakanma D. **2016**. Mutations conférant la résistance

aux antipaludiques chez les enfants en crise du paludisme au benin : implication sur la reponse immunitaire. *Journal de la Recherche Scientifique de l'Université de Lomé (Togo)*. 18 (4) : 217-225

Gentillini M., Caumes E., Duflo B. (1993): médecine tropicale, *médecine-sciences. Flammarion. Paris*. 5. 928 pages.

Ghogomu R., Sondengam B.L., Martin M.T. and Bodo B. 1987. Lophirone A, a biflavonoid with unusual skeleton from *lophira lanceolata*. *Tetrahedron letters*. 28: 2967-2968.

Ghogomu T. R., Sondengam B.L., Martin M.T., Bodo B. 1990, Structure of the chalcone dimers Lophirone F, G and H from *Lophira lanceolata* stem bark. *Phytochemistry*. 29 (7) : 2289-2293.

Jonville, M.C., Kodja, H., Humeau, L., Fournel J., De Mol P., Cao M., Angenot L., Frederich M. 2008. Screening of medicinal plants from Reunion Island for antimalarial and cytotoxic activity. *Journal of Ethnopharmacology* 120 (3), 382–386.

Kaur K., Jain M., Kaur T., Jain R. 2009. Antimalarials from nature, review. *Bioorganic and Medicinal Chemistry* 17(9) : 3229-56

Kerber V.A, Gregianini T.S., Paranhos A.T.J., Schwambach J.L., Farias F., Fett J.P., Fett-Neto A.G., Zuanazzi J.A.S., Quirion J.C., Elizabetsky E., Henriques A.T. 2001. Brachycerine, a Novel Monoterpene Indole Alkaloid from *Psychotria brachyceras*. *Journal of Natural Products*. 64, 677-679.

Khatun M., Billah M., Quader A. 2012. Sterols and sterol glucoside from *Phyllanthus* Species. *Dhaka University Journal of Science*. 60(1): 5-10.

Klika K.D., Ricarte I., Salles Trevisan M.T., Vasconcelos Silva M. G. D., Owen R. W. 2015. (2R, 3S, 4S, 2''R,3''S)-Guibourtinidol-(4 α →8)-catechin, a biflavonoid procyanidin of the proguibourtinidin group from *Senna macranthera*: its relative stereochemistry and conformation. *Tetrahedron*. 26 : 247-250.

Kumamoto H., Matsubara Y., Iizuka Y., Okamoto K., Katsumi. 1985. Structure and Hypotensive Effect of Flavonoid Glycosides in Kinkan (*Fortunella japonica*) Peelings, *Agricultural and Biological Chemistry*, 49 (9): 2613-2618.

Lakoud S. G., Djerourou A. **2016**. Esterification and etherification of steroid and terpene under Mitsunobu conditions. *Arabian Journal of Chemistry*. 9, 889–892.

Mabberley D. J. **2008**. Mabberley's Plant-Book. A portable dictionary of plants, their classification and uses. *Cambridge University Press. Cambridge*. 1021 pages.

Makler M., Ries J., Williams J., Bancroft J., Piper R., Gibbins B., Hinrichs DJ. **1993**. Parasite lactate dehydrogenase as an assay for *Plasmodium falciparum* drug sensitivity. *The American Journal of Tropical Medicine and Hygiene*. 48 (6), 739–741.

Malan E. M., Swinny E., Ferreirat D., Steynberg P. **1996**. The structure and synthesis of proguibourtinidins from *Cassia abbreviata*. *Phytochemistry*. 41, 1209 –1213.

Manivel P., Rai N. P., Puttaramegowda V. Jayashankara, Arunachalam P. N. **2007**. Base catalyzed Mitsunobu reactions as a tool for the synthesis of aryl sec-alkyl ethers. *Tetrahedron Letters*. 48, 2701–2705.

Mauro N. M. **2006**. Synthèse d'alcaloïdes biologiquement actifs : la (+)-anatoxine-a et la (±)-camptothécine. Thèse Doctorat, Université Joseph Fourier – Grenoble I. 195 Pages.

Mbabi Nyemeck II N., Ngonzo Bikobo D. S., Abouem Z. A., Schäfer E. M., Bochet C., Pegnyemb D. E. , Koert U. **2017**. A new procyanidin B from *Campylospermum zenkeri* (Ochnaceae) and antiplasmodial activity of two derivatives of (±)-serotobenine. *Natural Product Research*. 31 (24), 2875-2884.

Mbabi Nyemeck II N., Ngonzo Bikobo D.S., Abouem A Zintchem A., Betote Diboué P. H., Lenta Ndjakou B., Pegnyemb D.E., Koert U. **2018**. Phytochemical investigation and *in vitro* antimalarial activities of stem barks of *Campylospermum zenkeri* and roots of *Campylospermum vogelii*. *Journal of Pharmacy Research*. 12 (5). 689-696.

Mbithi J. M. **2015**. Phytochemical and antimicrobial investigation of *Ochna thomasiana* (engl. & gilg). Master of Science Thesis. School of pure and applied sciences-kenyatta university. 134 pages.

Mello D. J. C. P., Petereit F., Nahrstedt A. **1999**. A dimeric proanthocyanidin from *Stryphnodendron adstringens*. *Phytochemistry*. 51. 1105-1107.

Messanga B. B.; Ghogomu R.; Sondengam B. L., Blond A.; Bodo B. **1998**. Lanceolin C, a new nitrile glycoside from *Lophira alata*. *Fitoterapia*. 69. 439-442.

Muhammad D. **2013**. Etude phytochimique et biologique des trois *alphitonia (rhamnaceae)* endemiques à la Nouvelle-Calédonie. Thèse de Doctorat, Université de Reims Champagne-Ardenne. 318 pages.

N'guessan K., Kadja B., Zirihi G. N., Traoré D., Aké-Assi L. **2009**. Screening phytochimique de , quelques plantes médicinales ivoiriennes utilisées en pays Krobou (Agboville, Côte-d'Ivoire). *Sciences et Nature*. 6. 1-5.

Ndiaye D., Mbaye D., Gassama A., Lavaud C., Pilard S. **2017**. Détermination structurale de triterpénoïdes isolés des feuilles de *Combretum glutinosum* Perr. Ex DC (Combretaceae) ; *The International Journal of Biological and Chemical Sciences*. 11 (1). 488-498.

Ndongo J. T., Issa M. E., Messi A. N., Ngo Mbing J. Cuendet M., Pegnyemb D. E., Bochet C. G. **2015**. Cytotoxic flavonoids and other constituents from the stem bark of *Ochna schweinfurthiana*. *Natural Product Research*. 29 (17). 1-4.

Ndongo J. T., Mbing J. N., Bikobo D. N., Atchadé A. T., Shaaban M., Pegnyemb D.E., Laatsch H. **2013**. A New C Glucosylflavone from *Sorindeia juglandifolia*. *Zeitschrift fur Naturforsch.* C. 68. 169-174.

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

Ngonon Bikobo D. S., Abouem Z. A, Mbabi Nyemeck II N., Atchadé A. T., Bayiha Ba N. G., Mosset P., Pegnyemb D. E. **2015**. Secondary metabolites from *Campylospermum oliverianum* (Farron), *Campylospermum glaucum* (Tiegh) and *Campylospermum dybowski* (Van Tiegh). *International Journal of Pharmacognosy and phytochemical Research*. 7(1). 119-127.

Ngonon Bikobo D. S., Nkot J. L., Mosset P., Atchadé A. T., Ndongo J. T., Pemha R., Pegnyemb D E. **2011**. Acylsteryl glycosides and other constituents from *Campylospermum densiflorum* (Ochnaceae). *Rasayan Journal of Chemistry*. 4(4), 753-763.

Ngonon Bikobo D.S., Mosset P., Abouem A Zintchem A., Atchadé A.T., Balemaken Missi M., Mbabi Nyemeck II N., Pegnyemb D. E. **2014**. Campylospermine, an *N*-Hydroxy-alkaloid from

the Leaves of *Campylospermum densiflorum* (Ochnaceae). *International Journal of Pharmacognosy and Phytochemical Research*. 6 (4). 719-728.

Nkondjio C. A., Ndo C., Njiokou F., Bigoga J. D., Awono-Ambene P., Etang J., Same Ekobo A., Wondji C.S. **2019**. Review of malaria situation in Cameroon: technical viewpoint on challenges and prospects for disease elimination. *Parasite Vectors*. 12. 501.

Ntie-Kang F., Likowo Lifongo L., Meva'a Mbaze L., Ekwelle Nnange, Owono Owono L. C., Megnassan E., Judson P., Sipp W., Efange S. M. N. **2013**. Cameroonian medicinal plants: a bioactivity versus ethnobotanical survey and chemotaxonomic classification. *Complementary and Alternative Medicine*. 13. 147.

O.M.S., **2014**. World Malaria Report. WHO Press. *Geneva*. 58-62.

Pages F., Orlandi-Pradines E., Corbel V. **2007**. Vecteurs du paludisme : biologie, diversité, contrôle et protection individuelle Vectors of malaria: biology, diversity, prevention, and individual protection. *Médecine et maladies infectieuses*. 37. 153-161.

Peyrat S. **2011**. Vers la synthèse de C-glycosyl aminoxy peptides et d'oligomères de nucléosides aminoxy acides. Thèse de Doctorat, Chimie. *E. N. S Cachan*. 292 pages.

Pink R., Hudson A., Mouries M., Bendig M. **2005**. Opportunities and challenges in antiparasitic drug discovery. *Nature Reviews Drug Discovery*. 4 (9). 727-740.

Ragab E. A., Mohammed A. E. S. I., Abbass H. S., Kot S. I. **2013**. A new flavan-3-ol dimer from *Ficus spragueana* leaves and its cytotoxic activity. *Pharmacognosy Magazine*. 9. 144-148.

Sato H., Kawagishi H., Nishimura T., Yoneyama S., Yoshimoto Y., Sakamura S., Furusaki A., Katsuragi S., Matsumoto T. **1985**. Serotobenine, a Novel Phenolic Amide From Safflower Seeds. *Agricultural and Biological Chemistry*. 49 (10). 2969-2974.

Schneider J. V, Bissiengou P., Amaral M. C. E., Tahir A., Fay M. F., Thines M., Sosef M. S. M., Zizka G., Chatrou L. W. **2014**. Phylogenetics, ancestral state reconstruction, and a new infrafamilial classification of the pantropical Ochnaceae (Medusagynaceae, Ochnaceae s.str., Quinaceae) based on five DNA regions. *Molecular Phylogenetics and Evolution*. 78. 199-214.

Shen C. C., Chang Y. S., Ho L. K. **1993**. Nuclear magnetic resonance studies of 5,7-dihydroxyflavonoids. *Phytochemistry*. 34. 843–845.

Sievers H., Burkhardt G., Becker H., Zinsmeiskr H.D. **1992**. Hypnogenols and other dihydroflavonols from the moss *Hypnum cupressiforme*. *Phytochemistry*. 31 (9). 3233 -3237.

Smilkstein M, Sriwilaijaroen N, Kelly JX, Wilairat P, Riscoe M. **2004**. Simple and inexpensive fluorescence-based technique for high-throughput antimalarial drug screening. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*. 48. 1803–1806.

Sosef M. S. M. **2008**. Révision du genre africain *Rhabdophyllum* Tiegh. (Ochnaceae), avec sa distribution au Cameroun et au Gabon. *Adansonia*. 30 (1). 119-135.

Talkmore N., Charlotte I. E. A., Klooster V., Joop T. V. M., Jong D., Jan H., Westhuizen V. **2015**. Medicinal plants used by traditional healers for the treatment of malaria in the Chipinge district in Zimbabwe. *Journal of Ethnopharmacology*. 159. 224–237.

Taniguchi S, Kuroda K, Yoshikado N, Doi K I, Tanabe M, Shibata T, Yoshida, T, Hatano T. **2007**. New dimeric flavans from *Gambir*, an extract of *Uncaria Gambir*. *Heterocycles*. 74. 595-605.

Tasaka K., Akagi M., Miyoshi K., Mio M., Makino T., **1998**. Anti-allergic constituents in the culture medium of *Ganoderma lucidum*. Inhibitory effect of oleic acid on histamine release. *Agents Actions* 23: 153–156.

Trager W., Jensen J. B. **1976**. Human malaria parasites in continuous culture. *Science*. 193. 673–675.

Vetter J. **2000**. Plant cyanogenic glycosides. *Toxicon*. 38. 11-36.

Wang C. M., Hsu Y. M., Jhan Y. L., Tsai S. J., Lin S. X., Su S. H., Chou C. H. **2015**. Structure elucidation of procyanidins isolated from *rhododendron formosanum* and their anti-oxidative and anti-bacterial activities. *Molecules*. 20. 12787-12803.

World malaria report. **2019**. Geneva: World Health Organization; **2019**. Licence: CC BY-NC-SA 3.0 IGO.

www.minsante.cm /site/?q=fr/content/paludisme consulté le 15 septembre 2019.

www.oms.int/mediacentre/factsheets/fs094/en/ accès le 20 Novembre 2019.

www.wikipedia.org/wiki/Paludisme#Cycle_parasitaire consulté le 10 septembre **2019**.

Yamamori A., Takata Y., Fukushi E., Kawabata J., Okada H., Kawazoe Naoki, Ueno K., Onodera S., Shiomi N. **2017**. Structural analysis of novel Low-Digestible Sucrose Isomers synthesized from D-Glucose and D-Fructose by Thermal Treatment. *Journal of Applied Glycoscience*. 64. 15-19.

Zhang Hongjie, Qiu Shengxiang, Tamez Pamela, Tan Ghee Teng, Aydogmus Zeynep, Hung Nguyen Van, Cuong Nguyen Manh, Angerhofer Cindy, Soejarto D. Doel, Pezzuto John M. & Harry H.S. Fong. **2002**. Antimalarial Agents from Plants II. Decursivine, A New Antimalarial Indole Alkaloid from *Rhaphidophora decursiva*. *Pharmaceutical Biology*. 40 (3). 221-224.

Zheng J., Wang N., Fan M., Chen H., Liu H., Yao X. **2007**. A new biflavonoid from *Selaginella uncinata*. *Asian Journal of Traditional Medicines*. 2 (3). 92-97.

Ziegenbein F. C., Hanssen H. P., König W. A. **2006**. Secondary metabolites from *Ganoderma lucidum* and *Spongiporus leucomallellus*. *Phytochemistry*. 67. 202–211.



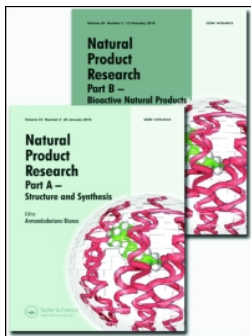
PUBLICATIONS

Publications tirées de cette thèse

Mbabi Nyemeck II N., Ngono Bikobo D. S., Abouem A Zintchem A., Betote Diboué P. H., Lenta Ndjakou B., Pegnyemb D. E., and Koert U. **2018**. Phytochemical investigation and *in vitro* antimalarial activities of stem barks of *Campylospermum zenkeri* and roots of *Campylospermum vogelii*. *Journal of Pharmacy Research*. 12. (5). 689-696.

Mbabi Nyemeck II N., Ngono Bikobo D. S., Abouem Z. A., Schäfer E. M., Bochet C., Pegnyemb D. E. , Koert U. **2017**. A new procyanidin B from *Campylospermum zenkeri* (Ochnaceae) and antiplasmodial activity of two derivatives of (\pm)-serotobenine. *Natural Product Research*. 31 (24). 2875-2884.

Ngono Bikobo D. S., Abouem Z. A, **Mbabi Nyemeck II N.**, Atchadé A. T., Bayiha Ba N. G., Mosset P., Pegnyemb D. E. **2015**. Secondary metabolites from *Campylospermum oliverianum* (Farron), *Campylospermum glaucum* (Tiegh) and *Campylospermum dybowski* (Van Tiegh). *International Journal of Phytochemistry and Pharmaceutical Research*. 7(1). 119-127.



Natural Product Research

Formerly Natural Product Letters

ISSN: 1478-6419 (Print) 1478-6427 (Online) Journal homepage: <http://www.tandfonline.com/loi/gnpl20>


A new procyanidin B from *Campylospermum zenkeri* (Ochnaceae) and antiplasmodial activity of two derivatives of (\pm)-serotobenine

Norbert Mbabi Nyemeck II, Dominique Serge Ngoni Bikobo, Auguste Abouem A Zintchem, Eva-Maria Schäfer, Christian Bochet, Dieudonné Emmanuel Pegnyemb & Ulrich Koert


To cite this article: Norbert Mbabi Nyemeck II, Dominique Serge Ngoni Bikobo, Auguste Abouem A Zintchem, Eva-Maria Schäfer, Christian Bochet, Dieudonné Emmanuel Pegnyemb & Ulrich Koert (2017) A new procyanidin B from *Campylospermum zenkeri* (Ochnaceae) and antiplasmodial activity of two derivatives of (\pm)-serotobenine, *Natural Product Research*, 31:24, 2875-2884, DOI: [10.1080/14786419.2017.1305378](https://doi.org/10.1080/14786419.2017.1305378)

To link to this article: <http://dx.doi.org/10.1080/14786419.2017.1305378>

 View supplementary material 

 Published online: 07 Apr 2017.

 Submit your article to this journal 

 Article views: 45

 View related articles 

 View Crossmark data 



A new procyanidin B from *Campylospermum zenkeri* (Ochnaceae) and antiplasmodial activity of two derivatives of (±)-serotobenine

Norbert Mbabi Nyemeck II^{a,c}, Dominique Serge Ngono Bikobo^a, Auguste Abouem A Zintchem^{a,b}, Eva-Maria Schäfer^d, Christian Bochet^e, Dieudonné Emmanuel Pegnyemb^a and Ulrich Koert^c

^aDepartment of Organic Chemistry, Faculty of Science, University of Yaoundé I, Yaoundé, Cameroon;

^bDepartment of Chemistry, Higher Training College, University of Yaoundé I, Yaoundé, Cameroon; ^cFaculty of Chemistry, Philipps-Universität Marburg, Marburg, Germany; ^dInstitut für pharmazeutische Chemie, Philipps-Universität Marburg, Marburg, Germany; ^eDepartment Chemie, Universität Fribourg, Fribourg, Switzerland

ABSTRACT

Phytochemical investigation of the stem bark of *Campylospermum zenkeri* led to the isolation of five known compounds: (Z,Z)-9,12-octadecadienoic acid (**1**), serotobenine (**2**), agathisflavone (**3**), lophirone A (**4**) and lophirone F (**5**), together with a new derivative of procyanidin B, a catechin dimer named zenkerinol (**6**). Serotobenine (**2**) is structurally related to decursivine which shows moderate activity against D6 and W2 strains of *Plasmodium falciparum*. For a better understanding of structure-activity relationships, three new semi-synthetic derivatives of serotobenine (**2**) have been prepared. These are: serotobenine monopropionate (**2a**), serotobenine monopivalate (**2b**) and serotobenine cyclohexyl ether (**2c**) respectively. Two of them (**2a**) and (**2b**), were evaluated for their antiplasmodial activity against *P. falciparum* 3D7 strain in a parasite lactate-dehydrogenase (pLDH) assay. Compound **2b** was more active than compound **2a** based on their IC₅₀ values (36.6 and 123 μM, respectively).


ARTICLE HISTORY


Received 7 October 2016

Accepted 5 March 2017

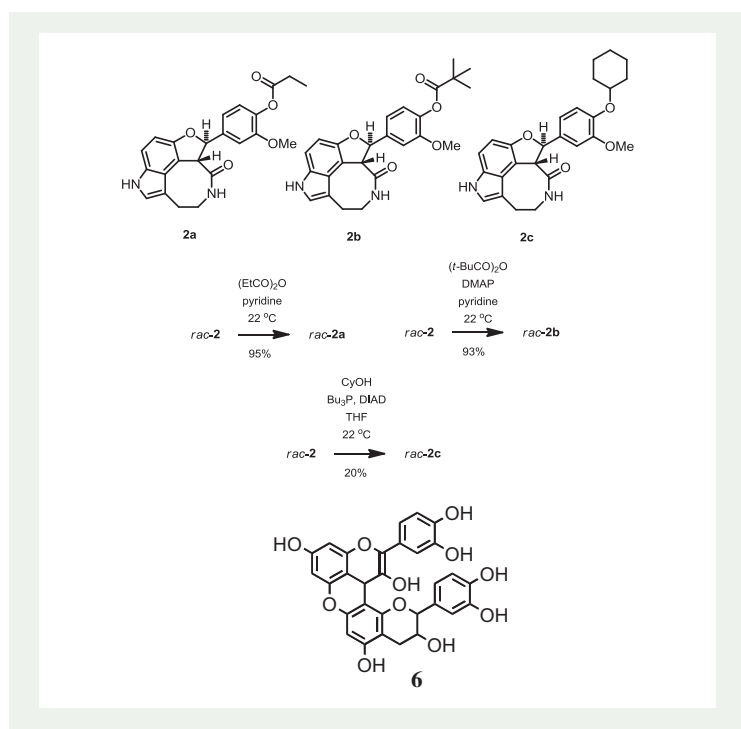
KEYWORDS

Campylospermum zenkeri; Ochnaceae; zenkerinol; flavonoids; serotobenine; hemisynthesis; antiplasmodial activity

CONTACT Dominique Serge Ngono Bikobo  ngono_serge@yahoo.fr

 Supplemental data for this article can be accessed at <http://dx.doi.org/10.1080/14786419.2017.1305378>.

© 2017 Informa UK Limited, trading as Taylor & Francis Group



1. Introduction

Malaria is the most prevalent disease in the world, killing about 1–2 million people each year. It is a threat to approximately 3.4 billion people in about 209 countries and territories (Diarra et al. 2015). In 2012, there were an estimated 207 million cases of malaria with over 627,000 deaths (World Health Organization 2014). Sub-Saharan Africa carries the biggest burden of this disease, where about 90% of cases and death occur particularly among children and pregnant women (Chinsemu 2015) due to poverty and debilitation. Increasingly, malarial parasites, particularly *P. falciparum*, are developing resistance to the most frequently used antimalarial drugs (White 2004). The challenge in malaria chemotherapy is to find novel molecular targets in light of the drug resistance crisis (Frederich et al. 2008). In this context, the search for new compounds from Cameroonian medicinal plants could provide new leads to antimalarial drugs. Plants of the genus *Campylospermum* (Ochnaceae) are widely distributed throughout the tropical zone of Africa Continent. Several species belonging to this genus are reported in folk medicine in the treatment of various diseases such as gastric pains, gonorrhoea, icterus, whitlow, malaria and aphrodisiac matter (Bouquet 1969; Ngono et al. 2011, 2015). Previous reports indicated that the genus and many others belonging to Ochnaceae family are a rich source of compounds with wide variety of structures (Abouem à Zintchem et al. 2008; Abouem et al. 2014; Bayiha Ba Njock et al. 2013; Ghogomu et al. 1990; Ndongo et al. 2010, 2015; Ngo Mbing et al. 2014; Ngono Bikobo et al. 2011, 2014, 2015). Hence, this study was carried out to isolate and elucidate the structure of constituents from stem bark extract of *C. zenkeri*, then to perform few chemical transformations on an isolated one serotobenine (which is the marker of the

genus) in order to evaluate the potent bioactive derivative for antiplasmodial activity. Serotobenine was chosen for derivatisation because of its structural similarity to decursivine, which has shown antimalarial properties in previous studies (Zhang et al. 2002; Qin et al. 2011).

2. Results and discussion

The methanolic extract of the stem bark of *C. zenkeri* was fractionated and purified by a silica gel column chromatography, affording five known compounds: (*Z,Z*)-9,12-octadecadienoic acid (**1**) (Park et al. 2011), racemic serotobenine (**2**) (Ngono Bikobo et al. 2015; Sato et al. 1985), agathisflavone (**3**) (Mashima et al. 1970; Bayiha Ba Njock et al. 2011), lophirone A (**4**) (Ghogomu et al. 1987) and lophirone F (**5**) (Ghogomu et al. 1990) together with one newly described compound, zenkerinol (**6**, Figure 1). In addition to these compounds, three new serotobenine derivatives were prepared by using racemic serotobenine (**2**) as starting material (Scheme 1). They are: serotobenine monopropionate (**2a**), serotobenine monopivalate (**2b**) and serotobenine cyclohexyl ether (**2c**). While in decursivine, two phenolic hydroxyl groups are part of a methylenedioxy-acetal substructure, it seemed reasonable to protect the free hydroxyl group of serotobenine (**2**) in order to explore the importance of the acetal for the antiplasmodial activity. Therefore, the free phenolic group was covered as ester structures (Figure S1 and S2).

Compound **6** was obtained as an orange powder, soluble in methanol. The molecular formula of this compound was inferred to be $C_{30}H_{22}O_{11}$ based on its molecular ion at m/z 557.1089 $[M - H]^-$ in negative ion mode HR-ESI-MS (calcd. 557.1131). The ^{13}C NMR spectral data of **6** (Table S2) revealed that this compound is a procyanidin derivative with two condensed flavonoids. That presence of two flavonoid units was indicated by ^{13}C NMR resonances at δ_c 140.0 (C-2), 133.1 (C-3), 48.8 (C-4) (ring C) which corresponds to deprotonated catechin and at δ_c 78.3 (C-2''), 65.1 (C-3''), 28.5 (C-4'') (ring F), arising from flavanyl and flavenyl heterocyclic rings, respectively. These signals provide a distinct key entry point into the two-dimensional spectra (Ragab et al. 2013). Along with the absence of H-8'' of D-ring in the flavan unit (sub-structure II, Figure S3), the above-mentioned signals indicated that this compound is a condensed flavonoid of procyanidin B series (Cádiz-Gurrea et al. 2014; Klika et al. 2015). The attachment of proton signals at δ_H 3.18 (H-4), in sub-structure I to the carbon atom at δ_c 48.8 (C-4) ppm was noted in the HSQC spectrum (Figure S13). The same observations are found for signals at δ_H 4.65 (H-2''), 3.91 (H-3''), 2.66 and 2.46 (H-4'') with carbons at δ_c 78.3 (C-2''), 65.1 (C-3'') and 28.5 (C-4''), respectively in sub-structure II, which were consistent with the terminal unit of a catechin moiety (Figure S3) (Mello de et al. 1999; Wang et al. 2015). In the 1H NMR spectrum, the set of *meta*-coupled protons at δ_H 5.88 (1H, d, $J = 2.3$ Hz) and 5.71 (1H, d, $J = 2.3$ Hz) was, respectively, assigned to H-6 and H-8 protons of the A-ring of the sub-structure I, while a residual aromatic proton singlet appeared at δ_H 6.18 (s, H-6') from D ring. The HMBC spectrum (Figure S14) of compound **6** revealed correlation of the signal at δ_H 5.88 (H-6) and carbons at δ_c 156.5 (C-7), 99.9 (C-4a) 94.4 (C-8) and 156.0 (C-5) (Figure S3). The C-8'' involvement in the interflavan lineage was construed from the HMBC correlations, which enabled us to assign the C-8'' carbon atom. From the HMBC spectrum, correlations were observed between H-4 (δ 3.18) with C-8'' (δ 102.4), C-7'' (δ 156.0) and C-3 (δ 133.1) confirming the C-4 \rightarrow C-8'' bond. Moreover, comparison of the high chemical shift values of C-4a and C-8'' at δ_c 99.9 and 102.4 with literature data (Malan et al. 1996; Messanga et al.

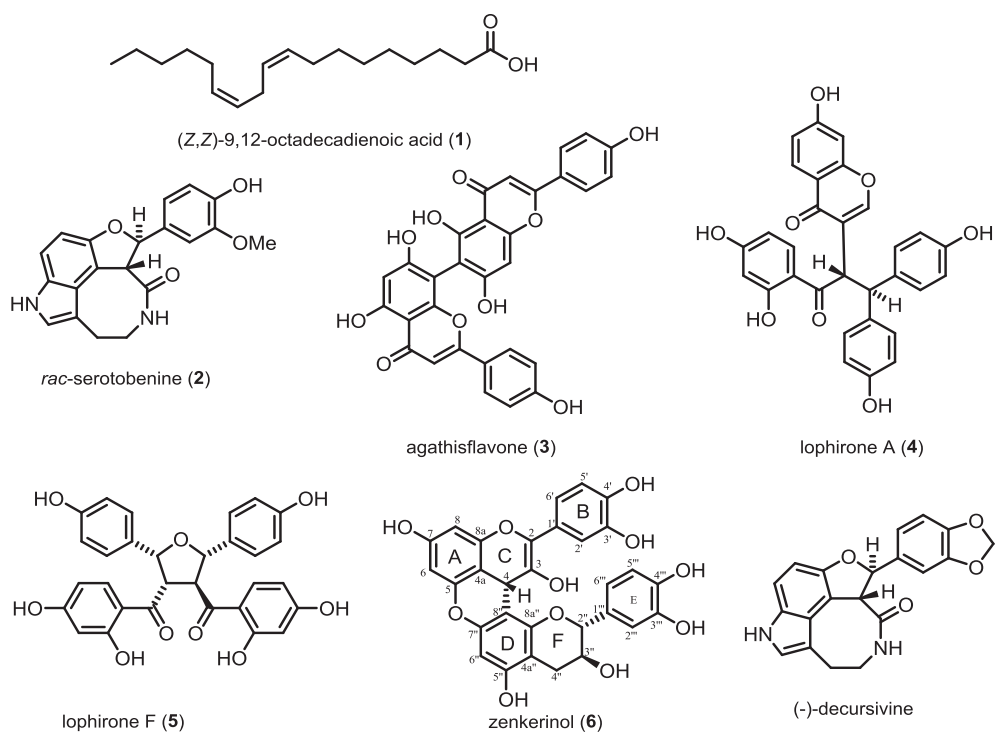
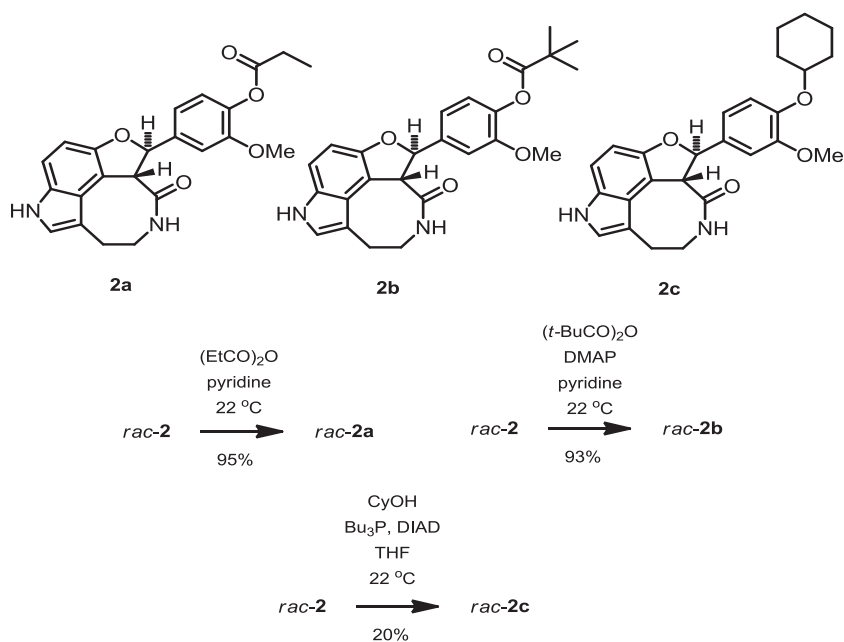


Figure 1. Structures of natural products 1–6 isolated from the stem bark of *Campylospermum zenkeri* and antiplasmodial template decursivine.



Scheme 1. Synthesis of three serotobenine derivatives 2a, 2b and 2c.

1998; Mello de et al. 1999; Taniguchi et al. 2007; Ragab et al. 2013; Wang et al. 2015) and referring to mass spectrometry (HR-ESI-MS and LC-MS) of **6** (Figure S15; S16) indicated the presence of a C-O-C linkage, which are characterized by the existence of a doubly interflavonoid linkage. This doubly linked structure was also supported through HMBC spectrum. This was confirmed by correlations between H-6'' (δ_{H} 6.18) and the hyperconjugated carbon at δ_{C} 102.4 (C-8'') and δ_{C} 156.0 (C-7'') in one side for the second unit, and H-6 (δ_{H} 5.88) and the carbon C-5 (δ_{C} 156.5) in another side. Moreover, this linkage was strengthened by the analysis of NOESY spectrum (Figure S17) through cross-peaks observed between H-6'' (δ_{H} 6.18) and H-6 (δ_{H} 5.88). Additional data from the HMBC spectrum, enabled us to locate C-2 at δ_{C} 140.0, C-1' at δ_{C} 120.2 [through correlations between H-6' (δ_{H} 6.89) and olefinic carbons at δ_{C} 140.0 (C-2) and C-1' (120.2), respectively] and C-3 (δ_{C} 133.1) involved in a relationship with H-4 (δ_{H} 3.18); these data were consistent with a flav-2-en-3-ol type flavonoid (Fukami et al. 2013). Consequently, all those various details emphasize the presence of another flavonoid linkage for this molecule. It was noted that the flav-2-en-3-ol moiety was found as intermediate in the synthesis of anthocyanin (Fukami et al. 2013). In addition, IR spectrum (Figure S10) at 1595 cm^{-1} also confirmed the presence of a conjugated olefinic double bond in this molecule (Marković et al. 2013). Signals for ABX coupling system [δ_{H} 6.89 (1H, d, $J = 1.7\text{ Hz}$, H-2'); δ_{H} 6.66 (1H, dd, $J = 7.2; 1.7\text{ Hz}$, H-6') and δ_{H} 6.65 (1H, d, $J = 7.2\text{ Hz}$, H-5')] of sub-structures I and II of the terminal unit (due to rings B and E) were observed (Table S2). These findings indicated that compound **6** was a B-type procyanidin dimer derivative consisting of a flav-2-en-3-ol and flavan-3-ol units. Further evidence to support the proposed structure could be seen in HMBC spectrum (Figure S14), some observations were made between hydroxyl protons OH-3' at δ_{H} 8.80 with C-3' (δ_{C} 144.8) and OH-4' (δ_{H} 8.74) with C-4' (δ_{C} 144.7), indicating an *ortho* position of these groups in the molecule (Figure S3). These finding confirmed that cyanidin derivative and catechin are the basic skeleton of this molecule with loosing of a H_2O molecule to form a supplementary pyranic cycle as described above. The coupling constants of protons of the cyclohexyl units indicated, however, clearly the *trans*-relationships between H-2'' (δ_{H} 4.65; $J = 9.5\text{ Hz}$) and H-3'' (δ_{H} 3.91; $J = 9.5; 4.2\text{ Hz}$) (Table S2). All these results are confirmed by any correlation in the NOESY spectrum (Figure S17) between neither H-2'' and H-3'' nor H-4 and H-3'', respectively. These data corroborated the relative stereochemistry found for other analogues described in the literature (Messanga et al. 1998; Mello de et al. 1999; Cádiz-Gurrea et al. 2014; Klika et al. 2015). The additional data emphasized on the double linkage between the two flavonoid units. Based on these spectral evidences and comparison with reported data, the structure of **6** was therefore determined as (4S*,2''R*,3''S*)-cyanidin-(4 α →8)-(5-O-7'')-catechin, named zenkerinol. To our knowledge, this is the first paper reporting the isolation of a procyanidin dimer in the *CampylospERMUM* genus.

Serotobenine monopropionate (**2a**), serotobenine monovalate (**2b**) and serotobenine cyclohexyl ether (**2c**) were prepared according to Scheme 1, and their structures were characterized based on the spectroscopic data mentioned in supplementary material.

Serotobenine derivatives **2a** and **2b** were tested for their antimalarial activity against *P. falciparum* strain 3D7 in a parasite lactate dehydrogenase (pLDH)-Assay. Both derivatives were less potent than decursivine. For decursivine, an antimalarial activity of $3.9\text{ }\mu\text{M}$ (D6-*P. falciparum* clone sensitive to chloroquine) has been reported (Zhang et al. 2002). Compound **2b** has an IC_{50} value of $36.6\text{ }\mu\text{M}$ and is about 10 times less active than decursivine, but is approximately 3.37-fold better than compound **2a** ($123\text{ }\mu\text{M}$). The bulky *tert*-butyl moiety leads to a slight increase of the antimalarial activity. Moreover, according to the Basco et al.

(1994) criteria, the activity against *P. falciparum* can be considered moderate for compound **2b** and low for compound **2a** (Table S3).

3. Experimental section

3.1. General procedures

Melting points were uncorrected and were measured on a Mettler Toledo instrument. IR spectra were recorded on an Alpha FT-IR Spectrometer from Bruker, while 1D and 2D NMR spectra were obtained on a Bruker DRX 500 (500 MHz for ^1H and 125 MHz for ^{13}C spectra) spectrometer (Bruker, Rheinstetten, Germany) with chemical shifts reported in δ (ppm) using TMS (δ_{H}) as an internal standard. The HR-ESI-MS were obtained on LTQ-FT instrument (Thermo Scientific). LC-MS were measured with Shimadzu LC-MS system. Optical rotations were measured on a Perkin-Elmer 341 polarimeter. Silica gel 60 (230–400 mesh E. Merck, Darmstadt, Germany) was employed for column chromatography, the solvent mixing systems for elution were mainly $\text{CH}_2\text{Cl}_2/\text{MeOH}$ for the phytochemical study and $\text{CHCl}_3/\text{MeOH}$ for the purity of compounds from hemisynthesis reactions with increasing polarity each. All reactions sensitive to oxygen or moisture were conducted under argon atmosphere.

3.2. Plant material

Stem barks of *C. zenkeri* were collected at Pala Mount near Kribi in the South Region of Cameroon in April 2015 and identified by a botanist. A voucher specimen (N° 24093 SFRCAM) was deposited at the National Herbarium in Yaoundé, Cameroon.

3.3. Extraction and isolation

Dried and powdered stem bark of *C. zenkeri* (315 g) were extracted for 48 h with MeOH ($3 \times 1\text{L}$) at room temperature. After filtration and evaporation of solvent, the crude MeOH extract (20 g) was subjected to CC (SiO_2 , eluting with a gradient solvent system ($\text{CH}_2\text{Cl}_2/\text{MeOH}$)) giving five main fractions: I (3 g), II (4 g), III (4 g), IV (4 g), V (5 g). Fraction III (4 g) was submitted to CC (SiO_2) using solvent system pentane/ethyl acetate (40/1) to give compound **1** (120 mg). Fraction IV (4 g) was submitted to CC (SiO_2) using solvent system $\text{CH}_2\text{Cl}_2/\text{MeOH}$ (60/1 to 5/1) to give three sub-fractions (IVa, IVb and IVc). Sub-fraction IVb (0,8 g) was chromatographed (SiO_2) using $\text{CH}_2\text{Cl}_2/\text{MeOH}$ (40/1) to afford compound **2** (35 mg; $[\alpha]_{\text{D}}^{25} = 0$ (c 0.15, MeOH)). Using the same process, fraction V (5 g) gave 4 sub-fractions (Va, Vb, Vc and Vd). Sub-fraction Va (1,3 g) was further chromatographed on a silica gel column using $\text{CH}_2\text{Cl}_2/\text{MeOH}$ (10/1) to afford compound **3** (13 mg). Sub-fraction Vb (1.8 g) was purified by repeated CC on silica gel with the solvent system $\text{CH}_2\text{Cl}_2/\text{MeOH}$ (10/1–5/1) to provide compound **4** (7 mg) and compound **5** (6 mg). Sub-fraction Vc (0.85 g) was subjected to CC (SiO_2) with the system $\text{CH}_2\text{Cl}_2/\text{MeOH}$ (5/1–3/1) and compound **6** (5 mg; $[\alpha]_{\text{D}}^{25} = -79^\circ$ (c 0.3, MeOH)) was obtained.

3.4. Structural characterisation of compounds

3.4.1. Serotobenine monopropionate (2a)

White solid, (5.5 mg, 95%) (Scheme 1). Rf = 0.44 ($\text{CHCl}_3/\text{MeOH}$:15:1); m.p. 250–252 °C; UV/Vis (MeOH): λ_{max} 336 (log e): 206 (4.50), 204 (3.44), 201 (4.50) nm; IR cm^{-1} 3333, 2940, 1755,

1659, 1604, 1577, 1511; ^1H NMR (acetone- d_6 ; 500 MHz), δ_{H} : 10.17 (1H, br, H-1), 8.01 (1H, br, H-10), 7.27 (1H, dd, $J = 9.3$ Hz, H-6'), 7.25 (1H, d, H-2'), 7.18 (1H, s, H-2), 7.09 (1H, d, $J = 7.0$ Hz, H-7), 7.07 (1H, d, $J = 7.0$ Hz, H-6), 6.72 (1H, d, $J = 9.3$ Hz, H-5'), 6.40 (1H, d, $J = 10.5$ Hz, H-7'), 4.78 (1H, d, $J = 10.5$ Hz, H-8'), 4.17 (1H, m, H-9b), 3.82 (3H, s, CH_3O -), 3.58 (1H, m, H-9a), 3.10–3.05 (1H, m, H-8a), 3.18–3.15 (2H, m, H-8b), 2.58 (2H, q, H-2''), 1.20 (3H, t, H-3''); ^{13}C NMR (acetone- d_6 ; 125 MHz), δ_{C} : 172.6 (C-1''), 171.4 (C-9'), 153.6 (C-3'), 152.4 (C-5), 144.8 (C-7a), 141.9 (C-1'), 134.1 (C-4'), 125.9 (C-3a), 125.6 (C-6'), 124.9 (C-2), 123.6 (C-6), 119.1 (C-7), 115.0 (C-4), 112.3 (C-3), 111.3 (C-2'), 105.4 (C-5'), 85.0 (C-7'), 56.3 (CH_3O -), 55.4 (C-8'), 41.5 (C-9a; 9b), 30.7 (C-8a; 8b), 27.6 (C-2''), 9.4 (C-3''); HR-ESI-MS m/z : 405.4307 [$\text{M} - \text{H}$] $^-$ (calcd for $\text{C}_{23}\text{H}_{22}\text{N}_2\text{O}_5$ 405.4303).

3.4.2. Serotobenine monopivalate (2b)

White solid, (5.8 mg, 93%) (Scheme 1). Rf = 0.38 ($\text{CHCl}_3/\text{MeOH}$: 30:1); m.p. 269–272 °C; UV/Vis (MeOH): λ_{max} 336 (log ϵ): 206 (4.50), 204 (3.44), 201 (4.50) nm; IR cm^{-1} : 3427, 3344, 3212, 2963, 2904, 1738, 1658, 1605, 1579, 1509; ^1H NMR (acetone- d_6 ; 500 MHz), δ_{H} : 10.21 (1H, br, H-1), 8.03 (1H, br, H-10), 7.29 (1H, dd, $J = 9.3$ Hz, H-6'), 7.25 (1H, d, H-2'), 7.19 (1H, s, H-2), 7.10 (1H, d, $J = 7.0$ Hz, H-7), 7.08 (1H, d, $J = 7.0$ Hz, H-6); 6.74 (1H, d, $J = 9.3$ Hz, H-5'), 6.41 (1H, d, $J = 10.5$ Hz, H-7'), 4.78 (1H, d, $J = 10.5$ Hz, H-8'), 4.17–4.12 (1H, m, H-9b), 3.83 (3H, s, CH_3O -), 3.60–3.57 (1H, m, H-9a), 3.16–3.15 (1H, m, H-8a), 3.12–3.09 (2H, m, H-8b), 1.35 (9H, s, H-3''); ^{13}C NMR (acetone- d_6 ; 125 MHz), δ_{C} : 176.4 (C-1''), 171.3 (C-9'), 153.5 (C-3'), 152.2 (C-5), 141.6 (C-1'), 140.6 (C-7a), 133.9 (C-4'), 125.7 (C-3a), 125.7 (C-6'), 124.9 (C-2), 123.4 (C-6), 118.9 (C-7), 114.7 (C-4), 112.2 (C-3), 111.1 (C-2'), 105.3 (C-5'), 84.9 (C-7'), 56.1 (CH_3O -), 55.2 (C-8'), 41.3 (C-9a; 9b), 39.4 (C-2''), 30.5 (C-8a; 8b), 27.3 (C-3''); HR-ESI-MS m/z : 433.4845 [$\text{M} - \text{H}$] $^-$ (calcd for $\text{C}_{25}\text{H}_{26}\text{N}_2\text{O}_5$ 433.4833).

3.4.3. Serotobenine cyclohexyl ether (2c)

White solid, (2.5 mg, 20%). (Scheme 1). Rf = 0.40 ($\text{CHCl}_3/\text{MeOH}$: 20:1); ^1H NMR (acetone- d_6 ; 500 MHz), δ_{H} : 10.28 (1H, br, H-1), 8.02 (1H, br, H-10), 7.26 (1H, dd, $J = 9.3$ Hz, H-6'), 7.25 (1H, d, H-2'), 7.19 (1H, s, H-2), 7.13 (1H, d, $J = 7.0$ Hz, H-7), 7.00 (1H, d, $J = 7.0$ Hz, H-6); 6.69 (1H, d, $J = 9.3$ Hz, H-5'), 6.34 (1H, d, $J = 10.5$ Hz, H-7'), 4.78 (1H, d, $J = 10.5$ Hz, H-8'), 4.16–4.11 (1H, m, H-9b), 3.80 (3H, s, CH_3O -), 3.51–3.49 (1H, m, H-9a), 3.50 (1H, m, H-1''), 3.18–3.14 (1H, m, H-8a), 3.05 (2H, m, H-8b), 1.67–1.61 (4H, m, H-2''), 1.54–1.50 (4H, m, H-3''), 1.45–1.39 (2H, m, H-4''); ^{13}C NMR (acetone- d_6 ; 125 MHz), δ_{C} : 171.5 (C-9'), 153.5 (C-3'), 151.9 (C-5), 147.8 (C-7a), 136.2 (C-1'), 134.0 (C-4'), 125.8 (C-6'), 125.6 (C-2), 123.8 (C-3a), 119.6 (C-6), 117.6 (C-7), 115.0 (C-4), 112.2 (C-3), 111.7 (C-2'), 105.4 (C-5'), 85.3 (C-7'), 69.2 (C-1''), 56.2 (CH_3O -), 55.2 (C-8'), 41.4 (C-9a; 9b), 29.0 (C-8a; 8b), 24.0 (C-4'') 23.8 (C-3''); HR-ESI-MS m/z : 455.4987 [$\text{M} + \text{Na}$] $^+$ (calcd for $\text{C}_{26}\text{H}_{28}\text{N}_2\text{O}_4\text{Na}$ 455.5001).

3.4.4. Zenkerinol (6)

Orange solid; $[\alpha]_{\text{D}}^{25} = -79^\circ$ (c 0.3, MeOH); M.p. 295–297 °C; IR umax^{KBr} cm^{-1} : 3267, 2923, 2853, 1595, 1512, 1226, 1159; TLC Rf: 0.42 ($\text{CH}_2\text{Cl}_2/\text{MeOH}$: 90/10); ESI-MS m/z : 583.4941 [$\text{M} + \text{Na}$] $^+$ (calcd for $\text{C}_{30}\text{H}_{24}\text{O}_{11}$ 583.4937); ^1H -NMR (500 MHz, DMSO- d_6), δ_{H} : 6.89 (2H, d, $J = 1.7$ Hz, H-2' and H-2''), 6.66 (2H, d, $J = 7.2$; 1.7 Hz, H-6' and 6''), 6.65 (2H, dd, $J = 7.2$ Hz, H-5' and H-5''), 6.18 (1H, s, H-6''), 5.88 (1H, d, $J = 2.3$ Hz, H-6), 5.71 (1H, d, $J = 2.3$ Hz, H-8), 4.65 (1H, d, $J = 9.5$ Hz, H-2''), 3.91 (1H, m, $J = 9.5$; 4.2 Hz, H-3''), 3.18 (1H, s, H-4), 2.66 (1H, dd, $J = 16.7$; 5.9 Hz, H-4 β '), 2.46 (1H, dd, $J = 16.7$; 4.2 Hz, H-4 α ''); ^{13}C -NMR (125 MHz, DMSO- d_6): δ_{C} : 156.8 (C-5''), 156.5*

(C-5), 156.0 (C-7''), 156.5* (C-7), 156.0* (C-8a), 156.5* (C-8a''), 144.8 (C-3' and C-3''') 144.7 (C-4' and C-4'''), 140.0 (C-2), 133.1 (C-3), 130.9 (C-1'''), 120.2 (C-1'), 118.2 (C-6' and C-6'''), 115.2 (C-2' and C-2'''), 115.2 (C-5' and C-5'''), 102.4 (C-8''), 99.9 (C-4a), 99.7 (C-4a''), 98.8 (C-6''), 95.4 (C-6), 94.4 (C-8), 78.3 (C-2''), 65.1 (C-3''), 48.8 (C-4), 28.5 (C-4''). * Signals can be interchanged.

3.5. Antiplasmodial activity

Serotobenine derivatives **2a** and **2b** were tested for their antimalarial activity against *P. falciparum* strain 3D7 in a parasite lactate dehydrogenase (pLDH)-Assay. The parasites were cultured for 72 h in A + human erythrocytes at a haematocrit of 4% in RPMI media (PAA) supplemented with 10% A + human serum, 200 μ M hypoxanthine and 20 μ g ml⁻¹ gentamycin as described previously (Trager & Jensen 1976) in the presence and absence of the compounds, respectively. Cultures for growth assays were set up at the ring stage of parasites (0.1% parasitemia) in 96-well plates at a hematocrit of 3%. Parasites were cultured in presence or absence of drugs for up to 72 h. Subsequently cells were harvested, washed and frozen at -20 °C until analysis. pLDH was detected and measured as described elsewhere (Makler et al. 1993; Arnot et al. 2008). Growth was calculated as follow:

$$G = \frac{OD_{650nm} a - OD_{650nm} b}{OD_{650nm} c - OD_{650nm} b} \cdot 100$$

a = iRBC treated with drugs; b = iRBC treated with cycloheximide; c = non treated iRBC

G = plasmodial growth.

4. Conclusion

The genus *Campylospermum* is a good source of various classes of compounds such as: flavonoids, biflavonoids, ellagic acids, terpenoids, steroids and alkaloids. A large number of antimalarial compounds with a wide variety of structures have been isolated from plants. Among them, several belong to classes mentioned above. Indole alkaloid derivative such as decursivine showed a promising *in vitro* activity. Structure modification of racemic serotobenine afforded three derivatives nevertheless any of them among the tested compounds do not displayed good activity as the template decursivine.

Acknowledgements

We gratefully acknowledge the DAAD/STIBET Doktoranden Scholarship for financial support and travel grants for Mr. Mbabi to Germany. The authors are also grateful to the Philipps-Universität Marburg, the Chemistry Department and the Koert's Group for technical assistance. We also thank Mr. Fulbert Tadjouteu (National Herbarium of Cameroon) for his assistance in the collection and identification of the plant material.

Disclosure statement

No potential conflict of interest was reported by the authors.

References

- Abouem ZA, Ngono Bikobo DS, Atchadé AT, Mbing NJ, Gangoue PJ, Ghogomu TR, Blond A, Pegnyemb DE, Bodo B. 2008. Nitrile glucosides and serotobenine from *Campylospermum glaucum* and *Ouratea turnarea*. *Phytochemistry*. 69:2209–2213.
- Abouem ZA, Ndongo JT, Ngono Bikobo DS, Nkot JL. 2014. Biological studies on nitrogen-containing compounds from *Campylospermum Oliveranum* and *Campylospermum sulcatum* (Ochnaceae). *Int J Pharm Pharm Sci*. 6:252–256.
- Arnot DE, Cavanagh DR, Remarque EJ, Creasey AM, Sowa MP, Morgan WD, Holder AA, Longacre S, Thomas AW. 2008. Comparative testing of six antigen-based malaria vaccine candidates directed toward merozoite-stage *Plasmodium falciparum*. *Clin Vaccine Immunol*. 15:1345–1355.
- Basco L, Mitaku S, Skaltsounis AL, Ravelomanantsoa N, Tillequin F, Koch M, Le Bras J. 1994. *In vitro* activities of furoquinoline and acridone alkaloids against *Plasmodium falciparum*. *Antimicrob Agents Chemother*. 38:1169–1171.
- Bayiha Ba Njock G, Bartholomeusz TA, Foroozandeh M, Pegnyemb DE, Christens P, Jeannerat D. 2011. NASCA HMBC, a new NMR methodology for the resolution of severely overlapping signals: application to the study of agathisflavone. *Phytochem Anal*. 23:126–130.
- Bayiha Ba Njock G, Bartholomeusz T, Ngono Bikobo D, Foroozandeh M, Shivapurkar R, Christen P, Pegnyemb DE, Jeannerat D. 2013. Structure and Dynamic of Three Indole Alkaloids from the *Campylospermum* Genus (Ochnaceae). *Helv Chim Acta*. 96:1298–1304.
- Bouquet A. 1969. Féticheurs et médecine traditionnelles du Congo (Brazzaville) [Fetish and Traditional Medicine of Congo (Brazzaville)]. *ORSTOM, Paris*. 36:177–178.
- Cádiz-Gurrea ML, Fernández-Arroyo S, Segura-Carretero A. 2014. Pine bark and green tea concentrated extracts: antioxidant activity and comprehensive characterization of bioactive compounds by HPLC–ESI-QTOF-MS. *Int J Mol Sci*. 15:20382–20402.
- Chinsemu Kazhila C. 2015. Plants as antimalarial agents in Sub-Saharan Africa. *Acta Trop*. 152:32–48.
- Diarra N, van't Klooster C, Togola A, Diallo D, Willcox M, Jong J. 2015. Ethnobotanical study of plants used against malaria in Sélingué subdistrict Mali. *J Ethnopharmacol*. 166:352–360.
- Frederich M, Tits M, Angenot L. 2008. Potential antimalarial activity of indole alkaloids. *T Roy Soc Trop Med Hyg*. 102:11–19.
- Fukami H, Yano Y, Iwashita T. 2013. Isolation of reduced form of cyanidin-3-O-β-D-glucopyranoside from immature black soybean (*Glycine max* (L.) Merr) and its reducing properties. *J Oleo Sci*. 62:623–629.
- Ghogomu R, Sondengam BL, Martin MT, Bodo B. 1987. Lophirone A, A biflavonoid with unusual skeleton from *Lophira lanceolata*. *Tetrahedron Lett*. 28:2967–2968.
- Ghogomu T, Sondengam BL, Martin MT, Bodo B. 1990. Structure of the Chalcone dimers lophirone F, G and H from *Lophira lanceolata* stem bark. *Phytochemistry*. 29:2289–2293.
- Klika KD, Ricarte I, Salles Trevisan MT, Vasconcelos Silva MGD, Owen RW. 2015. (2R, 3S, 4S, 2''R,3''S)-Guibourtinidol-(4α→8)-catechin, a biflavonoid procyanidin of the proguibourtinidin group from *Senna macranthera*: its relative stereochemistry and conformation. *Tetrahedron*. 26:247–250.
- Makler MT, Ries JM, Williams JA, Bancroft JE, Piper RC, Gibbins BL, Hinrichs DJ. 1993. Parasite lactate dehydrogenase as an assay for *Plasmodium falciparum* drug sensitivity. *Am J Trop Med Hyg*. 48(6):739–741.
- Malan EM, Swinny E, Ferreirat D, Steynberg P. 1996. The structure and synthesis of proguibourtinidins from *Cassia abbreviata*. *Phytochemistry*. 41:1209–1213.
- Marković JMD, Marković Z, Krstić JB, Amic D. 2013. Interpretation of the IR and Raman spectra of morin by density functional theory and comparative analysis. *Vibr Spect*. 64:1–9.
- Mashima T, Okigawa M, Kawano N, Khan NU, Ilyas M, Rahman W. 1970. On the bisflavones in the leaves of agathis alba foxworthy. *Tetrahedron Lett*. 33:2937–2940.
- Mello de J C P, Peterreit F, Nahrstedt A. 1999. A dimeric proanthocyanidin from *Stryphnodendron adstringens*. *Phytochemistry*. 51:1105–1107.
- Messanga BB, Ghogomu R, Sondengam BL, Martin MT, Blond A, Brouard JP, Bodo B. 1998. Calodenin C: a new guibourtinidol-(4α→8)-afzelechin from *Ochna calodendron*. *Planta Med*. 64:760–761.

- Ndongo JT, Shaaban M, Ngo Mbing J, Ngono Bikobo DS, Atchadé AT, Pegnyemb DE, Laatsch H. 2010. Phenolic dimers and an indole alkaloid from *Campylosperrum flavum* (Ochnaceae). *Phytochemistry*. 71:1872–1878.
- Ndongo JT, Issa ME, Messi NA, Ngo Mbing J, Cuendet M, Pegnyemb DE. 2015. Cytotoxic flavonoids and other constituents from the stem bark of *Ochna schweinfurthiana* (Ochnaceae). *Nat Prod Res*. 29(17):1684–1687.
- Ngo Mbing J, Balemaken MM, Ndongo JT, Bayiha Ba Njock G, Atchadé AT, Pegnyemb DE. 2014. New flavonoids C-glycosides from *Rhabdophyllum arnoldianum* (Ochnaceae). *Nat Prod Res*. 28:539–544.
- Ngono Bikobo DS, Nkot JL, Mosset P, Atchadé AT, Ndongo JT, Pemha R, Pegnyemb DE. 2011. Acylsteryl glycosides and other constituents from *Campylosperrum densiflorum* (Ochnaceae). *Rasayan J Chem*. 4:753–763.
- Ngono Bikobo DS, Mosset P, Abouem A, Zintchem A, Atchadé AT, Balemaken Missi M, Mbabi Nyemeck II, N, Pegnyemb DE. 2014. Campylosperrine, an *N*-Hydroxy-alkaloid from the leaves of *Campylosperrum densiflorum* (Ochnaceae). *Int J Phyto Pharm Res*. 6:719–728.
- Ngono Bikobo DS, Zintchem Abouem A, Zintchem A, Mbabi Nyemeck II, N, Atchadé AT, Bayiha Ba Njock G, Mosset P, and Pegnyemb DE. 2015. Secondary metabolites from *Campylosperrum oliverianum* (Farron), *Campylosperrum glaucum* (Tiegh) and *Campylosperrum dybowskii* (Van Tiegh). *Int J Phyto Pharm Res*. 7(1):119–127.
- Park HM, Mi-Won S, Donghyun K, Seon-Hee K, Sung-Hoon K, Hak CK, Sun YK. 2011. Fatty acid components of hardy kiwi fruit (*actinidia arguta*) as IL-4 production inhibitor. *Biomol Ther*. 19:126–133.
- Qin H, Xu Z, Cui Y, Jia Y. 2011. Total synthesis of decursivine and serotobenine: a Witkop photocyclization/elimination/O-Michael Addition cascade approach. *Angew Chem Int Ed*. 50:4447–4449.
- Ragab EA, Mohammed AESI, Abbass HS, Kotb SI. 2013. A new flavan-3-ol dimer from *Ficus spragueana* leaves and its cytotoxic activity. *Pharmacogn Mag*. 9:144–148.
- Sato H, Kawagishi H, Nishimura T, Yoneyama S, Yoshimoto Y, Sakamura S, Furusaki A, Katsu S. 1985. Serotobenine, a Novel Phenolic Amide from Safflower Seeds (*Carthamus tinctorius* L.). *Agr Biol Chem Tokyo*. 49:2969–2974.
- Taniguchi S, Kuroda K, Yoshikado N, Doi KI, Tanabe M, Shibata T, Yoshida T, Hatano T. 2007. New dimeric flavans from *Gambir*, an extract of *Uncaria Gambir*. *Heterocycles*. 74:595–605.
- Trager W, Jensen JB. 1976. Human malaria parasites in continuous culture. *Science*. 193:673–675.
- Wang CM, Hsu YM, Jhan YL, Tsai SJ, Lin SX, Su SH, Chou CH. 2015. Structure elucidation of procyanidins isolated from rhododendron formosanum and their anti-oxidative and anti-bacterial activities. *Molecules*. 20:12787–12803.
- White NJ. 2004. Anti-malarial drug resistance. *J Clin Invest*. 113:1084–1092.
- World Health Organization. 2014. World malaria report 2013. Geneva, Switzerland: World Health Organization; [cited 2015 Apr 14]. Available from: http://www.WHO.int/malaria/publications/world_malaria_report_2013/en/.
- Zhang H, Qui S, Tamez P, Tan GT, Aydogmus Z, Van Hung N, Cuong NM, Angerhofer C, Soejarto DD, Pezzuto JM, Fong HHS. 2002. Antimalaria agents from plants II. Decursivine, a new antimalarial indole alkaloid from *Rhaphidophora decursiva*. *Pharm Biol*. 40:221–224.

Phytochemical investigation and *in vitro* antimalarial activities of stem barks of *Campylospermum zenkeri* and roots of *Campylospermum vogelii*

Norbert Mbabi Nyemeck II^{1,2}, Dominique Serge Ngono Bikobo^{1*}, Auguste Abouem A Zintchem^{1,3}, Patrick Hervé Betote Diboué⁴, Bruno Lenta Ndjakou³, Dieudonné Emmanuel Pegnyemb¹ and Ulrich Koert²

ABSTRACT

Objective: The objective of this study is to isolate phytochemicals and to determine the antimalarial activities of methanol extracts of the roots of *Campylospermum vogelii* and stem bark of *Campylospermum zenkeri*. **Materials and Methods:** The present study was performed to reveal phytochemical profile of *C. vogelii* and *C. Zenkeri* using various chromatographic as well as spectroscopic techniques. The antimalarial activity of the isolated compounds and extracts was evaluated using CQR, 7G8 and Dd2 strains of the human malaria parasite *Plasmodium falciparum* in a parasite lactate dehydrogenase assay and Sybr green I-based assay. **Results:** From the phytochemical study of methanol extract of *C. zenkeri*, a new procyanidin B3 derivative named dihydrozenkerinol was isolated along with four known biflavonoids. Meanwhile, from the methanol extract of roots of *C. vogelii*, eight known compounds were isolated. The *in vitro* antimalarial activity of methanol extract of *C. zenkeri* showed significant activity compared to *C. vogelii* with inhibitory concentration (IC₅₀) = 50 µg/mL against Dd2 strain of *P. falciparum*. The most potent phytochemicals were campylospermine (10) an amide alkaloid, which had an IC₅₀ of 5.91 µg/mL against CQR, 7G8. Moreover, at a concentration of 100 µg/mL, *in vitro*, 3 tested compounds (zenkerinol, β-D-fructofuranosyl-α-D-glucopyranoside, and stigmasterol) inhibited 70% or more of the parasite growth of Dd2 strain. **Conclusion:** The species from *Campylospermum* genus are mainly a promising potential source of antiplasmodial compounds, specifically through its phytoconstituents belonging to alkaloid and biflavonoid classes. These results emphasize the role of traditional medicinal plants in the research and development of antimalarial phytopharmaceuticals.

KEY WORDS: Campylospermine, *Campylospermum vogelii*, *Campylospermum zenkeri*, CQR, dihydrozenkerinol, Nuclear magnetic resonance, Ochnaceae, *Plasmodium falciparum*

INTRODUCTION

Malaria is an infectious disease caused by the protozoan parasites, *Plasmodium falciparum*, *Plasmodium ovale*, *Plasmodium malariae*, and *Plasmodium vivax*.^[1] *P. falciparum*, the deadliest form of the malaria parasite, is responsible for the vast majority of the mortality and morbidity associated with malaria infection.^[2] The disease is confined mainly to tropical and subtropical regions of the world and is transmitted by the female anopheles mosquito.^[1] According to the WHO report,

there were 216 million new cases of malaria worldwide in 2016 and estimated 445,000 deaths. The African Region accounted for the most global cases (90%) and malaria deaths (91%), mostly among children under 5 years and pregnant women.^[3] Artemisinin combination therapies (ACTs) are currently the frontline treatments against *P. falciparum* malaria. Although these treatments continue to be effective in many parts of the world, the emergence of the malaria parasite resistance to ACTs is an urgent public health concern,^[2] so there is an urgent need to discover new compounds with an original mode of action. Plants commonly used in traditional medicine are a source of active new compounds.

The use of medicinal plants in the treatment of diseases has a long history worldwide. The genus

Access this article online

Website: jprsolutions.info

ISSN: 0974-6943

¹Department of Organic Chemistry, Faculty of Science, University of Yaoundé I, Yaoundé, Cameroon, ²Department of Chemistry, Philipps-Universität Marburg, Hans-Meerwein Strasse, 35032 Marburg, Germany, ³Department of Chemistry, Higher Training College, University of Yaoundé I, Yaoundé, Cameroon, ⁴Department of Microbiology, Faculty of Science, University of Yaoundé I, Yaoundé, Cameroon

*Corresponding author: Dr. Dominique Serge Ngono Bikobo, Department of Organic Chemistry, Faculty of Science, University of Yaoundé I, P.O Box 812, Yaoundé, Cameroon. Phone: +237 675 055 468. E-mail: ngonosh@gmail.com

Received on: 19-12-2017; Revised on: 20-01-2018; Accepted on: 15-03-2018

Campylospermum (Ochnaceae) comprises about 55 species.^[4] Several species belonging to this genus are reported in folk medicine in the treatment of various diseases such as gastric pains, gonorrhoea, icterus, whitlow, aphrodisiac matter, and malaria.^[5-7] The main metabolites isolated from this genus are nitrile glucosides, indole alkaloids as well as flavonoids and bioflavonoids.^[4] Recently, some biflavonoids isolated from the genus *Ochna* (Ochnaceae) were evaluated for their antiplasmodial activity against the CQS *P. falciparum* strain (3D7), among them, 4''-methoxylophirone A had a good antiplasmodial activity with inhibitory concentration (IC_{50}) = 8.43 mM value.^[8] In addition, some derivatives of serotobenine were found to have weak activity compared to the template decursivine against CQS, 3D7 strain of *P. falciparum*.^[9] Phytochemical investigation of *Campylospermum zenkeri* (Tiegh.) Farron was previously reported, revealing the presence of fatty acids, biflavonoids, and indole alkaloids.^[9] Pursuing our research on the chemistry and biology of *Campylospermum* genus (*C. zenkeri* (Tiegh.) Farron and *Campylospermum vogelii* (Hook.f) Farron), we report the isolation of a new procyanidin B3 derivative's biflavonoid from *C. zenkeri* and other phytoconstituents from both species and also assessed their antimalarial activity.

MATERIALS AND METHODS

General Procedures

¹H and ¹³C-nuclear magnetic resonance (NMR) spectra were recorded in dimethyl sulfoxide (DMSO-*d*₆) with trimethylsilane as the internal standard, employing Bruker DRX 500 spectrometer (Bruker, Rheinstetten, Germany) with chemical shifts reported in δ (ppm) operating at 500, 400, and 300 MHz for ¹H and 125, 100, and 75 MHz for ¹³C. The HR-ESI-MS was obtained on LTQ-FT instrument (Thermo Scientific). Silica gel 60 (230–400 mesh E. Merck, Darmstadt, Germany) was employed for column chromatography. Thin-layer chromatography (TLC) was performed on precoated silica gel 60 F₂₅₄ plates (0.2 mm thick, Merck) with methylene chloride/methanol, and spots were detected by ultraviolet illumination, Cerium Ammonium Molybdate, and by spraying with 10% sulfuric acid (H₂SO₄) followed by heating.

Plant Material

Stem barks of *C. zenkeri* (Tiegh.) Farron were collected at Pala Mount near Kribi in the South Region of Cameroon in April 2015 and identified by a botanist. A voucher specimen (N° 24093 SFRCAM) was deposited at the National Herbarium in Yaoundé, Cameroon. Fresh roots of *C. vogelii* (Hook.f) Farron were collected at Akonolinga in the center region of Cameroon in May 2015 and identified by a Botanist of

the National Herbarium in Yaoundé, Cameroon, where a voucher specimen (N° 29205/HNC) was deposited.

Extraction, Fractionation, and Isolation

From the stem bark of *C. zenkeri* and using the same process as previously described,^[9] only fraction V (5.5 g) which was the most polar one was used, subjected again to column chromatography, and eluted on silica gel using CH₂Cl₂/MeOH solvent mixture (40/1) in gradient to give four subfractions (Va, Vb, Vc, and Vd). Subfraction Va (1.3 g) was further chromatographed on a silica gel column using CH₂Cl₂/MeOH (10/1) to afford compound (5) (11 mg). Subfraction Vb (1.5 g) was purified by repeated CC on silica gel with the solvent system CH₂Cl₂/MeOH (10/1–5/1) to provide compound (4) (10 mg) and compound (3) (6 mg). Subfraction Vc (0.9 g) was subjected to CC (SiO₂) with the system CH₂Cl₂/MeOH (5/1–3/1) to provide a mixture of two compounds (1 and 2) (22 mg). Successive preparative TLC chromatography with eluting system CH₂Cl₂/MeOH (5/1–1/1) and Sephadex LH-20 was employed to obtain and to purify these two compounds individually. The mass obtained was for compound 1 (4 mg) and for compound 2 (11 mg).

Fresh roots of *C. vogelii* were collected, air-dried (330 g), milled, and extracted with methanol (2 × 3L) at room temperature for 48 h and then filtered. The filtrate was concentrated to dryness in a rotatory evaporator to yield crude extract (22 g). The crude extract was passed through silica gel by vacuum chromatography. Further elution with a gradient solvent system CH₂Cl₂/MeOH yielded five main fractions (I, II, III, IV, and V). Compounds were obtained after combining fractions with similar TLC characteristics. Fraction II (1.6 g) was subjected to column chromatography and the constituents eluted on silica gel using CH₂Cl₂/MeOH solvent mixture (40/1) in gradient to give compounds (11) (15 mg) and (10) (12 mg). Fraction III (1.5 g) was submitted to CC (SiO₂) using solvent system CH₂Cl₂/MeOH (30/1–20/1) to give compounds (9) (7 mg) and (8) (8 mg). As described above, fraction IV (1.4 g) was submitted to CC (SiO₂) using solvent system CH₂Cl₂/MeOH (15/1–10/1) to give compounds (7) (10 mg) and (6) (9 mg). Finally, fraction V was submitted to CC (SiO₂) using solvent system (CH₂Cl₂/MeOH) (5/1–3/1) to give compounds (5) (11 mg) and (4) (10 mg).

Spectral Data of Compound 1

Orange solid; $[\alpha]_D^{25}$ -79° (c 0.3, MeOH); M.p. 295–297°C; IR_{max}^{KBr} cm⁻¹ 3347, 1647, 1576; TLC Rf: 0.40 (CH₂Cl₂/MeOH: 90/10); ESI-MS *m/z* 559.1150 [M-H]⁻ (calcd for C₃₀H₂₄O₁₁ 559.1198); ¹H-NMR (500 MHz, DMSO-*d*₆), δ_H : 4.75 (1H, d, J = 9.4 Hz, H-2), 4.02 (1H, m, J = 9.4; 8.3 Hz, H-3), 3.20 (1H, s, H-4), 5.91 (1H, d, J = 2.3 Hz, H-6), 5.74 (1H, d, J = 2.6 Hz, H-8), 6.91 (2H, d, J = 1.7 Hz, H-2' and H-2''), 6.67 (2H, d, J = 7.2;

1.7 Hz, H-6' and 6''), 6.68 (2H, dd, J = 7.2 Hz, H-5' and H-5''), 4.67 (1H, d, J = 9.5 Hz, H-2''), 6.22 (1H, s, H-6''), 4.03 (1H, m, J = 9.5; 4.2 Hz, H-3''), 2.68 (1H, dd, J = 16.7; 5.9 Hz, H-4β''), 2.47 (1H, dd, J = 16.7; 4.2 Hz, H-4α''); ¹³C-NMR (125 MHz, DMSO-*d*₆): δ_c: 157.0 (C-5''), 156.7* (C-5), 156.2 (C-7''), 156.7* (C-7), 156.2* (C-8a), 156.7* (C-8a''), 145.0 (C-3' and C-3''), 144.9 (C-4' and C-4''), 78.6 (C-2), 65.4 (C-3), 130.9 (C-1''), 120.2 (C-1'), 118.4 (C-6' and C-6''), 115.4 (C-2' and C-2''), 115.4 (C-5' and C-5''), 102.4 (C-8''), 99.7 (C-4a), 99.0 (C-4a''), 98.9 (C-6''), 95.4 (C-6), 94.6 (C-8), 78.5 (C-2''), 65.3 (C-3''), 49.1 (C-4), 28.7 (C-4''). *Signals can be interchanged.

In Vitro Antimalarial Assays

Antimalarial activity assay has been done using Malaria Sybr Green I Fluorescence-based assays. The MSF assay was performed as described by Smilkstein *et al.*^[10] and modified by Johnson *et al.*^[11] with products at single-dose concentrations of 10 μM purified products and reference artemisinin or 2000 μg/mL extracts. The Dd2 *P. falciparum* strain was maintained in continuous long-term cultures in tissue culture medium, as previously described by Desjardins *et al.*^[12] and cultures and assays were conducted at 37°C under a humidified atmosphere of 5% CO₂ and 5% O₂, with balance N₂ using either tissue culture medium or folic acid-free medium. Parasites at 1% parasitemia and 2% hematocrit were added to predosed 96-well plates and incubated for 72 h. Lysis buffer with Sybr green I dye was subsequently added to the plates and incubated for 1 h at ambient temperature. Fluorescence was read using Genios plus plate reader (Tecan, Research Triangle Park, NC). The plates were examined for relative fluorescence units per well using Tecan Genios plus reader. The drug concentrations (x, values) were transformed using the formula $x = \log [x]$ and plotted against RFus (y, values). The data were then analyzed with Prism 4.0 (GraphPad software, INC., San Diego, CA) by non-linear regression (sigmoidal dose-response/variable slope equation) to yield drug 50% ICs. Table 1 indicates the percentage growth inhibition (in descending order) of a *P. falciparum* MDR strain (Dd2 strain) after 72 h of culture with each product. The optical density values read with a microtiter plate reader at an absorbance maximum of 750 nm. Inhibition percentage was calculated using the following formula:

$$\text{Inhibition (\%)} = \left(\frac{\text{optical density of control well} - \text{optical density of sample well}}{\text{optical density of control well}} \right) \times 100$$

The extract and pure compounds with highest inhibition percentage tested again to determine the inhibitory concentration (IC₅₀) values using serial concentration of 10.000 to 78 nM for products and for plant extract concentration (CZ): From 2000 to 7.8 μg/mL. The IC₅₀

values were determined graphically on dose-response curves (concentration vs. percent inhibition curves) with non-linear analysis by SPSS probit. This activity was analyzed in accordance with the norm of plants and compounds antimalarial activity of Chinchilla *et al.*^[13] According to this norm, strong active, active, weakly active, and inactive pure compound and/or extract has IC₅₀ <5 μg/mL, IC₅₀ 5–50 μg/mL, 50 μg/mL < IC₅₀ <100 μg/mL, and IC₅₀ >100 μg/mL, respectively.

Campylosperrine (10) was tested for antimalarial activity against *P. falciparum* strain 7G8 in a parasite lactate dehydrogenase (pLDH) assay. The parasites were cultured for 72 h in A + human erythrocytes at a haematocrit of 4% in RPMI media (PAA) supplemented with 10% A + human serum, 200 μM hypoxanthine, and 20 μg/ml gentamycin as described previously by Trager and Jensen^[14] in the presence and absence of the compounds, respectively. Cultures for growth assays were set up at the ring stage of parasites (0.1% parasitemia) in 96-well plates at a hematocrit of 3%. Parasites were cultured in the presence or absence of drugs for up to 72 h. Subsequently, cells were harvested, washed, and frozen at -20°C until analysis. pLDH was detected and measured as described elsewhere by Makler *et al.*^[15] and Arnot *et al.*^[16] Growth was calculated as follows:

$$G = \frac{\text{OD}_{650 \text{ nm}}^{\text{a}} - \text{OD}_{650 \text{ nm}}^{\text{b}}}{\text{OD}_{650 \text{ nm}}^{\text{c}} - \text{OD}_{650 \text{ nm}}^{\text{b}}} \cdot 100$$

a = iRBC treated with drugs; b = iRBC treated with cycloheximide; c = non-treated iRBC

G = plasmodial growth.

Statistical Analysis

The data were analyzed by one-way analysis of means. Analysis was carried out using Excel 2013. The variance (ANOVA) and Tukey post-test were used to

Table 1: The inhibition percentage of isolated products from *C. zenkeri* and *C. vogelii* against CQR Dd2

Compounds	Products code	% Inhibition
Standard drug	ART	94,74328204
<i>C. zenkeri</i> (extract)	CZ	87,74059956
Campylosperrine (10)	R3	81,3779472
Stigmasterol (9)	CV3	75,75885924
Zenkerinol (2)	CZTF7	73,47169279
β-D-fructofuranosyl-α-D-glucopyranoside (6)	CV5	70,24330557
β-sitosterol-3-O-β-D-glucopyranoside (8)	CV2	65,42425526
Lophirone A (4)	LA	64,95364488
<i>C. vogelii</i> (extract)	CV	64,37950021
Serotobenine (11)	SER	59,74869406
Quercetine 3-O-methyl ether (7)	CNFF	51,91773731
Agasthisflavone (5)	CNF22	32,50035296

C. zenkeri: *Campylosperrum zenkeri*, *C. vogelii*: *Campylosperrum vogelii*

evaluate the possible differences among the means. There were significant differences with $P \leq 0.05$.

The averages of the groups of the homogeneous subsets are displayed below:

ART^a, CZ^{a,b}, R3^{b,c}, CV3^{c,d}, CZTF7^{c,d,e}, CV5^{d,e,f}, CV2^{e,f}, LA^{e,f,g}, CV^{f,g}, SER^{g,h}, CNFF^h, CNF22ⁱ

RESULTS AND DISCUSSION

Phytochemical Study

Fractionation of the more polar portion obtained from the methanolic extract of *C. zenkeri* yielded five chemical compounds including a new procyanidin B3 derivative, dihydrozenkerinol (1), zenkerinol (2), three biflavonoids 2,3,2',3'-tetrahydroxychnaflavone (3),^[17] lophirone A (4), and agathisflavone (5).^[9] From the methanol extract of *C. vogelii* roots, two biflavonoids lophirone A (4) and agathisflavone (5), one saccharide β -D-fructofuranosyl- α -D-glucopyranoside (6),^[18] one flavonoid quercetin-3-O-methyl ether (7),^[19] two steroids β -sitosterol-3-O- β -

D-glucopyranoside (8)^[20] and stigmasterol (9),^[21] and two alkaloids including campylosperrine (10)^[22] and serotobenine (11)^[23] were isolated [Figure 1].

Characterization of dihydrozenkerinol (1)

Compound 1 was obtained as an orange powder, soluble in methanol. The mass spectra based on negative ion mode HR-ESI-MS data showed quasimolecular ion peak at m/z 559.1150 $[M-H]^-$ (calcd. 559.1198). Suggesting molecular formula to be $C_{30}H_{24}O_{11}$. The IR spectrum indicated vibrational bands at ν_{max} 3347 (hydroxyl groups) and 1647 and 1576 cm^{-1} (aromatic ring and conjugated double bonds).

The 1H NMR spectrum data of compound 1 strongly resembled those of 2 [Figure 1], and the only significant difference being the presence of two more hydrogen in the C-ring, revealing a skeletal type of a flavanol moiety with H-2 and H-3 protons on the upper unit which looks like those of (+)-catechin: The relative 2,3-stereochemistry was *trans*, as the proton signals at δ_H 4.75 (H-2) and 4.03 (H-3) appeared as a doublet ($J_{2,3}$

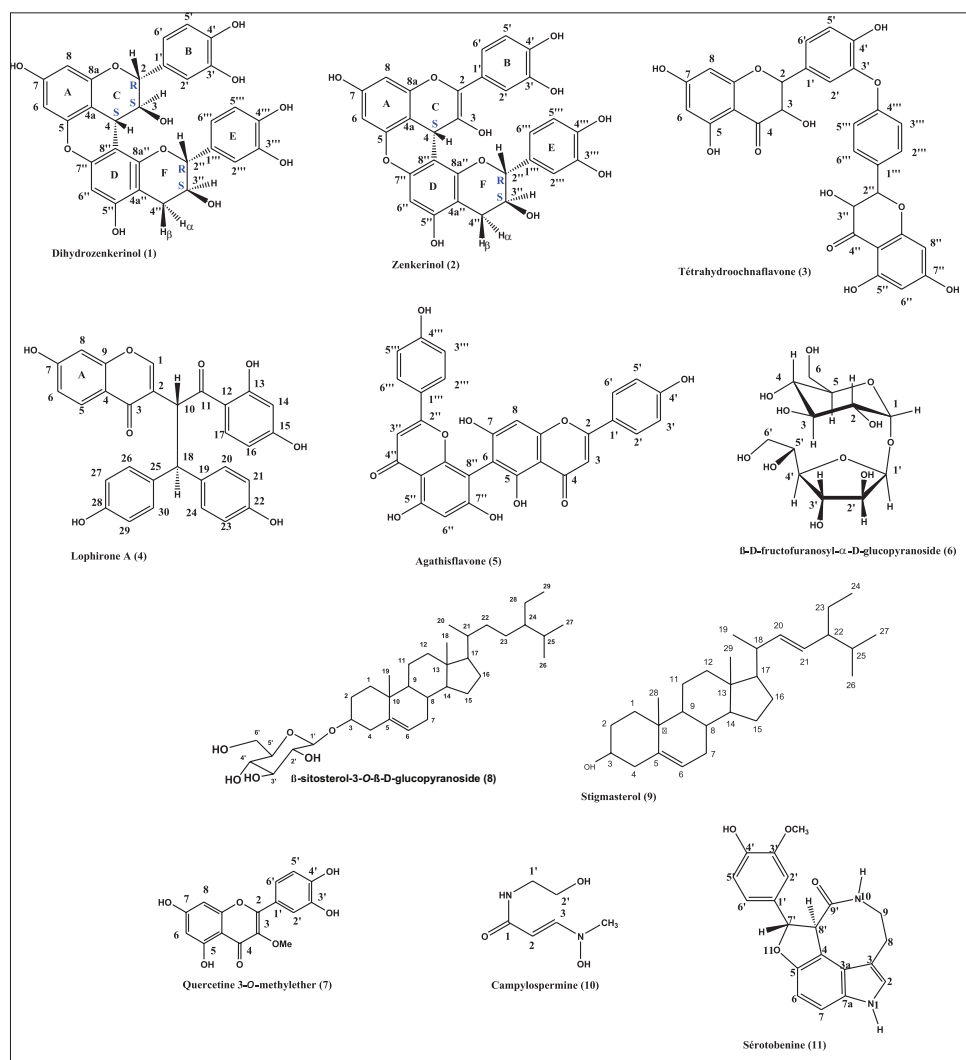


Figure 1: Structures of natural products 1–11 isolated from *Campylosperrum zenkeri* and *Campylosperrum vogelii*

= 9.4 Hz) corresponding to (+)-catechin.^[24] Moreover, on the ¹H-¹H COSY spectrum of the lower flavan-3-ol moiety, cross peaks appeared between resonances at δ_H 2.47 (H-4''α) and 2.68 (H-4''β); at δ_H 4.11 (H-3''), 2.47 (H-4''α), and 4.11 (H-3''); at δ_H 2.68 (H-4''β) and 4.11 (H-3''); and at δ_H 4.11 (H-3'') and 4.67 (H-2''), leading to the proposition of a highly asymmetrical dimeric structure in accordance with the mass spectrum. The ¹³C NMR spectrum showed carbon signals including only those of the flavan-3-ol carbons of the upper unit at δ_C 49.1 (C-4), 65.4 (C-3), and 78.6 (C-2) (C-ring) and for lower unit at δ_C 78.5 (C-2''), 63.3 (C-3''), and 28.7 (C-4'') (ring F) corroborating the asymmetrical dimeric structure for 1. In addition, a double set of three protons ABX system was noticeable with resonances at δ_H 6.91 (d, 1.7 Hz; H-2'), δ_H 6.67 (dd, 1.7 and 7.2 Hz; H-6'), and δ_H 6.68 (dd, 7.2 Hz; H-5') in the cycles B and E. The double-linked structure was supported through HMBC spectrum. This was confirmed by correlations H-4 (δ 3.20) with C-8'' (δ 102.1), C-7'' (δ 156.2), and C-3 (δ 65.4) confirming the C-4-C-8'' bond.^[25,26] Moreover, other correlations between H-6'' (δ_H 6.22) and the upper field carbon at δ_C 102.1 (C-8'') and δ_C 156.2 (C-7'') in one side for the second unit and H-6 (δ_H 5.91) and the carbon C-5 (δ_C 156.7) in another side unambiguously proved a (C-4-C-8'') linkage [Figure 2]. Ensuing, NOESY spectrum through cross-peaks observed between H-6''

(δ_H 6.22) and H-6 (δ_H 5.91) indicating the presence of a C-O-C linkage of the proposed dimer as described for zenkerinol (2). The coupling constants of protons of the cyclohexyl units (cycles C and F) indicated, however, clearly the *trans*-relationships between H-2 (δ_H 4.75; J = 9.4 Hz) and H-3 (δ_H 4.03; J = 9.4; 8.3 Hz) which also evolved a *trans*-relationship with H-4 (δ_H 3.20; J = 8.3 Hz). For the second lower unit, we observed the same *trans*-diaxial relationships between H-2'' (δ_H 4.67; J = 8.3 Hz) and H-3'' (δ_H 4.11; J = 8.3; 4.2 Hz) [Table 2]. These data corroborated the relative stereochemistry found for other analogs described in the literature.^[9,27,28] The additional data emphasized on the double linkage between the two flavan-3-ol units by the 4α→8 and the upper and lower unit identified as a new procyanidin B3 derivative. The structure of 1 was therefore determined as (2R*,3S*,4S*,2''R*,3''S*)-catechin-(4α→8)-(5-O-7'')-catechin-(4α→8)-(5-O-7'')-catechin, a new compound, namely, dihydrozenkerinol.

In vitro Antimalarial Activity

The increasing of resistance from parasitic disease, especially malaria, is common nowadays. For this reason, ethnopharmacological approaches appear to be a promising way to find phytochemicals that could be used as templates for designing new derivatives

Table 2: ¹H and ¹³C-NMR spectroscopic data of compound 1 (500 and 125 MHz in DMSO-*d*₆) δ in ppm

Position	δ _C	δ _H (-OH) ; m ; J (Hz)	HMBC (C→H)
1	/	/	/
2	78.6	4.75 ; d ; 9.4	H-C (2')
3	65.4	4.03 ; m ; 9.4 ; 8.3	H-C (4)
4	49.1	3.20 ; d ; 8.3	H-C (3) ; OH-C (3)
4a	99.7	/	H-C (3) ; H-C (6) ; H-C (8)
5	156.7*	/	H-C (6)
6	95.6	5.91 ; d ; 2.3	/
7	156.7*	(8.91)	H-C (6) ; HO-C (7)
8	94.6	5.74 ; d ; 2.3	H-C (6)
8a	156.2*	/	H-C (8) ; H-C (2) ; OH-C (7)
1'	120.2	/	H-C (2') ; H-C (2)
2'	115.4	6.91 ; d ; 1.7	H-C (6') ; OH-C (3')
3'	145.0	(8.81)	H-C (2') ; OH-C (4')
4'	144.9	(8.73)	H-C (5') ; OH-C (3')
5'	115.4	6.68 ; d ; 7.2	H-C (6') ; OH-C (4')
6'	118.4	6.67 ; dd ; 7.2 ; 1.7	H-C (2) ; OH-C (5')
1''	/	/	/
2''	78.5	4.67 ; d ; 8.3	H-C (2'')
3''	63.3	4.11 ; m ; 8.3 ; 4.2	H-C (4''β) ; H-C (4''α)
4''	28.7	2.47 ; dd ; 16.7 ; 4.2 2.68 ; dd ; 16.7 ; 5.9	H-C (2'')
4a''	99.0	/	H-C (4β'') ; OH-C (5'') ; H-C (4''β)
5''	157.0*	(9.12)	H-C (4β'') ; H-C (4''α) ; OH-C (5'')
6''	98.9	6.22 ; s	OH-C (5'')
7''	156.2*	/	H-C (6'') ; OH-C (4)
8''	102.1	/	H-C (4) ; H-C (6'')
8a''	156.7*	/	/
1'''	130.9	/	H-C (2'') ; H-C (5''')
2'''	115.4	6.91 ; d ; 1.7	H-C (2'') ; OH-C (2''') ; H-C (6''')
3'''	145.0	(8.81)	H-C (4''') ; OH-C (3''')
4'''	144.9	(8.73)	H-C (5''') ; OH-C (3''') ; OH-C (4''')
5'''	115.4	6.68 ; d ; 7.2	H-C (6''') ; OH-C (4''')
6'''	118.4	6.67 ; dd ; 7.2 ; 1.7	H-C (2''') ; H-C (5''')

*Signals can be interchanged. Assignments were confirmed by DEPT-135, HSQC, HMBC, ¹H-¹H COSY, and NOESY experiments

with improved MDR properties.

The antimalarial activity screening against CQR, 7G8 and Dd2 of *P. falciparum* strains for some isolated compounds (2, 4-10) together with *C. zenkeri* and *C. vogelii* methanol extracts was performed according to pLDH and the Sybr Green 1 fluorescence-based assays. Results which are summarized in Figure 3 indicate the percentage growth inhibition of a *P. falciparum* MDR strain (Dd2).

It was confirmed that the genus *Campylospermum* is used in traditional antimalarial therapy in Southern Cameroon and Centre Africa region and exhibited strong *in vitro* anti-plasmodial activity.^[6] The methanol extract of *C. zenkeri* has the highest activity, due to its higher inhibition percentage (87.74%), while methanol extract of *C. vogelii* showed weak *in vitro* antiplasmodial activity with 64.37% inhibition against the same strain compared to ART, 94.74%. Among the compounds tested, apart compounds 4, 5, 7, and 11, which were inactive or showed weak activity which was equal to or <70% of inhibition, compounds 6, 9, 2, and campylospermine (10) showed strong antiplasmodial activity against *P. falciparum* (Dd2) *in vitro*. For Dd2 strain, the inhibition percentage range for active compounds was 70–81%. The results are summarized in Table 1. This result becomes a basis to the next assay to determine antimalarial activity of the potential extracts and phytocompounds using IC_{50} as a parameter of activity. Considering a cutoff of 70% inhibition for potential hits, a total of four purified products and one extract have been selected for onward hit confirmation by dose-response experimental analyses. The IC_{50} value from *C. zenkeri* methanol extract showed that it was active as antimalarial with $IC_{50} = 50 \mu\text{g/mL}$ against CQ-resistant *P. falciparum* Dd2 strain. Nevertheless, above promising compounds due to their IC_{50} values >100 $\mu\text{g/mL}$ exhibit no apparent antiplasmodial activity compared to ART and CQ with IC_{50} 15.46 and 257.3 μM , respectively. No antiplasmodial test was done

with dihydrozenkerinol (1) due to the small sample amount. Nevertheless, the skeletal type analog (2) showed a strong inhibition percentage against Dd2. Campylospermine (10) exhibited the strongest antiplasmodial activity against *P. falciparum* Dd2 strain as described above. Due to its good activity against Dd2 strain of *P. falciparum*, we undertook to make another test against another CQR, 7G8 to confirm this activity. This later showed better results against 7G8 strain, with 98 and 100% inhibition at concentrations of 100 and 10 $\mu\text{g/mL}$ [Figure 4]. In addition, according to Table 3 and Figure 5, compound 10 showed a promising activity with IC_{50} value of $5.9155 \pm 2.9507 \mu\text{g/mL}$, compared to the positive control DHA, IC_{50} value $0.002121 \pm 0.001510 \mu\text{g/mL}$ (7G8). Regarding

Table 3: *In vitro* antiplasmodial activity values for compound 10 and drug standard DHA against *P. falciparum* 7G8 strain

Inhibition parameter	Compound 10	DHA
IC_{50} ($\mu\text{g/mL}$)	5,9155	0,002121
Standard deviation ($\mu\text{g/mL}$)	2,9507566	0,00151038

P. falciparum: *Plasmodium falciparum*

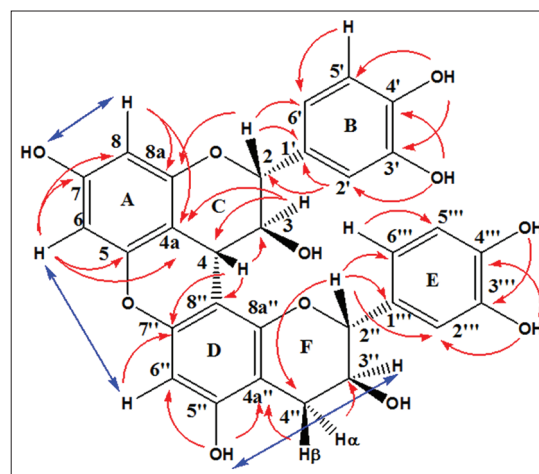


Figure 2: Major HMBC (→) and NOESY (↔) correlations of compound 1

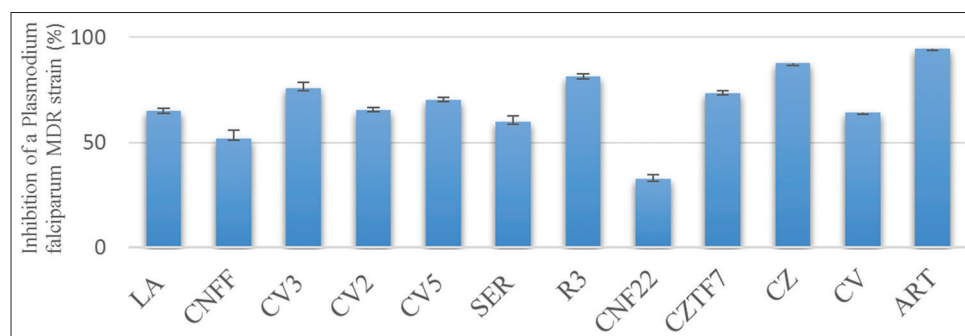


Figure 3: Inhibition percentage of isolated compounds and *Campylospermum* extracts against *Plasmodium falciparum* MDR Dd2 strain

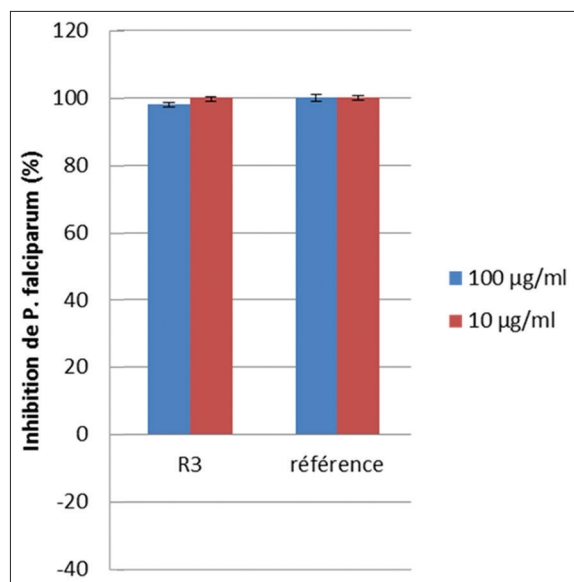


Figure 4: Inhibition percentage of campylospermine (10) compared to that of standard dihydroartemisinin against *Plasmodium falciparum* (7G8)

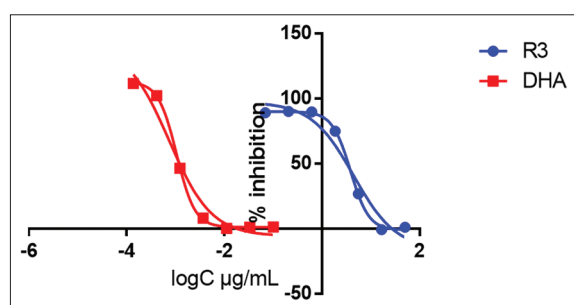


Figure 5: Dose-dependent growth inhibition curves of *Plasmodium falciparum* 7G8 by compound 10 compared to that of standard dihydroartemisinin

the SAR of artemisinin and other analogs, this later possesses a trioxane moiety which essentially consists of the endoepoxide and doxepin oxygen that evidently displayed a rather simplified versions of 3-aryltrioxanes, which are responsible for exerting the antimalarial activity against the parasite. Campylospermine (10) possesses *N*-OH bond which could exert antimalarial activity such as hydroxamic acids and cordypyridones A and B which exhibited potent *in vitro* antimalarial activity due to their hydroxyl group on nitrogen atom.^[29] This compound was isolated from *C. vogelii* which do not possess interesting activity *in vitro*. This may be explained by the fact that some compounds can only become active after metabolization, so they do not display good activity *in vitro*. This absence of activity could also be explained by an action on another stage of the *Plasmodium* (sporozoites and gametocytes), the *in vitro* test focusing on the erythrocytic stage of the parasite (trophozoites, schizonts, and merozoites).^[30]

The antiplasmodial activity displayed *in vitro* by the crude extract of *C. zenkeri* and *C. vogelii*, and some of its phytoconstituents seem to confirm earlier reports describing the traditional use of this plant for the treatment of malaria by populations from the Centre region of Africa.^[9,11,15] It was confirmed that some compounds isolated from the two plants, especially, linear amide alkaloid such as campylospermine (10) had strong antimalarial activity making it good candidate for further scientific research on antiplasmodial drug discovery and development.

Finally, by correlating the results of the antimalarial activity test with those of the phytochemical study, we observed that all the extracts possessing antiplasmodial inhibitory properties were positive for the presence of alkaloids and biflavonoids. These results are in agreement with previous reports on the antiplasmodial properties of both types of chemical compounds and their presence in several plants with antimalarial ethnomedicinal uses.^[30]

CONCLUSION

Investigation of the crude methanol extract of *C. vogelii* roots and a fraction of *C. zenkeri* stem bark has led to the isolation of eight and five compounds, respectively, belonging to many classes. Among the isolated compounds from *C. zenkeri*, a new derivative of procyanidin B3 biflavonoid named dihydrozenkerinol (1) with skeletal type similar to zenkerinol (2) was described. The *in vitro* antimalarial screening of the nine tested compounds from *C. zenkeri* and *C. vogelii* was evaluated. At least four of the nine compounds showed an excellent *in vitro* inhibition of the Dd2 strain of *P. falciparum*. The most *in vitro* antimalarial activity was obtained with campylospermine which showed promising activity. Among extracts, *C. zenkeri* displayed good *in vitro* inhibitory properties, whereas *C. vogelii* showed a poor antiparasitic activity. According to the phytochemical study of plant extracts and the available literature, flavonoids and alkaloids seem to be the compounds responsible for the parasitic inhibition in the extracts evaluated.

ACKNOWLEDGMENTS

Financial support provided by the DAAD/STIBET Doktoranden Scholarship (2015) is duly acknowledged. The authors are also grateful to the Philipps-Universität Marburg, the Chemistry Department, and the Koert's Group, especially M. Oliver Born for his assistance during mass spectral analyses. We would like to thank Dr. Lawrence Ayong from Centre Pasteur in Yaoundé for antiplasmodial test. We finally thank Mr. Victor NANA (National

Herbarium of Cameroon) for his assistance in the collection and identification of the plant material.

REFERENCES

1. Abbas AY, Muhammad I, Bilbis LS, Saidu Y, Onu A. *In vitro* antimalarial activity of some Nigerian medicinal plants. *J Pharmacog Phytochem* 2017;6:885-8.
2. Wele M, Kirkman L, Diarra N, Goita Y, Doumbia M, Traore K, *et al.* Antiplasmodial potential and phytochemical screening of ten plants used as antimalarial in Mali. *Eur J Med Plants* 2017;19:1-9.
3. Available from: <http://www.WHO.int/mediacentre/factsheets/fs094/en/>. [Last accessed on 2017 Nov 20].
4. Bayiha Ba Njock G, Grougnet R, Efstathiou A, Smirlis D, Genta-Jouve G, Michel S, *et al.* Nitrile glucoside and biflavones from the Leaves of *Campylospermum excavatum* (Ochnaceae). *Chem Biodivers* 2017; 14(11): DOI:/10.1002/cbdv.201700241.
5. Bouquet A. *Féticheurs et Médecine Traditionnelles du Congo* (Brazzaville). Vol. 36. Paris: ORSTOM; 1969. p. 177-8.
6. Ngono Bikobo DS, Nkot JL, Mosset P, Atchadé AT, Ndongo JT, Pemha R, *et al.* Acylsteryl glycosides and other constituents from *Campylospermum densiflorum* (Ochnaceae). *Rasayan J Chem* 2011;4:753-63.
7. Ngono Bikobo DS, Abouem A Zintchem A, Mbabi Nyemeck IInd N, Atchadé AT, Bayiha Ba Njock G, *et al.* Secondary metabolites from *Campylospermum oliverianum* (Farron), *Campylospermum glaucum* (Tiegh) and *Campylospermum dybowskii* (Van Tiegh). *Int J Phyto Pharm Res* 2015;7:119-27.
8. Messi AN, Ngo Mbing J, Ndongo JT, Nyegue MA, Tchinda AT, Yemeda FL, *et al.* Phenolic compounds from the roots of *Ochna schweinfurthiana* and their antioxidant and antiplasmodial activities. *Phytochem Lett* 2016;17:119-25.
9. Mbabi Nyemeck IInd N, Ngono Bikobo DS, Abouem A Zintchem A, Schäfer EM, Bochet CG, *et al.* A new procyanidin B from *Campylospermum zenkeri* (Ochnaceae) and antiplasmodial activity of two derivatives of (±) serotobenine. *Nat Prod Res* 2017;31:2875-84.
10. Smilkstein M, Sriwilajaroen N, Kelly JX, Wilairat D, Riscoe M. Simple and inexpensive fluorescence based technique for high-throughput antimalarial screening. *Antimicrob Agents Chemother* 2004;48:1803-6.
11. Johnson JD, Dennul RA, Genena L, Lopez-Sanchez M, Roncal NE, Waters NC. Assessment and continued validation of the malaria Sybr green I-based fluorescence assay for use in malaria drug screening. *Antimicrob Agents Chemother* 2007;51:1926-33.
12. Desjardins RE, Candfield CJ, Haynes JD, Chalay JD. Quantitative assessment of antimalarial activity in vitro by Semi automated microdilution technique. *Antimicrob Agents Chemother* 1979;16:710-8.
13. Chinchilla M, Valerio I, Sanchez R, Mora V, Bagnarello V, Martinez L, *et al.* *In vitro* antimalarial activity of extracts of some plants from biological reserve in Costa Rica. *Rev Biol Trop* 2012;60:881-91.
14. Trager W, Jensen JB. Human malaria parasites in continuous culture. *Science* 1976;193:673-5.
15. Makler MT, Ries JM, Williams JA, Bancroft JE, Piper, RC, Gibbins BL, *et al.* Parasite lactate dehydrogenase as an assay for *Plasmodium falciparum* drug sensitivity. *Am J Trop Med Hyg* 1993;48:739-41.
16. Arnot DE, Cavanagh DR, Remarque EJ, Creasey AM, Sowa MP, Morgan WD, *et al.* Comparative testing of six antigen-based Malaria vaccine candidates directed toward merozoite-stage *Plasmodium falciparum*. *Clin Vaccine Immunol* 2008;15:1345-55.
17. Gunasekar D, Jayaprakasam B, Damu AG. Polyphenol Commun. 98, XIXth International Conference on Polyphenols, Lille (France); 1998. p. 175.
18. Ebeh Messanga R, Ngono Bikobo DS, Abouem A Zintchem A, Mbabi Nyemeck IInd N, Moni Ndedi EDF, *et al.* Rauvolfanine, a new antimycobacterial glyceroglycolipid and other constituents from *Rauvolfia caffra* Sond (Apocynaceae). *Nat Prod Res* 2017. DOI: org/10.1080/14786419.2017.1356832.
19. Doucouré A, Garcia J, Koné D, Aliou AK, Keïta JN. Isolement de la 3-O-methylquercetine des fleurs de *Vernonia galamensis* (Cass.) Less. *J Soc Ouest Afr Chim* 2010;30:93-102.
20. Evina JN, Ngono Bikobo DS, Abouem A Zintchem A, Mbabi Nyemeck IInd N, Moni Ndedi EDF, *et al.* *In vitro* antitubercular activity of extract and constituents from the stem bark of *Disthemonanthus benthamianus*. *Rev Bras Farmacol* 2017;27:739-43.
21. Tiam ER, Ngono Bikobo DS, Abouem A Zintchem A, Mbabi Mbabi Nyemeck IInd N, Moni Ndedi EDF, *et al.* Secondary metabolites from *Triclisia gillettii* (De Wild) Staner (Menispermaceae) with antimycobacterial activity against *Mycobacterium tuberculosis*. *Nat Prod Res* 2017. DOI: org/10.1080/14786419.2017.1402324.
22. Ngono Bikobo DS, Mosset P, Abouem A Zintchem A, Atchadé AT, Balemaken Missi M, *et al.* Campylospermine, an N-Hydroxy-alkaloid from the leaves of *Campylospermum densiflorum* (Ochnaceae). *Int J Phyto Pharm Res* 2014;6:719-28.
23. Abouem A Zintchem A, Ngono Bikobo DS, Atchadé AT, Ngo Mbing J, Gangoue-Pieboji J, *et al.* Nitrile glucosides and serotobenine from *Campylospermum glaucum* and *Ouratea turnarea*. *Phytochemistry* 2008;69:2209-13.
24. Shen CC, Chang YS, Ho LK. Nuclear magnetic resonance studies of 5, 7-dihydroxyflavonoids. *Phytochemistry* 1993;34:843-5.
25. Taniguchi S, Kuroda K, Yoshikado N, Doi KI, Tanabe M, Shibata T, *et al.* New dimeric flavans from *Gambir*, an extract of *Uncaria gambir*. *Heterocycles* 2007;74:595-605.
26. Ragab EA, Mohammed AE, Abbass HS, Kotb SI. A new flavan-3-ol dimer from *Ficuss pragueana* leaves and its cytotoxic activity. *Pharmacog Mag* 2013;9:144-8.
27. Messanga BB, Ghogomu R, Sondengam BL, Martin MT, Blond A, Brouard JP, *et al.* A new guibourtinidoI-(4 α →8)-afzelechin from *Ochna calodendron*. *Planta Med* 1998;64:760-1.
28. Klika KD, Ricarte I, Trevisan MT, Silva MG, Owen RW. (2R, 3S, 4S, 2''R,3''S)-guibourtinidol-(4 α →8)-catechin, a bioflavonoid procyanidin of the proguibourtinidin group from *Senna macranthera*: Its relative stereochemistry and conformation. *Tetrahedron* 2015;26:247-50.
29. Isaka M, Morakot T, Palangpo K, Yodhathai T. Structures of cordypyridones A-D, antimalarial N-hydroxy and N-methoxy-2-pyridones from the insect pathogenic fungus *Cordyceps nipponica*. *J Org Chem* 2001;66:4803-8.
30. Bero J, Frederich M, Quetin-Leclercq J. Antimalarial compounds isolated from plants used in traditional medicine. *J Pharm Pharmacol* 2009;61:1401-33.

Secondary metabolites from *Campylospermum oliverianum* (Farron), *Campylospermum glaucum* (Tiegh) and *Campylospermum dybowskii* (Van Tiegh)

*Dominique Serge Ngono Bikobo¹, Auguste Abouem A Zintchem^{1,2}, Norbert Mbabi Nyemeck II¹, Alex de Théodore Atchade¹, Gaetan Bayiha Ba Njock¹, Paul Mosset³ and Dieudonné Emmanuel Pegnyemb¹

¹Department of Organic Chemistry, Faculty of Science, University of Yaoundé 1, P.O Box 812, Yaoundé, Cameroon.

²Department of Chemistry, Higher Training College, University of Yaoundé 1, P.O Box 47, Yaoundé, Cameroon.

³Université de Rennes 1, Institut des Sciences Chimiques de Rennes, CNRS UMR 6226, Avenue du Général Leclerc, 35042 Rennes Cedex, France

Available Online : 1st February, 2015

ABSTRACT

According to some specialists, the *Ouratea* genus has traditionally included the genera *Campylospermum*, *Rhabdophyllum* and *Idertia* of the Ochnoideae clade. Moreover, some other authors consider this relationship as controversial, partially due to the lack of a robust phylogenetic framework. Secondary metabolites can appear as chemotaxonomic markers; thus, a bridge can be applied in phylogeny between genetics and morphology. In order to evaluate chemotaxonomic position of *Campylospermum* and *Ouratea* genera, detailed chemical investigations on *C. oliverianum*, *C. glaucum* and *C. dybowskii* afforded several classes of known compounds (3, 4, 5, 7, 13, 14, 15, 16, 18, 21, 29, 30 and 31), most of them were previously isolated from the *Ouratea* genus, hence strengthening the generic concept which suggests that the *Campylospermum* genus seems to be closed to *Ouratea*'s one.

Keywords: *Campylospermum*; *Ouratea*; Ochnaceae; chemotaxonomic significance; flavonoids; indole alkaloids.

INTRODUCTION

The Ochnaceae family is a woody pantropical one, comprising 500 species and 27 genera. The highest diversity is found in the Neotropics with 15 genera and about 300 – 350 species. Africa has nine genera and about 150 species¹. In this family, the tribe Ochneae displays particular traits; this latter one is characterized by three most genera: *Ouratea*, *Ochna* and *Campylospermum*².

The *Ouratea* genus is represented by trees or shrubs, usually completely glabrous with sepals caduceous. The *Campylospermum* genus (Ochnaceae) includes 50 species, trees or shrubs with sepals persistent, mainly occurring in tropical zone of Africa, Madagascar and extending to South West of Asia^{3,4}. It is a member of the subfamily Ochnoideae, tribe Ochneae, subtribe Ouratinae⁵. The whole subtribe contains three other genera: *Rhabdophyllum*, *Ouratea* and *Idertia*⁵, confirmed by a recent study on the newest phylogeny classification of the pantropical Ochnaceae². According to some botanical reports, the use of the broader genus concept in which *Ouratea* gathers the genera *Campylospermum*, *Idertia*^{6,7,8} and sometimes *Rhabdophyllum*³ has a preference. Other specialists adopt a conservative approach simply based on morphology which enables a demarcation among these four members of the subtribe Ouratinae⁴. Nowadays, *Ouratea* Aubl.

seems to be confined to South America, when all Old World species are said to be considered as either *Campylospermum* Tiegh., *Rhabdophyllum* Tiegh. or *Idertia* Farron ones⁹. Despite this insufficient resolution in the phylogenetic tree and poor taxonomic treatment of this subfamily², many species belonging to the *Campylospermum* genus are used in folk medicine in the treatment of gastric pains, gonorrhoea, icterus, whitlow and as aphrodisiac¹⁰.

The objective of this study was to isolate compounds that might be used as taxonomic markers to enable an elucidation of the relationships in systematic position between *Campylospermum* and *Ouratea* genera.

EXPERIMENTAL

Optical rotations were measured on a Perkin–Elmer 341 polarimeter. NMR spectra were run on a Bruker instrument equipped with a 5 mm ¹H and ¹³C probe operating at 400 and 100 MHz, respectively, with TMS as internal standard. ¹H assignments were made using 2D-COSY and NOESY (mixing time 500 ms) while ¹³C assignments were made using 2D-HSQC and HMBC experiments. For this latter, the delay was 70 ms. Melting points were measured on a Büchi apparatus and are uncorrected. IR data were measured on a JASCO FTIR-300E spectrometer with KBr

pellets. The HR-ESI mass spectra were run on an Applied Biosystems API Q-STAR PULSAR. The EIMS was recorded on a JEOL JMSD-300 instrument. Column chromatography was carried out using silica gel of 70–230 mesh (Merck) and Sephadex LH-20. Aluminum sheets precoated with silica gel 60 F₂₅₄ (20 x 20 cm, 0.2 mm thick; E-Merck) were used for TLC to check the purity of the compounds and were visualized under UV light (254 and 366 nm), followed by iodine vapor revelation. The respective solvents hexane, CH₂Cl₂ and EtOAc were used in the partitioning of the extracts. The solvent systems for elution were: CH₂Cl₂/MeOH at increasing polarity (from pure CH₂Cl₂ to 100% MeOH) and pure MeOH.

The leaves of *C. oliverianum* (Farron) were collected at Countryside in south Region of Cameroon in December 2005, leaves of *C. glaucum* (Tiegh) were harvested at Sok Elle in Centre Region of Cameroon in December 2004 and leaves of *C. dybowskii* (Van Tiegh) were collected at Akonolinga in December 2012 in Centre Region of Cameroon, all species were identified by the senior botanist Victor Nana, being a voucher for each species (No 27057/HNC), (No. 28192/SRF/CAM) and (No. 30053/HNC), respectively, were deposited at the National Herbarium of Cameroon, Yaoundé.

In this paper, we report the isolation of compounds belonging to various classes from the leaves of *C. oliverianum*, *C. glaucum* and *C. dybowskii*. All these compounds (Fig. 1) were identified by IR, ¹H and ¹³C NMR, associated to 2D-dimensional techniques and their structural elucidation was confirmed by literature data.

Dried and powdered leaves of *C. oliverianum* (450 g) were extracted with MeOH at room temperature. The extract was filtered and concentrated *in vacuo* to obtain a residue (46 g) which was partitioned with hexane, CH₂Cl₂ and EtOAc. The EtOAc part (21 g) was successively fractionated on a silica gel column, eluting with a gradient solvent system (CH₂Cl₂/MeOH) giving four main fractions O₁ (4.5 g), O₂ (2.1 g) O₃ (5.4 g) and O₄ (9.0 g). Fraction I, O₁ (4.5 g) was chromatographed in a silica gel (500 g) CC using the solvent system CH₂Cl₂/MeOH (from 30/1 to 15/1) to give three sub-fractions O_{1a} (0.88 g), O_{1b} (1.66 g) and O_{1c} (1.96). Sub-fraction O_{1b} (1.66 g) was further purified by Sephadex LH-20 (MeOH) and preparative TLC (CH₂Cl₂/MeOH: 15/1) to yield menisdaurin (**4**, 14 mg)¹¹.

Sub-fraction O_{1c} (1.96 g) was purified on a silica gel (180 g) CC using CH₂Cl₂/MeOH (from 30/1 to 10/1) to furnish dhurrin (**5**, 6 mg)¹². Fraction II, O₂ (2.1 g) was chromatographed in a silica gel (200 g) CC using the solvent system CH₂Cl₂/MeOH (from 25/1 to 8/1) to give three sub-fractions O_{2a} (0.81 g), O_{2b} (0.62 g) and O_{2c} (0.68 g). Sub-fraction O_{2b} (0.62 g) was subjected to Sephadex LH-20 (MeOH) CC rendering serotobenine (**7**, 18 mg)¹³. Using the same process as above, fraction IV, O₄ (9.0 g) gave four sub-fractions O_{4a} (0.94 g), O_{4b} (1.28 g) O_{4c} (3.98 g) and O_{4d} (2.8 g). Sub-fraction O_{4d} (2.8 g) was repeatedly subjected on Sephadex LH-20 (MeOH) to yield a mixture of steroids identified as campesterol, sistosterol, and stigmasterol-3-*O*-β-D-glucopyranoside (**29**, **30** and **31**, 11 mg)¹⁴.

Dried and powdered leaves of *C. glaucum* (600 g) were extracted as previously described. The EtOAc part (18 g) was fractionated by column chromatography on silica gel using the same solvent system as mentioned above to give four Fraction G₁ (2.79 g), G₂ (4.29. g) G₃ (1.24 g) and G₄ (9.68 g). Fraction I, G₁ (2.79 g) gave three sub-fractions G_{1a} (0.72 g), G_{1b} (1.02 g) and G_{1c} (1.05 g). Sub-fraction G_{1b} (1.02 g) was in turn subjected to a silica gel CC using the solvent system CH₂Cl₂/MeOH (from 25/1 to 8/1) to afford 6''-*O*-acetylvitexin (**13**, 8 mg)¹⁵ and isoliquiritigenin (**16**, 5 mg)¹⁶. Fraction II, G₂ (4.29 g) was subjected to CC on silica gel (400 g) and eluted with the solvent system CH₂Cl₂/MeOH (from 30:1 to pure MeOH) to give four sub-fractions G_{2a} (1.46 g), G_{2b} (0.92 g), G_{2c} (0.98 g) and G_{2d} (0.93 g). Sub-fraction G_{2c} (0.98 g) was submitted to a silica gel (120 g) CC eluted with CH₂Cl₂/MeOH (20/1 to 8/1); further chromatographic analyses using repeated preparative TLC (CH₂Cl₂/MeOH: 15/1 to 8/1) afforded lanceolin C (**3**, 12 mg)¹⁷ and serotobenine (**7**, 12 mg)¹³. Sub-fraction G_{2d} (0.93 g) was subjected to repeatedly CC to Sephadex LH-20 using MeOH to provide amentoflavone (**18**, 7 mg)¹⁸.

Dried and powdered leaves of *C. dybowskii* (400 g) were also extracted as above. The resulting EtOAc part (18 g) was silica gel chromatographed using a binary gradient solvent system (CH₂Cl₂/MeOH: 30/1 to 8/1) producing four fractions D₁ (3.2 g), D₂ (2.8 g) D₃ (7.1 g) and D₄ (4.9 g). Fraction II, D₂ (2.8 g) was in turn subjected to a silica gel CC and to Sephadex LH-20 CC one (200 g) to provide three sub-fractions D_{2a} (0.71 g), D_{2b} (1.0 g) and D_{2c} (1.09 g). Sub-fraction D_{2b} (1.0 g) was submitted to a silica gel (100 g) CC eluted with CH₂Cl₂/MeOH (20/1 to 15/1) to afford 2''-*O*-acetyl-7-*O*-methylvitexin (**14**, 12 mg)¹⁹ and 4-*O*-methylvitexin (**15**, 9 mg)²⁰. Fraction III, D₃ (7.1 g) was subjected to CC on silica gel (700 g) and eluted with the solvent system CH₂Cl₂/MeOH (from 20/1 to pure MeOH) to give four sub-fractions D_{3a} (0.94 g), D_{3b} (1.87 g), D_{3c} (2.59 g) and D_{3d} (1.7 g). Sub-fraction D_{3b} (1.87 g) was chromatographed using a silica gel (200 g) CC with the solvent system CH₂Cl₂/MeOH (from 20/1 to 8/1) giving sitosterol-3-*O*-β-D-glucopyranoside (**30**, 12 mg)²¹. Sub-fraction D_{3c} (2.59 g) was subjected to successively Sephadex LH-20 (MeOH) CC rendering lanceolin C (**3**, 3 mg)¹⁷ and serotobenine (**7**, 25 mg)¹³. Sub-fraction D_{3d} (1.7 g) was chromatographed using a silica gel (200 g) CC with the solvent system CH₂Cl₂/MeOH (from 15/1 to 8/1) affording amentoflavone (**18**, 4 mg)¹⁸ and robustaflavone (**21**, 9 mg)²².

Compound **3** was identified as Lanceolin C¹⁷, an enantiomer of Campyloside A²³, through comparison of its spectral data (Table 1 and experimental section) with the previously published ones: White solid, [α]_D²⁵ +28° (c 0.1, MeOH); m.p 297-299°C, IR ν_{max}^{KBr} cm⁻¹ 3320, 2215, 1718, 1623, 1602, 1501; TLC Rf: 0.35 (CH₂Cl₂/MeOH: 95/5); HR-ESI MS m/z: 452.162 [M+H]⁺ ¹H-NMR (DMSO-*d*₆, 400 MHz) δ_H: 5.77 (1H, s, H-2), 4.74 (1H, dd., J = 8.5, 1.5 Hz, H-4), 4.79 (1H, dd, J = 8.5 Hz, H-5), 3.08 (1H, m, H-6), 2.23, 1.96 (2H, m, H-7), 4.87 (1H, dd, J = 10.2, H-8); Sugar: δ_H: 4.38 (1H, d, J = 7.5 Hz, H-1''); Aromatic ring: δ_H range 8.04-7.66. ¹³C-NMR (DMSO-*d*₆, 100 MHz): δ_C:

117.7 (C-1), 96.3 (C-2), 164.9 (C-3), 69.2 (C-4), 79.2 (C-5), 66.9 (C-6), 35.3 (C-7), 75.3 (C-8); Sugar moiety: δ_C : 102.2 (C-1''), 78.3 (C-5''), 77.9 (C-3''), 74.6 (C-2''), 71.2 (C-4'') and 62.3 (C-6''); Aromatic ring: δ_C : 166.5 (C-7'), 134.6 (C-4'), 131.3 (C-1'), 130.8 (C-2', C-6'), 129.9 (C-3', C-5').

Compound **4** was identified as menisdaurin, through comparison of its spectral data (Table 1 and experimental section) with those from literature¹¹. White solid, m.p 297-299°C, IR ν_{\max}^{KBr} cm^{-1} 3340, 2220, 1750, 1040; TLC Rf: 0.30 (CH₂Cl₂/MeOH: 95/5); HR-ESI-TOF MS m/z : 336.1059 [M+Na]⁺ ¹H-NMR (DMSO-*d*₆, 400 MHz). δ_H : 6.28 (1H, d, J = 9.1 Hz, H-4), 6.22 (1H, ddd, J = 9.1, 3.3, 1.3 Hz, H-5); Sugar: δ_H : 4.58 (1H, d, J = 7.5 Hz, H-1''); ¹³C-NMR (DMSO-*d*₆, 100 MHz): δ_C : 118.0 (C-1), 125.9 (C-4), 141.2 (C-5); Sugar moiety: δ_C : 99.8 to 62.6 (C-1'-C6').

Compound **5** was identified as dhurrin through comparison of its spectral data (Table 1 and experimental section) with the previously published ones¹². White amorphous solid, IR ν_{\max}^{KBr} cm^{-1} 3320, 2106, 1510, 1095; TLC Rf: 0.38 (CH₂Cl₂/MeOH: 95/5); EI-MS m/z : 311 [M]⁺. ¹H-NMR (DMSO-*d*₆, 400 MHz). δ_H : 5.90 (1H, s, H-2); Aromatic ring: δ_H 7.39 (2H, d, J = 8.6 Hz, H-4,8), 6.79 (2H, d, J = 8.6 Hz, H-5,7); Sugar moiety: δ_H : 4.62 (1H, d, J = 7.6 Hz, H-1'). ¹³C-NMR (DMSO-*d*₆, 100 MHz): δ_C : 118.8 (C-1), 68.3 (C-2), 126.0 (C-3), 130.7 (C-4,8), 116.4 (C-5,7), 104.0 (C-6).); Sugar moiety: δ_C 100.8 (C-1'), 73.2 (C-2'), 76.9 (C-3'), 71.2 (C-4'), 77.3 (C-5'), 61.9 (C-6').

Compound **7** was identified as Serotobenine through comparison of its spectral data (Table 1 and experimental section) with the previously mentioned ones¹³. White solid m.p 284-286°C, IR ν_{\max}^{KBr} cm^{-1} 3398, 2950, 1670, 1520; TLC Rf: 0.52 (CH₂Cl₂/MeOH: 95/5); HR-ESI-TOF MS m/z : 349.1079 [M-H]⁻ ¹H-NMR (DMSO-*d*₆, 400 MHz). δ_H : 7.16 (1H, s, H-2), 7.20 (1H, d, J = 8.6 Hz, H-6), 6.67 (1H, d, J = 8.6 Hz, H-7); 3.05 and 2.91 (2H, t, J = 9.6, 3.5 Hz, H-10), 4.10, 4.35 (2H, t, J = 9.6, 7.9, 3.5 Hz, H-11), 6.14 (1H, d, J = 9.8 Hz, H-15), 4.77 (1H, d, J = 9.8 Hz, H-14); Aromatic ring: δ_H range 6.78-6.99 (H-1'-H-6'), 3.75 (3H, s, CH₃O-). ¹³C-NMR (DMSO-*d*₆, 100 MHz): δ_C : 125.1 (C-2), 111.3 (C-3), 113.9 (C-4), 151.8 (C-5), 110.5 (C-6), 104.0 (C-7), 132.5 (C-8), 122.5 (C-9), 29.4 (C-10), 40.1 (C-11), 170.5 (C-13), 53.2 (C-14), 84.2 (C-15) and 55.6 (CH₃O-); Aromatic ring: δ_C range 147.6 - 110.6 (C-1'-C6').

Compound **13** was identified as 6''-O-acetylvitexin through comparison of its spectral data (Table 1 and experimental section) with the previously reported ones¹⁵. Yellow amorphous powder, IR ν_{\max}^{KBr} cm^{-1} 3280, 2950, 1745, 1520, 1105; TLC Rf: 0.40 (CH₂Cl₂/MeOH: 95/5); EI-MS m/z : 474 [M]⁺. ¹H-NMR (DMSO-*d*₆, 400 MHz). Flavonoid moiety: δ_H : 6.72 (1H, s, H-3), 6.02 (1H, d, s, H-6), 7.02 (2H, d, J = 8.5 Hz, H-2',6'), 6.72 (2H, d, J = 8.5 Hz, H-3',5'); Sugar moiety: δ_H : 4.91 (1H, d, J = 7.5 Hz, H-1''), 3.76 (1H, m, H-2'') 3.42 (1H, m, H-3''), 3.38 (1H, m, H-4''), 3.86 (1H, m, H-5''), 4.32, 4.05 (2H, dd, J = 10.5, 2.0 Hz, H-6''); Acetyl moiety: δ_H : 2.03 (CH₃-). ¹³C-NMR (DMSO-*d*₆, 100 MHz): δ_C : 161.9 (C-2), 104.1 (C-3), 182.3 (C-4), 161.5 (C-5), 98.1 (C-6), 162.9 (C-7), 108.1 (C-8)

105.1 (C-9), 158.9 (C-10), 122.9 (C-1'), 126.8 (C-2',6'), 116.9 (C-3',5'), 160.3 (C-4'); Sugar moiety: δ_C : 78.2 (C-1''), 72.9 (C-2''), 76.2 (C-3''), 73.4 (C-4''), 77.0 (C-5''), 64.9 (C-6''); Acetyl moiety: δ_C : 170.1 (C-1'''), 20.3 (CH₃-)

Compound **14** was identified as 2''-O-acetyl-7-O-methylvitexin through comparison of its spectral data (Table 1 and experimental section) with the literature ones¹⁹. Yellow amorphous powder, IR ν_{\max}^{KBr} cm^{-1} 3305, 1745; TLC Rf: 0.43 (CH₂Cl₂/MeOH: 95/5); EI-MS m/z : 488 [M]⁺. ¹H-NMR (DMSO-*d*₆, 400 MHz). Sugar moiety: δ_H : 4.85 (1H, s, H-1''), 4.39 (1H, m, H-2'') 3.81 (1H, m, H-3''), 3.32 (1H, m, H-4''), 3.80 (1H, m, H-5''), 3.82, 3.54 (2H, dd, J = 10.4, 2.0, H-6''), 3.73 (CH₃O-). Acetyl: 2.02 (CH₃-). ¹³C-NMR (DMSO-*d*₆, 100 MHz): δ_C : 96.8 (C-6), 165.2 (C-7), 106.8 (C-8), 122.9 (C-1'), 56.4 (CH₃O-); Sugar moiety: δ_C : 76.1 (C-1''), 74.1 (C-2''), 75.2 (C-3''), 69.9 (C-4''), 77.2 (C-5''), 62.9 (C-6''); Acetyl moiety: δ_C : 170.1 (C-1'''), 20.9 (CH₃-).

Compound **15** was identified as 4-O-methylvitexin through comparison of its spectral data (Table 1 and experimental section) with those from literature²⁰. Yellow amorphous powder, IR ν_{\max}^{KBr} cm^{-1} 3305; 2930 TLC Rf: 0.42 (CH₂Cl₂/MeOH: 95/5); EI-MS m/z : 448 [M]⁺. ¹H-NMR (DMSO-*d*₆, 400 MHz). Flavonoid moiety: δ_H : 6.82 (1H, s, H-3), 6.08 (1H, d, s, H-6), 7.52 (2H, d, J = 8.5 Hz, H-2',6'), 6.76 (2H, d, J = 8.5 Hz, H-3',5'), 3.79 (CH₃O-); Sugar moiety: δ_H : 4.71 (1H, d, J = 7.5 Hz, H-1''), 3.96 (1H, m, H-2'') 3.42 (1H, m, H-3''), 3.40 (1H, m, H-4''), 3.36 (1H, m, H-5''), 4.12, 3.95 (2H, dd, J = 10.5, 2.0 Hz, H-6''). ¹³C-NMR (DMSO-*d*₆, 100 MHz): Flavonoid moiety: δ_C : 162.0 (C-2), 104.1 (C-3), 182.3 (C-4), 160.9 (C-5), 98.1 (C-6), 162.8 (C-7), 106.2 (C-8), 158.9 (C-9), 105.1 (C-10), 122.9 (C-1'), 127.2 (C-2',6'), 116.8 (C-3',5'), 160.3 (C-4'), 56.9 (CH₃O-); Sugar moiety: δ_C range 76.0 - 61.9 (C-1'-C6').

Compound **16** was identified as Isoliquiritigenin through its spectral data (Table 1 and experimental section)¹⁶. Yellow solid powder, m.p 209-212°C. IR ν_{\max}^{KBr} cm^{-1} 3250, 3008, 1508, 1109; TLC Rf: 0.38 (CH₂Cl₂/MeOH: 95/5); EI-MS m/z : 256 [M]⁺. ¹H-NMR (DMSO-*d*₆, 400 MHz). δ_H : 7.08 (H, d, H-2,6), 6.69 (2H, d, H-3,5), 7.46 (1H, d, J = 15.4 Hz, H- α), 7.92 (1H, d, J = 15.4 Hz, H- β), 6.19 (1H, d, J = 2.4 Hz, H-3'), 6.32 (1H, dd, J = 8.6, 2.4 Hz, H-5'), 7.28 (1H, d, J = 8.6 Hz, H-6'). ¹³C-NMR (DMSO-*d*₆, 100 MHz): δ_C : 186.2 (CO), 124.4 (C-1), 127.8 (C-2,6), 115.9 (C-3,5), 159.9 (C-4), 122.6 (C- α), 144.8 (C- β), 119.9 (C-1'), 160.9 (C-2'), 101.9 (C-3'), 162.0 (C-4'), 102.9 (C-5'), 129.9 (C-6').

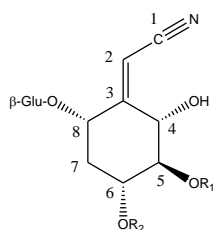
Compound **18** was identified as amentoflavone¹⁸. Yellow amorphous powder, TLC Rf: 0.29 (CH₂Cl₂/MeOH: 95/5); HR-ESI-TOF MS m/z : [M+H]⁺ à m/z 539,0929. ¹H-NMR (Acetone 400 MHz). δ_H : 6.72 (1H, s, H-3), 6.23 (1H, d, J = 2.1 Hz, H-6), 6.51 (1H, d, J = 2.1 Hz, H-8); 8.16 (1H, d, J = 2.4 Hz, H-2'), 7.20 (H, d, J = 8.7 Hz, H-5'), 8.01 (1H, dd, J = 8.7, 2.4 Hz, H-6'), 6.64 (1H, s, H-3''), 6.44 (1H, s, H-6''), 7.64 (2H, d, J = 8.8 Hz, H-2''',H-6'''), 6.82 (2H, d, J = 8.8 Hz, H-3''',H-5'''); ¹³C-NMR (Acetone, 100 MHz): δ_C : 163.5 (C-2), 104.4 (C-3), 184.6 (C-4), 163.5 (C-5), 99.7 (C-6), 164.4. (C-7), 94.6 (C-8), 161.8 (C-9), 104.2

(C-10), 122.3 (C-1'), 132.6 (C-2'), 116.7 (C-3'), 159.2 (C-4'), 117.8 (C-5'), 128.8 (C-6'), 164.2. (C-2''), 103.8 (C-3''), 182.7 (C-4''), 162.5 (C-5''), 99.8 (C-6''), 163.3 (C-7''), 103.6 (C-8''), 155.5 (C-9''), 104.5 (C-10''), 122.5 (C-1'''), 129.3 (C-2'''), 6'''), 116.8 (C-3'''), 5''').

Compound **21** was identified as robustaflavone (Table 1 and experimental section)²². Yellow amorphous powder, TLC Rf: 0.29 (CH₂Cl₂/MeOH: 95/5); HR-ESI-TOF MS m/z: [M+H]⁺ à m/z 539,0899. δ_H : 6.68 (1H, s, H-3), 6.19 (1H, d, J = 2.1 Hz, H-6), 6.52 (1H, d, J = 2.2 Hz, H-8); 8.11 (1H, d, J = 2.2 Hz, H-2'), 7.09 (H, d, J = 8.3 Hz, H-5'), 7.92 (1H, dd, J = 8.4, 2.2 Hz, H-6'), 6.69 (1H, s, H-3''), 6.04 (1H, s, H-6''), 7.44 (2H, d, J = 8.6 Hz, H-2''', H-6''), 6.68 (2H, d, J = 8.6 Hz, H-3''', H-5'''); ¹³C-NMR (Acetone, 100 MHz): δ_C : 163.7 (C-2), 104.5 (C-3), 182.4 (C-4), 163.7 (C-5), 98.7 (C-6), 164.9. (C-7), 94.2 (C-8), 160.1 (C-9), 103.5 (C-10), 121.3 (C-1'), 128.6 (C-2'), 116.2 (C-3'), 155.9 (C-4'), 126.9 (C-5'), 128.2 (C-6'), 163.7 (C-2''), 104.3 (C-3''), 182.1 (C-4''), 162.9 (C-5''), 105.9 (C-6''), 164.0 (C-7''), 96.9 (C-8''), 159.5 (C-9''),

104.8 (C-10''), 121.9 (C-1'''), 128.3 (C-2'''), 6'''), 116.1 (C-3'''), 5''').

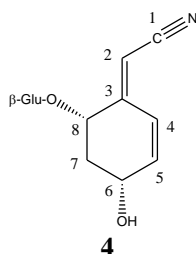
Compounds **29**, **30** and **31** were obtained throughout a mixture which was identified as campesterol, sistosterol, and stigmasterol-3-O- β -D-glucopyranoside (Table 1 and experimental section)¹⁴. White amorphous solid, TLC Rf: 0.41 (CH₂Cl₂/MeOH: 95/5); HR-ESI-TOF MS m/z: 599.4282, 597.4130 and 585.4133 [M+Na]⁺. ¹H-NMR (DMSO-*d*₆, 400 MHz). δ_H : 5.32 (1H, brs, H-6), 3.52 (1H, m, H-3), for campesterol and sistosterol (H-22 is not observed), 1.24 (1H, m, H-23) for stigmasterol 5.15 (1H, m, H-22), 5.03 (1H, m, H-23); Sugar moiety: δ_H : 4.25 (1H, d, J = 7.5 Hz, H-1') 4.22 (1H, d, J = 7.5 Hz, H-1') and 4.18 (1H, d, H-1'). ¹³C-NMR (DMSO-*d*₆, 100 MHz): δ_C : 76.2 (C-3), 140.5 (C-5), 121.0 (C-6), 12.0 (C-29) for campesterol δ_C 14.1 (C-28). For stigmasterol δ_C 137.9 (C-22), 128.7 (C-23). Sugar moiety: δ_C : 100.7 (C-1' sistosterol), 100.5 (C-1' campesterol) and 100.4 (C-1' stigmasterol), 72.8 (C-2'), 74.2 (C-3'), 71.5 (C-4'), 76.6 (C-5'), 64.2 (C-6').



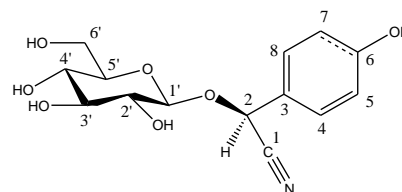
1 R₁= Bz, R₂= H (4S, 5S)

2. R₁= pyrrol-2-ylcarbonyl, R₂= Bz

3 R₁= Bz, R₂= H [enantiomer of **1**, (4R, 5R)]

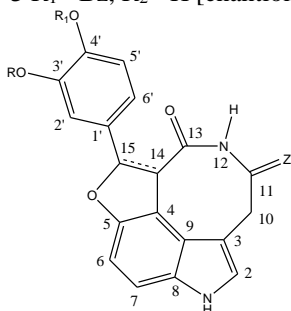


4



5 R= H, $\Delta^{6,7}$

6 R= H, 6,7-dihydro

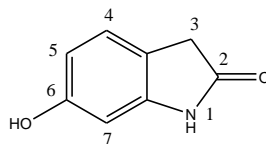


7 R= H, R₁= CH₃-, Z= H, H; 14, 15-dihydro

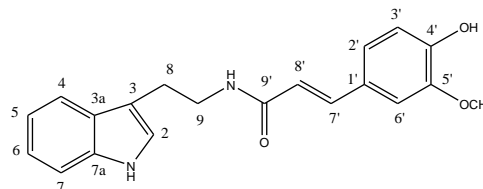
8 R= R₁= -CH₂-, Z= H, H; 14, 15-dihydro

9 R= H, R₁= CH₃-, Z=O; 14, 15-dihydro

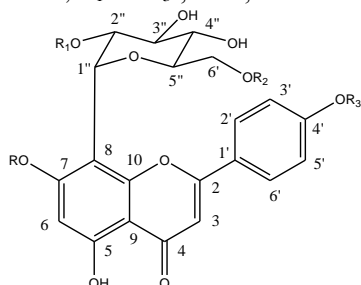
10 R= H, R₁= CH₃-, Z=O; $\Delta^{14,15}$



11



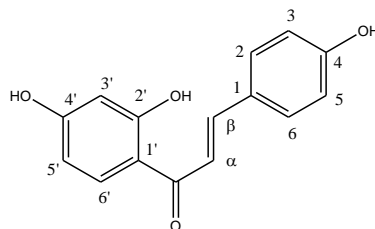
12



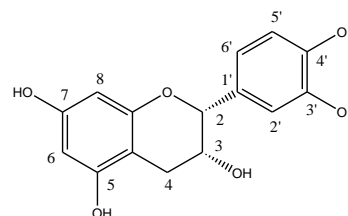
13 R= H, R₁= H, R₂= CH₃CO-, R₃= H

14 R= CH₃-, R₁= CH₃CO-, R₂= H, R₃= H

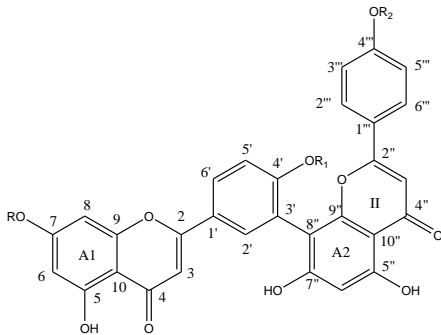
15 R= H, R₁= CH₃CO-, R₂= H, R₃= CH₃-,



16



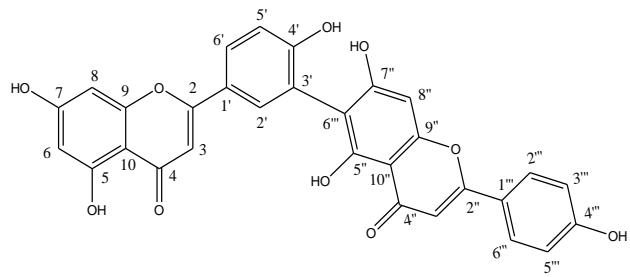
17



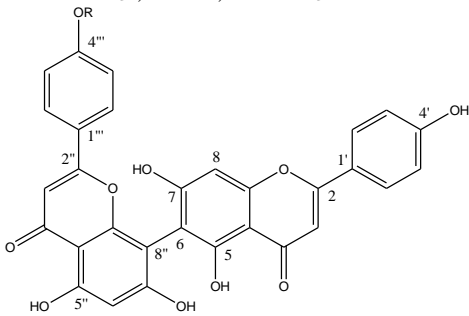
18 R= H, R₁= H, R₂= H

19 R= CH₃-, R₁= H, R₂= H

20 R= CH₃-, R₁= H, R₂= CH₃-

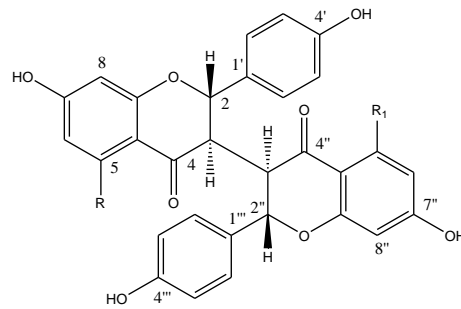


21



22 R= H

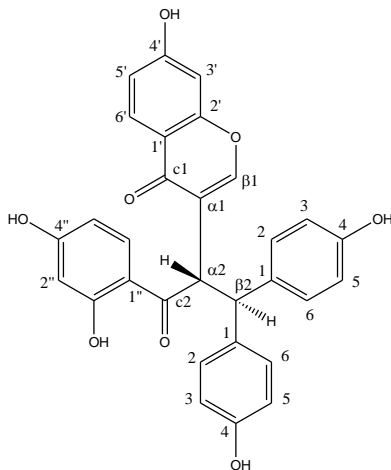
23 R= CH₃-



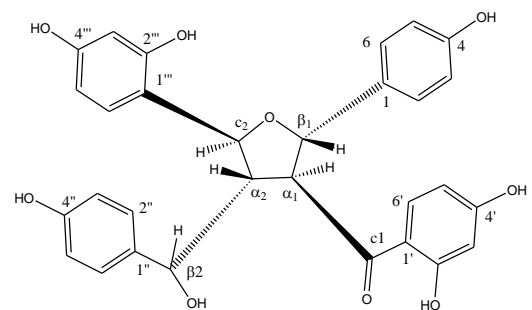
24 R= R₁= H

25 R= OH, R₁= H

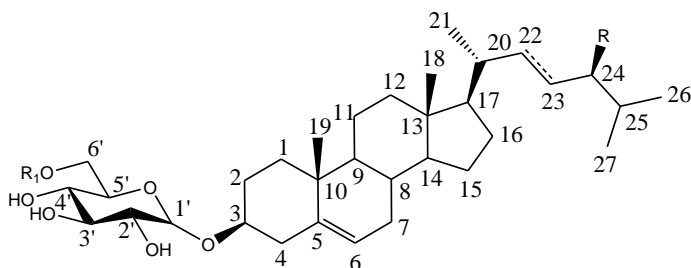
26 R= R₁= OH



27



28



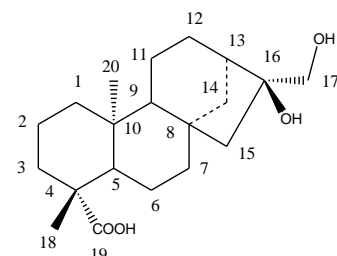
29 R= CH₃-, R₁= H, 22, 23-dihydro

30 R= CH₃CH₂-, R₁= H, 22, 23-dihydro

31 R= CH₃CH₂-, R₁= H, Δ^{22,23}

32 R= CH₃CH₂-, R₁= 2-(palmitelaidoxy)-β-Glu-, 22, 23-dihydro

33 R= CH₃CH₂-, R₁= 2-(palmitelaidoxy)-β-Glu-, Δ^{22,23}



34

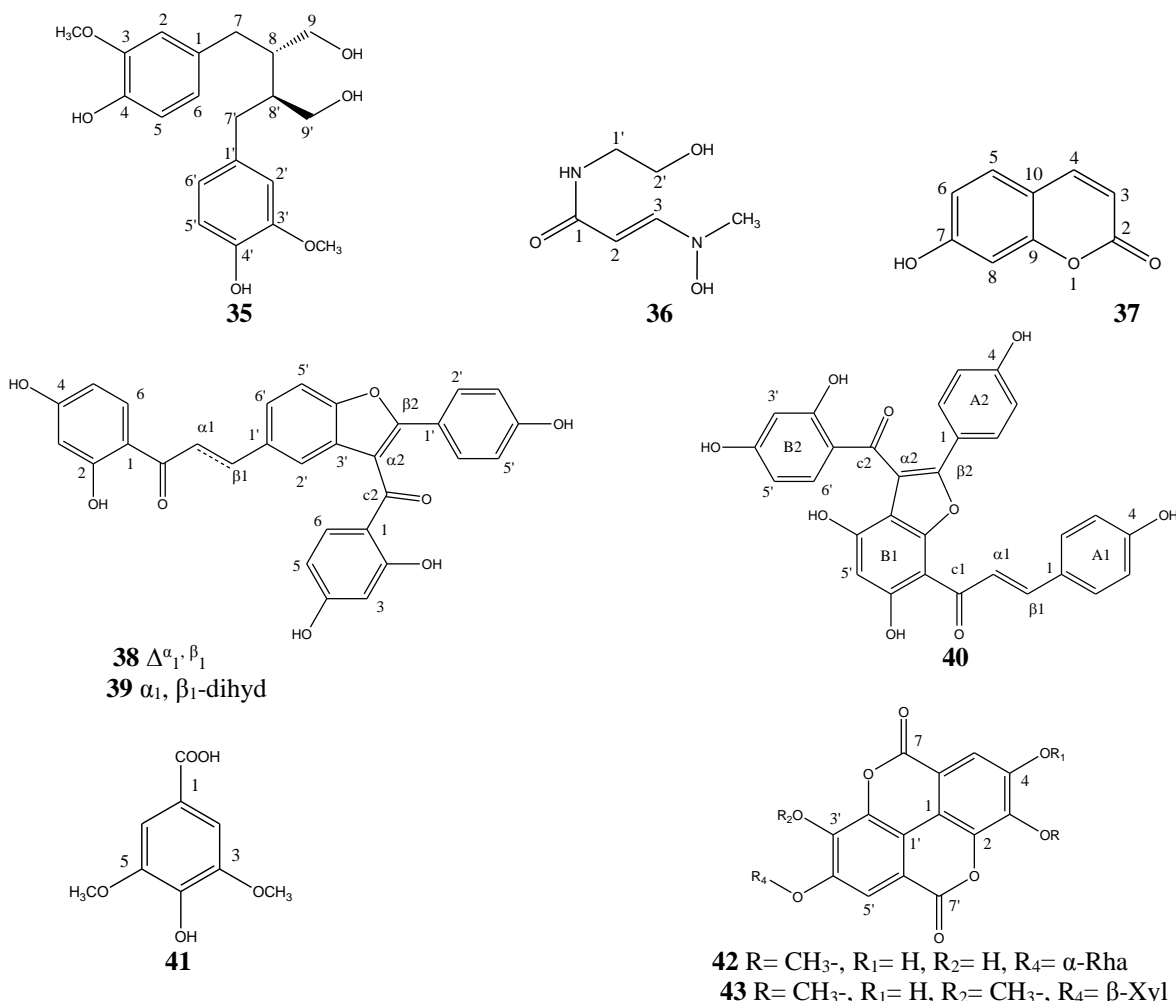


Fig. 1. Compounds isolated from *Campylospermum* and *Ouratea* genus which rendered serotobenine by classes.

Table 1: Chemical data on the genus *Campylospermum* published gradually.

Species	Part studied	Compounds isolated	References		
<i>C. glaucum</i>	Stem roots	1 Campyloside A 2 Campyloside B 18 Amentoflavone 27 Lophirone A	Abouem et al., 2008		
	Leaves	3 Lanceolin C, 7 Serotobenine 13 6''-O-acetylvitexin 16 Isoliquiritigenin 18 Amentoflavone	This study		
<i>C. manni</i>	Leaves	18 Amentoflavone 21 Robustaflavone 24 Campylospermone A 25 Campylospermone B 26 Chamaejasmin	Elo Manga et al., 2009		
		<i>C. flavum</i>	Leaves	5 Dhurrin 11 6-hydroxyindolin-2-one 14 2''-O-acetyl-7-O-methylvitexin 15 4-O-methylvitexin 18 Amentoflavone 22 Agathisflavone 23 4'''-O-methylagathisflavone 28 Flavumchalcone	Ndongo et al., 2010

		30 Sitosterol-3- <i>O</i> - β -D-glucopyranoside	
	Stem bark	6 2- <i>O</i> - β -D-glucopyranosyloxy- <i>p</i> -hydroxy-6,7-dihydromandelonitrile 7 Serotobenine 9 Flavumindole 14 2''- <i>O</i> -acetyl-7- <i>O</i> -methylvitexin 17 Epicatechin,	
<i>C. densiflorum</i>	Leaves	4 Menisdaurin 7 Serotobenine 8 Decursivine 12 <i>N</i> -feruloyltryptamine 29 Campesterol-3- <i>O</i> - β -D-glucopyranoside 30 Sitosterol-3- <i>O</i> - β -D-glucopyranoside 31 Stigmasterol-3- <i>O</i> - β -D-glucopyranoside 32 Densiflosides A 33 Densiflosides B 34 ent-16 α , 17-dihydroxykauran-19-oic acid 35 Secoisolariciresinol 36 Campylospermine 37 Umbelliferone	Ngono et al., 2011; 2014
<i>C. calanthum</i>	Leaves	10 Calanthumindole 18 Amentoflavone 19 Sequoiaflavone 20 Podocarpusflavone B	Bayiha Ba Njock et al., 2013
<i>C. oliverianum</i>	Leaves	4 Menisdaurin 5 Dhurrin, 7 Serotobenine 29 Campesterol-3- <i>O</i> - β -D-glucopyranoside 30 Sitosterol-3- <i>O</i> - β -D-glucopyranoside 31 Stigmasterol-3- <i>O</i> - β -D-glucopyranoside	This study
<i>C. dybowskii</i>	Leaves	3 Lanceolin C 7 Serotobenine 14 2''- <i>O</i> -acetyl-7- <i>O</i> -methylvitexin 15 4- <i>O</i> -methylvitexin 18 Amentoflavone 21 Robustaflavone 30 Sitosterol-3- <i>O</i> - β -D-glucopyranoside	This study

Table 2: Chemical data of *Ouratea* species which rendered serotobenine published gradually.

Species	Part studied	Compounds isolated	references
<i>O. turnarea</i>	Leaves	7 Serotobenine	Abouem et al., 2008
		18 Amentoflavone	
		27 Lophirone A	
		38 Lophirone C, 39 Isolophirone C	
		40 Caledonin B	
	Leaves	7 Serotobenine 13 6''- <i>O</i> -acetylvitexin 18 Amentoflavone 22 Agathisflavone	Bayiha Ba Njock et al., 2011

<i>O. gilgiana</i>	30 Sioosterol-3- <i>O</i> - β -D-glucopyranoside 41 Syringic acid
Stem bark	42-Ellagic-3- <i>O</i> -methyl-4'- <i>O</i> - α -L-rhamnoside acid 43 Ellagic -4'- <i>O</i> - β -D-xylopyranoside-3,3'-dimethylether acid

RESULTS AND DISCUSSION

Compounds like flavonoids, terpenoids, steroids, cyanoglycosides and biflavonoids have been widely reported from the Ochnaceae family^{17, 18, 22, 23, 24, 25, 26, 27, 28, 29, 30, 31}. In the particular case of the *Campylospermum* genus and apart from species of this study, derivatives of vitexin or sitosterol are noticeable in *C. flavum*²⁷. (Table 1). Meanwhile, cyanoglycosides like menisdaurin (**4**), dhurrin (**5**), or the stereoisomers campyloside A (**1**) and lanceolin C (**3**) have already been isolated from *C. densiflorum*, *C. flavum* and *C. glaucum*^{23, 27, 28}, their occurrence in *C. oliverianum*, *C. dybowski* and once more in *C. glaucum* suggest their taxonomical meaning.

Indole alkaloids as seen in Table 1 appeared as well as other already mentioned classes as major components of the genus *Campylospermum* genus^{23, 27, 28, 31}. Serotobenine (**7**) for example is a secondary metabolite appearing in five *Campylospermum* species (Table 1); it is gradually appearing as a chemotaxonomic marker of the genus as well as flavonoids and biflavonoids (**18**, **21** and **22**) and their methyl ether derivatives (**19**, **20** and **23**) are taxonomic markers of the *Ouratea* genus^{26, 30, 32, 33}. Hitherto, serotobenine (**7**) was isolated from two *Ouratea* species (*O. turnarea* and *O. gilgiana*)^{15, 23} (Table 2). The occurrence of indole alkaloids in many *Campylospermum* species but in few *Ouratea* ones (Table 2) cannot really suggest at this stage whether these two genera might be judged con-specific as described by Verdcourt (2005) or different as described by Bissiengou (2013), due to insufficient reports. Moreover, this study reveals some supplementary data regarding the taxonomical value of the isolated compounds; this is possible through the founding of classes not yet described before.

In the present study, secondary metabolites are used to perform chemotaxonomy study of *Campylospermum* and *Ouratea* genera and to compare with previous studies on molecular data. Analyzing Tables 1, 2 and Figure 1, it appears that the chemistry of both *Ouratea* and *Campylospermum* genera seems the same. This assertion is expected regarding the isolation of few markers of the *Ouratea* genus and their methyl derivatives from the *Campylospermum* one (**18**, **19**, **20**, **21**, **22**, **23**, **24**, **25** and **26**), and other compounds (**4**, **7** and **30**) described above too.

The present results are in accordance with recent phylogenetic studies, which suggest the two genera (*Ouratea* and *Campylospermum*) to be closed based on mainly molecular and morphological data².

ACKNOWLEDGMENTS

The authors are grateful to Mr. N. Leyondre and Mrs M. Haddou (Ecole Nationale Supérieure de Chimie de Rennes) for running the NMR spectra as well as to Mr Nana Victor (National Herbarium Cameroon) for the botanical identification. We thank Mr Kenneth Mbene (Higher Training College, Yaoundé) for fruitful remarks.

REFERENCES

1. Amaral M.C.E, Bittrich V. Ochnaceae. In: Kubitzki, K. (Ed.), Families and Genera of Vascular Plants. Springer Verlag, Heidelberg 2014; vol. 11: 253–268.
2. Schneider J. V, Bissiengou P, Amaral M. C. E, Tahir A, Fay M. F, Thines M, Sosef M. S. M, Zizka G., Chatrou L. W. Phylogenetics, ancestral state reconstruction, and a new infrafamilial classification of the pantropical Ochnaceae (Medusagynaceae, Ochnaceae s.str., Quiinaeaceae) based on five DNA regions. Molecular Phylogenetics and Evolution 2014; 78: 199–214.
3. Sosef M. S. M. Révision du genre africain *Rhabdophyllum* Tiegh. (Ochnaceae), avec sa distribution au Cameroun et au Gabon. Adansonia 2008; série. 3, 30 (1) ; 119-135.
4. Bissiengou P, Chatrou L.W, Wieringa J.J, Sosef M.S.M. Taxonomic novelties in the genus *Campylospermum* (Ochnaceae), Blumea 2013;. 58: 1-7.
5. Bouberte M. Y, Krohn K, Hussain H, Dongo E, Schulz B, Hu Q. Tithoniaquinone A and Tithoniamide B: A New Anthraquinone and a New Ceramide from the leaves of *Tithonia diversifolia*. Zeitschrift für Naturforschung 2006; 61: 78-82
6. Kanis A. *Gomphia serrata* (Gaertn). Taxon 1967; 16: 422.
7. Hutchinson J, Dalziel J.M. Flora of West Africa 1954; vol 1; Part. 1, 2nd edition Crown Agents, London.
8. Bittrich V, Amaral M.C.E. *Campylospermum serratum* (Gaertn). Taxon 1994; 43; 89-93.
9. Verdcourt B. Ochnaceae. In: Beentje HJ, Ghazanfar SA (eds), Flora of Tropical East Africa. Royal Botanic Gardens, Kew Richmond, United Kingdom. 60 pages. 2005.
10. Bissiengou P, Sosef M.S.M. *Novitates Gabonenses* 69. A new endemic species of and a new combination in *Campylospermum* (Ochnaceae). Blumea 2008; 53: 627–631.
11. Bouquet A. Féticheurs et médecines traditionnelles du Congo (Brazzaville). ORSTOM, Paris 1969 ; 177-178.
12. Seigler D.S, Pauli G.F, Fröhlich R, Wegelius E, Nahrstedt A, Glander K.E, Ebinger J.E. Cyanogenic

- glycosides and menisdaurin from *Guazuma ulmifolia*, *Ostrya virginiana*, *Tiquilia plicata*, and *Tiquilia canescens*. *Phytochemistry* 2005; 66: 1567–1580.
13. Seigler D.S, Pauli G.F, Fröhlich R, Nahrstedt A, Leen R. Cyanogenic allosides and glucosides from *Passiflora edulis* and *Carica papaya*. *Phytochemistry* 2002; 60: 873–882.
 14. Sato H, Kawagishi H, Nishimura T, Yoneyama S, Yoshimoto Y, Sakamura S, Furusaki A, Katsur S, Matsumoto T. Serotobenine, a novel phenolic amide from safflower seeds (*Carthamus tinctorius* L.). *Agricultural and Biological Chemistry* 1985; 49: 2969–2974.
 15. Ghosal S. Bioactive phytosterol conjugates. Part 2. Steryl glycosides and acyl steryl glycosides from *Musa paradisiaca*. *Phytochemistry* 1985; 24: 1807-1810.
 16. Bayiha Ba Njock G, Bartholomeusz T.A, Foroozandeh M, Pegnyemb D.E, Christens P, Jeannerat D. NASCA-HMBC, a New NMR Methodology for the Resolution of Severely Overlapping Signals: Application to the Study of Agathisflavone. *Phytochemical. Analysis* 2011; 23: 126-130.
 17. Hwang C. K, Chun H. S. Isoliquiritigenin isolated from licorice *Glycyrrhiza uralensis* prevents 6-hydroxydopamine-induced apoptosis in dopaminergic neurons. *Bioscience Biotechnology and Biochemistry* 2012; 76: 536-43.
 18. Messanga B.B, Ghogomu R.T, Sondengam B.L, Blond A, Bodo B. Lanceolin C, a new nitrile glycoside from *Lophira alata*. *Fitoterapia* 1998; 69: 439-442.
 19. Ngono Bikobo D.S, Atchadé A.T, Ghogomu T. R, Gangoué piéboji J, Blond A, Pegnyemb D.E, Bodo B. Antimicrobial Activities of some *Ouratea* Species (Ochnaceae) and Biflavonoids from *Ouratea elongata*. *Asian chemistry Letters* 2009; 13: 59-66.
 20. Bombardelli E, Bonati A, Gabetta B, Mustich G. Plants of Mozambique. IV. Flavonoids of *Brackenridgea zanguebarica*. *Phytochemistry* 1974; 13: 295–297.
 21. Nicholls K.W., Bohm B.A. Flavonoids of *Lupinus arboreus*. *Phytochemistry* 1979; 18: 1078.
 22. Chaurasia N, Wichtl M. Sterols and steryl glycosides from *Urtica dioica*. *Journal of. Natural. Products* 1987; 50: 881–885.
 23. Elo Manga S.S, Ghogomu R.T, Blond A, Bodo B. Biflavonoid constituents of *Campylospermum mannii*. *Biochemical Systematics and. Ecology* 2009; 37: 402-404.
 24. Abouem Z.A., Ngono Bikobo D.S, Atchadé A.T, Mbing N.J, Gangoué P.J, Ghogomu T.R, Mbafor T.J, Blond A, Pegnyemb D.E, Bodo B. Nitrile glucosides and serotobenine from *Campylospermum glaucum* and *Ouratea turnarea*. *Phytochemistry* 2008; 69:2209-2213.
 25. Felicio J.D, Gonçalves E, Braggio M.M, Constantino L, Albasini A, Lins A.P. Inhibition of lens aldose reductase by biflavones from *Ouratea spectabilis*. *Planta Medica* 1995; 61: 217-220.
 26. Ghogomu R.T., Sondengam B.L, Martin M.T, Bodo B. Structure of lophirones B and C, biflavonoids from the bark of *Lophira lanceolata*. *Phytochemistry* 1989; 28: 1557-1559.
 27. Suzart L. R, Daniel J. F. S, Carvalho M. G, Kaplan M. A. C. Biodiversidade Flavonoídica e Aspectos Farmacologicos em Espécies dos Gêneros *Ouratea* e *Luxemburgia* (Ochnaceae). *Química Nova* 2007; 30: 984-987.
 28. Ndongo J.T, Shaaban M, Ngo Mbing J, Ngono Bikobo D.S, Atchadé A.T, Pegnyemb D.E, Laatsch H. Phenolic dimers and an indole alkaloid from *Campylospermum flavum* (Ochnaceae). *Phytochemistry* 2010; 71: 1872-1878.
 29. Ngono Bikobo D.S, Nkot J.L, Mosset P, Atchadé A.T, Ndongo J.T, Pemha R, Pegnyemb D.E. Acylsteryl glycosides and other constituents from *Campylospermum densiflorum* (Ochnaceae). *Rasayan Journal of Chemistry* 2011; 4; 753-763.
 30. Fidelis Q.C, Castro R.N, Guilhon G.M.S.P, Rodrigues S.T, Salles C.M.C, Salles J.B, Carvalho M.G. Flavonoids and other compounds from *Ouratea ferruginea* (Ochnaceae) as anticancer and chemopreventive agents. *Molecules* 2012; 17: 7989-8000.
 31. Fidelis Q.C., Ribeiro T.A.N, Araújo M. F, Carvalho M.G. *Ouratea* genus: chemical and pharmacological aspects. *Revista. Braileira de. Farmacognosia* 2014; 24: 1-19.
 32. Bayiha Ba Njock G, Bartholomeusz T.A, Ngono Bikobo D.S, Foroozandeh M, Shivapurkar R, Christens P, Pegnyemb D.E, Jeannerat D. Structure and Dynamic of Three Indole Alkaloids from the *Campylospermum* Genus (Ochnaceae). *Helvetica. Chimica Acta* 2013; 96, 1298-1304.
 33. Felicio J.D, Rossi M.H, Park H.R, Gonçalves E, Braggio M.M, David J.M, Cordeiro I. Biflavonoids from *Ouratea multiflora*. *Fitoterapia* 2001; 72: 453-455.
 34. Felicio J.D, Rossi M.H, Braggio M.M, Gonçalves E, Park A, Cordeiro I, Felicio R.C. Chemical constituents from *Ouratea parviflora*. *Biochemical Systematics and. Ecology* 2004; 32: 79-81.
 35. Ngono Bikobo D.S, Mosset P, Abouem A Zintchem A, Atchadé A.T, Balemaken Missi M, Mbabi Nyemeck II N, Pegnyemb D.E. Campylospermine, an *N*-hydroxy alkaloid from the leaves of *Campylospermum densiflorum* (Ochnaceae). *International Journal of Pharmacognosy and Phytochemistry Research* 2014-15; 6; 719-728.