

REPUBLIQUE DU CAMEROUN

Paix – Travail – Patrie

UNIVERSITE DE YAOUNDE I

FACULTE DES SCIENCES

DEPARTEMENT DE CHIMIE

ORGANIQUE



REPUBLIC OF CAMEROUN

Peace – Work – Fatherland

UNIVERSITY OF YAOUNDE I

FACULTY OF SCIENCE

DEPARTMENT OF ORGANIC

CHEMISTRY

Etude Chimique des métabolites secondaires de deux plantes médicinales du Cameroun *Mostuea batesii* Baker et *Mostuea thomsonii* (Oliv) Benth (Gelsemiaceae) et évaluation de leurs activités anti-tumorale, antibactérienne et antifongique.

Thèse rédigée et présentée en vue de l'obtention du diplôme de
Doctorat/Ph.D.

Par : **GOMPE BOBDA Eric Gustave**
Master en Chimie Organique

Sous la direction de
MKOUNGA Pierre
Maitre de Conférences
NKENGFAK Augustin Ephrem
Professeur

Année Académique : 2020





DEPARTEMENT DE CHIMIE ORGANIQUE

DEPARTMENT OF ORGANIC CHEMISTRY

ATTESTATION DE CORRECTIONS DU MEMOIRE DE THESE DE
DOCTORAT/Ph.D DE MONSIEUR GOMPE BOBDA Eric Gustave, Matricule 12T0967

Titre de la thèse : «Etude Chimique des métabolites secondaires de deux plantes médicinales du Cameroun *Mostuea batesii* Baker et *Mostuea thomsonii* (Oliv.) Benth (Gelsemiaceae) et évaluation de leurs activités anti-tumorale, antibactérienne et antifongique.»

Nous soussignés, enseignants ci-dessous nommés, membres de jury de soutenance de thèse de Doctorat/Ph.D de monsieur GOMPE BOBDA Eric Gustave, Matricule 12T0967, attestons que ce candidat a bel et bien pris en compte dans la mouture finale de sa thèse, toutes corrections et recommandations qui lui ont été faites au cours de sa soutenance en date du 23 Janvier 2020.

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

Fait à Yaoundé, le.....

Le Jury :

Président:

Pr NGOUELA Silvère Augustin

Rapporteurs:

Pr NKENGACK Augustin Ephrem

Pr MKOUNGA Pierre

Pr WANSI Jean Duplex

Membres:

Pr LENTA NDJAKOU Bruno

Pr EFFA ONOMO Pierre

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 19 Février 2020

ADMINISTRATION**DOYEN** : TCHOUANKEU Jean- Claude, *Maitre de Conférences***VICE-DOYEN / DPSAA** : DONGO Etienne, *Professeur***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. épse BENG	Professeur	En poste
8	OBEN Julius ENYONG	Professeur	En poste
9	ACHU Merci BIH	Maître de Conférences	En poste
10	ATOGHO Barbara Mma	Maître de Conférences	En poste
11	AZANTSA KINGUE GABIN BORIS	Maître de Conférences	En poste
12	BELINGA née NDOYE FOE M. C. F.	Maître de Conférences	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	Chargée de Cours	En poste
23	BEBEY EDZENGUELE Sara Nathalie	Chargée de Cours	En poste
24	DAKOLE DABOY Charles	Chargée 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 NSANGO 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	VICE-DOYEN / DSSE
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	Vice Doyen/FMSB/UYI
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./MINS ANTE</i>
13	ZEBAZE TOGOUET Serge Hubert	Professeur	En poste

14	BILANDA Danielle Claude	Maître de Conférences	En poste
15	DJIOGUE Séfirin	Maître de Conférences	En poste
16	DZEUFLET 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	NGOUATEU 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) (32)

1	AMBANG Zachée	Professeur	Chef Division/UYII
2	BELL Joseph Martin	Professeur	En poste

3	DJOCGOUE Pierre François	Professeur	En poste
4	MOSSEBO Dominique Claude	Professeur	En poste
5	YOUMBI Emmanuel	Professeur	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	CE / MINRESI
14	NGONKEU MAGAPTCHE Eddy L.	Maître de Conférences	En poste
15	TSOATA Esaïe	Maître de Conférences	En poste
16	TONFACK Libert Brice	Maître de Conférences	En poste

17	DJEUANI Astride Carole	Chargé de Cours	En poste
18	GOMANDJE Christelle	Chargée de Cours	En poste
19	MAFFO MAFFO Nicole Liliane	Chargé de Cours	En poste
20	MAHBOU SOMO TOUKAM. Gabriel	Chargé de Cours	En poste
21	NGALLE Hermine BILLE	Chargée de Cours	En poste
22	NGOUO Lucas Vincent	Chargé de Cours	En poste
23	NNANGA MEBENGA Ruth Laure	Chargé de Cours	En poste
24	NOUKEU KOUAKAM Armelle	Chargé de Cours	En poste
25	ONANA JEAN MICHEL	Chargé de Cours	En poste

26	GODSWILL NTSOMBAH NTSEFONG	Assistant	En poste
27	KABELONG BANAHO Louis-Paul- Roger	Assistant	En poste
28	KONO Léon Dieudonné	Assistant	En poste
29	LIBALAH Moses BAKONCK	Assistant	En poste
30	LIKENG-LI-NGUE Benoit C	Assistant	En poste
31	TAEDOUNG Evariste Hermann	Assistant	En poste
32	TEMEGNE NONO Carine	Assistant	En poste

4- DÉPARTEMENT DE CHIMIE INORGANIQUE (CI) (35)

1	AGWARA ONDOH Moïse	Professeur	<i>Vice Recteur Univ ,Bamenda</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 deMiss.PR</i>
5	NANSEU Njiki Charles Péguy	Professeur	En poste

6	NDIFON Peter TEKE	Professeur	<i>CT MINRESI/Chef de Departement</i>
7	NGOMO Horace MANGA	Professeur	<i>Vice Chancellor/UB</i>
7	NDIKONTAR Maurice KOR	Professeur	<i>Vice-Doyen Univ. Bamenda</i>
8	NENWA Justin	Professeur	En poste
9	NGAMENI Emmanuel	Professeur	<i>DOYEN FS UDs</i>

10	BABALE née DJAM DOUDOU	Maître de Conférences	<i>Chargée Mission P.R.</i>
11	DJOUFAC WOUMFO Emmanuel	Maître de Conférences	En poste
12	KAMGANG YOUBI Georges	Maître de Conférences	En poste
13	KEMMEGNE MBOUGUEM Jean C.	Maître de Conférences	En poste
14	KONG SAKEO	Maître de Conférences	En poste
15	NDI NSAMI Julius	Maître de Conférences	En poste
17	NJOMOU C. épouse DJANGANG	Maître de Conférences	En poste
18	NJOYA Dayirou	Maître de Conférences	En poste
19	YOUNANG Elie	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	EMADACK Alphonse	Chargé de Cours	En poste
24	KENNE DEDZO GUSTAVE	Chargé de Cours	En poste
25	KOUOTOU DAOUDA	Chargé de Cours	En poste
26	MAKON Thomas Beauregard	Chargé de Cours	En poste
27	MBEY Jean Aime	Chargé de Cours	En poste
28	NCHIMI NONO KATIA	Chargé de Cours	En poste
29	NEBA nee NDOSIRI Bridget NDOYE	Chargée de Cours	CT/ MINFEM
30	NYAMEN Linda Dyorisse	Chargée de Cours	En poste
31	PABOUDAM GBAMBIE A.	Chargée de Cours	En poste
32	TCHAKOUTE KOUAMO Hervé	Chargé de Cours	En poste
33	NJANKWA NJABONG N. Eric	Assistant	En poste
34	PATOUOSSA ISSOFA	Assistant	En poste
35	SIEWE Jean Mermoz	Assistant	En Poste

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

1	DONGO Etienne	Professeur	Vice-Doyen / PSAA
2	GHOGOMU TIH Robert Ralph	Professeur	Dir. IBAF/UDA
3	NGOUELA Silvère Augustin	Professeur	Chef de Departement UDS
4	NKENGFACK 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	<i>DEPE/ Rectorat/UIYI</i>
9	EYONG Kenneth OBEN	Maître de Conférences	<i>Chef Service Programme & Diplomes</i>
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	SIELINOUE TEDJON Valérie	Chargé de Cours	En poste
32	TAGATSING FOTSING Maurice	Chargé de Cours	En poste
33	ZONDENDEGOUNBA 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	AMINOUE Halidou	Chargé de Cours	En poste
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	KAMGUEU Patrick Olivier	Chargé de Cours	En poste
13	MONTHÉ DJIADEU Valéry M.	Chargé de Cours	En poste
14	OLLE OLLE Daniel Claude Delort	Chargé de Cours	C/D Enset. Ebolowa
15	TINDO Gilbert	Chargé de Cours	En poste
16	TSOPZE Norbert	Chargé de Cours	En poste
17	WAKU KOUAMOU Jules	Chargé de Cours	En poste

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

7- DÉPARTEMENT DE MATHÉMATIQUES (MA) (30)

1	EMVUDU WONO Yves S.	Professeur	<i>CD Info/ 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	En poste
5	MBEHOU Mohamed	Maître de Conférences	En poste
6	TCHAPNDA NJABO Sophonie B.	Maître de Conférences	Directeur/AIMS Rwanda

7	AGHOUEKENG 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 PEFOUNKEU 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	DRV/IMPM
---	-------------------------	------------	----------

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	Assistante	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) (42)

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

12	BIYA MOTTO Frédéric	Maître de Conférences	DG/HYDRO Mekin
13	BODO Bertrand	Maître de Conférences	En poste
14	DJUIDJE KENMOE épouse ALOYEM	Maître de Conférences	En poste
15	EKOBENA FOU DA Henri Paul	Maître de Conférences	<i>Chef Division. UN</i>
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 épse 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
38	OBOUNOU Marcel	Chargé de Cours	DA/Univ Inter Etat/Sangmalima
39	WOULACHE Rosalie Laure	Chargée de Cours	En poste

40	AYISSI EYEBE Guy François Valérie	Assistant	En poste
41	CHAMANI Roméo	Assistant	En poste
42	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 épse YONGUE	Professeur	En poste
3	KAMGANG Pierre	Professeur	En poste
4	NDJIGUI Paul Désiré	Professeur	Chef de Département
5	NDAM NGOUPAYOU Jules-	Professeur	En poste

	Remy		
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	En poste
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	LAMILLEN BILLA Daniel	Chargé de Cours	En poste
30	MBESSE CECILE OLIVE	Chargée de Cours	En poste
31	MBIDA YEM	Chargé de Cours	En poste
32	METANG Victor	Chargé de Cours	En poste
33	MINYEM Dieudonné-Lucien	Chargé de Cours	<i>CD/Uma</i>
34	NGO BELNOUN Rose Noël	Chargée de Cours	En poste
35	NGO BIDJECK Louise Marie	Chargée de Cours	En poste
36	NOMO NEGUE Emmanuel	Chargé de Cours	En poste
37	NTSAMA ATANGANA Jacqueline	Chargé de Cours	En poste
38	TCHAKOUNTE J. épouse NOUMBEM	Chargée de Cours	<i>Chef.cell / MINRESI</i>
39	TCHAPTCHET TCHATO De P.	Chargé de Cours	En poste
40	TEHNA Nathanaël	Chargé de Cours	En poste
41	TEMGA Jean Pierre	Chargé de Cours	En poste
42	FEUMBA Roger	Assistant	En poste
43	MBANGA NYOBE Jules	Assistant	En poste

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

NOMBRE D'ENSEIGNANTS					
DÉPARTEMENT	Professeurs	Maîtres de Conférences	Chargés de Cours	Assistants	Total
BCH	9 (1)	13 (09)	14 (05)	3 (2)	39 (16)
BPA	13 (1)	09 (06)	19 (05)	05 (2)	46 (13)
BPV	06 (0)	10 (02)	9 (04)	07 (01)	31 (9)
CI	10 (1)	09 (02)	13 (02)	02 (0)	35 (5)
CO	7 (0)	17 (04)	09 (03)	03 (0)	35(7)
IN	2 (0)	1 (0)	14 (01)	10 (02)	26 (3)
MAT	1 (0)	5 (0)	19 (01)	05 (01)	30 (2)
MIB	1 (0)	5 (02)	06 (01)	06 (02)	17 (5)
PHY	11 (0)	16 (01)	10 (03)	03 (0)	40 (4)
ST	8 (1)	14 (01)	19 (04)	02 (0)	43(6)
Total	68 (4)	99 (27)	132 (29)	45 (10)	344 (70)
Soit un total de		344 (70) dont :			
-	Professeurs	68 (4)			
-	Maîtres de Conférences	99 (27)			
-	Chargés de Cours	132 (29)			
-	Assistants	46 (10)			

() = Nombre de Femmes **45**

DEDICACE

A mes regrettés feux parents, Monsieur et Madame BOBDA

REMERCIEMENTS

Bien que la thèse soit fondamentalement un travail individuel, son accomplissement passe par des étapes dont tout seul on ne saurait être à la hauteur. Qu'il me soit permis ici, de rendre un vibrant hommage à tous ceux qui, de près ou de loin ont apporté une contribution à la réalisation de ce travail.

Je pense particulièrement à

- **M. NKENGFACK Augustin Ephrem, Professeur**, et chef de Département de Chimie Organique de la Faculté de Sciences de l'Université de Yaoundé, à qui j'exprime ma plus profonde gratitude, pour m'avoir accueilli au sein de son équipe de recherche et pour avoir accepté encadrer ce travail. Soyez assuré Professeur de mon profond respect pour m'avoir fait bénéficier de votre expérience professionnelle, vos connaissances, votre ardeur à la tâche, votre esprit critique. J'exprime ici une grande admiration pour votre sens du travail bien fait, votre gentillesse, votre rigueur, sans toutefois oublier votre soutien moral qui m'a aidé à surmonter bien des difficultés.

- **M. MKOUNGA Pierre, Maître de Conférences**, qui m'a non seulement initié et encouragé à faire la recherche, mais m'a aussi proposé le sujet de ce travail et m'a fait l'honneur de le co-diriger. Professeur, vos exigences, votre rigueur, votre esprit critique et votre sens du travail bien fait, m'ont toujours encouragé à aller plus loin. Je vous suis reconnaissant pour la confiance et le soutien permanent que vous m'avez témoigné dans ce travail, ainsi que pour votre disponibilité en dépit de vos multiples tâches académiques. Je vous remercie grandement professeur, pour tous ces moments de conseils et d'écoute que vous m'avez accordé.

- **Mme. OUAHOUB Blandine, Chargée de Cours**, qui m'a accordé toute sa confiance et a su me prodiguer des conseils pour que je puisse surmonter les difficultés rencontrées dans la réalisation de ce travail. Merci madame pour votre disponibilité, votre soutien sans cesse renouvelé.

- **Mme. MVOT AKAK Carine, Chargée de Cours**, qui m'a non seulement beaucoup encouragé dans la réalisation de ce travail, mais m'a aussi apporté beaucoup de soutien tant moral qu'intellectuel. Elle n'a ménagé aucun effort pour suivre l'évolution de bout en bout de ce travail. Je vous saurai gré de tous les efforts déployés à mon égard.

- **M. FOTSO WABO Ghislain, Chargée de Cours**, qui m'a non seulement beaucoup encouragé dans la réalisation de ce travail, mais aussi a apporté beaucoup de soutien tant

moral qu'intellectuel. Il m'a aidé pour l'évaluation d'une partie des essais anti tumoral des échantions. Merci, M. pour votre disponibilité et votre soutien sans cesse renouvelé.

- **Mme Tyon Lydie**, qui, a non seulement conduit mes premiers pas sur la paillasse du Laboratoire, m'a également accompagné collecter les échantions de la matière végétale étudiée dans le cadre de ce travail. Merci madame, pour tes conseils, tes encouragements.

- **M. AKONO Patrick**, Maître de Conférences au Département de Biologie Animale de l'Université de Douala, qui, pendant sa mission de recherche en Allemagne a réalisé l'ensemble des tests cytotoxiques et une partie des tests antimicrobiens, effectués sur mes composés.

- **M. ASSOBO NGUEDIA Jules Clement**, Maître de Conférences au Département de Biochimie de l'Université de BUEA, qui a réalisé une partie des tests antimicrobiens, effectués sur mes composés.

- Tous les enseignants du Département de Chimie Organique de la Faculté des Sciences de l'Université de Yaoundé I dont les multiples conseils et encouragements, m'ont réconforté sur le chemin de la recherche scientifique. Leurs enseignements ont été une source lumineuse pour moi et constituent l'armature de ce travail. Recevez ici ma profonde gratitude .

- **Docteurs NGUEMEVING Jean Robert, NONO Eric Carly, SIELINOU TEDJON Valerie, FODJA Edwige, TIANI Ghesquiere, TSAMO Armelle, FOUOTSA Hugues, DOUANLA Pascal, MAZA Hermine**, qui ont tous su, chacun à sa manière, me prodiguer des conseils judicieux pour la réalisation de ce travail.

- Tous mes camarades du Laboratoire 260, **DJOMKAM Elvis, TSOPMEDJIO Jean Paul, ABDOU Jean Pierre, TYON Lydie, MFIFEN Aristide, NANGMO Pamela, CHOUNDA Gwladys, FEUDJIO William, PAGNA Julio, FENKAM Sandra, NGUEGUIM Stephanie, TCHAPO Emar, KITIO Nelly, NJOUMBOUTNE Arouna, MAHAMAT Halime, FOUAGUIM Jeff, TOKO Einstein, NOUBISSIE Christelle**, qui ont su faire régner au sein du Laboratoire, une atmosphère de travail empreinte de convivialité et de fraternité.

- Tous mes camarades de promotion. J'ai beaucoup bénéficié de vos conseils sans lesquels je n'aurais atteint ce niveau. Que ce travail soit pour vous, l'expression de ma reconnaissance.

- **Mes défunts parents PAPA BOBDA Marcel et MAMAN MAGANTCHUENG Pauline**, qui malgré leurs disparitions prématurées, ont toujours su me protéger et me donner

la force d'aller de l'avant. Merci à vous papa et maman car je sais que vous êtes là et que vous veillez sur moi ainsi que sur tous les autres.

- Je remercie très chaleureusement ma tendre et charmante épouse **Mme Alvine GOMPE, née NOUMSI KAPTUE Alvine**, pour sa patience, son soutien et l'affection qu'elle m'apporte.

- **Mon oncle et grand père KUE Samuel et man tante MAGNE Bernadette** pour tous leurs soutiens et benedictions qu'ils m'ont toujours accordés.

- **La grande famille BOBDA, la grande famille Ma'a MAKOULOH, la grande FAMILLE Ma'à MAFOHAM, la grande famille Ta'a FOTIE FOKAM, La famille FONDOP, la famille TAMO, la famille TAGNE, la famille FOSSI**, Je vous remercie profondément pour tous vos conseils et votre assistance inconditionnelle.

- **M. et Mme FONDOP**, pour tout le soutien qu'ils m'ont apporté durant l'accomplissement de ce travail

- **M. et Mme TAMO Benzo** pour tout le soutien qu'ils m'ont apporté durant l'accomplissement de ce travail

- Mes grands frères, **DJOURSSI Philippe et son épouse, FOTIE Jean et son épouse**, pour leurs apports financiers, morales et matériels, qui n'ont pas été de moindre dans la réalisation de ce travail

- Mes frères et sœurs **KUE Antoine, KOUAGNE Nestor et son épouse, GNUINTCHOU Serge et son épouse, NGNIPIPAYE Flaubert et son épouse, MAKOULOH Mireille Marcel et son épous, NGAGOUM Ernest, FONDOP Michel, MEFOHAM Mariel, SOFO Patrick, NJI Fernand et son épouse, GAFE George et son épouse et KOAGNE Judikael et son épouse**, pour tous leurs soutien, encouragement et leurs aides sans oublier leurs esprits de conviviabilité qui me faisaient oublier la fatigue de toutes les journées au Laboratoire.

- Mes neveux et nieces **Richnel DJOURSSI, Brayon DJOURSSI, Yorick DJOURSSI, Chirol DJOURSSI, Shantrell FOTIE, Leyna Ivana FOTIE, Yvanie KOAGNE, Astrelle KOAGNE, Audrelle KOAGNE, Alexia GNUINTCHOU, Frechnel NGNIPIPAYE, Maeil FOKA, Stael FOKA et Nikyl FOKA**. Que ce travail soit pour nous, tout un moteur de consolidation du lien de sang qui nous unit.

TABLE DE MATIERE

LISTE PROTOCOLAIRE	ERREUR ! SIGNET NON DEFINI.
DEDICACE	XIII
REMERCIEMENTS	XIV
TABLE DE MATIERE	XVII
LISTE DES ABBREVIATIONS ET SYMBOLES.....	XXIII
LISTE DES TABLEAUX.....	XXIX
LISTE DES FIGURES.....	xxvi
LISTE DES SCHEMAS.....	xxxiii
ABSTRACT.....	xxx

vii

INTRODUCTION GENERALE.....	1
CHAPITRE I: REVUE DE LA LITTERATURE.....	6
I.A. LE CANCER.....	7
I.A.1. GENERALITES	7
I.A.2. LA CELLULE	8
I.A.2.1. Définition et historique	8
I.A.2.2. Le cycle cellulaire et sa régulation	8
I.A.2.3. Propriétés des cellules tumorales	9
I.A.3. FACTEURS DE RISQUES CONNUS.....	11
I.A.3.1. Les facteurs de risque internes.....	12
I.A.3.1.1. Facteurs génétiques	12
I.A.3.1.2. Des dysfonctionnements immunitaires ou endocriniens facilitent l'apparition de certains cancers	12
I.A.3.2. Les facteurs externes.....	12
I.A.3.2.1. Facteurs chimiques	13
I.A.3.2.2. Agents physiques	13
I.A.3.2.3. Micro-organismes	14
I.A.3.2.4. Facteurs comportementaux.....	14

I.A.3.2.5. Les expositions professionnelles	14
I.A.3.2.6. La pollution environnementale.....	15
I.A.3.3. Les infections chroniques	15
I.A.3.4. Alimentation et nutrition	15
I.A.4. TRAITEMENT.....	15
I.A.4.1. La chirurgie	16
I.A.4.2. La radiothérapie	16
I.A.4.3. La chimiothérapie	16
I.A.4.3.1. Les agents alkylants.....	16
I.A.4.3.2. Les inhibiteurs de topoisomérasés	16
I.A.4.3.3. Les antimétabolites.....	18
I.A.4.3.4. Les agents intercalants.....	19
I.A.4.3.5. Les poisons du fuseau mitotique.....	19
I.B.1. APERÇU BOTANIQUE SUR LE GENRE <i>MOSTUEA</i>	21
I.B.1.1. Place du genre <i>Mostuea</i> dans la systématique moderne	21
I.B.1.2. Généralités sur la famille des Gelsemiaceae	21
I.B.1.3. Généralités sur le genre <i>Mostuea</i>	22
I.B.1.4. Généralités sur l'espèce <i>Mostuea batesii</i> Baker	23
I.B.1.4.1. Description botanique	23
I.B.1.4.2. Distribution de <i>Mostuea batesii</i> Baker	24
I.B.1.4.3. Usages de <i>Mostuea batesii</i> Baker en médecine traditionnelle.....	25
I.B.1.5. Généralités sur l'espèce <i>Mostuea Thomsonii</i> (Oliv.) Benth.....	26
I.B.1.5.1. Description botanique	26
I.B.1.5.2. Distribution de <i>Mostuea thomsonii</i> (Oliv.) Benth au Cameroun	26
I.B.1.5.3. Usages de <i>Mostuea thomsonii</i> (Oliv.) Benth en médecine traditionnelle.....	27
I.B.2. TRAVAUX CHIMIQUES ET PHARMACOLOGIQUES ANTERIEURS SUR LES EXTRAITS DES PLANTES DU GENRE <i>MOSTUEA</i>	27
I.B.2.1. Généralités sur les alcaloïdes	28

I.B.2.1.1. Définition	28
I.B.2.1.2. Propriétés physico-chimiques, extraction, caractérisation et dosage des alcaloïdes	29
I.B.2.1.3. Classification des alcaloïdes.....	31
I.B.2.1.3.1. Classification en fonction du type structural.....	32
I.B.2.1.3.2. Classification des alcaloïdes en fonction des différentes familles des plantes.	35
I.B.2.1.4. Importance des alcaloïdes	51
I.B.2.1.5. Activités biologiques des alcaloïdes	51
I.B.3.2. Les triterpènes.....	56
I.B.3.2.1. Généralités sur les triterpènes	56
I.B.3.2.2. Biosynthèse des triterpènes.....	57
I.B.3.2.2.1. Synthèse de l'unité isoprénique	58
I.B.3.2.2.3. Différentes classes de triterpènes pentacycliques.....	60
I.B.3.2.2.3. Méthodes de détermination de structure des triterpènes pentacycliques.....	61
I.B.3.2.2.3.1. La spectrométrie de masse.....	61
I.B.3.2.2.3.2. La Résonance magnétique nucléaire du carbone 13.....	65
I.B.3.2.2.3.2. Triterpènes isolés des plantes de la famille du genre <i>Mostuea</i>	68
CHAPITRE II : RESULTATS ET DISCUSSION	69
II.A. TRAVAUX PHYTOCHIMIQUES.....	70
II.A.1. EXTRACTION ET ISOLEMENT DES COMPOSES	70
II-A-2. ETUDE STRUCTURALE DES COMPOSES ISOLES.....	80
II-A-2-1. Les Alcaloïdes	800
II-A-2-1-1. Détermination de la structure du composé GMT 16	80
II.A.2.1.2. Identification du composé GMT11. 10-hydroxy-camptothecine.....	87
II.A.2.1.3. Identification du composé GMT15. Camptothecine.....	90
II.A.2.1.4. Détermination de la structure du composé GMB 14	94
II.A.2.1.5. Détermination de la structure du composé GMF 5.....	103
II.A.2.1.6. Détermination de la structure du composé GMB 11.....	110
II.A.2.2. Les Triterpenes	119

II.A.2.2.1. Détermination de la structure GMT9.....	119
II.A.2.2.2. Identification de la structure GMT12. acide 2 α , 3 α , 19 α -trihydroxy-24-norurs-4(23), 12-dien-28-oïque.....	122
II.A.2.2.3. Identification de la structure GMT 5. acide 3 β -acetoxy-2 α ,19 α -dihydroxy-24-norurs-4(23),12-dien-28-oïque.....	127
II.A.2.2.4. Identification de la structure du composé GMT 5. α -amyrine.....	131
II.A.2.2.5. Identification de la structure du composé GMT 9. β -amyrine.....	134
II.A.2.2.6. Identification de la structure du composé GMT 17. 3-O- β -D-glucopyranosyl- α -amyrine.....	137
II.A.2.2.7. Identification de la structure du composé GMT7. 3-O- β -D-glucopyranosyl-28-hydroxy- α -amyrine.	141
II.A.2.2.8. Identification de la structure du composé GMB 3. <i>acide ursilique</i>	144
II.A.2.2.9. Identification du composé GMT8.....	147
II.A.2.2.10. Identification du composé GMF3. l'acétate de la β -amyrine.....	151
II.A.2.2.11. Identification de la structure GMF 2	154
II.A.2.2.12. Identification du composé GMF 4. la 3-O- β -D-glucopyranosyl- β -amyrine.....	158
II.A.2.3. Dérivé phénolique.....	162
I.A.2.3.1. Identification du composé GMB 16. l'acide 2,3-dihydroxy-4,5-dimethylbenzoïque.....	161
II.A.2.4. Stéroïdes.....	163
II.A.2.4.1. Identification du composé GMT2. 3-O- β -D-glucopyranoside de stigmastérol.....	163
II.A.2.4.2. Identification du composé GMF3. Mélange de β -sitostérol et de Stigmastérol.....	164
II.A.2.4.3 Identification du composé GMF1. 3-O- β -D-glucopyranoside de β -sitostérol.	166
II.A.2.4.4. Identification du composé GMB1 au spinasterol.	167

II.A.2.5. Les hydrates de carbone	169
II.A.2.5.1. Identification de la structure GMB 10.....	169
II.A.2.5.2. Identification de la structure du composé GMB8.....	175
II.A.3. HYPOTHESE DE LIENS BIOGENETIQUES ENTRE LES ALCALOIDES ISOLES	177
II.A.4. QUELQUES REACTIONS SUR QUELQUES PRODUITS ISOLES.....	178
II.A.4.1 Acétylation du saccharose GMB 10.....	178
II.A.4.2 Réaction de methylation de la 10-hydroxycamptotecin. GMT11	181
II.B. ACTIVITES BIOLOGIQUES DES EXTRAITS BRUTS ET DE QUELQUES COMPOSES ISOLES DES DEUX PLANTES.....	183
II.B.1. EVALUATION DE L'ACTIVITE CYTOTOXIQUE	184
II.B.1.1. Principe et Méthode	184
II.B.1.2. Résultats et discussion	184
II.B.2. EVALUATION DES ACTIVITES ANTIMICROBIENNES	186
II.B.2.1. Principe et Méthode	186
II.B.2.2 Résultats et discussion	186
CONCLUSION GENERALE ET PERSPECTIVES	189
CHAPITRE III : PARTIE EXPERIMENTALE	192
III.A. MATERIEL VEGETAL	194
III.A.1. EXTRACTION, FRACTIONNEMENT, ISOLEMENT ET PURIFICATION DES COMPOSES	194
III.A.1.1. Extraction.....	194
III.A.1.2 Fractionnement.....	194
III.A.3.3 Isolement et purification.....	195
III.A.3.3.1 Analyse des fractions issues de la chromatographie flash de l'extrait des tiges de <i>Mostuea thomsonii</i>	194
III.A.3.3.2 Analyse de l'extrait au méthanol des feuilles de <i>Mostuea thomsonii</i>	196
III.A.3.3.3 Analyse des fractions issues de la chromatographie flash de l'extrait des tiges de <i>Mostuea batesii</i> Baker.....	200
III.A.3.3.4 Analyse de l'extrait au méthanol des racines de <i>Mostuea batesii</i>	203
III.A.3.3.5 Analyse de l'extrait au méthanol des racines de <i>Mostuea batesii</i>	204
III.A.4. CARACTERISTIQUES PHYSICO-CHIMIQUES DES COMPOSES ISOLES.....	207

III.B. TRANSFORMATIONS CHIMIQUES	215
III.B.1 REACTION D'ACETYLATION	215
III.B.2 REACTION DE METHYLATION	215
III.C. MATERIEL BIOLOGIQUE ET METHODES	216
III.C.1 EVALUATION DE L'ACTIVITE ANTIMICROBIENNE.....	216
III.C.1.1. Culture des cellules.....	216
III.C.1.2. Traitement des cellules	217
III.C.1.3. Analyse des données.....	217
III.C.2. EVALUATION DE L'ACTIVITE ANTI TUMORALE	217
III.D. TESTS QUALITATIFS DES COMPOSES ISOLES	218
III.D.1. TEST DE DRAGENDORFF	218
III.D.2. TEST DE LIEBERMANN- BURCHARD.....	218
III.D.3. TEST AU CHLORURE FERRIQUE	219
III.D.4. TEST DE MOLISH.....	219
LISTE DES REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES	220
ANNEXE	228
LISTE DES PUBLICATIONS DE LA THESE	229

LISTE DES ABBREVIATIONS ET SYMBOLES

Ac-OET	:	Acétate d'éthyle
ADN	:	Acide Desoxyribonucléique
ARNm	:	Acide Ribonucléique Messenger
APT	:	Attached Proton Test
¹³ C	:	Carbone 13
CC	:	Chromatographie sur Colonne
CCM	:	Chromatographie sur Couche Mince
CDCl ₃	:	Chloroforme Deutééré
CD ₃ OD	:	Méthanol deutéré
CH ₂ Cl ₂	:	Chlorure de Méthylène
CIRC	:	Centre International de Recherche sur le Cancer
CMI	:	Concentrations Minimales Inhibitrices
CMM	:	Concentrations Minimale Microbicides
COSY	:	Correlation Spectroscopy
d	:	Doublet,
dd	:	Doublet dédoublé,
ddd	:	Doublet de doublet de doublet
DEPT	:	<i>Distortionless Enhancement by Polarization Transfer</i>
DEPTQGP	:	<i>Distortionless Enhancement by Polarization Transfer Quaternary Gradient Pulse</i>
DHF	:	Dihydrofolates
DHFR	:	<i>Dihydrofolate- réductase</i>
DMS	:	Sulfate de diméthyle
DMSO	:	Diméthylsulfoxyde
DTTP	:	Désoxythymidine triphosphate
ESI-TOF	:	Ionization Electro Spray Time of fly
FAB	:	Fast Atom Bombardement
5-FU	:	5- fluorouracile

5-FUTP	:	5-fluoro-uracile triphosphate
5-FdUTP	:	5-fluoro-desoxyuracile triphosphate
^1H	:	Proton
Hex	:	Hexane
HNC	:	Herbier National du Cameroun
HMBC	:	Heteronuclear Multiple Bond Connectivity
HSQC	:	Heteronuclear Single Quantum Coherence
Hz	:	Hertz
IC ₅₀	:	Concentration nécessaire pour inhiber de moitié l'activité
IR-TF	:	Infra Rouge à Transformée de Fourier
<i>J</i>	:	Constantes de couplage
m	:	Multiplet
MeOH	:	Méthanol
MHz	:	Mégahertz
MNU	:	N-méthyl-N-nitrosourée
<i>m/z</i>	:	Rapport masse/charge atomique
MTT	:	Diméthylthiazol-diphenyltetrazolium
NK	:	<i>Natural Killer</i>
OMS	:	Organisation Mondiale de la Santé
PF	:	Point de Fusion
ppm	:	Partie par million
q	:	Quartet
RAD	:	Rétro Diels Alder
RMN ^{13}C	:	Résonance Magnétique Nucléaire du Carbone 13
RMN ^1H	:	Résonance Magnétique Nucléaire du Proton 1
s	:	Singulet,
SM-HR	:	Spectrométrie de Masse-Haute résolution
SM-ESI	:	Spectre de Masse sous Ionisation Electro Spray
t	:	Triplet,
THF	:	Tétrhydrofurane

TMS	:	Tétraméthylsilane
TS	:	Thymidylate synthétase
UV	:	Ultra Violet
ν_{max}	:	Echelle d'estimation des bandes de vibration
δ	:	Echelle de déplacement chimique en partie par million

LISTE DES TABLEAUX

Tableau 1: Lieux de récolte de <i>Mostuea batesii</i> Baker au Cameroun	25
Tableau 2 : Lieux de récolte de <i>Mostuea thomsonii</i> (Oliv.) Benth au Cameroun.	27
Tableau 3: précurseurs et types d'alcaloïdes	33
Tableau 4 : Quelques alcaloïdes indolo-monoterpéniques isolé des Rubiaceae	36
Tableau 5 : Quelques alcaloïdes indolo-monoterpéniques isolé des Apocynaceae	37
Tableau 6 : Quelques alcaloïdes indolo-monoterpéniques isolés des Gelsemiaceae (<i>Strychnos nux-vomica</i>)	44
Tableau 7 : Quelques alcaloïdes bis-indolomonoterpeniques ont été isolés de <i>Strychnos nux-vomica</i>	46
Tableau 8: Quelques alcaloïdes isolés du genre <i>Mostuea</i> (<i>Mostuea brunoniss</i>)	50
Tableau 9 : Quelques alcaloïdes et leurs activités biologiques	53
Tableau 10 : Différentes classes de triterpènes pentacycliques	61
Tableau 11: Déplacements chimiques des carbones vinyliques pour quelques classes de triterpènes pentacycliques.....	66
Tableau 12 : Triterpènes et stéroïdes isolés du genre <i>Mostuea</i>	68
Tableau 13: Récapitulatif des composés isolés des deux plantes	78
Tableau 14 : Données spectrales de RMN ¹ H (400 MHz, DMSO- <i>d</i> ₆) et RMN ¹³ C (100 MHz, DMSO- <i>d</i> ₆) de GMT 16	86
Tableau 15 : Données spectrales de RMN ¹ H (400 MHz, DMSO- <i>d</i> ₆) et RMN ¹³ C (100 MHz, DMSO- <i>d</i> ₆) de GMT 11	89
Tableau 16 : Données spectrales de RMN ¹ H (400 MHz, DMSO- <i>d</i> ₆) et RMN ¹³ C (100 MHz, DMSO - <i>d</i> ₆) de GMT15.....	93
Tableau 17: Données spectrales de RMN ¹ H (400 MHz, DMSO - <i>d</i> ₆) et RMN ¹³ C (DEPTQGP) (100 MHz, DMSO - <i>d</i> ₆) du GMB14. thomsonine A	102
Tableau 18: Données spectrales de RMN ¹ H (400 MHz, DMSO - <i>d</i> ₆) et RMN ¹³ C (100 MHz, DMSO - <i>d</i> ₆) du composé GMF5	109
Tableau 19 : Données spectrales de RMN ¹ H (400 MHz, DMSO - <i>d</i> ₆) et RMN ¹³ C (100 MHz, DMSO - <i>d</i> ₆) de GMB11.....	118

Tableau 20: Données spectrales de RMN ^1H (DMSO- d_6 , 400 MHz) et RMN ^{13}C (DMSO- d_6 , 100 MHz) de GMT9. 2 α , 3 α , 19 α -Trihydroxy-24-norurs-4(23), 12-diene	121
Tableau 21: Données spectrales de RMN ^1H (DMSO- d_6 , 400 MHz) et RMN ^{13}C (DMSO- d_6 , 100 MHz) de GMT 12. Acide 2 α ,3 β ,19 α -trihydroxy-24-norurs-4(23),12-dien-28-oïque	126
Tableau 22: Données spectrales de RMN ^1H (DMSO- d_6 , 400 MHz) et RMN ^{13}C (DMSO- d_6 , 100 MHz) de GMT5 Acide 3 β -acetoxy-2 α ,19 α -dihydroxy-24-norurs-4(23),12-dien-28-oïque.....	130
Tableau 23: Données spectrales de RMN ^1H (DMSO- d_6 , 400 MHz) et RMN ^{13}C (DMSO- d_6 , 100 MHz) de GMT5. α -Amyrine.....	133
Tableau 24 : Comparaison des données spectrales de RMN ^{13}C (CDCl $_3$, 75 MHz) de GMT9 avec Acétate d' α -amyrine (CDCl $_3$, 150 MHz).....	136
Tableau 25: Données spectrales de RMN ^1H (DMSO- d_6 , 400 MHz) et RMN ^{13}C (DMSO, 100 MHz) de GMT 17. 3- <i>O</i> - β - <i>D</i> -glucopyranosyl- α -amyrine.....	140
Tableau 26: Données spectrales de RMN ^1H (DMSO- d_6 , 400 MHz) et RMN ^{13}C (DMSO- d_6 , 100 MHz) de GMT7. 3- <i>O</i> - β - <i>D</i> -glucopyranosyl-28-hydroxy- α -amyrine.....	143
Tableau 27: Données spectrales de RMN ^1H (DMSO- d_6 , 400 MHz) et RMN ^{13}C (DMSO- d_6 , 100 MHz) de GMT7. Acide α -amyrin-28-oïque.....	146
Tableau 28: Données spectrales de RMN ^1H (DMSO- d_6 , 400 MHz) et RMN ^{13}C (DMSO- d_6 , 100 MHz) de GMF8. β -amyrine.....	150
Tableau 29 : Comparaison des données spectrales de RMN ^{13}C (CDCl $_3$, 75 MHz) de GMT9 avec Acétate de la β -Amyrine (CDCl $_3$, 150 MHz).....	153
Tableau 30: Données spectrales de RMN ^1H (DMSO- d_6 , 400 MHz) et RMN ^{13}C (DMSO- d_6 , 100 MHz) de GMF2. Acide β -amyrin-28-oïque.....	157
Tableau 31: Données spectrales de RMN ^1H (DMSO- d_6 , 400 MHz) et RMN ^{13}C (DMSO- d_6 , 100 MHz) de GMF4. 3- <i>O</i> - β - <i>D</i> -glucopyranosyl- β -amyrine.....	160
Tableau 32: Données spectrales de RMN ^1H (DMSO- d_6 , 400 MHz) et RMN ^{13}C (DMSO- d_6 , 100 MHz) de GMB16. Acide 4-hydroxy-3,5-dimethoxybenzoïque.....	162
Tableau 33: Déplacements chimiques et attributions du composé GMB10 (DMSO- d_6 ; 500, MHz). saccharose.....	174
Tableau 34: Données spectrales de RMN ^1H (CDCl $_3$, 400 MHz) et RMN ^{13}C (CDCl $_3$, 100 MHz) de GMB8. Myo- inisitol ou cyclohexane-1,2,3,4,5,6-hexol.....	175

Tableau 35: Activité cytotoxique des extraits bruts de <i>M. thomsonii</i> et de quelques composés purs isolés des racines de <i>M. batesii</i> et <i>M. thomsonii</i>	184
Tableau 36 : Activités antibactériennes et antifongiques des extraits et des composés purs : (Concentrations Minimales Inhibitrices (CMI) et Concentrations Microbicides (CMM) des extraits solides en mg / ml).....	186
Tableau 37: Activités antibactériennes et antifongiques des extraits et des composés purs (Concentrations Minimales Inhibitrices (CMI) et Concentrations Microbicides (CMM) des extraits liquides en ppm (parties par million).....	186
Tableau 38 : Récapitulatif des différents extraits obtenus	194
Tableau 39: Chromatogramme du flash des extraits des tiges obtenus <i>M. thomsonii</i>	195
Tableau 40: Chromatogramme du flash des extraits des tiges obtenus <i>M. batesii</i>	195
Tableau 41: Chromatogramme de la fraction obtenue au mélange hexane-acétate d'éthyle (1:1) des tiges	196
Tableau 42: Chromatogramme de la fraction obtenue au mélange l'acétate d'éthyle des tiges	197
Tableau 43 : Chromatogramme de l'extrait au méthanol des feuilles de <i>Mostuea thomsonii</i>	198
Tableau 44: Chromatogramme de l'extrait au méthanol des racines de <i>Mostuea thomsonii</i>	200
Tableau 45: Chromatogramme de la fraction de l'extrait à l'hexane – acétate d'éthyle (3 :1) des tiges de <i>Mostuea batesii</i>	201
Tableau 46: Chromatogramme de la fraction de l'extrait à l'hexane – acétate d'éthyle (9 :1) des tiges de <i>Mostuea batesii</i>	202
Tableau 47: Chromatogramme de l'extrait au méthanol des racines de <i>Mostuea batesii</i>	203
Tableau 48: Chromatogramme de l'extrait au méthanol des feuilles de <i>Mostuea batesii</i>	205

LISTE DES FIGURES

Figure 1: Comment une cellule devient cancer	11
Figure 2 : Representation schematique des differentes etapes de la cancerogenese	11
Figure 3: Carte de la distribution geographique des Gelsemiaceae	22
Figure 4: <i>Mostuea batesii</i> Beker	24
Figure 5 : Distribution geographique de <i>Mostuea batesii</i> Beker en Afrique	25
Figure 6: <i>Mostuea thomsonii</i> (Oliv.) Benth	26
Figure 7 : Spectre de masse ESI du composé GMT16	800
Figure 8: Spectre IR du composée GMT16	81
Figure 9: Spectre DEPTQGP (<i>DEPT Quaternary Gradient Pulse</i>) (100 MHz, DMSO- d_6) de GMT 16.....	82
Figure 10: Spectre de RMN ^1H (400 MHz, DMSO- d_6) de GMT16.....	83
Figure 11 : Spectre HSQC du composé GMT 16.....	84
Figure 12 : Spectre HMBC du composé GMT 16.....	85
Figure 13 : Spectre COSY du composé GMT 16.....	85
Figure 14: Spectres comparatifs des spectres DEPTQGP (<i>DEPT Quaternary Gradient Pulse</i>) (100 MHz, DMSO- d_6) de GMT11 ^b et de GMT 16 ^a	88
Figure 15: Spectres comparatifs de RMN ^1H (400 MHz, DMSO- d_6) de GMT16 ^a et de GMT11 ^b	88
Figure 16 : Spectre de masse ESI-HR du composé GMT15	90
Figure 17 : Spectre IR du composé GMT 15	90
Figure 18 : Spectres comparatifs des spectres DEPTQGP (<i>DEPT Quaternary Gradient Pulse</i>) (100 mhz, DMSO- d_6) de GMT11 ^a et de GMT 15 ^b	92
Figure 19 : Spectre de RMN ^1H (400 MHz, DMSO - d_6) comparatif de GMT15 ^a et GMT11 ^b	92
Figure 20 : Spectre de masse FAB-HR du composé GMB14.....	94
Figure 21 : Spectre IR du compose GMB14.....	95
Figure 22 : Spectre <i>DEPTQGP</i> (<i>DEPT Quaternary Gradient Pulse</i>) (100 MHz, DMSO - d_6) du composé GMB14.....	96
Figure 23 : Spectre de RMN ^1H (400 MHz, DMSO - d_6) de GMB14.....	98
Figure 24 : Spectre HMBC partiel du composé GMB14.....	100
Figure 25: Spectre HSQC partiel du composé GMB14.....	101

Figure 26: Spectre COSY partiel du composé GMB14.....	101
Figure 27: Spectre IR du composé GMF5	103
Figure 28 : Spectre <i>DEPTQGP</i> (<i>DEPT Quaternary Gradient Pulse</i>) (100 MHz, DMSO - <i>d</i> ₆) du composé GMF5	105
Figure 29 : Spectre de RMN ¹ H (400 MHz, DMSO - <i>d</i> ₆) de GMF5.....	106
Figure 30 : Spectre HMBC du composé GMF5.....	107
Figure 31 : Spectre HSQC du composé GMF5.....	108
Figure 32 : Spectre COSY du composé GMF5.....	108
Figure 33 : Spectre de masse en ESI de GMB11	110
Figure 34 : Spectre IR du composé GMB11	110
Figure 35 : Spectre <i>DEPTQGP</i> (<i>DEPT Quaternary Gradient Pulse</i>) (100 MHz, DMSO - <i>d</i> ₆) du composé GMB11	111
Figure 36 : Spectre <i>DEPTQGP</i> (<i>DEPT Quaternary Gradient Pulse</i>) (100 MHz, DMSO - <i>d</i> ₆) du composé GMB11	111
Figure 37 : Spectre de RMN ¹ H (400 MHz, DMSO - <i>d</i> ₆) de GMB11	113
Figure 38 : Spectre de RMN ¹ H (400 MHz, DMSO - <i>d</i> ₆) de GMB11	113
Figure 39 : Spectre partiel HSQC du composé GMB11.....	113
Figure 40 : Spectre partiel HSQC du composé GMB11....ERREUR ! SIGNET NON DEFINI.	
Figure 41 : Spectre HMBC du composé GMB11	116
Figure 42: Spectre partiel HMBC du composé GMB11 ...ERREUR ! SIGNET NON DEFINI.	
Figure 43 : Spectre COSY du composé GMB11	117
Figure 44 : Spectre DE <i>DEPTQGP</i> (100 MHz, DMSO- <i>d</i> ₆) DE GMT 9.....	119
Figure 45 : Spectre de RMN ¹ H (400 MHz, DMSO - <i>d</i> ₆) de GMT 9.....	120
Figure 46: Spectre COSY (DMSO - <i>d</i> ₆) de GMT 9.....	120
Figure 47 : Spectre de masse en ESI de GMT12.....	122
Figure 48 : Spectre de <i>DEPTQGP</i> (100 MHz, DMSO - <i>d</i> ₆) de GMT 12.....	123
Figure 49 : Spectre de RMN ¹ H (400 MHz, DMSO - <i>d</i> ₆) de GMT 12.....	123
Figure 50 : Spectre HSQC (DMSO - <i>d</i> ₆) de GMT 12.....	124
Figure 51: Spectre HMBC (DMSO - <i>d</i> ₆) de GMT 12.....	124
Figure 52 : Spectre COSY (DMSO - <i>d</i> ₆) de GMT 12.....	125
Figure 53 : Superposition des Spectres de <i>DEPTQGP</i> (100 MHz, DMSO - <i>d</i> ₆) de GMT 12 et de GMT5.....	128
Figure 54 : Spectre de RMN ¹ H (400 MHz, DMSO - <i>d</i> ₆) de GMT 5.....	128
Figure 55: Spectre de RMN ¹³ C (100 MHz, DMSO - <i>d</i> ₆) de GMT5.....	132

Figure 56: Spectre de RMN ^1H (CDCl_3 , 300 MHz) de GMT9	134
Figure 57 : Spectre de RMN ^{13}C (CDCl_3 , 100 MHz) de GMT9 ou acétate d' α -Amyrine..	135
Figure 58 : Spectre de masse en ESI de GMT17.....	137
Figure 59 : Spectre de RMN ^{13}C (100 MHz, $\text{DMSO}-d_6$) de GMT 17.....	138
Figure 60 : Spectre de RMN ^1H (400 MHz, $\text{DMSO}-d_6$) de GMT17.....	139
Figure 61: Spectre de RMN ^1H ($\text{DMSO}-d_6$, 400 MHz) de GMT7.....	141
Figure 62 : Spectre de HSQC de GMT 7.....	142
Figure 63 : Spectre de RMN ^{13}C (100 MHz, $\text{DMSO}-d_6$) de GMB3	144
Figure 64 : Spectre de RMN ^1H (400 MHz, $\text{DMSO}-d_6$) de GMB 3	145
Figure 65 : Spectre de DEPTQGP (100 MHz, $\text{DMSO}-d_6$) de GMT 8.....	147
Figure 66 : Spectre de RMN ^1H (100 MHz, $\text{DMSO}-d_6$) de GMT 8.....	148
Figure 67: Spectre HSQC ($\text{DMSO}-d_6$) de GMT8.....	148
Figure 68: Spectre HMBC ($\text{DMSO}-d_6$) de GMT 8.....	149
Figure 69 : Spectre COSY ($\text{DMSO}-d_6$) de GMT8.....	149
Figure 70: Spectre de RMN ^{13}C (CDCl_3 , 75 MHz) de GMF3 ou acétate de β -amyrine....	151
Figure 71 : Spectre de RMN ^1H (CDCl_3 , 300 MHz) de GMF3 ou acétate de β -amyrine...	152
Figure 72 : Spectre de RMN ^{13}C (100 MHz, $\text{DMSO}-d_6$) de GMF 2.....	154
Figure 73 : Spectre de DEPTQGP (100 MHz, $\text{DMSO}-d_6$) de GMF 2.....	154
Figure 74: Spectre de RMN ^1H (400 MHz, $\text{DMSO}-d_6$) de GMF 2.....	155
Figure 75 : Spectre de HSQC de GMF 2.....	156
Figure 76 : Spectre de HMBC de GMF 2.....	156
Figure 77 : Spectre de <i>DEPTQGP</i> (100 MHz, $\text{DMSO}-d_6$) de GMF 4.....	158
Figure 78 : Spectre HSQC ($\text{DMSO}-d_6$) de GMF 4.....	159
Figure 79: Spectre HMBC ($\text{DMSO}-d_6$) de GMF 4.....	159
Figure 80 : Spectre de <i>DEPTQGP</i> (100 MHz, $\text{DMSO}-d_6$) de GMB16.....	161
Figure 81 : Spectre de RMN ^1H (400 MHz, $\text{DMSO}-d_6$) de GMB16.....	162
Figure 82 : Spectre de RMN ^{13}C (75 MHz, $\text{Pyridine}-d_5$) de GMT2	163
Figure 83 : Spectre de masse du composé GMF3	164
Figure 84 : Spectre de RMN ^1H (500 MHz, CDCl_3) du composé GMF3.....	165
Figure 85: Spectre de RMN ^1H (300 MHz, $\text{Pyridine}-d_5$) de GMF1.....	166
Figure 86 : Spectre ESI-MS de GMB1 ou spinastérol.....	167
Figure 87 : Spectre RMN ^1H (CDCl_3 , 300 MHz) de GMB1 ou Spinasterol.....	168
Figure 88 : Spectre RMN ^{13}C (CDCl_3 , 75 MHz) de GMB1 ou Spinasterol.....	168

Figure 89 : Spectre de masse du composé GMB10.....	169
Figure 90 : Spectre DEPT (DMSO- <i>d</i> ₆ , 100 MHz) du composé GMB10.....	170
Figure 91 : Spectre DEPT (DMSO- <i>d</i> ₆ , 100 MHz) du composé GMB10.....	170
Figure 92 : Spectre HMQC du composé GMB10.....	171
Figure 93 : Spectre de RMN ¹ H (DMSO- <i>d</i> ₆ , 500, MHz) du composé GMB10.....	172
Figure 94 : Spectre HMBC du composé GMB10.....	172
Figure 95 : Spectre COSY du composé GMB10.....	174
Figure 96 : Spectre de masse EI comparatif de GMB10 et GMB10a	180
Figure 97 : Spectre comparatif de RMN ¹ H des composés GMB10 et GMB10a	181
Figure 98 : Spectre de RMN ¹ H des composés GMB16a	182

LISTE DES SCHEMAS

Schema 1: Classification systematique de <i>Mostuea</i> dans le règne végétal.....	21
Schema 2: Les trois types de squelettes carbonés issus de la strictosidine, rencontrés chez les alcaloïdes indolo-monoterpeniques.	38
Schéma 3 : Biosynthèse du précurseur terpénique (la sécologamine) à partir de l'acide mevalonique	41
Schema 4 : Biosynthèse de la strictosidine.....	41
Schema 5: Biosynthèse des alcaloïdes indole-tèrpenoïdes	42
Schéma 6: Schéma simplifié de l'origine biosynthétique des alcaloïdes indolomonoterpenique de type I. Source	43
Schéma 7 : Mécanisme général de la biosynthèse des alcaloïdes à partir d'un acide α -aminé.....	48
Schema 8: Biosynthèse des alcaloïdes quinoléiques	49
Schéma 9 : Formation de l'IPP et du DMAPP à partir de l'acide mévalonique	58
Schéma 10 : Chemin aboutissant à la Formation du squalène.....	59
Schema 11: Fragmentation du type <i>Retro-Diels-Alder</i> des series olean-12-ene et urs-12-ene.....	62
Schema 12 : Fragmentation du type <i>Retro-Diels-Alder</i> de la 3 β -acetoxy-12-oxoursane	63
Schema 13 : Fragmentation <i>Retro-Diels-Alder</i> des Δ^{14} - taraxerènes	64
Schema 14 : Fragmentation des séries lupanes et lupenes.....	65
Schema 15 : Fragmetation de la friedeline.....	65
Schema 16: Protocole d'extraction et d'isolement des composés des racines <i>Mostuea thomsonii</i> (Oliv.) Benth	72
Schema 17 : Protocole d'extraction, de fractionnement et d'isolement des composés des tiges de <i>Mostuea thomsonii</i> (Oliv.) Benth	73
Schema 18: Protocole d'extraction et d'isolement des composés des feuilles de <i>Mostuea thomsonii</i> (Oliv.) Benth	74
Schema 19 : Protocole d'extraction et d'isolement des composés des racines <i>Mostuea batesii</i> Baker.....	75
Schema 20 : Protocole d'extraction, de fractionnement et d'isolement des composés des tiges <i>Mostuea batesii</i> Baker	76

Schema 21 : Protocole d'extraction et d'isolement des composés des feuilles <i>Mosteua batesii</i> Baker.....	77
Schema 20 : Structure du composé GMT 16	84
Schema 21 : Quelques corrélations HMBC et COSY de GMT 16	84
Schema 22 : Quelques corrélations HMBC et COSY de GMB 14	99
Schema 23 : Quelques corrélations HMBC et COSY de GMF5.....	106
Schema 24 Quelques corrélations HMBC et COSY du composé GMB11	115
Schema 25 : Sythèse de la strictosidine	177
Schema 26 : Hypothèse de liens biogénétiques entre les alcaloïdes isolés.....	178
schema 27 : Etape de réaction d'acétylation du sucrose.....	179
Schema 28 : Mécanisme d'acétylation du composé GMB 10.....	180
Schema 29 : Etapes de la réaction de métylation de la 10-hydroxy-camptothécine.	183

RESUME

L'intérêt des substances d'origine naturelle, potentiellement anti-tumorales et antibactériennes nous a amené à nous intéresser aux métabolites secondaires des plantes issues de la biodiversité africaine de la famille de Gelsemiaceae. En effet, des études antérieures menées sur quelques espèces du genre *Mostuea*, en l'occurrence *Mostuea brunonii* et *Mostuea hirsuta* ont conduit à l'isolement des molécules à structures complexes et originales, possédant entre autre d'excellentes propriétés anti-tumorales et antibactériennes. Au vu de ces résultats, nous avons entrepris des investigations pharmaco-chimiques sur deux autres espèces du même genre à savoir *Mostuea batesii* Baker et *Mostuea thomsonii* (Oliv.) Benth, deux plantes médicinales du Cameroun utilisées en pharmacopée traditionnelle pour le traitement de nombreuses affections telles que le cancer, le paludisme ... etc.

Les travaux menés sur des extraits des feuilles, des tiges et des racines de ces deux plantes, ont conduit à l'isolement de 28 composés, en utilisant les techniques de chromatographie liquide successive à pression atmosphérique et flash chromatographique sur gel de silice en phase normale. Les structures de ces composés, ont été déterminées par les méthodes de spectrométrie de masse en impact électronique, en sources FAB et ESI, et de spectroscopie IR et de RMN 1D et 2D (COSY, HSQC et HMBC). Parmi ces 28 composés isolés, cinq se sont révélés être des structures nouvelles dont trois dérivés d'alcaloïde indolo-monoterpénique auxquels les noms triviaux thomsonine A, mostueatecine A et mostueatecine B ont été attribués, un dérivé d'alcaloïde quinolo-monoterpénique dénommé thomsonine B et un triterpène pentacyclique auquel le nom trivial mostueatecine C a été attribué. Quant aux 23 composés restants, ils ont été identifiés comme étant des composés connus parmi lesquels : deux dérivés d'alcaloïde quinolo-monoterpénique à savoir, la 10-hydroxy-camptothecine, la camptothecine; treize triterpènes pentacycliques : 3-*O*- β -*D*-glucopyranosyl- α -amyrine, 3-*O*- β -*D*-glucopyranosyl-28-hydroxy- α -amyrine, acide α -amyrin-28-oïque, 3- β -acétate- α -amyrine, acide β -amyrin-28-oïque, 3-*O*- β -*D*-glucopyranosyl- β -amyrine, β -amyrine, acide 2 α ,3 α ,19 α -trihydroxy-24-norurs-4(23),12-dien-28-oïque, acide 3 β -acetoxy-2 α ,19 α -dihydroxy-24-norurs-4(23),12-dien-28-oïque et 2 α ,3 α ,19 α -trihydroxy-24-norurs-4(23),12-diene ; un dérivé de l'acide gallique (acide 2,3-dihydroxy-4,5-dimethylbenzoïque); deux hydrates de carbone à savoir, le sucrose et le sorbitol et quatre phytostérols (stigmastérol, 3-*O*- β -*D*-glucopyranoside de stigmastérol, β -sitostérol, 3-*O*- β -*D*-glucopyranoside de β -sitostérol).

Le sucrose et la 10-hydroxylcamptotecine ont fait l'objet de quelques transformations chimiques, notamment, l'acétylation et la méthylation, lesquelles ont conduit à deux dérivés nouveaux entièrement caractérisés.

Les extraits bruts et certains composés purs isolés ont été évalués d'une part pour leur activité anti-tumorale à l'égard des cellules cancéreuses du col de l'utérus KB-3-1 et KB-V1, et d'autre part pour leurs activités antibactériennes et antifongiques à l'égard de six souches cliniques réparties de la manière suivante : trois bactéries Gram négatif (*Escherichia coli* (*E.c*), *Pseudomonas aeruginosa* (*P.a*), *Providencia stuartii* (*P.s*)), une bactérie Gram positif (*Staphylococcus aureus* (*S.a*)) et deux champignons (*Candida krusei* (*C.k*) et *Cryptococcus laurentii* (*C.l*)) d'autre part. Les résultats obtenus ont montré que les composés telles que thomsoniine B, camptothecine, acide 2 α ,3 α ,19 α -trihydroxy-24-norurs-4(23),12-dien-28-oïque et acide 3 β -acetoxy-2 α ,19 α -dihydroxy-24-norurs-4(23),12-dien-28-oïque à la concentration de 10 μ g/ml et une IC50 allant de 0,0084 à 0,0088 μ g/ml, ont présentés une mortalité de 95% à l'égard de deux souches de cellules cancéreuses du col de l'utérus KB-3-1 et KB-V1. La mostueatecine A et l'acide 3 β -acetoxy-2 α ,19 α -dihydroxy-24-norurs-4(23),12-dien-28-oïque quant à elle se sont révélées active vis-à-vis des champignons (*Candida krusei*) et bactéries Gram négatif (*Escherichia coli*) avec des valeurs de concentration minimale d'inhibition inférieure à 1 mg/ml.

Mot-clés : *Mostuea batesii* Baker, *Mostuea thomsonii* (Oliv.) Benth, Gelsemiaceae, alcaloïdes de type quinolo-monoterpenique et indolo-monoterpenique, triterpenes, transformations chimiques, activité anti-tumorale et antimicrobienne.

ABSTRACT

The interest in natural products with antitumor and antibacterial properties has led us to focus on secondary metabolites from plants from the African biodiversity belonging to the Gelsemiaceae family. Indeed, previous studies on some species of the *Mostuea* genus, precisely *Mostuea brunonii* and *Mostuea hursuta* led to the isolation of molecules with original and complex structures, some of which possess excellent antitumor and antibacterial properties. In the light of these results, we have undertaken pharmaco-chemical investigations of two other species of the same genus namely *Mostuea batesii* Baker and *Mostuea thomsonii*, (Oliv.) Benth two Cameroonian medicinal plants used in traditional medicines for the treatment of many ailments such as cancer, malaria... etc.

Investigations of the methanolic extracts from the leaves, stems and roots of these two plants, have led to the isolation of 28 pure compounds, using successive liquid chromatography under atmospheric pressure and flash chromatographic techniques in a normal silica gel phase. The structures of these compounds were determined by using mass spectrometry methods such as electronic impact, FAB and ESI as well as IR, 1D and 2D NMR spectroscopy (COSY, HSQC and HMBC). Among the 28 isolated pure compounds, five were revealed to be new derivatives among which three indolo-monoterpenic alkaloids named thomsoniine A, mostueateciine A and mostueatecine B and one quinolinic monoterpene alkaloid designated thomsoniine B and one triterpenic derivative named mostuetecine C. Of the 23 remaining known compounds, there are two monoterpene quinolinic alkaloids named, 10-hydroxy-camptothecin, camptothecin, eleven pentacyclic triterpenoids: 3-*O*- β -*D*-glucopyranosyl- α -amyrin, 3-*O*- β -*D*-glucopyranosyl-28-hydroxy- α -amyrin, β -amyrin-28-oic acid, α -amyrin-28-oic acid, 3-*O*- β -*D*-glucopyranosyl- α -amyrin, 3-*O*- β -*D*-glucopyranosyl- α -amyrin acid, 3-*O*- β -*D*-glucopyranosyl- β -amyrin, β -amyrin, 2 α ,3 α ,19 α -trihydroxy-24-norurs-4(23),12-dien-28-oic acid, 3 β -acetoxy-2 α ,19 α -dihydroxy-24-norurs-4(23),12-dien-28-oique and 2 α ,3 α ,19 α -trihydroxy-24-norurs-4(23),12-dienoic acid, one gallic acid derivative (acid, 2,3-dihydroxy- 4, 5-dimethylbenzoic), two carbohydrates (sucrose and sorbitol) and four phytosterol derivatives (stigmasterol, 3-*O*- β -*D*-glucopyranoside of stigmasterol, β -sitosterol, 3-*O*- β -*D*-glucopyranoside of β -sitosterol).

Sucrose and 10-hydroxylcamptotecine were subjected to some chemical transformations, including acetylation and methylation, which led to two new derivatives that were fully characterized.

Crude extracts and some isolated pure compounds were evaluated for their antitumor activity against KB-3-1 and KB - V1 cervix cancer cell lines as well as for their antibacterial and antifungal activities against six clinical strains, including: three Gram negative bacteria (*Escherichia coli* (*E.c*), *Pseudomonas aeruginosa* (*P.a*), *Providencia stuartii* (*P.s*)), one Gram positive bacteria (*Staphylococcus aureus* (*S.a*)) and two fungi (*Candida krusei* (*C.k*) and *Cryptococcus laurentii* (*C.l*)). The results showed that compounds such as thomsoniine B, camptothecin, acid 2,3,19-trihydroxy-24-norurs-4(23),12-dien-28-oic and acid 3-acetoxy-2,19-dihydroxy-24-norurs-4(23),12-dien-28-oic at the concentration of 10 µg/ml and an IC₅₀ ranging from 0.0084 to 0.0088 µg/ml, had 95% mortality from two strains of cervical cancer KB-3-1 and KB-V1. Mostueatecine A and acid 3-acetoxy-2,19-dihydroxy-24-norurs-4(23),12-dien-28-oique quant to it were shown to be active with regard to fungi (*Candida krusei*) and Gram-negative bacteria (*Escherichia coli*) with minimum concentration values of inhibition lower than 1 mg/ml.

Key-words: *Mostuea batesii* Baker, *Mostuea thomsonii* (Oliv.) Benth, Gelsemiaceae, quinolo-monoterpenic and indolo-monoterpenic type alkaloids, triterpenes, chemicals transformations, antitumor and antimicrobial activities.

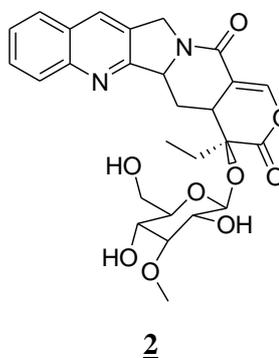
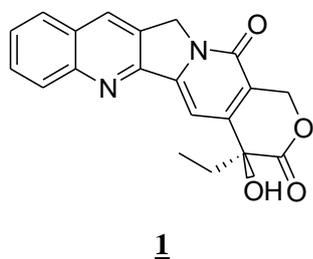
INTRODUCTION GENERALE

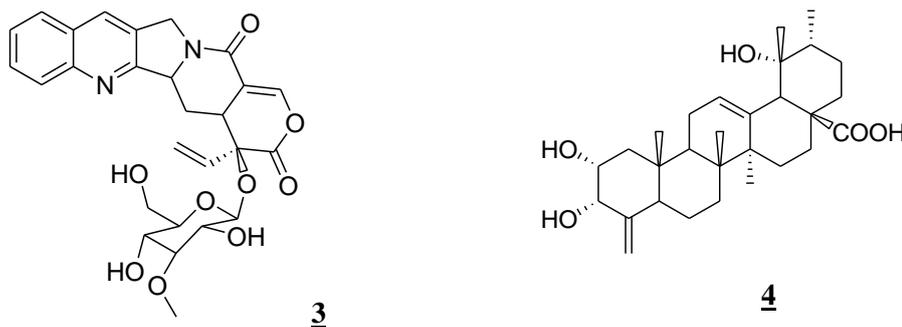
Les cancers sont des maladies provoquées par un ensemble de facteurs, qui ne sont pas de nos jours tous élucidés, et qui se traduisent par une multiplication non contrôlée des cellules (**OMS, 2018**). Cette multiplication désordonnée des cellules au sein du corps, finit par former une masse appelée tumeur (**OMS, 2018**). Maladie à la fois épouvantable et redoutable, le cancer constitue avec les autres affections telles que : les infections microbiennes, les hépatites, les maladies parasitaires, le SIDA...etc, l'une des causes les plus importantes de mortalité et de morbidité dans le monde (**OMS, 2018**). En effet, selon l'OMS, on estime le nombre de nouveaux cas du cancer dans le monde à 18,1 millions avec 9,6 millions de décès en 2018 (**OMS, 2018**). Pas moins de 70 % de ces décès surviennent dans les pays pauvres et selon les projections de l'OMS, le nombre de décès pourrait atteindre 12 millions en 2030 (**OMS, 2015**). Toutefois, l'étude des mécanismes biologiques qui sont à l'origine des cancers (ou cancérogenèse) a permis d'identifier un certain nombre de facteurs qui augmentent le risque. On dissocie généralement les facteurs de risque en deux groupes qui sont, les facteurs évitables et les facteurs non évitables. Les premiers sont des éléments relatifs à notre comportement ou nos habitudes de vie : le tabac, l'équilibre alimentaire, le soleil, les infections par certains virus ou certaines bactéries..., qui ont été impliqués sans aucune ambiguïté dans l'induction du cancer chez les animaux et chez l'homme. Les facteurs non évitables sont quant à eux liés à l'âge, au sexe, au patrimoine génétique... (**Hammond et al., 1979**). L'identification des carcinogènes potentiels dans l'environnement a été grandement simplifiée par l'emploi étendu du test d'Ames pour mettre en évidence les agents mutagènes (**Ames, 1979**). De plus, même si des cancers peuvent apparaître à tout âge, ils sont plus fréquents au fur et à mesure que nous vieillissons. Cela est dû au cumul des agressions subies par les cellules et, probablement, à une moindre efficacité des mécanismes de réparation de l'ADN. Toutefois, certaines personnes présentent plus de risques de développer un cancer que d'autres parce qu'à leur naissance, elles portent certaines mutations dans un ou plusieurs de leurs gènes. Les méthodes actuelles de traitement de ces maladies englobent la chirurgie, la radiothérapie et la chimiothérapie qui sont tout à fait efficaces quand la tumeur n'a pas métastasé au moment du dépistage. Toutefois, ce sont des traitements lourds, difficiles à supporter par les malades en raison de leurs nombreux effets secondaires. Un autre problème majeur, en ce qui concerne la chimiothérapie anticancéreuse, est la résistance aux médicaments. A titre d'exemple, certains types de tumeurs tels que les cancers du poumon, du côlon font montre d'une résistance primaire, c'est à dire d'une absence de réponse à la première exposition aux médicaments usuels actuellement disponibles. Face à cette situation,

la recherche de nouveaux agents chimiothérapeutiques relativement non toxiques et aux effets secondaires supportables par le malade constitue un défi pour la communauté scientifique.

A cet égard, les plantes médicinales constituent, à côté des médicaments d'origine synthétique, une solution alternative pour de nombreuses raisons: d'abord parce qu'elles sont faiblement toxiques et leur usage est largement accepté sur le plan anthropologique par les populations africaines, dont 80% en font recours à travers les tradithérapeutes et les herboristes. De plus, ces plantes, étant donnée la diversité des structures chimiques qu'elles renferment, sont considérées comme des sources potentielles de nouveaux principes actifs.

Par ailleurs, le Cameroun, Afrique en miniature, dispose, de par sa position géographique et ses différents types de climats, d'une flore riche et abondante au sein de laquelle on recense plus de huit milles espèces appartenant à diverses familles botaniques dont beaucoup n'ont pas encore été investiguées. C'est la raison pour laquelle le Département de Chimie Organique de Faculté des Sciences de l'Université de Yaoundé en général et notre laboratoire en particulier a fait de l'étude des substances d'origine végétale l'un des axes les plus prisés de leur recherche. C'est dans ce cadre et en vue de la préparation de ma thèse de Doctorat/Ph.D, que nous-nous sommes intéressés aux plantes de la famille des Loganiaceae en général, et du genre *Mostuea* en particulier. Notre choix sur les espèces de ce genre a été motivé par le fait que, des études antérieures, effectuées sur deux espèces de ce genre, à savoir *Mostuea brunonii* et *Mostuea hirsuta*, ont conduit à l'isolement des molécules aux structures complexes, originales et douées entre autre d'excellentes activités anti-tumorales et antimicrobiennes telles que la camptothecin **1**, la 20-glucopyranosylcamptothecin **2**, la deoxypumiloside **3** toutes isolées en 1999 par Jin-rui et collaborateurs de *Mostuea brunonii* (Jin-rui et al.,1999) ainsi que l'acide $2\alpha,3\beta,19\alpha$ -trihydroxy-24-norurs-4(23),12-diene-28-oïque **4** isolées de *Mostuea hirsuta* (Ekon et al., 2015),





Au vu de ces résultats, il nous a paru opportun d'étendre nos investigations sur deux autres espèces, à savoir *Mostuea batesii* Baker et *Mostuea thomsonii* (Oliv.) Benth, d'autant plus que ces deux espèces sont utilisées en pharmacopée traditionnelle au Cameroun pour le traitement de nombreuses affections telle que le cancer, le paludisme, les maladies infectieuses...etc. Ces usages laissent présager que ces plantes renfermeraient, en leur sein des métabolites secondaires susceptibles de renfermer des activités anti-tumorales et antimicrobiennes.

Si donc l'objectif général de notre travail est la valorisation des plantes médicinales de la pharmacopée traditionnelle du Cameroun à travers l'étude chimique et biologiques de leurs constituants chimiques,

Les objectifs spécifiques sont quadruples, il s'agit :

- Extraire, isoler et purifier des métabolites secondaires des extraits des racines, des tiges et des feuilles de *Mostuea batesii* Baker et *Mostuea thomsonii* (Oliv.) Benth,
- Déterminer les structures des composés isolés,
- Effectuer quelques transformations chimiques de structure de certains composés isolés,
- Evaluer les activités antibactérienne, antifongique et anti-tumorale non seulement de quelques composés purs isolés, mais aussi des différents extraits bruts.

La présentation de notre travail est structuré en trois chapitres.

➤ Le premier chapitre, consacré à la revue de littérature, comportera des généralités sur le cancer, les aperçus botaniques relatives à la famille des Loganiaceae, au genre *Mostuea* et aux espèces *Mostuea batesii* Baker et *Mostuea thomsonii* (Oliv.) Benth, des usages ethnobotaniques et par la suite la présentation des travaux phytochimiques et biologiques antérieurs déjà effectués sur les plantes de la famille des Loganiaceae en générale et du genre *Mostuea* en particulier.

➤ Le deuxième chapitre portera sur la présentation des résultats de nos travaux personnels. Ces travaux revêtent trois aspects, notamment : l'étude chimique des deux plantes, quelques transformations chimiques (acétylation et méthylation) et par la suite l'évaluation des activités anti-tumorales et antibactériennes et antifongiques non seulement des extraits bruts mais également des composé isolés, suivi d'une conclusion générale.

➤ Le troisième chapitre, sera relatif à la partie expérimentale. Ici, nous présentons l'appareillage, le matériel végétal et biologique, la description des protocoles et méthodes ayant conduit aux résultats, ainsi que la présentation des données physicochimiques des métabolites secondaires isolés.

CHAPITRE I: REVUE DE LA LITTERATURE

I.A. LE CANCER

I.A.1. GENERALITES

Les cancers, sont un ensemble constitué des maladies caractérisées par une prolifération cellulaire anormale et anarchique au sein d'un tissu normal de l'organisme. Au cours de l'évolution de la maladie certaines cellules peuvent migrer de leur lieu de production et former des métastases (**Guo et Hay, 1999**). Pendant la mutation, les cellules cancéreuses deviennent presque indisciplinées, cela résulte à des agressions ou des dommages dû à une modification de la structure du gène. Une accumulation de nombreux dégâts microscopiques non réparés dans la cellule, favorise l'installation du cancer. C'est ainsi que la cellule, entre dans un état de multiplication non contrôlée dans l'organe ; dans d'autre cas, la cellule peut rester en vie ou peut mourir et se renouveler très rapidement (**Guo et Hay, 1999**).

Les cancers figurent parmi les principales causes de morbidité et de mortalité dans le monde. En 2012, on comptait approximativement 14 millions de nouveaux cas et 8,2 millions de décès liés à la maladie (soit 14% des décès). Plus de 60% des nouveaux cas de cancer surviennent en Afrique, en Asie, en Amérique centrale et en Amérique latine. Ces régions représentent 70% des décès par cancer dans le monde. On estime que le nombre de nouveaux cas de cancer par an dans le monde devrait augmenter de 14 millions en 2012 à près de 22 millions en 2030 (**Globocan, 2012**).

En Afrique, cette tendance est accentuée par :

- La croissance et le vieillissement de la population, l'urbanisation ainsi que les changements du mode de vie qui vont induire une augmentation rapide de l'incidence.
- L'absence de mesure préventive, le retard au diagnostic, le manque d'agents de santé formés à la cancérologie, l'insuffisance d'établissements et de matériels dédiés qui font que, si des mesures ne sont pas prises rapidement, la mortalité par cancer va continuer à progresser au même rythme que l'incidence. Même si l'incidence des cancers est aujourd'hui plus faible en Afrique que dans le reste du monde. On dénombre : 850 000 nouveaux cas et 590 000 décès estimés en 2012, et 1 400 000 nouveaux cas et 1 050 000 décès prévus en 2030 (si aucune mesure n'est prise). La mortalité par cancer est proportionnellement plus élevée en Afrique qu'ailleurs dans le monde (**Globocan, 2012**).

D'un point de vue épidémiologique, les femmes sont plus touchées (60% des nouveaux cas et 55% des décès), à l'inverse de ce que l'on observe dans les pays occidentaux, et la tranche d'âge 45-55 ans est la plus concernée. Les cancers des enfants de moins de 15 ans représentent 4 à 6% des cancers contre 0,5% dans les pays occidentaux. Les cancers sont en relation avec des virus dans environ ¼ des cas : l'hépatite B, pouvant conduire au cancer du

foie, le papillomavirus humain à celui du col de l'utérus ou encore le PHV, qui facilite l'installation d'un certain nombre de cancers.

De manière générale, les cancers liés à des virus comme le cancer du col de l'utérus et du foie sont responsables de 22% de morts dans les pays en voie de développement et 6% dans les pays industrialisés (**Schottenfeld et Beebe-Dimmer, 2005; Ferlay et al., 2010**). Les pays développés présentent en majorité des cancers liés à l'environnement, à l'alimentation et au profil hormonal. C'est ainsi que le cancer du poumon arrive en tête des causes de décès dans les pays développés (22%), suivi du cancer du gros intestin, puis par celui des voies aéro- digestives (**OMS, 2010**).

I.A.2. LA CELLULE

I.A.2.1. Définition et historique

La cellule est le fondement de la structure des êtres vivants. Les premières cellules furent observées au XVIIe siècle par l'anglais **Robert Hooke** qui réussit à les voir grâce à l'association de 2 loupes placées aux deux extrémités d'un cylindre. C'est en observant du liège qu'il découvrit des structures qu'il appela des « petites boîtes » nom à l'origine du terme latin « *cellulae* ». Ses observations furent publiées dans « *Micrographia* », ouvrage paru en 1665. C'est ainsi que, grâce à l'amélioration de technologie, dans le domaine de la biologie, nous savons maintenant que les cellules sont de véritables usines dont l'activité est appelée le métabolisme (**Favaudon, 2000**).

I.A.2.2. Le cycle cellulaire et sa régulation

L'organisme est constitué essentiellement de cellules, qui se multiplient par division cellulaire, qui est successivement séparée par des intervalles appelés cycle. En effet dans l'organisme d'un adulte humain, les cellules sont comptées en termes de centaine de milliards, toutes provenant d'une cellule mère fertilisée. On trouve également, en quantité énorme des cellules en division continue remplaçant ainsi, celle qui disparaissent (**Favaudon, 2000**).

La multiplication de la cellule est caractérisée successivement par une duplication de l'ADN et de la division physique de la cellule mère en deux cellules filles. Chaque cycle cellulaire est constitué de quatre phases successives tel que : la phase G₁, au cours de celle-ci, tous les métabolites se réalisent sauf la synthèse de l'ADN, qui correspond à la phase la plus longue; la phase S qui se caractérise par une activité intense de synthèse de l'ADN pour préparer la répllication (**Favaudon, 2000**) ; La phase G₂, elle correspond à la phase au cours de laquelle l'ADN est transcrit en ARNm pour la production des protéines et la phase M qui correspond à la mitose ; c'est une phase rapide et constituée de la prophase (condensation des

chromosomes puis disparition de la membrane nucléaire), de la métaphase (polymérisation et dépolymérisation des microtubules qui conduisent à la localisation équatoriale des chromosomes), de l'anaphase (migration polaire des chromosomes) et de la télophase (division cellulaire).

Ces quatre phases se succèdent dans un ordre immuable, dans le cycle de la cellule, G1, S, G2 et M. Les trois premières phases constituent l'interphase, durant laquelle le noyau de la cellule est limité par une enveloppe nucléaire, alors que la mitose est caractérisée par la disparition de cette enveloppe et par l'apparition des chromosomes.

I.A.2.3. Propriétés des cellules tumorales

La tumeur est le nom générique donné à des productions pathologiques constituées par un tissu de nouvelle formation et distinct d'un processus inflammatoire. Les tumeurs ne menacent la vie que si elles envahissent l'organisme : elles sont alors appelées malignes et sont l'essence de la maladie cancéreuse (**Liotta, 1992**). Le caractère bénin d'une tumeur tient à ce que ses cellules ressemblent à des cellules normales, et, comme elles, restent confiner à des tissus particuliers. Les tumeurs bénignes ne posent de problème médical sérieux que quand leur volume interfère avec le fonctionnement normal d'un organe ou quand elles secrètent des substances biologiques actives, telles que les hormones (**Poupon et Ling, 1990**). Les tumeurs malignes se distinguent des tumeurs bénignes par leur caractère envahissant et leur faculté de se disperser dans l'organisme. Elles quittent leur site d'origine, sous la capsule de l'organe et débordent celle-ci pour envahir le tissu voisin, pénétrant dans le système circulatoire et générant des tumeurs secondaires à distance, qu'on appelle métastases, on dit que les cellules malignes ont un pouvoir métastatique (**Poupon et Ling, 1990**). Les cellules malignes sont généralement bien moins différenciées que les cellules de tumeurs bénignes et leurs propriétés varient, en outre au cours du temps. L'observation des tumeurs, ainsi que les études fondamentales suggèrent que les cellules cancéreuses quelle que soit leur origine partagent des propriétés communes qui les différencient des cellules normales (**Hanahan et Weinberg, 2000**)

Dans un organisme à plusieurs cellules, la cellule normale reçoit en permanence des signaux provenant des cellules voisines, de la matrice extracellulaire qui l'entoure ou encore de molécules diffusibles (facteurs de croissance, hormones). Ces différents signaux sont intégrés par la cellule et vont influencer son comportement en l'orientant vers la prolifération, l'état de quiescence ou encore la mort cellulaire. Les cellules cancéreuses quant à elles deviennent insensibles à ces signaux extérieurs et vont adopter un comportement propre,

autonome, indépendant de ces signaux. Elles vont également acquérir d'autres propriétés leur permettant de proliférer et d'envahir les tissus à distance. La progression d'un phénotype normal à un phénotype tumoral passe par l'acquisition de plusieurs propriétés (**Hanahan et Weinberg, 2011**):

- Indépendance vis-à-vis des signaux stimulant la prolifération

Les cellules normales ne se divisent que lorsqu'elles reçoivent un stimulus particulier. Les cellules tumorales n'ont plus besoin de ce signal.

- Insensibilité aux signaux inhibiteurs
- Abolition de l'apoptose ou mort cellulaire programmée

En cas de stress ou d'anomalie, ne pouvant pas être éliminée, une cellule normale se suicide en utilisant l'apoptose. Dans les cellules tumorales, tous ces mécanismes sont inactivés.

- Capacité proliférative illimitée

Le nombre usuel de division cellulaire pour une cellule humaine est de 50 à 60 (sénescence cellulaire), après quoi elle cesse de pouvoir se diviser (télomère). Les cellules tumorales quant à elles continuent de se diviser sans limite visible grâce à l'activité de la télomérase qui est fortement active dans ces cellules.

- Capacité de susciter l'angiogénèse

Les cellules tumorales ont un besoin important en oxygène pour survivre. Elles vont donc stimuler la formation de nouveaux vaisseaux sanguins afin d'oxygéner la tumeur.

- Acquisition d'un pouvoir invasif

Les cellules tumorales sont capables de passer à l'intérieur d'un vaisseau sanguin afin d'être transportées dans un autre organe où elles vont générer une seconde tumeur (métastase).

- Grande instabilité génomique favorisée par des mutations aléatoires
- Etat inflammatoire dû à la présence des cellules du système immunitaire

L'inflammation peut contribuer à la cancérogénèse en fournissant au microenvironnement tumoral des molécules bioactives telles que des facteurs de croissance ou des facteurs pro-angiogéniques.

- Capacité à déréguler le métabolisme énergétique afin de maintenir la croissance et la prolifération cellulaire. Pour ce faire, la cellule cancéreuse peut contrôler les gènes impliqués dans le transport du glucose, aboutissant ainsi à une augmentation du glucose dans la cellule.

- Capacité à échapper au système immunitaire, les cellules du système immunitaire notamment les natural killer (NK) et les lymphocytes T cytotoxiques, peuvent constituer une barrière efficace face à la progression de la tumeur, la cellule cancéreuse échappe au contrôle exercé par le système immunitaire en sécrétant des facteurs immunosuppresseurs.

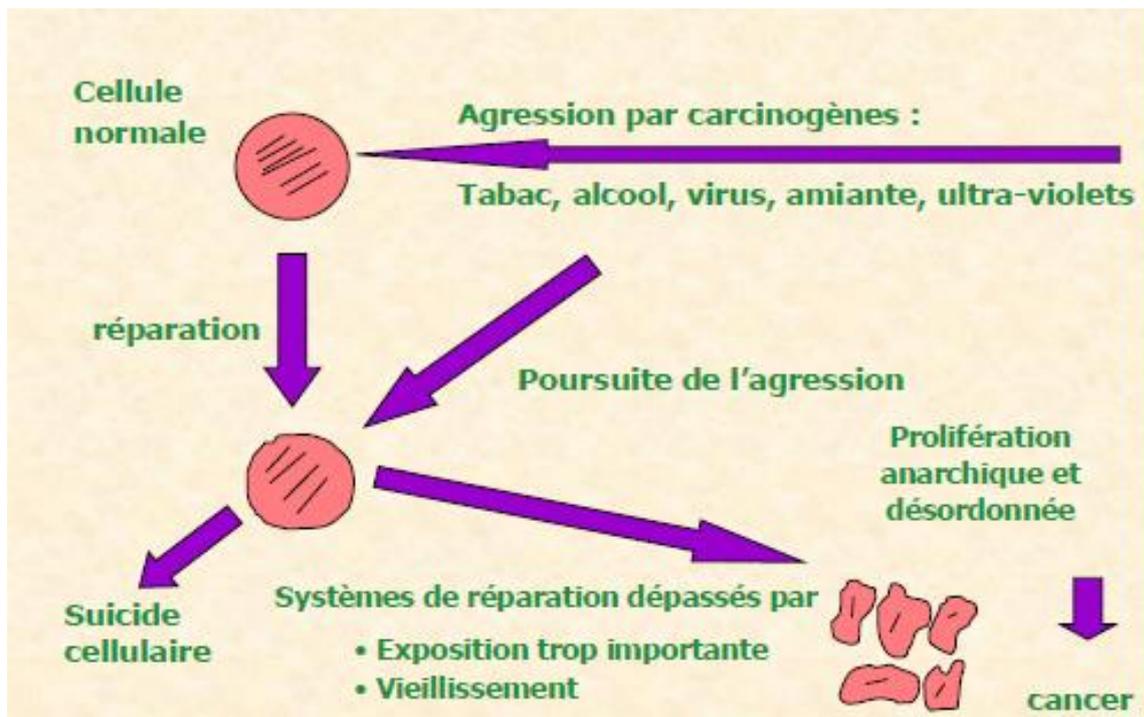


Figure 1: comment une cellule devient cancer (Hanahan et Weinberg, 2011)

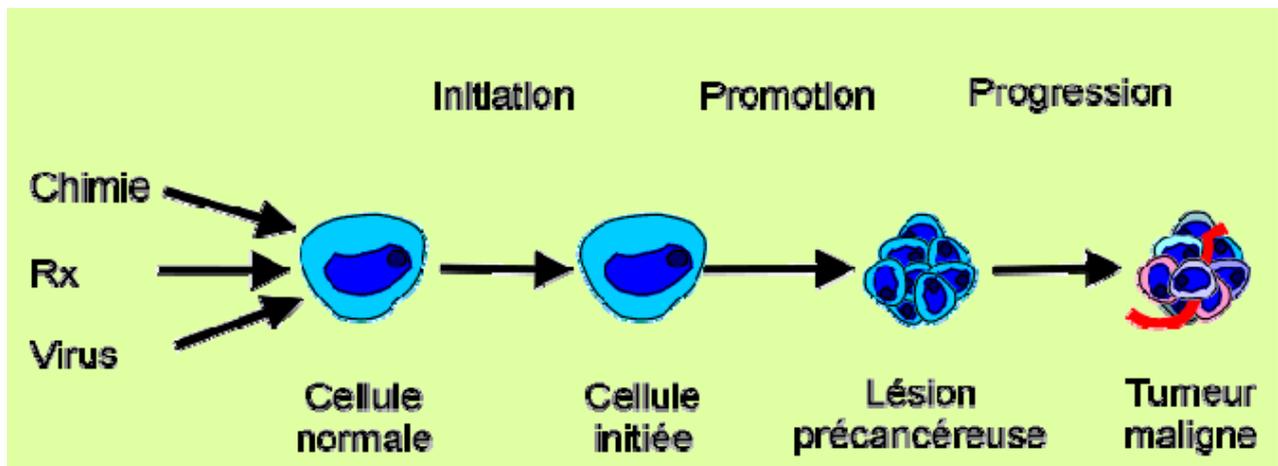


Figure 2 : Représentation schématique des différentes étapes de la cancérogenèse (Hanahan et Weinberg, 2011)

I.A.3. FACTEURS DE RISQUES CONNUS

Le cancer est un ensemble de maladies graves, d'origine multifactorielle. En effet, l'efficacité et le succès de la lutte contre les cancers exige une connaissance, la plus large possible, des facteurs qui en augmentent le risque. Ces facteurs peuvent être d'origine interne et externe à l'organisme de l'homme.

I.A.3.1. Les facteurs de risque internes

I.A.3.1.1. Facteurs génétiques

On distingue deux types d'altérations génétiques, nous avons :

- **Altérations héréditaires** : on parle d'une prédisposition génétique quand le risque de cancer est augmenté par la présence d'une mutation sur un gène transmissible d'une génération à l'autre et héritée d'un parent. Les formes familiales de prédisposition concernent environ 5% des cancers (par exemple mutations des gènes BRCA1 ou BRCA2 qui confèrent un haut risque de cancer du sein d'environ 70% au cours de la vie).

L'hérédité est suspectée face à l'âge jeune de survenue de cancer, la fréquence de cancers de même type dans la famille, la répétition d'un type histologique identique de cancer et bien sûr des données génétiques objectives : identification de mutations spécifiques chez les malades et chez leurs apparentés, ce qui ouvre des possibilités de dépistage adapté.

La mise en évidence de ces altérations génétiques n'est pas encore entrée dans la pratique quotidienne en Afrique francophone subsaharienne, mais grâce à des actions de coopération, cette situation devrait évoluer.

- **Altérations acquises** : elles le sont à la suite de l'exposition répétée aux facteurs de risques de cancer.

Ce type de mécanisme est en jeu dans beaucoup de cancers, sachant qu'il faut en général la succession de plusieurs mutations (qui vont s'ajouter à d'éventuelles mutations héritées des parents) pour qu'un cancer apparaisse, ce qui explique l'augmentation de fréquence de la plupart des cancers avec l'âge.

I.A.3.1.2. Des dysfonctionnements immunitaires ou endocriniens facilitent

l'apparition de certains cancers

La diminution ou la suppression des défenses immunitaires naturelles, qu'elle soit congénitale ou acquise, favorise l'installation des cancers ou augmente la fréquence de certains (**Sambo et al., 2012 et Marty, 1981**). L'exemple bien connu est celui de l'effondrement des défenses immunitaires par l'infection due au virus de l'immunodéficience acquise dans le cadre du SIDA. Cette infection facilite l'action d'autres virus oncogènes. Plusieurs cancers sont en relation souvent complexe avec l'état hormonal chez la femme (cancers du sein, de l'endomètre) et chez l'homme (cancers de la prostate) (**Sambo et al., 2012 et Marty, 1981**).

I.A.3.2. Les facteurs externes

Ils sont représentés par les expositions à des substances chimiques, des agents physiques, et à des agents infectieux (dont des virus oncogènes, des bactéries et des parasites).

Les comportements individuels peuvent également faciliter l'exposition à certains facteurs de risque, tel que : facteurs chimiques, agents physiques, micro-organismes, les facteurs comportementaux, expositions professionnelles et pollution environnementale.

I.A.3.2.1. Facteurs chimiques

Après la consommation des aliments, ils sont transformés grâce à des réactions biochimiques favorisant la formation des catabolites ayant des pouvoirs plus ou moins cancérigènes (**Sambo et al., 2012 et Marty , 1981**).

Les denrées alimentaires peuvent contenir des contaminants qui ont un pouvoir mutagène et cancérigène, comme par exemple des :

- Mycotoxines (retrouvées dans les tourteaux d'arachides) dont l'exemple bien connu est l'aflatoxine (mycotoxine produite par un champignon microscopique, *aspergillus flavus*), citée dans la genèse du cancer primitif du foie,
- Ochratoxines retrouvées dans le sorgho et le blé,
- Fumonisines qui contaminent le maïs (cancers de l'oesophage),
- Nitrosamines qui peuvent se retrouver dans les salaisons et dans de nombreux aliments (cancers digestifs).

Les aliments sont contaminés à différentes étapes : lors de la production, durant le stockage, pendant la transformation, au cours de la cuisson.

S'agissant des polluants, le CIRC (Centre international de Recherche sur le Cancer) a classé 119 agents polluants comme cancérigènes pour l'homme (dont les particules fines et les vapeurs de diesel) et 81 autres substances comme probablement cancérigène pour l'homme :

S'agissant des cancers professionnels : l'amiante (mésothéliome de la plèvre), les poussières de bois (fosses nasales, sinus), le benzène (leucémies) sont les facteurs de risques les plus fréquemment en cause.

I.A.3.2.2. Agents physiques

- Les rayons ultraviolets du soleil sont connus pour avoir un effet cancérigène sur la peau (leur pouvoir de pénétration étant très limité). Les Africains sont naturellement protégés contre ces cancers à l'exception des Albinos dont la peau est dépourvue de mélanine protectrice au regard du fort ensoleillement tropical (**Jeanteur, 2013**).

- Les rayonnements ionisants sont en cause, en pratique lorsque la dose reçue dépasse 100 mSv (peut-être un peu moins chez le jeune enfant). A la suite de l'accident de Tchernobyl, seuls les enfants exposés à de fortes doses d'Iode radioactif dans les régions

contaminées ont présenté un excès de cancers de la thyroïde dans les années qui ont suivi l'exposition (**Jeanteur, 2013**).

- Ces rayonnements agissent par action directe sur le noyau des cellules en provoquant des mutations (**Jeanteur, 2013**).

I.A.3.2.3. Micro-organismes

Environ 25 à 30% de tous les cancers survenant en Afrique sont liés à des agents infectieux : virus, bactéries et parasites (**Williams., 1984**).

I.A.3.2.4. Facteurs comportementaux

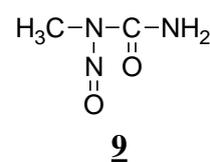
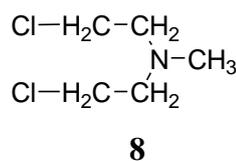
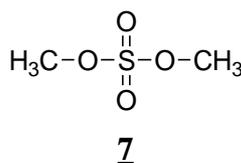
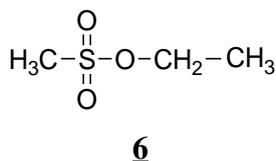
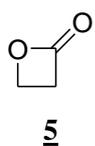
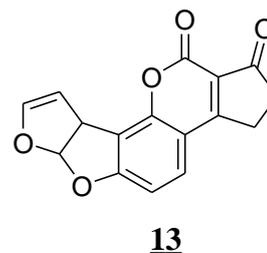
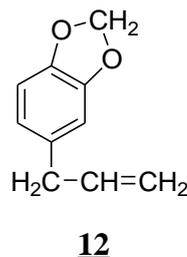
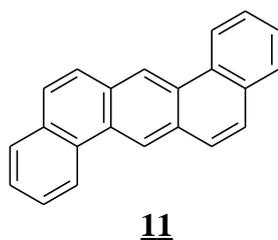
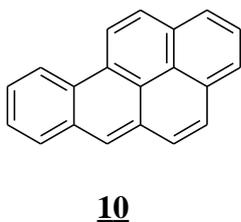
➤ La consommation excessive d'alcool et le tabagisme, sont des facteurs de risque majeurs pour de nombreux cancers (tabac : poumon, ORL, vessie, col utérin et alcool : ORL, oesophage, foie, pancréas, rectum, sein),

➤ L'alimentation fait partie des comportements sur lesquels on peut agir pour accroître la prévention des cancers. Elle agit à la fois comme un facteur de protection (les fibres alimentaires présentes dans les céréales complètes, les fruits, les légumes frais, et les légumes secs), et comme facteurs de risque, en effet les aliments tels que les viandes rouges, les charcuteries et le sel qui, consommés en excès, peuvent favoriser le développement d'un cancer.

- L'obésité et l'absence d'activité physique sont des facteurs reconnus dans le monde entier favorisant les cancers colorectaux, du sein, du rein, de l'endomètre (**Jeanteur, 2013**).

I.A.3.2.5. Les expositions professionnelles

Le cancer lié aux expositions professionnelles affecte souvent les poumons, la peau, les voies urinaires, la cavité nasale et la plèvre. Les cancérigènes chimiques impliqués appartiennent à deux grandes classes : les cancérigènes à action directe (β -propiolactone **5**, méthanesulfonate d'éthyle **6**, sulfate de diméthyle DMS **7**, moutarde azotée **8**, *N*-méthyl-*N*-nitrosourée MNU **9**) et les cancérigènes à action indirecte (benzo(a)pyrène **10**, dibenz (a, h) anthracène **11**, safrole **12**, aflatoxine B₁ **13**) ces derniers ne devenant cancérigènes qu'après une activation métabolique (**Sims, 1980**). Les cancérigènes à action directe sont des électrophiles activés.

Carcinogènes à action directe**Carcinogènes à action indirecte****I.A.3.2.6. La pollution environnementale**

La pollution environnementale est le fait des polluants extérieur de l'air tels que le dioxyde de soufre, la fumée noire ; des polluants intérieurs tels que la fumée de tabac et les fumées de cuisine, mais également des polluants de l'eau et du sol tels que les pesticides, et l'arsenic (Kuper et al., 2000).

I.A.3.3. Les infections chroniques

Les agents infectieux sont responsables de 18% des cas de cancer dans le monde, la majorité survenant dans les pays en voie de développement. Les organes les plus fréquemment touchés sont le foie (hépatite B et C), le col utérin (virus du papillome humain), les tissus lymphoïdes (virus d'Epstein- Barr), l'estomac (*Helicobacter pylori*) et l'appareil urinaire (Kuper et al., 2000).

I.A.3.4. Alimentation et nutrition

Un apport excessif de sel entraîne une hypertension artérielle et un risque élevé de cancer de l'estomac. Un régime alimentaire riche en calorie combiné à une vie sédentaire conduit à un déséquilibre énergétique, augmentant ainsi le risque de cancer du côlon, du sein, de la prostate et de l'endomètre (OMS, 2009).

I.A.4. TRAITEMENT

Comme toute maladie, la prise en charge des cancers débute toujours par un diagnostic, qui consiste à procéder à une série de tests dans le but de déterminer l'extension de la tumeur. En effet, un diagnostic précoce permet d'agir plus rapidement et plus efficacement pour le traitement de la tumeur (Buchsbaum et al., 2009). Une fois le diagnostic et le degré

d'extension de la tumeur établis, un traitement peut être envisagé, il peut s'agir de la chirurgie, de la radiothérapie, ou de la chimiothérapie. Ces traitements ont pour objectif de guérir les patients ou de prolonger de manière significative la vie et aussi de rendre aussi meilleure que possible, la qualité de vie à ceux qui survivent (**Hanahan et Weinberg, 2011**).

I.A.4.1. La chirurgie

La chirurgie est un des traitements majeurs du cancer. Elle est utilisée dans le cas des cancers solides localisés, ce qui permettrait d'enlever la tumeur tout en préservant l'organe malade. L'utilisation de la chirurgie peut être à visée curative comme dans le cas des tumeurs primaires (cancer du sein) et des métastases (cancer colorectal), mais aussi à visée palliative lorsque la maladie est dans sa phase terminale, à visée adjuvante, diagnostique, préventive, reconstructrice (**King et Primrose, 2003**).

I.A.4.2. La radiothérapie

Le principe de la radiothérapie est de délivrer une dose optimale d'irradiations dans un volume donné tout en préservant les tissus sains péri-tumoraux, avec les objectifs suivants :

- Prolongation de la survie
- Palliation des symptômes
- Meilleure qualité de vie possible au patient
- Minimum d'effets secondaires surtout tardifs

La radiothérapie peut être curative ou palliative, elle peut également être préopératoire ou postopératoire (**Fong et al., 2005**). Appliquée en préopératoire, la radiothérapie permet de réduire la taille des tumeurs inopérables en tumeur résécable (opérable) tandis que la radiothérapie postopératoire est utilisée pour éviter les récurrences (**Fong et al., 2005**). Avant de prescrire le plan thérapeutique, il est nécessaire d'évaluer le stade et les caractéristiques de la maladie, le but (palliatif ou curatif) du traitement, déterminer la dose optimale d'irradiation ainsi que le volume à traiter en fonction du site tumoral, du type histologique, du stade, d'autres caractéristiques de la tumeur et enfin des tissus sains péri tumoraux (**Damstrup et Poulsen, 1994; Fong et al., 2005**).

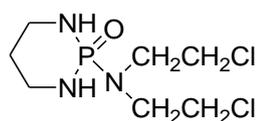
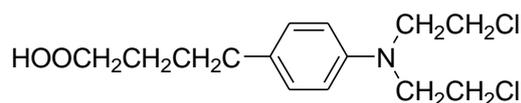
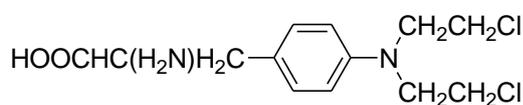
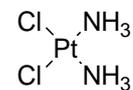
I.A.4.3. La chimiothérapie

La chimiothérapie cytotoxique vise à détruire les cellules tumorales. Les médicaments anticancéreux peuvent être administrés par voie orale, intramusculaire et le plus souvent intraveineuse. La mise en place d'un traitement par chimiothérapie est principalement fonction du type de cancer et du stade de la maladie. Ainsi, la chimiothérapie néo-adjuvante permet en premier lieu d'administrer un traitement médicamenteux au malade, puis d'effectuer en second lieu une intervention chirurgicale ou une radiothérapie, elle permettra

de réduire la taille de la tumeur pour la rendre opérable. La chimiothérapie adjuvante est l'inverse de celle-ci dans la mesure où elle est administrée en complément des autres traitements (chirurgie, radiothérapie). Dans le cas où le cancer est à un stade très avancé, un traitement à but palliatif, la chimiothérapie palliative, est administrée pour stabiliser l'évolution de la maladie. Plusieurs types de molécules constituent l'arsenal thérapeutique, dont le but est d'empêcher la prolifération des cellules, ces substances sont donc généralement classées suivant leur mode d'action, c'est ainsi qu'on distingue, les agents alkylants, les inhibiteurs de topoisomérases, les antimétabolites, les agents intercalants, les poisons du fuseau mitotique (Shu *et al.*, 2010).

I.A.4.3.1. Les agents alkylants

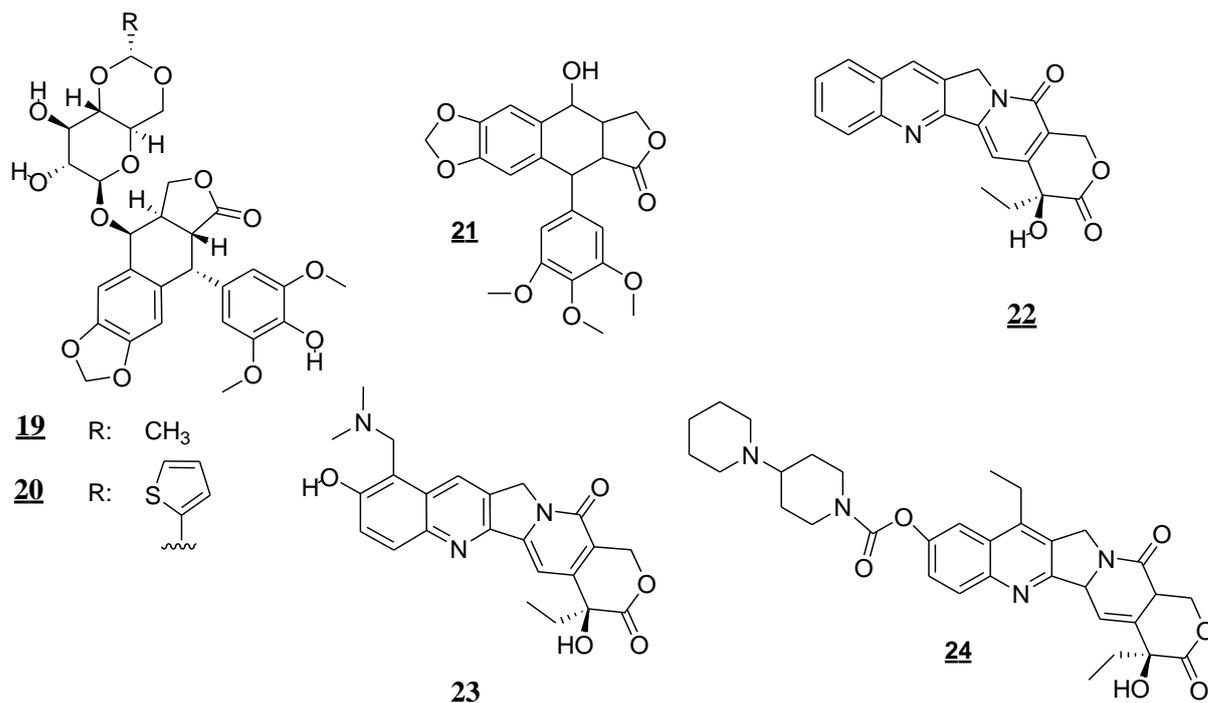
Les alkylants sont des dérivés organiques de synthèse possédant le groupement $-\text{CH}_2-\text{CH}_2-\text{Cl}$. Ce sont des molécules inactives par elles-mêmes mais après métabolisation au niveau du foie par le cytochrome P450, elles forment des adduits actifs. Ces adduits sont des substances électrophiles particulièrement réactives, capables de se lier de façon covalente à l'ADN soit entre deux nucléotides d'un même brin, soit entre deux nucléotides qui se font face sur deux brins opposés. Elles interdisent ainsi la réplication ou la transcription de l'ADN en créant des ponts inter ou intracaténaux et provoquent la mort de la cellule. Les principaux agents alkylants sont les moutardes azotés (cyclophosphamide **14**, chlorambucil **15**, mephalan **16**), les nitroso-urées (carmustine **17**), les dérivés du platine (cisplatine **18**). Ces substances agissent sur la phase de repos post-mitotique, la phase G1.

**14****15****16****17****18**

I.A.4.3.2. Les inhibiteurs de topoisomérases

Les topoisomérases sont des enzymes qui provoquent des coupures provisoires au niveau de l'ADN. Ces enzymes régulent l'état d'enroulement de l'ADN et interfèrent avec des régulateurs de la configuration spatiale de l'ADN. Si elles ne peuvent plus intervenir, le

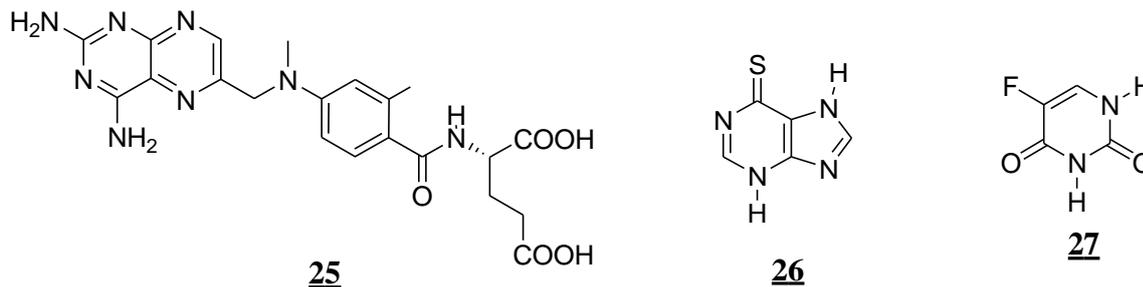
bon déroulement de la réplication n'est plus assuré et la cellule qui était en mitose meurt. Les topoisomérases I et II agissent respectivement sur l'ADN simple brin et double brin. Les inhibiteurs de topoisomérases II sont les épipodophyllotoxines (étoposide **19**, téniposide **20**) qui sont des dérivés hémisynthétiques de la podophyllotoxine **21**, composé extrait d'une plante. Les inhibiteurs de la topoisomérase I sont les dérivés de la camptothécine **22**, alcaloïde isolé d'un arbre chinois *Camptotheca acuminata*, les deux molécules principales sont le topotecan **23** et l'irinotecan **24**.



I.A.4.3.3. Les antimétabolites

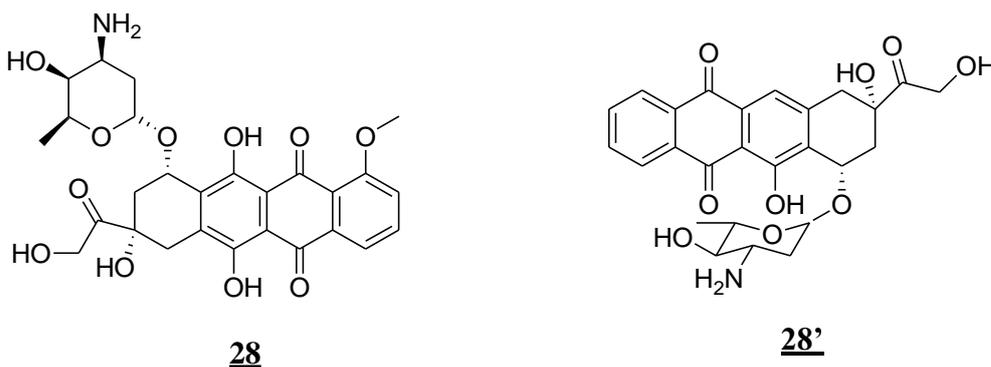
Les cellules néoplasiques présentent de nombreuses différences métaboliques quantitatives par rapport aux cellules normales, ce qui les rend plus sensibles à un certain nombre d'antimétabolites ou d'analogues structuraux. Les antimétabolites bloquent la prolifération des cellules en inhibant la synthèse des acides nucléiques ou en s'incorporant parmi les bases qui vont constituer l'ADN. Ils agissent à la phase S du cycle cellulaire ce qui en fait des médicaments « phase dépendant ». Ils existent trois familles d'antimétaboliques: les antifoliques tels que le methotrexate **25**, les antipuriques tels que le 6- mercaptopurine **26**, les anti-pyrimidiques tel que le 5- fluorouracile **27** et ses dérivés. Le méthotrexate est un antagoniste de l'acide folique, puissant inhibiteur de la dihydrofolate- réductase (DHFR), enzyme nécessaire à la réduction des dihydrofolates (DHF) en tétrahydrofolates (THF). Le 5- fluorouracile (5-FU) empêche la formation du dTTP (désoxythymidine triphosphate) en inhibant la synthèse de la thymidylate synthétase (TS), il peut aussi être transformé en 5-

FUTP (5-fluoro-uracile triphosphate) et en 5-FdUTP (5-fluoro-desoxyuracile triphosphate) et être intégré respectivement dans la synthèse de l'ARN et de l'ADN.



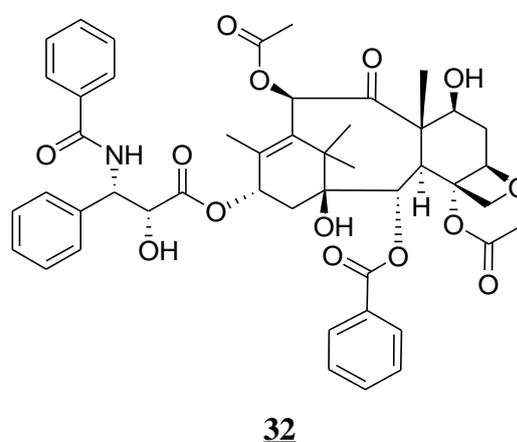
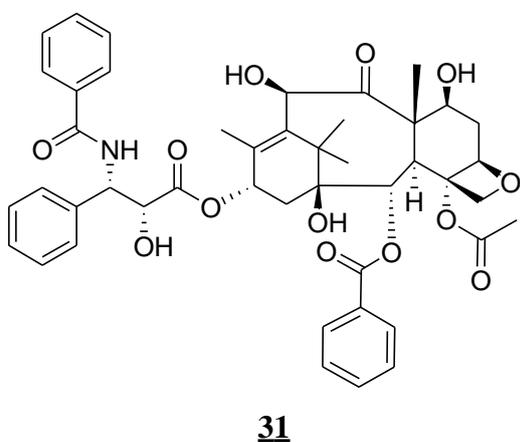
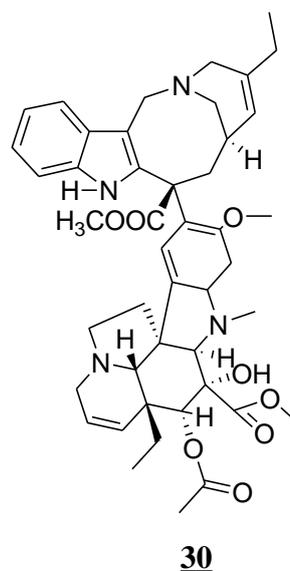
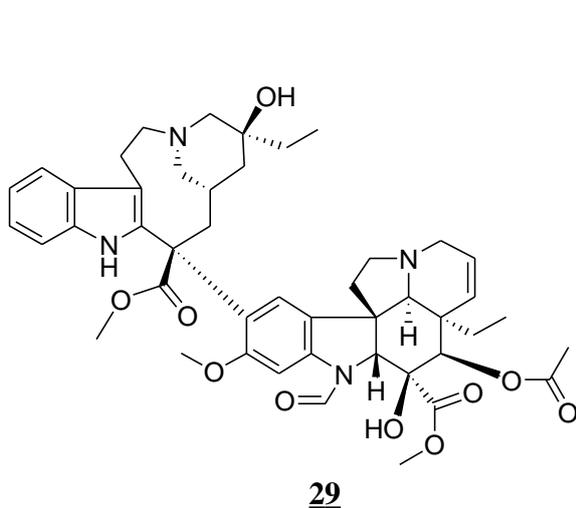
I.A.4.3.4. Les agents intercalants

Ils agissent en inhibant la duplication et la transcription de l'ADN en s'insérant entre deux brins d'ADN. Ils sont représentés par les anthracyclines qui sont des antibiotiques isolés de microorganismes (*Streptomyces*). Les molécules constituant cette famille utilisée en clinique sont la doxorubicine **28**, et l'épirubicine **28'**.



I.A.4.3.5. Les poisons du fuseau mitotique

Les deux principales familles aux propriétés antitubulines tirent leur origine du règne végétal. Ce sont les vinca alcaloïdes, composés isolés de la pervenche de Madagascar (*Catharanthus roseus*) et les taxanes, isolés de l'if (*Taxus baccata*). Les vinca alcaloïdes les plus utilisés comprennent les alcaloïdes naturels à l'exemple de la vincristine **29**, et les alcaloïdes semi synthétiques comme la vinorelbine **30**. La vincristine, la vinblastine et la vinorelbine inhibent la polymérisation de la tubuline et empêchent la formation des microtubules lors de la métaphase. Les dérivés des taxanes docétaxel **31**, paclitaxel **32**, sont produits par hémisynthèse à partir du taxol, extrait de l'if. Ces molécules agissent par stabilisation et inhibition de la dépolymérisation de la tubuline, et bloquent la séparation des chromosomes, ils agissent pendant la phase M.



De nombreuses molécules d'origine naturelles ou synthétique déjà utilisées dans le traitement du cancer (vincristine **29**, paclitaxel **30**) présente un nombre importants d'effets secondaires, dans la mesure ou en plus des cellules cancéreuses des cellules saines sont également détruites par des agents thérapeutiques pendant leurs actions dans l'organisme. C'est ainsi que dans le but de rechercher de nouveaux agents chimiothérapeutiques sélectifs, qui cibleront uniquement la tumeur en laissant les tissus et les organes environnants sains, les chercheurs s'investissent davantage dans l'étude des plantes médicinales qui sont considérées comme un réservoir important de molécules bioactives et moins toxiques. C'est pour apporter notre modeste contribution à ce vaste chantier que, deux plantes de la famille des Loganiaceae, à savoir *Mostuea batesii* et *Mostuea thomsonii*, qui sont non seulement largement utilisées en pharmacopée traditionnelle camerounaise, mais regorgent également des métabolites secondaires doués d'activité anticancéreuse (**Jin-rui et al., 1999**), ont été choisis dans le cadre de nos travaux de recherche pour la préparation de cette thèse de Doctorat/Ph.D.

I.B.1. APERCU BOTANIQUE SUR LE GENRE *MOSTUEA*

I.B.1.1. Place du genre *Mostuea* dans la systématique moderne

En considérant les données taxonomiques observées dans le schéma 1, le genre *Mostuea* appartient à la famille des Gelsemiaceae. Les Gelsemiaceae forment avec les Gentaniaceae, les Theligenaceae, les Dialipetalaceae, les Gelsemiaceae, les Rubiaceae et les Apocynaceae, l'ordre des Gentianales (Edwin, 2012). Les Gentianales appartiennent à la classe des Magnoliopsida, sous-classe Asteridae, division Magnoliophyta et sous règne des Tracheobionta (Watson et Dallwitz, 1992).

Règne : Plantae

Sous règne: Tracheobionta

Division: Magnoliophyta

Classe : Magnoliopsida

Sous-classes : Asteridae

Ordre : Gentianales

Famille : Gelsemiaceae

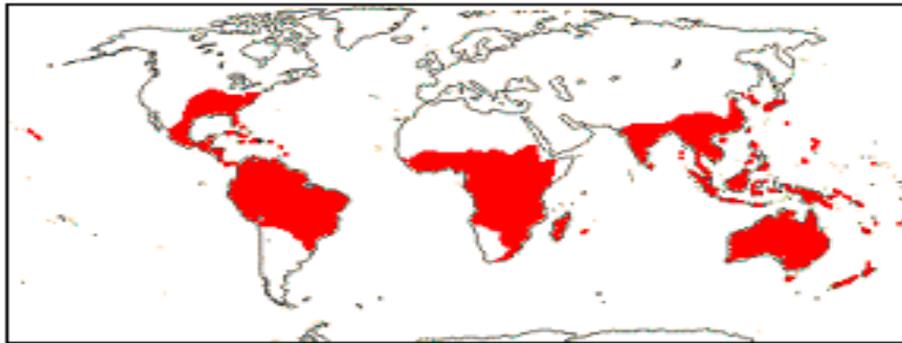
Genre : *Mostuea*

Schéma 1: Classification systématique de *Mostuea* dans le règne végétal (Watson et Dallwitz, 1992)

I.B.1.2. Généralités sur la famille des Gelsemiaceae

La famille des Gelsemiaceae est constituée des arbres, des arbustes ou des lianes aux feuilles presque opposées, parfois simples, avec des stipules présentes ou absentes, leurs inflorescences sont paniculées, corymbeuses ou parfois capituliformes. Les fleurs sont bisexuées et généralement actinomorphes, subactinomorphes ou zygomorphes. Les sépales, valvaires ou imbriqués, possèdent une corolle tubuleuse avec 4 à 16 lobes pouvant être confortés, imbriqués ou valvaires. Les étamines insérées dans la corolle sont au même nombre que les lobes de la corolle et présentent des anthères à deux loges s'ouvrant par une fente longitudinale. L'ovaire supère, est constitué de 1 à 4 loges avec un style simple. Les ovules en petit nombre, nombreuses, ou rarement une seule, sont axiles ou presque basilaires. Les fruits sont des capsules, des baies ou des drupes. Les graines parfois ailées présentent un embryon droit, situé au milieu d'un endosperme charnu ou cartilagineux (Aubreville et Jean., 1972).

La famille des Gelsemiaceae contient environ 30 genres et plus de 600 espèces (Edwin, 2012). La délimitation de la famille des Gelsemiaceae est à l'origine de plusieurs questions et débats, dû au fait qu'on observe certaines similitudes entre les genres du même ordre. C'est pour cette raison que le nombre d'espèces peut varier d'un auteur à un autre. On retrouve ces espèces dans les régions tropicales et subtropicales du monde, cependant, elles sont absentes en Europe (Edwin, 2012).



■ Répartition globale des Gelsemiaceae

Figure 3: Carte de la distribution géographique des Gelsemiaceae (Heywood, 1985)

I.B.1.3. Généralités sur le genre *Mostuea*

La caractérisation et l'identification du genre *Mostuea* ont connu une évolution progressive. En effet, la première identification date de 1854 par Didrichsen. Quelques années plus tard, de nombreux chercheurs à l'instar de Oliver, Baker, Baillon et Hooker identifient les synonymes de *Mostuea*, que sont les genres *Leptocladus* et *Coinochalmys* (Edwin, 2012). Mais ce sont les travaux de Baillon et Baker en 1903 qui ont permis d'uniformiser cette description (Leeuwenberg, 1961).

Le genre *Mostuea* compte environ 13 espèces dont 4 sont pour le moment recensées au Cameroun (*Mostuea thomsonii*, *Mostuea batesii*, *Mostuea brunonii* et *Mostuea hirsuta*) (Edwin, 2012). La plupart des espèces de ce genre se retrouvent en Amérique tropicale et subtropicale (Leeuwenberg, 1961). En Afrique, on le retrouve dans les forêts tropicales et subtropicales du Sud-africain et en Afrique équatoriale (Leeuwenberg, 1961). Les espèces du genre *Mostuea* peuvent se présenter sous la forme d'arbres, d'arbustes, ou de lianes généralement bien ramifiées ; les stipules sont membraneuses et soudées (Leeuwenberg, 1961). Les feuilles sont opposées et courtement pétiolées ; le limbe est ordinairement papyracé à l'état sec, de forme et de grandeur variable ; ové et étroitement elliptique, il est

entier ou faiblement sinué-denté (**Leeuwenberg, 1961**). Les inflorescences sont axillaires ou terminales, généralement obliques et incomplètement dichasiales, uni ou multiformes, parfois capituliformes (**Leeuwenberg, 1961**).

Les fleurs sont pentamères. Les sépales sont ovés, linéaires et soudés à la base. La corolle est en entonnoir. Les lobes sont imbriqués dans le bouton, et sont presque égaux, étalés, orbiculaires ou suborbiculaires. Les étamines sont incluses ou souvent exsertes, notamment dans le cas des étamines longues. Les filets sont pubescents ou parfois glabres. Ils sont insérés au quart ou au tiers du tube inférieur de la corolle, et sont également allongés et plus ou moins inégaux. Les anthères sont orbiculaires ou oblongues ; les loges sont séparées. Les ovaires sont ovoïdes, à deux loges ; le style est caduc, finement pubescent avec poils glandulifères ; Le stigmate est deux fois bifurqué à lobes étroits ; et les ovules sont deux par loges (**Leeuwenberg, 1961**).

Les fruits sont capsulaires, obcordés, bilobés ou rarement ellipsoïdes, aplatis et loculicides à 4 valves ; les loges ont 1 ou 2 graines. Les graines sont en plan convexe (ou non si le fruit est ellipsoïde), obliquement ovée ou orbiculaire, à dense pubescence apprimées dans les espèces africaines (**Leeuwenberg, 1961**).

I.B.1.4. Généralités sur l'espèce *Mostuea batesii* Baker

I.B.1.4.1. Description botanique

Mostuea batesii est un arbuste pouvant atteindre 1,5 m de hauteur. Ses feuilles sont opposées, simples à stipules poilues à l'extérieur. Les inflorescences sont en cyme de 1–3 fleurs. Les pétioles poilus atteignent 0,5 à 8 mm de long. Le limbe est elliptique ou oblong-elliptique à base, obliquement cunéiforme et arrondie. Les fleurs sont bisexuées, légèrement zygomorphes, et souvent sessiles. Les sépales de 2,5–6 mm de long, sont fusionnés à la base, avec des formes variant de l'ovales-lancéolés à l'ovales-linéaires, et sont poilus à l'extérieur ; la corolle poilue à l'extérieur dans sa partie supérieure et glabre dans sa partie inférieure est blanche, jaune à la base, avec un tube en entonnoir avec une longueur de 7 à 11 mm. Son intérieur est glabre sauf à proximité du point d'insertion des étamines avec les lobes longs de 1,5 à 3 mm. Les étamines sont libres, incluses ou exsertes. L'ovaire supère, ovoïde, de 0,5 à 1 mm de long est garni de quelques poils à l'apex. Les fruits sont en capsules bilobées de 5,5 à 8 mm, 11 à 13 mm. Ils sont également poilus, bruns moyen, à 4 valves comprenant 2 à 4 graines. Les Graines sont planes-convexes (**De-ruijter, 2007**).



Figure 4: *Mostuea batesii* Baker (De-ruijter, 2007)

I.B.1.4.2. Distribution de *Mostuea batesii* Baker

Les travaux de Leeuwenberg donnent une idée de la répartition géographique de *Mostuea batesii* Baker en Afrique. Ces travaux montrent que l'espèce *Mostuea batesii* Baker se trouve autour de l'équateur comme l'indique la figure ci-dessous (Leeuwenberg, 1961).

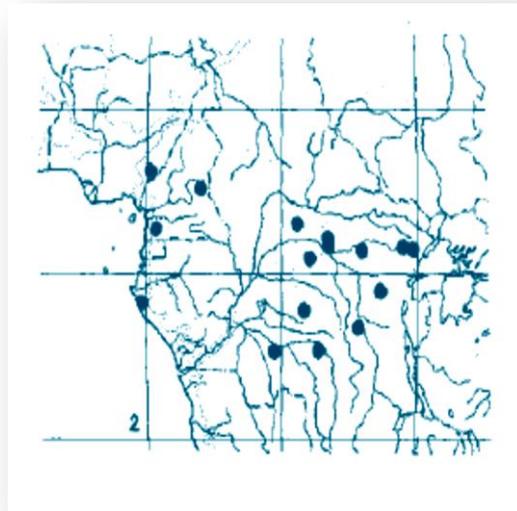


Figure 5 : Distribution géographique de *Mostuea batesii* Baker en Afrique

Selon l'Herbier National du Cameroun (HNC), *Mostuea batesii* Baker se rencontre dans les régions du Centre, de l'Est, du Littoral et du Sud-Ouest du Cameroun (tableau 1):

Tableau 1: Les lieux de récolte de *Mostuea batesii* Baker au Cameroun (HNC)

Région	Chef-lieu	Espèce	Localité
Centre	Yaoundé	<i>Mostuea batesii</i> Baker	Près du village Lobo à 50 Km de Yaoundé Mont Eloundem (Yaoundé) Forêt Essong passant par Nanga-Eboko
Est	Bertoua		5 Km au Nord de Lomié
Littoral	Douala		Mont Nlonako, (5Km de Nkongsamba) Nord-est Dibombé
Sud-ouest	Buea		Muyuka

I.B.1.4.3. Usages de *Mostuea batesii* Baker en médecine traditionnelle

Au Gabon, la racine râpée de *Mostuea batesii* Baker s'utilise en médecine traditionnelle pour dissiper le sommeil ou pour ses vertus aphrodisiaques; son action est similaire à celle de *Tabernanthe iboga* Baill. Elle se consomme seule ou combiner à *Tabernanthe iboga*; l'usage prolongé de *M. batesii* Baker, peut mener à des troubles

cérébraux. Au Cameroun tout comme en République Centrafricaine, la décoction des racines est prise par les enfants pour son action vermifuge. Les plantes du genre *Mostuea*, dont le *M. batesii*, sont largement utilisées par les populations forestières pour ses effets hallucinogènes (De-Ruijter, 2007).

I.B.1.5. Généralités sur l'espèce *Mostuea Thomsonii* (Oliv.) Benth

I.B.1.5.1. Description botanique

L'espèce *Mostuea thomsonii* (Oliv. Benth) pousse principalement dans la forêt tropicale secondaire et est distribuée autour du bassin du Congo (M. Sobral et al., 2003). Les fruits de *Mostuea thomsonii* (Oliv.) Benth sont en capsules bilobées de 5,5 à 8 mm × 11 à 13 mm ; et sont également poilues, bruns moyen, à 4 valves comprenant 2 à 4 graines. Les graines sont planes-convexes (De-ruijter, 2007).



Figure 6: *Mostuea thomsonii* (Oliv. Benth) (De-ruijter, 2007)

I.B.1.5.2. Distribution de *Mostuea thomsonii* (Oliv.) Benth au Cameroun

Selon l'Herbier National du Cameroun, *Mostuea thomsonii* (Oliv.) Benth se rencontrent généralement dans les régions du Centre, de l'Est, du Littoral et du Sud-Ouest du Cameroun (tableau 2):

Tableau 2 : Les lieux de récolte de *Mostuea thomsonii* (Oliv.) Benth au Cameroun (M. Sobral et al., 2003).

Famille	Espèce	Région	Localité
Loganiaceae	<i>Mostuea thomsonii</i> (Oliv. Benth)	Centre	Mont Eloundem (Yaoundé)
			Forêt Essong passant par Nanga-Eboko
		Sud	Sur les berges du fleuve de la sanaga
		Est	5 Km au Nord de Lomié
		Littoral	Mont Nlonako, (5Km de Nkongsamba)
			Nord-est Dibombé
Sud-ouest	Muyuka		

I.B.1.5.3. Usages de *Mostuea thomsonii* (Oliv.) Benth en médecine traditionnelle

Cette plante est largement utilisée en médecine traditionnelle dans la plupart des pays suivants : Cameroun, République Centrafricaine, Gabon, République Démocratique du Congo... En effet, les racines râpées de *M. thomsonii* (Oliv.) Benth sont utilisées au Gabon pour lutter contre le cancer, les infections microbiennes et pour ses propriétés aphrodisiaque, tandis qu'en République Centrafricaine, la décoction des racines est donnée aux enfants comme anthelminthique (Backlund et al., 2005). Elle possède des propriétés hallucinogènes, et son utilisation prolongée a été associée à des troubles cérébraux ou à la schizophrénie (Kerharo et Adam, 1974).

I.B.2. TRAVAUX CHIMIQUES ET PHARMACOLOGIQUES ANTERIEURS SUR LES EXTRAITS DES PLANTES DU GENRE *MOSTUEA*

➤ Travaux chimiques antérieurs

Les investigations phytochimiques menées sur les plantes du genre *Mostuea* depuis quelques décennies ont conduit à l'extraction, à l'isolement et à la caractérisation de quelques

métabolites secondaires dont les plus représentatifs appartiennent aux classes des alcaloïdes indolo-monoterpeniques, des alcaloïdes quinoléiques et des triterpénoïdes (**Dai et al., 1999**) et (**Ekon et al., 2015**). Aussi, dans la suite de notre travail, nous leur accorderons une attention toute particulière.

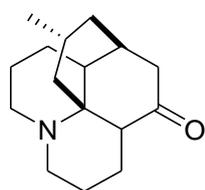
➤ Travaux pharmacologiques

Un extrait d'écorce de racine de *Mostuea brunonii*, administré par voie sous-cutanée a montré une dose létale moyenne de 0,25 g / kg chez les souris, la mort étant survenue lors d'une phase d'hyperexcitabilité (**Backlund et al., 2005**). Chez les chiens anesthésiés, une dose intraveineuse allant jusqu'à 0,10 g / kg a entraîné une hypertension, une courte phase de tachycardie et une hyperpnée suivie d'une dépression cardiaque et respiratoire. Ce qui explique la raison pour laquelle cette plante est également connue sous le nom de stimuli. (**Backlund et al., 2005**).

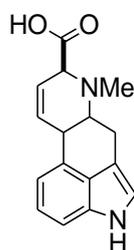
I.B.2.1. Généralités sur les alcaloïdes

I.B.2.1.1. Définition

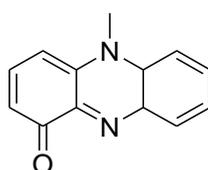
Bien qu'il soit difficile de donner une bonne définition des alcaloïdes, en raison du nombre de cas particuliers, on peut dire que les alcaloïdes sont des composés naturels possédant au moins un atome d'azote dans leur structure (**Aniszewski, 2007**). Ce sont des substances à forte activité biologique et toxique pour la plupart qui sont extraites en majorité des plantes à fleurs, (8,7% des plantes dicotylédones sont riches en alcaloïdes), mais aussi des mousses (lycopoline, **33**, de *Lycopodium complanatum*), des champignons (exemple: l'ergine **34**, de l'*ergot de seigle*), des bactéries (pyocyanine **35**, de *Pseudomonas aeruginosa*) et des animaux supérieurs (adrénaline **36**, castoramine **37** du muscle) (**Aniszewski, 2007**).



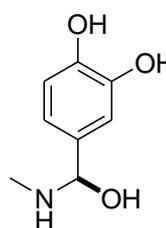
33
Lycopodine



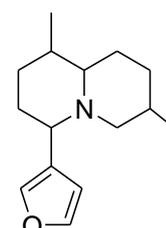
34
Ergine



35
Pyocyanine



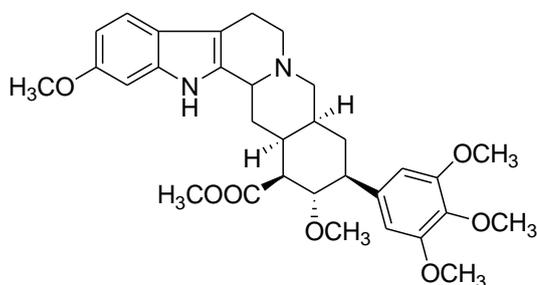
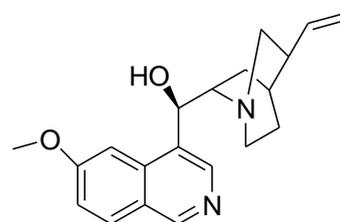
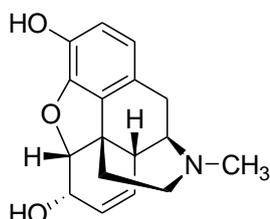
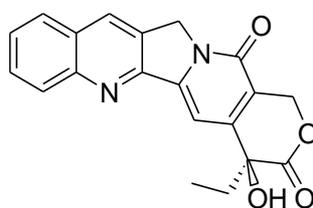
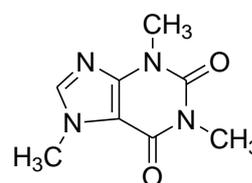
36
Adrenaline



37
Castoramine

Ces substances peuvent être trouvées dans différentes parties de la plante: les racines pour la reserpine (**38**) du *Rauwolfia serpentina*, l'écorce pour la quinine (**39**) de *cinchona* ou encore du latex pour la morphine (**40**) du *Papaver somniferum*.

Les alcaloïdes en raison de la présence dans leurs structures d'un ou de plusieurs atomes d'azote, sont facilement oxydables à l'air en N-oxyde, ce qui facilite leur dégradation caractérisée par un jaunissement rapide pour des composés blancs. C'est la raison pour laquelle ils sont conservés le plus souvent sous-forme de sels plus stables (tartrate ou encore chelhydrate). L'intérêt ainsi porté aux alcaloïdes tient à leurs nombreuses propriétés pharmacologiques. En effet ils possèdent des activités antipyrétique (quinine **39**); analgésique (quinine **39**); antalgique (morphine **40**); hypotenseur (réserpine **38**); anti-tumorale (camptotécine **1**); etc... De plus, les plantes riches en alcaloïdes sont utilisées par les hommes pour préparer des boissons comme le thé (caféine **41**), les potions bienfaitrices etc.

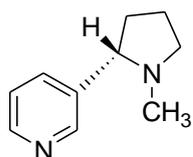
**38****39****40****1****41**

I.B.2.1.2. Propriétés physico-chimiques, extraction, caractérisation et dosage des alcaloïdes

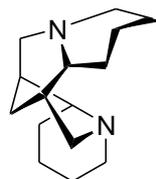
a. Propriétés physico-chimiques

Les alcaloïdes ont des masses moléculaires à température ambiante variant de 100 à 900 gramme par mole (**Bassène, 2012**). Les alcaloïdes non oxygénés sont liquides à température ordinaire (nicotine **42**, confine **43**), les alcaloïdes oxygénés sont des solides cristallisés, rarement colorés (berbérine) (**Bassène, 2012**).

La solubilité des alcaloïdes dépend de la forme dans laquelle ils se trouvent. En milieu alcalin, les alcaloïdes sont sous forme de base (libre) et sont insolubles dans l'eau, mais solubles dans les solvants apolaires (éther, benzène, chloroforme, etc...). En milieu acide, les alcaloïdes sont sous forme de sels. Ils sont solubles dans l'eau, mais insolubles dans les solvants organiques apolaires. L'alcool est capable de dissoudre les deux formes (base; sels). Ce comportement intéressant va engendrer trois méthodes d'extraction à savoir: extraction par l'eau acide, extraction par l'alcool, extraction par un solvant organique (**Bassène, 2012**).



42 nicotine



43 confine

b. Extraction des alcaloïdes

Les alcaloïdes se trouvent le plus souvent sous forme des sels d'acides minéraux ou organiques, et parfois leur combinaison (dont les tanins en particulier), lorsqu'on pulvérise la matière végétale avec une solution alcaline. Leur mode d'extraction est très variable selon la nature de l'alcaloïde, mais on trouve typiquement deux schémas d'extraction : par un solvant apolaire en milieu alcalin ou par un solvant polaire en milieu acide (de Bronsted).

- **Extraction par le solvant apolaire en milieu alcalin**

Elle se fait en suivant les étapes :

- La matière végétale est dans un premier temps pulvérisée et humectée avec une solution aqueuse alcaline, prouvent être constituer soit de la chaux, de l'ammoniaque NH_4^+OH^- et de la soude pour déplacer la base forte,
- La solution obtenue à l'étape précédente subit une extraction par l'intermédiaire d'un solvant organique non polaire et la solution organique (alcaloïdes, lipide, pigment) est conservée puis concentrée par un chauffage doux par le dispositif d'évaporateur rotatif,
- La solution résultante est épuisée par un acide dilué (acide sulfurique 0,5N), puis on procède à une extraction (liquide-liquide), et par la suite on alcalinise la solution aqueuse acide,
- On procède à un nouvel épuisement par un solvant organique non miscible (éther, chloroforme ou le xylène), permet d'obtenir une solution organique alcaloïde, qu'il faut alors concentrer par évaporation pour donner alors un résidu d'alcaloïdes bruts. (**Bassène, 2012**).

- **Extraction par solvants alcool acide**

Elle se fait selon les étapes suivantes:

- ✓ La poudre est macérée dans un solvant organique (méthanol, ethanol), pour donner une solution extractive alcoolique (alcaloïdes bases + sels + impuretés). Le résidu obtenu après concentration de l'extrait brut, est ensuite dilué dans une solution d'acide chlorhydrique (HCl), et filtré pour donner un précipité et les impuretés. Enfin une extraction liquide-liquide et lavage par un solvant organique apolaire permet d'obtenir une solution aqueuse acide constituée d'alcaloïdes sels et impuretés.

- ✓ La solution aqueuse acide obtenue après l'extraction liquide-liquide constituée de (alcaloïdes sels + impuretés) est traitée par une solution alcaline (NH_4OH , NaOH ...) puis par un solvant organique apolaire (CHCl_3 , éther, toluène) pour donner deux phases : une solution aqueuse constituée d'impuretés et l'autre organique constituée d'alcaloïdes bases.

- ✓ La phase organique constituée d'alcaloïdes bases récupérée est lavée à l'eau, séchée (Na_2SO_4 anhydre) puis évaporée pour aboutir aux alcaloïdes totaux.

c. Caractérisation des alcaloïdes et dosage

Les alcaloïdes sont des solides cristallisés lorsqu'ils sont oxygénés avec un poids moléculaire élevé; et des liquides entraînés à vapeur d'eau s'ils sont non oxygénés et de faibles poids moléculaire. Leur saveur est généralement amère (**Bassène, 2012**).

Les alcaloïdes donnent des précipités avec certains réactifs tels que l'acide picrique, l'acide phosphotungstique et les réactifs iodés tel que le réactif iodoioduré (réactif de Bouchardat); le réactif iodomercurate de potassium (réactif de Velsler Meyer); le réactif iodobismutite de potassium (réactif de Dragendorff) (**Bassène, 2012**). C'est ainsi qu'on obtient avec le:

- Réactif de **Dragendorff** (tétraiodo-bismuthate de potassium) précipité rouge à orange.

- Réactif de **Bouchardat** (iodo-iodurée) un précipité brun.

- Réactif de **Velsler Mayer** (mercuri-iodure de potassium) un précipité blanc.

I.B.2.1.3. Classification des alcaloïdes

Les alcaloïdes présentent plusieurs types de classification étroitement liés aux types structuraux qu'ils contiennent et également à la famille des plantes à partir de laquelle ils ont été isolés

I.B.2.1.3.1. Classification en fonction du type structural

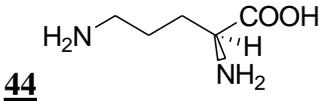
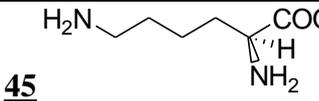
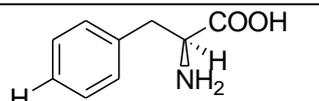
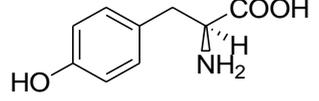
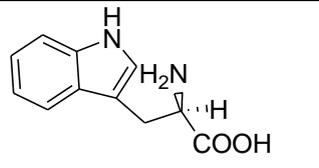
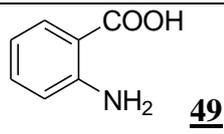
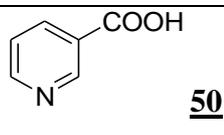
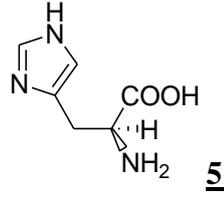
Pour ce qui est du classement des alcaloïdes en fonction de leur type structural.

On estime de nos jours à plus de 10 000 alcaloïdes différents déjà isolés (ou détectés) à partir de sources végétales, animales ou de micro-organismes. Proposer une classification pour les alcaloïdes est une tâche difficile, en raison du grand nombre de composés connus et surtout à cause de la diversité structurale.

L'atome d'azote dans les alcaloïdes provient, en général, d'un acide aminé dont la structure carbonée reste souvent intacte dans la structure finale de l'alcaloïde. Une façon raisonnable est alors de classer les alcaloïdes en groupes, selon leur précurseur biosynthétique. Il existe cependant un grand nombre d'alcaloïdes qui n'ont pas forcément un acide aminé comme précurseur. Dans ces cas-là, l'atome d'azote est incorporé à un stade avancé de la biosynthèse par réactions d'amination sur des intermédiaires aldéhydes ou cétones (**Hesse, 2002 ; Mann, J. et al., 1994 et Bhat, et al., 2005**).

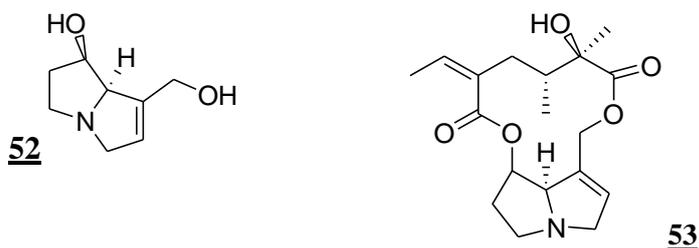
Dans le tableau 3 sont présentés quelques types d'alcaloïdes et leur précurseur acide aminé.

Tableau 3: précurseurs et types d'alcaloïdes (Hesse, 2002 et Mann *et al.*, 1994)

Noms du précurseur	Structure du précurseur	Types d'alcaloïde
Ornithine	 <p>44</p>	Pyrrolidines, pyrrolizidines, tropanes
Lysine	 <p>45</p>	Pipéridines, quinolizidines, indolizidines
Phénylalanine	 <p>46</p>	Alcaloïdes du type éphédrine, isoquinoléines
Tyrosine	 <p>47</p>	
Tryptophane	 <p>48</p>	Indoles
Acide anthranilique	 <p>49</p>	Quinoléines, quinazolines, acridines
Acide nicotinique	 <p>50</p>	Pyridines
Histidine	 <p>51</p>	Imidazoles
	Via aminations	Alcaloïdes terpéniques et stéroïdiens

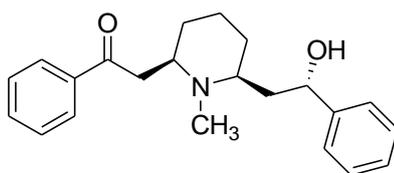
a. Alcaloïdes dérivés de l'Ornithine

Dans ce groupe, les pyrrolizidines et les tropanes sont les plus importants. Les pyrrolizidines, très répandues dans la nature, sont obtenus dans les plantes des familles botaniques suivantes : Asteraceae, Boraginaceae, Fabaceae et Orchidaceae. (Hartmann, 1995, et Rizk, 1991). Très toxiques (souvent hépatotoxiques), ces alcaloïdes ont déjà provoqué des empoisonnements de masse chez les humains et les animaux au milieu du siècle dernier. Parmi les pyrrolizidines naturelles, la rétronécine **52** et la senécionine **53** (isolées de plantes du genre *Senecio* et *Heliotropium*) sont les plus connues.



b. Alcaloïdes dérivés de la lysine

Dans ce groupe nous trouvons les composés pipéridiniques, quinolizidiniques et indolizidiniques. La lobéline **54**, extraite de la *Lobelia inflata*, est utilisée dans les préparations pour lutter contre le tabagisme (Dwoskin et Crooks., 2002). L'extrait brut de la plante est largement employé dans le traitement de l'asthme et de la bronchite. (Raj et al., 2005)



54

Les quinolizidines se rencontrent principalement dans les plantes appartenant aux familles Leguminoaseae et Fabaceae. Ces alcaloïdes ont une action répulsive contre les herbivores et ils sont également connus comme des poisons pour l'homme.

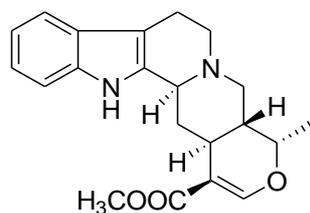
c. Alcaloïdes dérivés du tryptophane

Nous retrouvons ici les alcaloïdes indolo-monoterpeniques, quelques structures quinoléiniques, les pyrroloindoles et les alcaloïdes de l'ergot. Parmi les indoles, ceux qui présentent une structure terpénoïde sont les plus répandus et également les plus complexes

d'un point de vue structural. Les plantes des familles botaniques Rubiaceae, Apocynaceae et Loganiceae sont des sources riches en alcaloïdes de ce type.

La réserpine **38** et l'ajmalicine **55**, rencontrées dans les plantes de l'espèce *Rauwolfia*, sont toutes les deux efficaces dans le traitement de l'hypertension. (Dewick, 2001) et (Bhat, 2005).

La camptothécine **1**, présentant une structure pyrroloquinoléinique, est également issue du réarrangement d'un motif pyridoindole. Ce composé pentacyclique est également très populaire en chimiothérapie anticancéreuse. (Dewick, 2001).

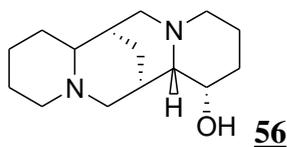


55

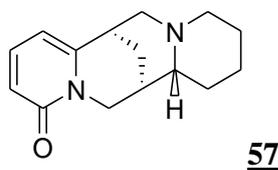
I.B.2.1.3.2. Classification des alcaloïdes en fonction des différentes familles des plantes

a. Les alcaloïdes des Asteraceae

Parlant des alcaloïdes isolés de cette famille de plantes, des investigations phytochimiques, ont conduit à l'isolement des alcaloïdes quinolizidine à l'exemple de la Retamine **56** et de l'Anagyrene **57**,



56

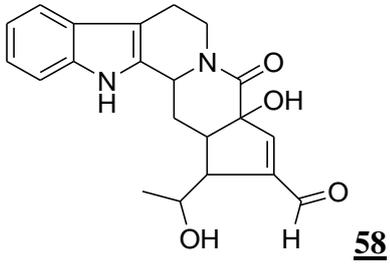
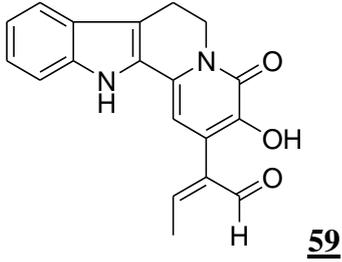
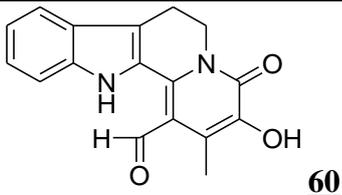


57

b. Les alcaloïdes des Rubiaceae

Les Rubiaceae constituent une famille de plantes fortement riches en alcaloïdes indolomonoterpéniques. Le tableau suivant donne des exemples d'alcaloïdes indolomonoterpéniques isolés de cette famille de plantes.

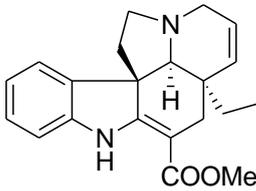
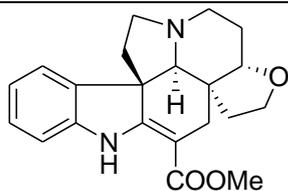
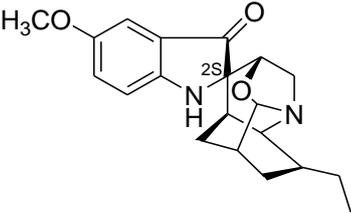
Tableau 4 : Quelques alcaloïdes indolo-monoterpéniques isolés des Rubiaceae

Noms	Sources	Structures	References
Nauclealatifoline A	<i>Nauclea latifolia</i>	 58	Rehman et al., 2011
Nauclealatifoline B		 59	
Nauclealatifoline C		 60	

- Les alcaloïdes Apocynaceae

De même, les Apocynaceae sont une famille de plantes fortement riches en alcaloïdes indolo-monoterpéniques. Le tableau suivant donne des exemples d'alcaloïdes indolo-monoterpéniques isolés de cette famille de plantes.

Tableau 5 : Quelques alcaloïdes indolo-monoterpéniques isolés des Apocynaceae

Noms	Sources	Structures	References
Tabersonine		 <p style="text-align: center;">61</p>	
Deoxoapodine	<i>Voacanga africana</i>	 <p style="text-align: center;">62</p>	Kitajima et al., 2012
Ervaoffine A	<i>Ervatamia officinalis</i>	 <p style="text-align: center;">63</p>	Ben-Qin et al., 2014

c. Les alcaloïdes des Gelsemiaceae

Les Gelsemiaceae constituent une famille de plantes fortement riches en alcaloïdes indolo-monoterpéniques et des alcaloïdes quinoléiques. Nous allons dans la suite mener une étude plus exhaustive de ces deux types d'alcaloïdes.

1 . Alcaloïdes indolo-monoterpéniques

Les alcaloïdes indolo-monoterpéniques ont été subdivisés en trois types structuraux selon leur origine biogénétique (**Herbert, 1983**). Ainsi, les alcaloïdes de type I, sans réarrangement dans l'unité monoterpénique comprennent les squelettes de type corynanthéane (I α), malindane (I α), vallesiachotamane (I α), vincosamane (I α), strychnane (I β) et aspidospermatane (I β). Ce groupe est celui qui comprend le plus grand nombre de variations structurales. Les alcaloïdes du type II, dont la partie monoterpénique subit une rupture de la

liaison C-15/C-16, un déplacement du fragment C-17/C-16/C-22 aboutissant à la formation d'une liaison C-20/ C-17, constituent les groupes plumérane (aspidospermane) et éburnane. Finalement, les alcaloïdes de type III, dont la partie monoterpénique subit aussi une rupture de la liaison C-15/C-16 mais le fragment C-17/C-16/C-22 se liant cette fois au C-14, forment les groupes ibogane et tacamane.

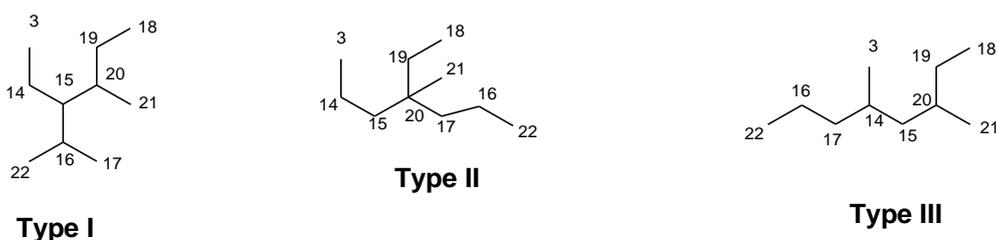


Schéma 2: Les trois types de squelettes carbonés issus de la strictosidine, rencontrés chez les alcaloïdes indolo-monoterpéniques.

En 1973, Heimberger et Scott avaient émis une hypothèse biosynthétique incluant la protostrychnine (formée par lactamisation de la préstrychnine) comme précurseur direct de la strychnine (**Heimberger et Scott, 1973**). Selon eux, ces intermédiaires ne pourraient être détectés car trop rapidement transformés. Mais depuis l'isolement dans *Strychnos nux-vomica* de la protostrychnine et des dérivés de préstrychnine substitués sur le cycle aromatique, l'hypothèse biosynthétique a été renforcée (**Herbert, 1983**). Une fois l'aldéhyde de Wieland-Gumlich formé, deux voies sont possibles: l'une commençant par l'oxydation de la préstrychnine qui peut ensuite subir une lactamisation et une autre cyclisation formant les dérivés strychnines ; l'autre débutant par une lactamisation de la préstrychnine formant la protostrychnine pouvant être oxydée et finalement cyclisée pour donner la strychnine.

Biosynthèse

Guignard dans son livre intitulé « Biochimie Végétale » indique que la synthèse des alcaloïdes s'effectue au niveau du réticulum endoplasmique; les alcaloïdes se concentrent ensuite dans la vacuole (**Guignard, 1996**). Pour ce qui est du pavot, il s'agit des vacuoles spécialisés développées en lactifères. De façon générale, la production d'alcaloïdes s'observe dans les tissus en voie de croissance (jeunes racines; jeunes feuilles) (**Guignard, 1996**).

La pénétration à travers le tonoplaste se fait sous forme moléculaire neutre lipophile. Le pH acide de la vacuole ionise l'alcaloïde dont la capacité transmembranaire se trouve réduite: il en résulte une accumulation intravacuolaire de l'alcaloïde (**Guignard, 1996**).

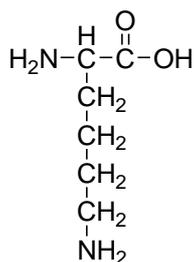
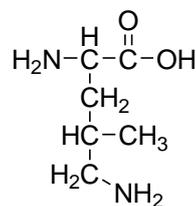
Fréquemment les alcaloïdes s'accumulent dans des emplacements différents de leur lieu de synthèse. Par exemple dans le tabac, la nicotine est synthétisée au niveau des racines; puis elle migre vers le feuillage. Absente dans les graines, elle se forme dès la germination de la plantule (**Guignard, 1996**).

Des modifications de structure peuvent se produire lors de ces transferts. C'est ainsi que la nicotine est déméthylée au niveau des feuilles en nornicotine (**Guignard, 1996**).

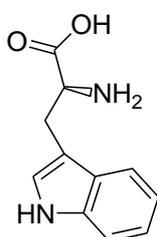
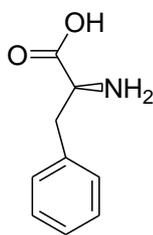
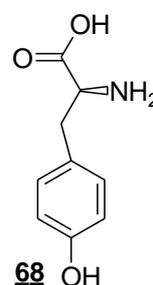
- **Précurseur des alcaloïdes**

Les alcaloïdes ont 5 principaux précurseurs qui sont : la L-ornithine **64** et la L-lysine **65** (aminoacide diaminé), la L- phénylalanine **66**, la L-tyrosine **67** et le L- tryptophane **68** (aminoacide aromatique) (**Guignard, 1996**).

Acides aminés aliphatiques

**64****L-lysine****65****L-Ornithine**

Acides aminés aromatiques

**66****L-tryptophane****67****L-phénylalanine****68****L-tyrosine**

❖ La L-ornithine **65** (acide aminé non protéique) et la L-lysine **64** sont à l'origine des alcaloïdes à cycle pyrrolizidine et quinolizidine : tels que les alcaloïdes tropaniques et la cocaïne (**Guignard, 1996**).

❖ La L-tyrosine **68** et la L-phénylalanine **67**; qui sont les acides aminés aromatiques sont précurseurs pour leur part du groupe des alcaloïdes isoquinoleiques (**Guignard, 1996**).

❖ Le tryptophane **66** est à l'origine de la quasi-totalité des alcaloïdes indoliques, mais intervient rarement seul (**Guignard, 1996**).

Les alcaloïdes indolo-monoterpéniques sont les plus nombreux : on les rencontre chez les Asteridae ligneuses : Loganiaceae, Apocynaceae-Asclépiadaceae, Rubiaceae chez ces dernières un réarrangement tardif substitue le noyau quinoléique au noyau indolique (**Guignard, 1996**).

La plupart des alcaloïdes sont dérivés d'acides aminés tels que le tryptophane, l'ornithine, la lysine, l'aspartate, l'antranilate, la phénylalanine et la tyrosine. Ces acides aminés sont décarboxylés en amines qui sont couplées à d'autres squelettes carbonés. La strictosidine et la norcoclaurine sont deux composés centraux source de la moitié des alcaloïdes connus.

Les alcaloïdes indole terpénoïques (AIT) comprennent environ 3000 composés qui incluent la vincristine (anti-cancéreux), la quinine (utilisée contre le paludisme) et la strychnine (pesticide contre les rats). La structure de base des AIT comprend un noyau de type indole provenant de la tryptamine et une composante terpénoïque provenant de la sécologanine.

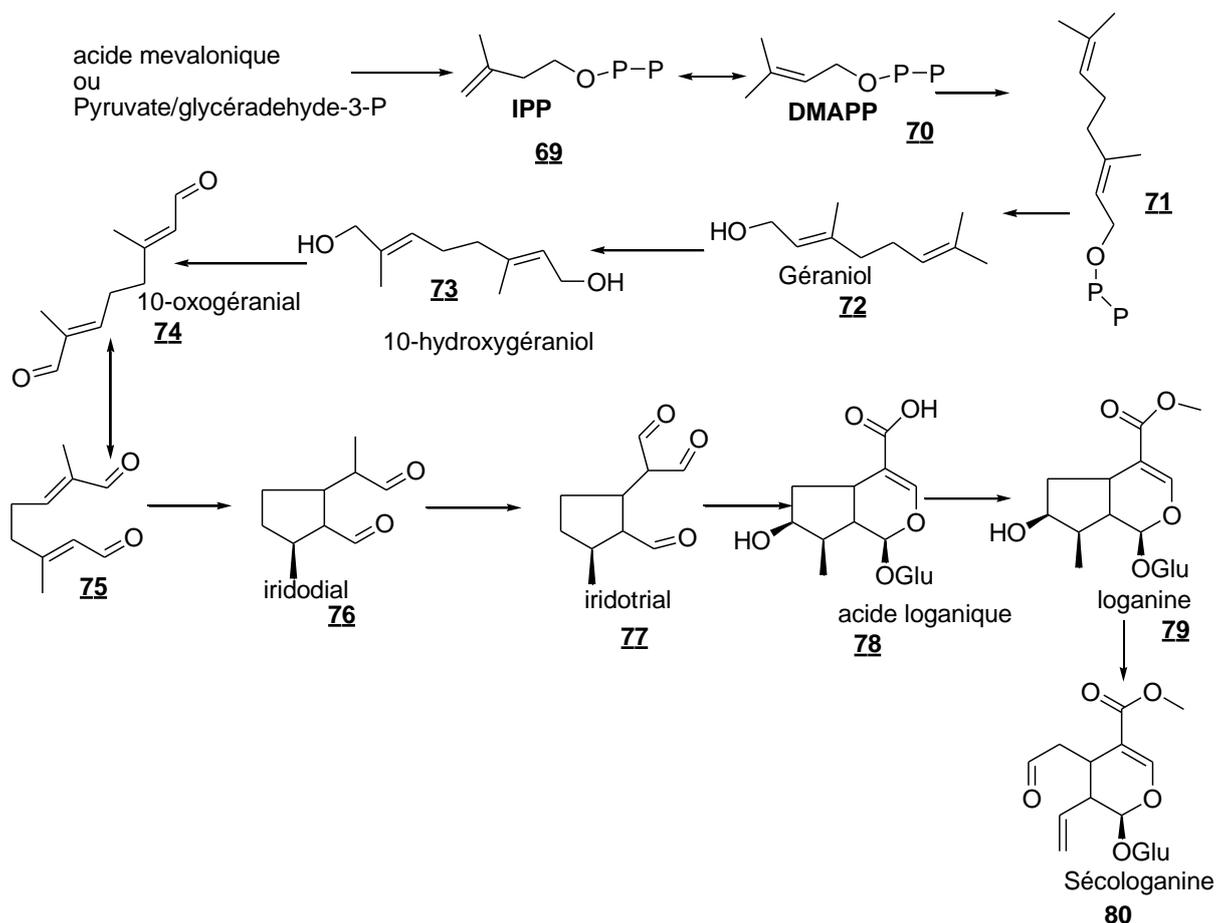


Schéma 3 : Biosynthèse du précurseur terpénique (la sécologanine) à partir de l'acide mévalonique

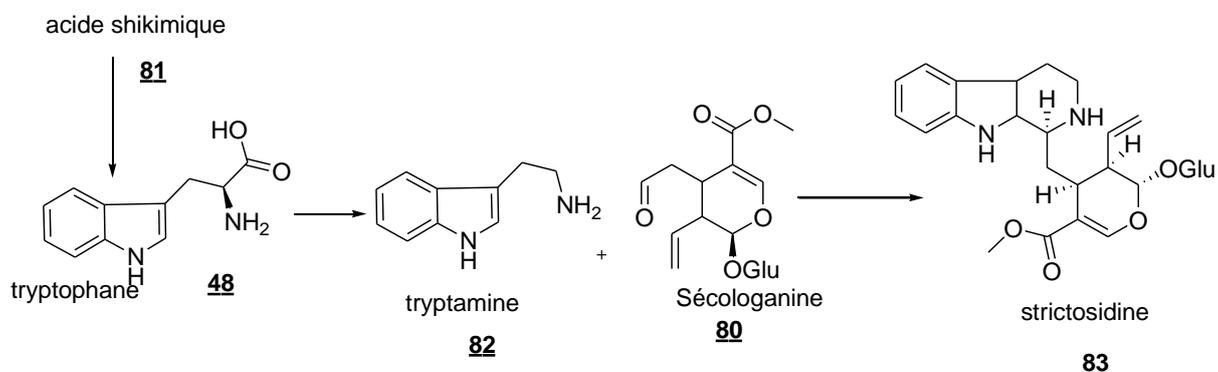


Schéma 4 : Biosynthèse de la strictosidine.

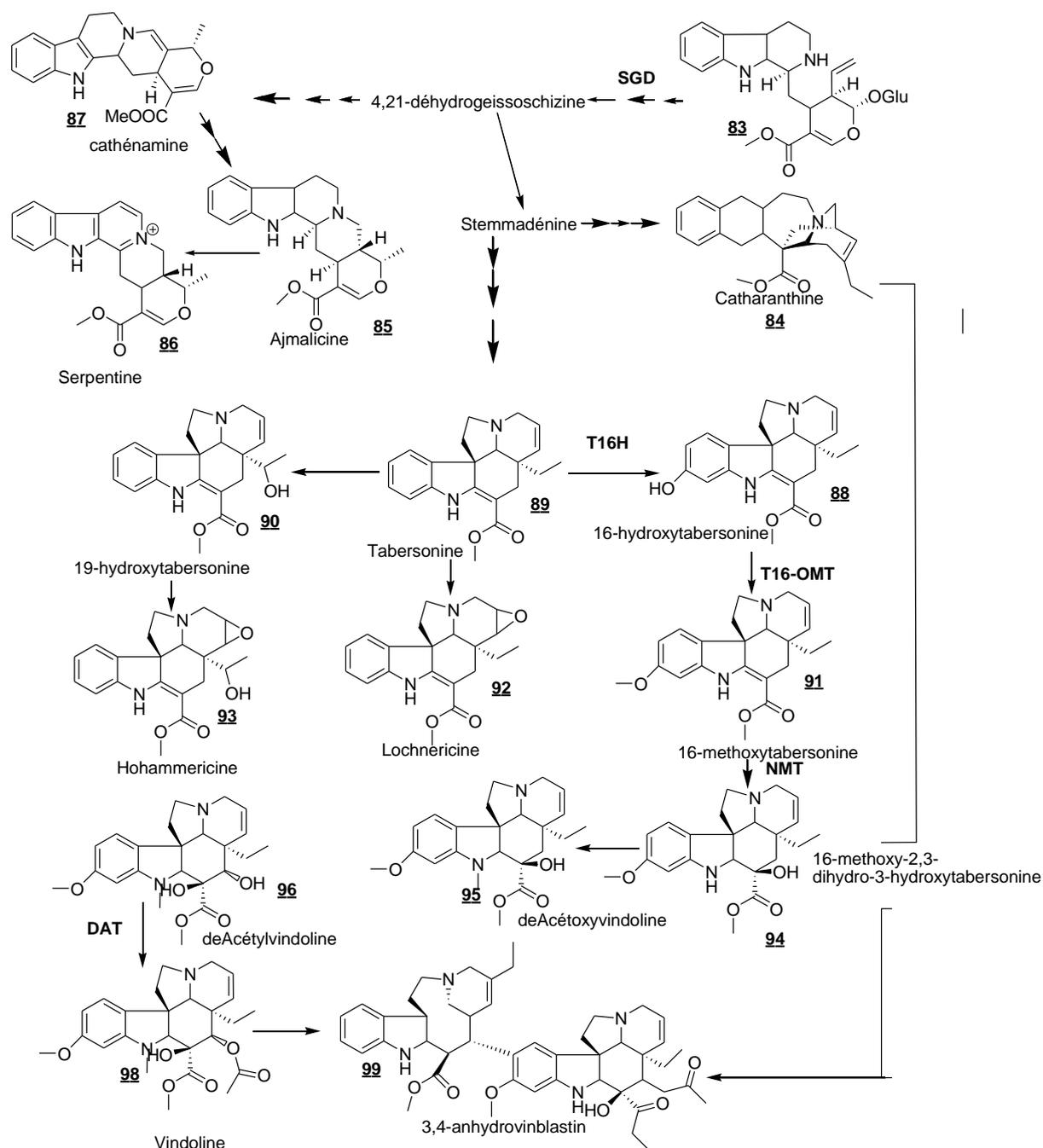


Schéma 5: Biosynthèse des Alcaloïdes Indole-terpenoïdes (Aniszewski, 2007).

Les flèches pleines indiquent une réaction connue ou inconnue, les flèches en pointillé indiquent plusieurs étapes enzymatiques successives connues ou inconnues.

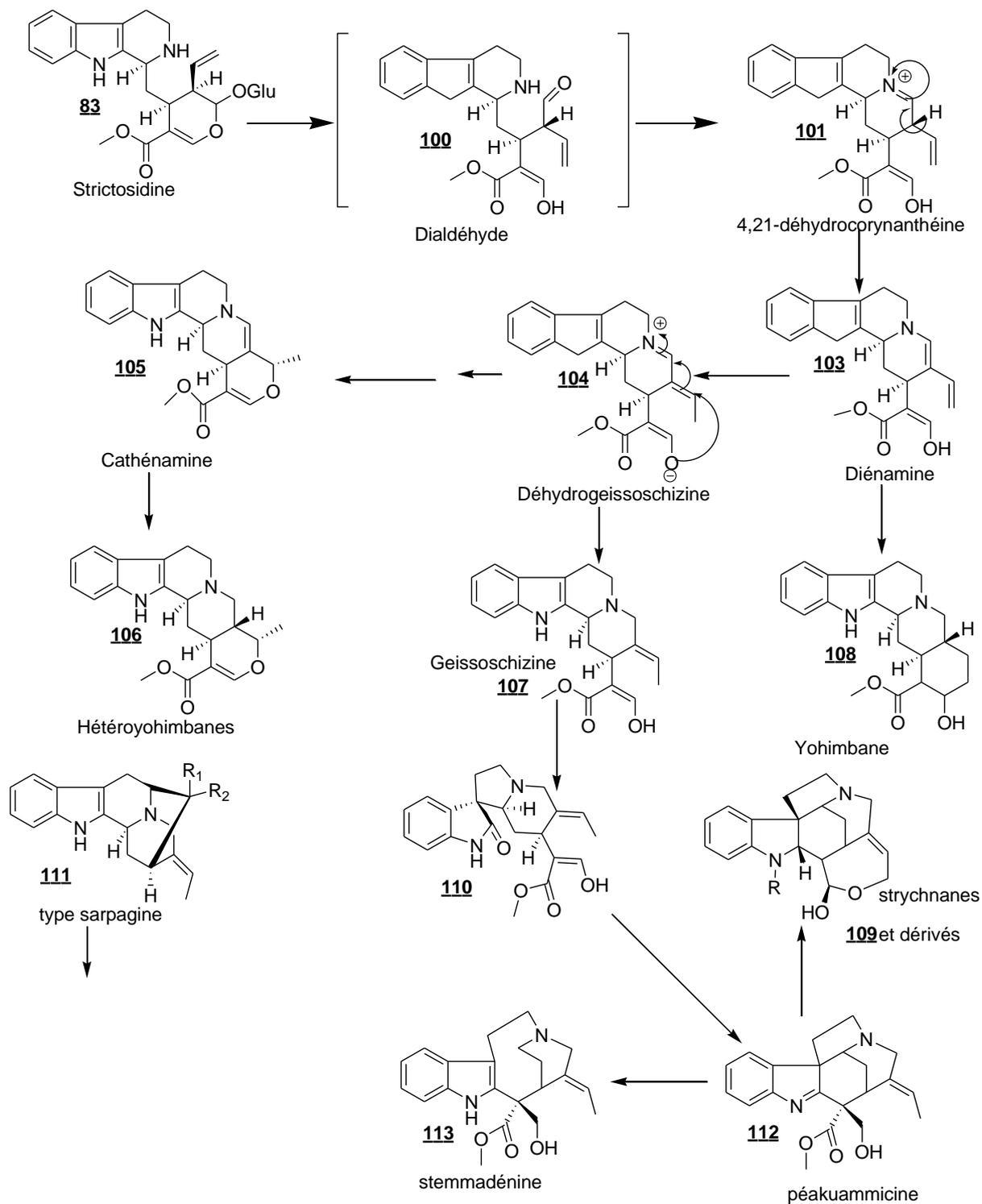
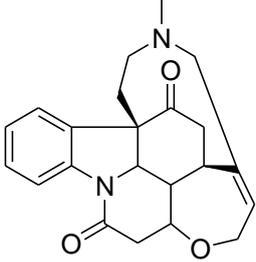
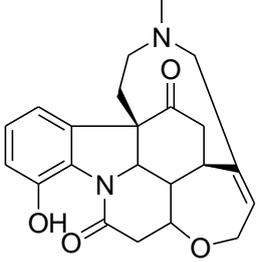
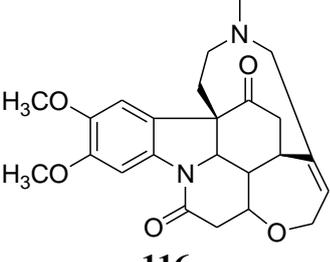
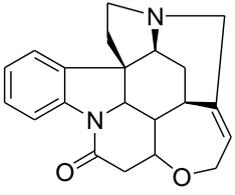


Schéma 6 : Schéma simplifié de l'origine biosynthétique des alcaloïdes indolomonoterpéniques de type I. Source : (Bruneton, 2009).

- Quelques alcaloïdes indolo-monoterpéniques isolés des Gelsemiaceae

Des travaux phytochimiques réalisés sur le genre *Strychnos*, plus précisément l'espèce *Strychnos nux-vomica* ont permis l'isolement de plusieurs alcaloïdes indolo-monoterpéniques et bis-indolo-monoterpéniques. Les tableaux 6 et 7 suivants, présentent respectivement quelques alcaloïdes indolo-monoterpéniques et indolo-bisterpéniques isolés des Gelsemiaceae

Tableau 6 : Quelques alcaloïdes indolo-monoterpéniques isolés des Gelsemiaceae (*Strychnos nux-vomica*)

Noms	Sources	Structures	References
Icajine		 <p style="text-align: center;">114</p>	
Vomicine	<i>Strychnos nux-vomica</i> .	 <p style="text-align: center;">115</p>	Jonville et al., 2008
Novacine		 <p style="text-align: center;">116</p>	
Strychnine		 <p style="text-align: center;">117</p>	

Suite Tableau 6 : Quelques alcaloïdes indolo-monoterpéniques isolés des Gelsemiaceae (*Strychnos nux-vomica*)

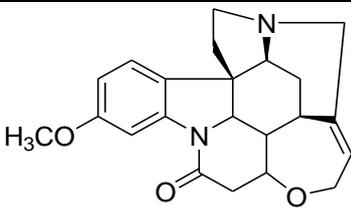
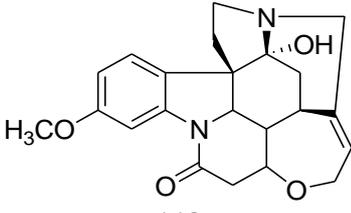
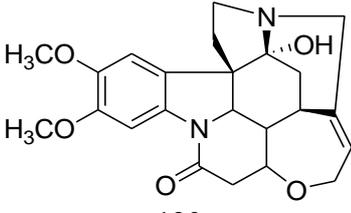
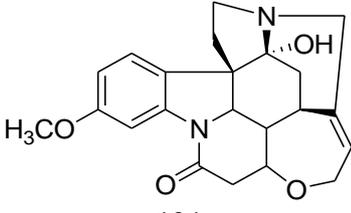
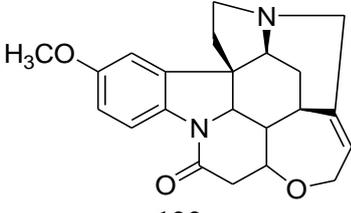
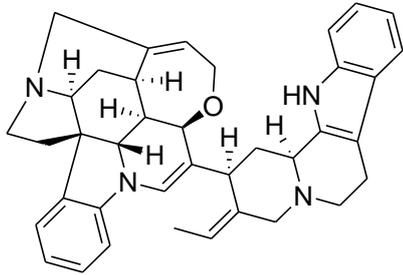
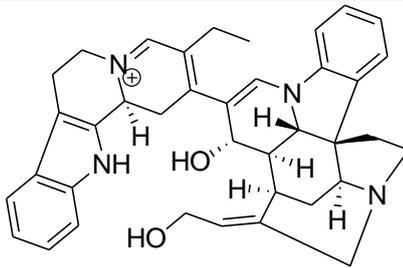
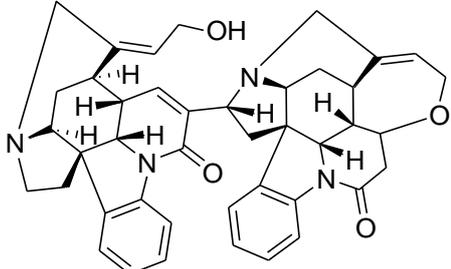
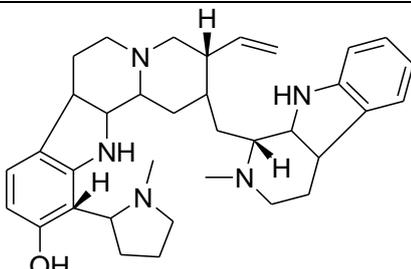
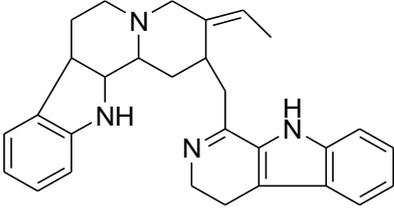
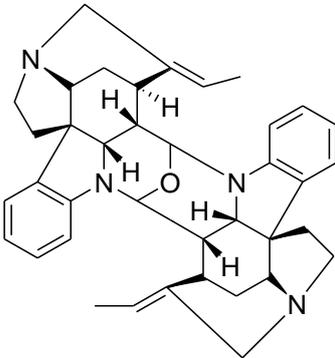
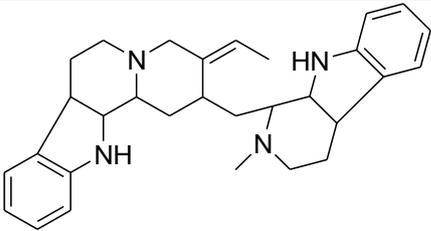
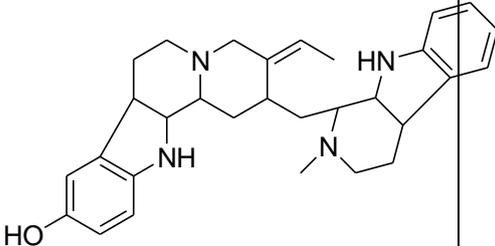
Noms	Sources	Structures	References
α -Colubrine		 <p style="text-align: center;"><u>118</u></p>	
Brucine		 <p style="text-align: center;"><u>119</u></p>	
Pseudobrucine	<i>Strychnos nux-vomica</i> .	 <p style="text-align: center;"><u>120</u></p>	Jonville et al., 2008
Pseudo- α -colubrine		 <p style="text-align: center;"><u>121</u></p>	
β -Colubrine		 <p style="text-align: center;"><u>122</u></p>	

Tableau 7 : Quelques alcaloïdes bis-indolomonoterpeniques ont été isolés de *Strychnos nux-vomica*

Noms	Sources	Structures	References
Longicaudatine		 <p style="text-align: center;"><u>123</u></p>	
Strychnochrysine	<i>Strychnos nux-vomica</i> .	 <p style="text-align: center;"><u>124</u></p>	Jonville et al., 2008
Strychnogucine B		 <p style="text-align: center;"><u>125</u></p>	
Isostrychnopentamine		 <p style="text-align: center;"><u>126</u></p>	

Suite tableau 7 : Quelques alcaloïdes bis-indolomonoterpeniques ont été isolés de *Strychnos nux-vomica*

Noms	Sources	Structures	References
Dihydrousambarensine		 <p style="text-align: center;"><u>127</u></p>	
Matopensine	<i>Strychnos nux-vomica</i> .	 <p style="text-align: center;"><u>128</u></p>	Jonville et al., 2008
Usambarine	<i>Strychnos lisambarensis</i>	 <p style="text-align: center;"><u>129</u></p>	Angenot et Denoel 1975
Usambaridine		 <p style="text-align: center;"><u>130</u></p>	

2. Alcaloïdes quinoléiques.

- Principe et biosynthèse des alcaloïdes quinoléiques

La réaction élémentaire de la biosynthèse des alcaloïdes quinoléiques est la désamination et la décarboxylation, comme le présente le schéma suivant (Aniszewski, 2007).

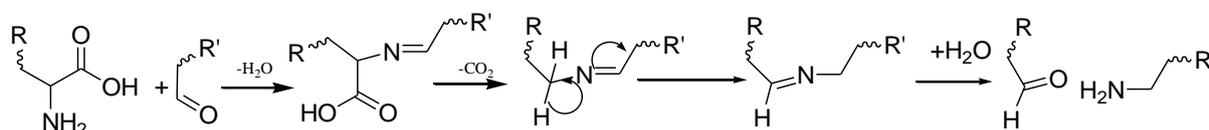


Schéma 7 : Mécanisme général de la biosynthèse des alcaloïdes à partir d'un acide α -aminé

La plupart des alcaloïdes isolés du genre *Mostuea* appartiennent à la classe des alcaloïdes quinoléiques et leur schéma biosynthétique suit le mécanisme général précédent, avec cette fois comme précurseur le tryptophane. Le schéma 8 ci-dessous présente en détail ce mécanisme.

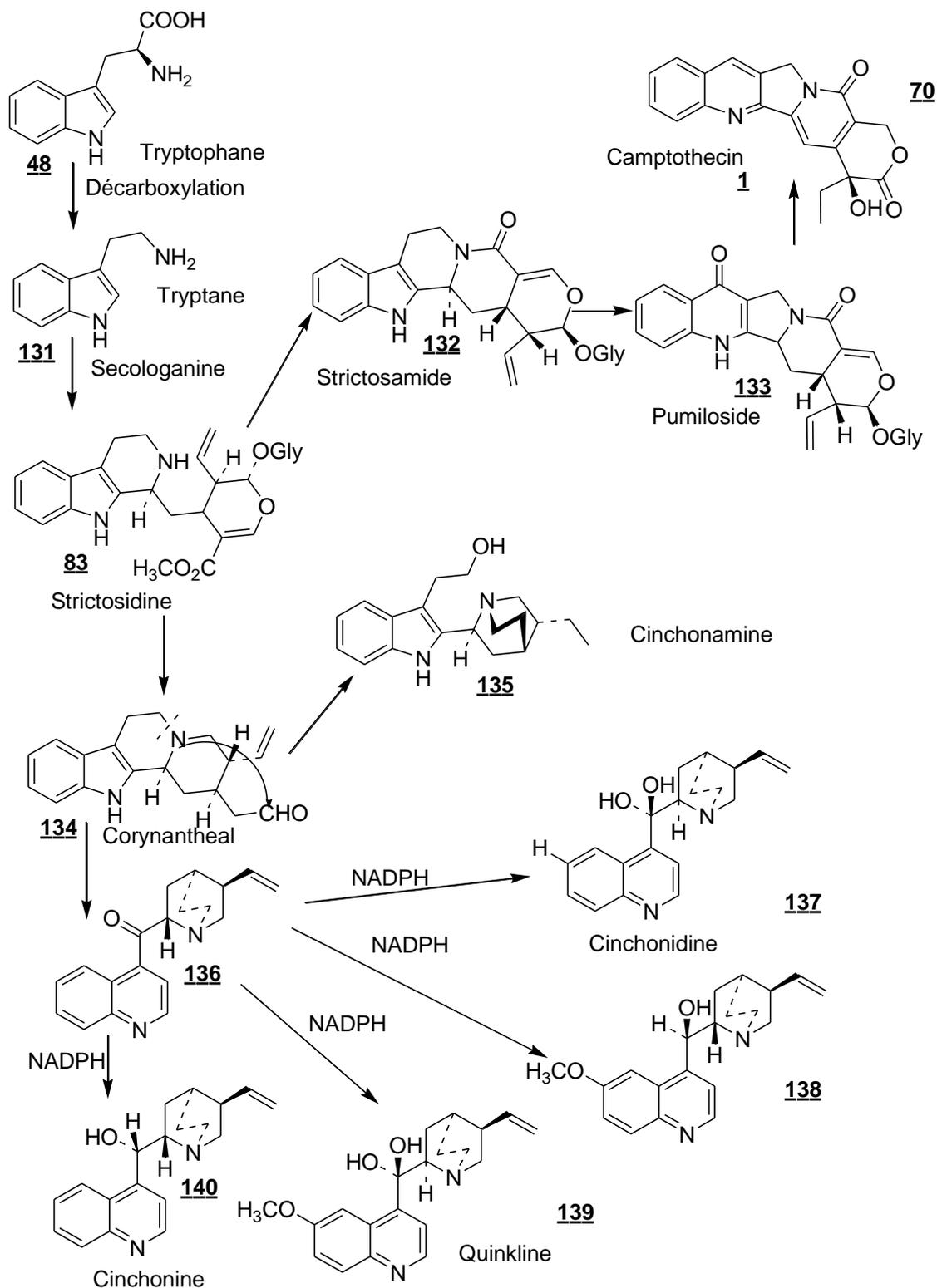
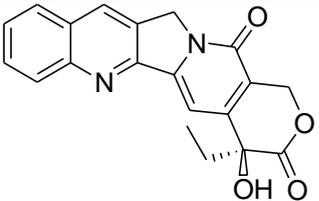
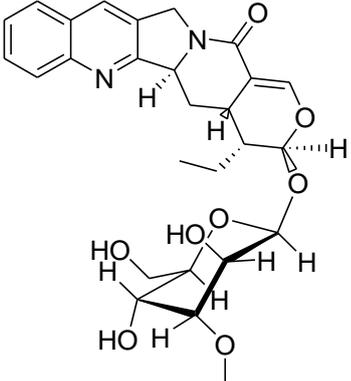
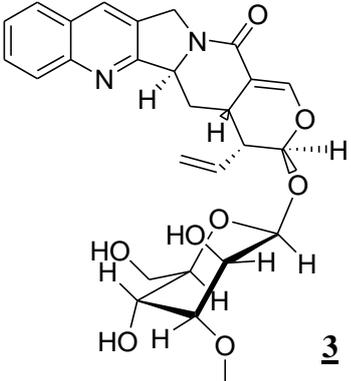


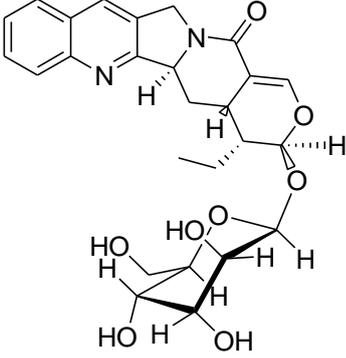
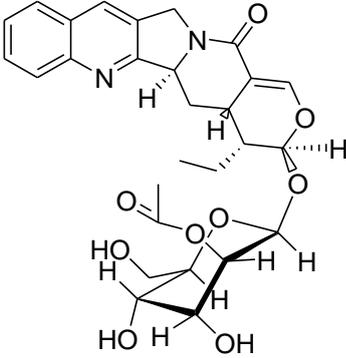
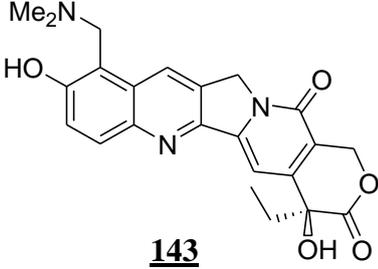
Schéma 8: Biosynthèse des alcaloïdes quinoléiques (Aniszewski, 2007).

Malgré le fait que la famille des Loganiaceae ait été l'objet de beaucoup d'investigations sur le plan phytochimique à travers le genre *strychnos*, très peu d'études ont été mentionnées

sur le genre *Mostuea*. C'est à Jin-rui et collaborateurs que l'on doit en 1999 les premiers travaux sur le genre *Mostuea* plus précisément sur l'espèce *Mostuea brunonis*. Ces travaux ont conduit à l'isolement et la caractérisation de 6 alcaloïdes appartenant à la classe des alcaloïdes quinoléiques représentés dans le tableau ci-dessous.

Tableau 8: Quelques alcaloïdes isolés du genre *Mostuea* (*Mostuea brunonis*)

Noms	Sources	Structures	Référence
Camptothecin		 <p style="text-align: center;">1</p>	
20-O-β-glucopyranosylcamptothecin	<i>Mostuea brunonis</i>	 <p style="text-align: center;">2</p>	Jin-rui et al., 1999
Deoxypumiloside		 <p style="text-align: center;">3</p>	

strictosamide		 <p style="text-align: center;"><u>141</u></p>	
2'-O-acetylstrictosamide	<i>Mostuea brunoniss</i>	 <p style="text-align: center;"><u>142</u></p>	Jin-rui et al., 1999
Topotecan		 <p style="text-align: center;"><u>143</u></p>	

I.B.2.1.4. Importance des alcaloïdes

➤ Dans la chimiotaxonomie

Les alcaloïdes permettent souvent pour des genres ou des espèces apparentées, d'en préciser la phylogénie : ceux dont les molécules sont les plus simples se rencontrent chez les moins évolués. Plus rarement, c'est une même série d'alcaloïdes qui caractérisent des taxons plus ou moins importants. C'est ainsi que les Magnoliales, Ranunculales et Papavérales ont des alcaloïdes dérivés de la benzylisoquinoléine (réticuline des Annonaceae, tubocurarine des

Ménispermaceae). De même, la présence des alcaloïdes indoliques rencontrés chez les Loganiaceae (strychnines), les Apocynaceae-Asclepiadaceae (vincamine) et les Rubiaceae (quinine) confirme la parenté de ces Astéridae (**Guignard, 1996**). Ce sont donc des traceurs chimiotaxonomiques.

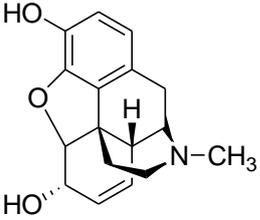
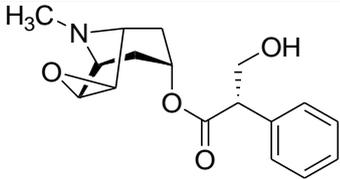
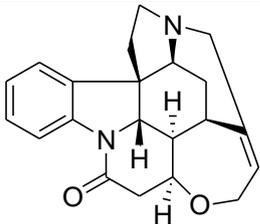
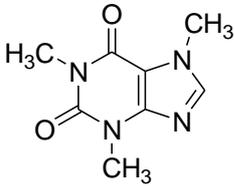
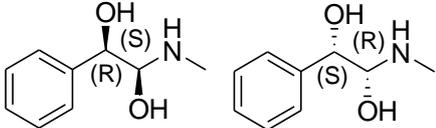
I.B.2.1.4. Activités biologiques des alcaloïdes

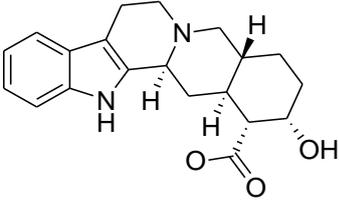
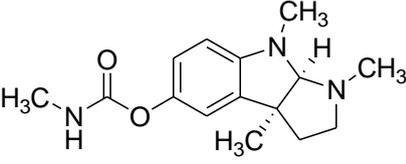
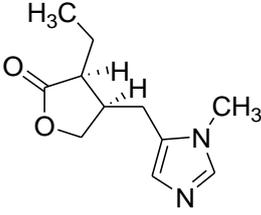
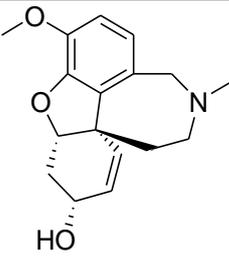
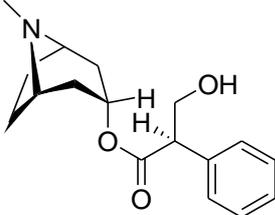
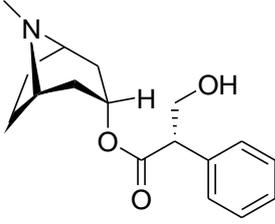
En pharmacologie, les alcaloïdes ont des propriétés et potentialités pharmacologiques diverses et variées. C'est le cas notamment de l'ergot de seigle produit par un champignon du nom de *Claviceps purpurea* et connu depuis plus de 3000 ans. Il était utilisé en obstétrique par Chou Kanings, un médecin chinois de cette époque. Les alcaloïdes de l'ergot de seigle ont une activité sur les systèmes musculaires, vasculaires et nerveux. Ils ont aussi une action sur les processus biologiques contrôlés par le système de l'hypothalamus. La coniine connue en 399 avant Jésus Christ est une toxine puissante utilisée par les plantes insectivores comme agent paralysant. La morphine et ses sels sont classés comme analgésiques nicotiniques celui-ci est contenu dans l'opium. La nicotine est un alcaloïde toxique dont la dose de 40 mg est mortelle pour l'homme suite à une paralysie du système respiratoire. La nicotine a des effets importants sur le système cardiovasculaire ; vasoconstriction périphérique ; tachycardie atriale et augmentation des pressions systolique et diastolique. Environ 50% des fumeurs meurent de maladies cardiaques et 20% de cancer de la langue (**Milcent, 2003**).

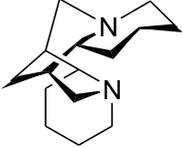
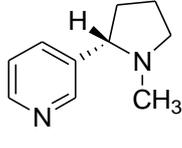
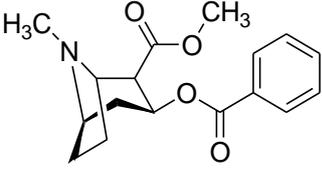
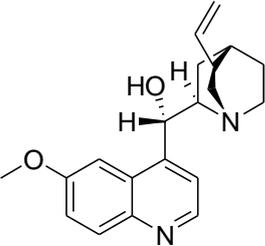
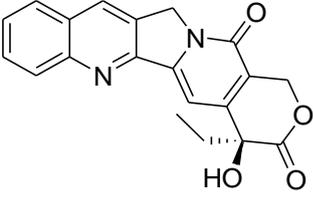
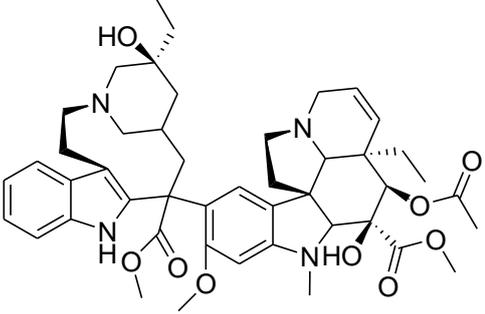
La famille des alcaloïdes de l'*Erythrophleum* sont connus pour leurs propriétés anesthésiques et agissent aussi sur le cœur. Le khat est un arbuste connu depuis environ 1300 ans, qui pousse dans les vallées de la Somalie et du Yémen, mais aussi en Éthiopie et au Kenya. Ses feuilles, lorsque mâchées, mènent à un état d'euphorie. Le composé actif est la (-)-cathinone qui stimule le système nerveux central (comme l'amphétamine). L'isomère **13** de la colchicine, est un anti-inflammatoire et analgésique thérapeutique spécifique de la crise aiguë de goutte, elle est utilisée dans le traitement de l'hypotension au cours de l'anesthésie générale et de l'anesthésie locorégionale, rachidienne ou péridurale. La réserpine est un antihypertenseur, elle provoque une importante déplétion en noradrénaline des fibres sympathiques post-ganglionnaires par inhibition de sa recapture. Cette même action au niveau du système nerveux central lui confère des propriétés neuroleptiques sédatives. L'ajmalicine **37** et la yohimbine sont utilisés en pharmacie comme vasodilatateur périphérique électif des artéioles (augmente le flux musculaire et cérébral (antiischémique)). Les quinquinas de *Cinchona* appelés « Poudre des jésuite » sont Capables de guérir les fièvres. Ce remède qui restera secret longtemps. Les quinquinas ont des propriétés antipaludéennes et ont longtemps

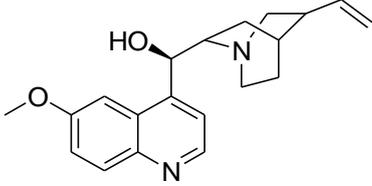
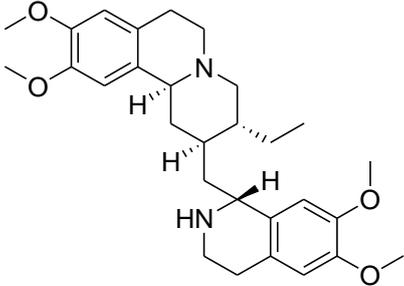
été utilisés en pharmacie pour la lutte contre le paludisme (Vercautoren, 2011). Le tableau ci après complète, structure à l'appui, l'importance pharmacologique de certains alcaloïdes :

Tableau 9 : Quelques alcaloïdes et leurs Activités biologiques

Alcaloïde	Activités	Structures
Morphine	Anti-dépresseurs	 <p style="text-align: center;">144</p>
Scopolamine		 <p style="text-align: center;">145</p>
Strychnine	Stimulants	 <p style="text-align: center;">146</p>
Caféine		 <p style="text-align: center;">147</p>
Ephédrine	sympathomimétiques	

		<u>148</u>	<u>149</u>
Yohimbine	Sympatholytiques		<u>150</u>
Esérine ou physostigmine	parasymphomimétiques inhibiteurs des cholinestéras		<u>151</u>
Pilocarpine			<u>152</u>
Galanthamine			<u>153</u>
Atropine	Anticholinergiques		<u>154</u>
Hyoscyamine			<u>155</u>

Spartéine	Ganglioplégiques	 156
Nicotine		 157
Cocaïne	Curarisants, anesthésiques locaux	 158
Quinidine	Antifibrillants	 159
Camptothécine	Antitumoraux	 1
Vinblastine		 160

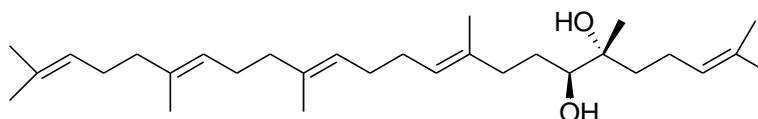
Quinine	Antipaludiques	 <p style="text-align: center;"><u>161</u></p>
Emétine	Amoebicides	 <p style="text-align: center;"><u>162</u></p>

I.B.3.2. Les triterpènes

I.B.3.2.1. Généralités sur les triterpènes

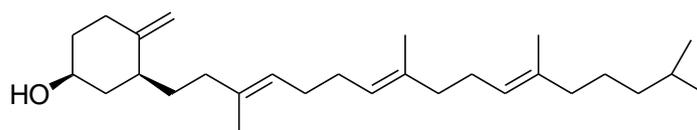
La famille des triterpenoïdes correspond à un très grand groupe de métabolites secondaires qu'on retrouve tant dans le règne végétal qu'animal. C'est ainsi qu'après la découverte de la bétuline isolée en 1788 de *Betula alba*, plus de 4 000 triterpènes à l'état libre, estérifiés ou hétérosidiques ont été isolés et se présentent sous la forme d'environ 40 squelettes différents (Laszczyk et al., 2006). Ils correspondent à des isoprénoïdes formés d'enchaînement de six unités isopréniques (C₅H₇)₆, comportant donc 30 atomes de carbones dans leur structure de base. Ce sont des composés qui dérivent rarement du squalène et plus souvent du 2,3-époxy-squalène, et de ce fait sont presque toujours oxygénés en position C-3 du fait de l'ouverture de cet époxyde. L'obtention des triterpènes à partir du squalène se fait par une séquence de réaction impliquant oxydation, cyclisation, réarrangement sigmatropique [1,2] par migration d'hydrure et de méthyle. Selon la cyclisation ou non du squalène, plusieurs classes de triterpènes sont obtenus, en l'occurrence:

- les triterpènes acycliques, cas de la sapenelin E (Ngnokam et al., 2005),



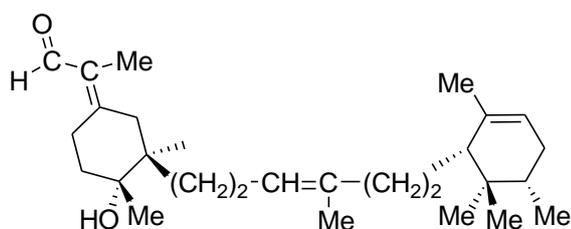
163

- les triterpènes monocycliques, comme l'achilleol A (**Barrero et al., 1989**)



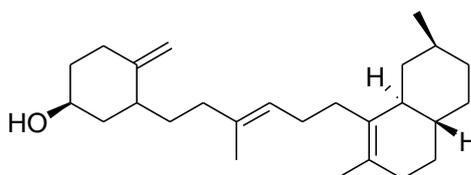
164

- bicycliques, exemple de l'irigermanal (**Märner et al., 1982**)



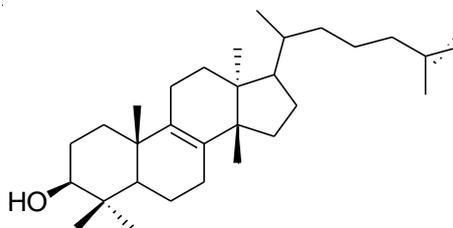
165

- tricycliques, comme l'Achilleol B (**Barrero et al., 1989**)



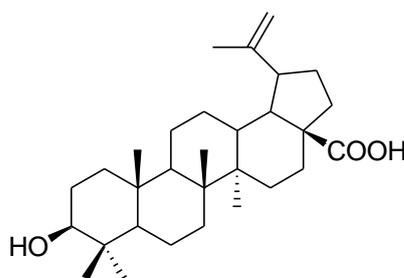
166

- tétracycliques, on peut citer le cas de l'Apoturicallol (**Connolly et al., 1990**)



167

- pentacycliques comme l'acide betulinique (**Mahato et Kundu, 1994**)



168

I.B.3.2.2. Biosynthèse des triterpènes

Dans la biosynthèse des terpénoïdes, les principaux précurseurs sont: Le pyrophosphate d'isopentényle (IPP) et le pyrophosphate de diméthylallyle (DMAPP). C'est ainsi qu'on dénombre deux voies de biosynthèse de l'unité isoprène : la voie de l'acide mévalonique (MVA) et la voie du 2-désoxyxylulose. Ces deux voies ont comme point de départ, le glucose et passent par l'acide pyruvique qui correspond à l'intermédiaire. Ces deux voies sont croisées dans le règne végétal et dans certaines bactéries. Considérons par exemple le cas du phytol et le β -carotène dans le *Catharanthus roseus* qui sont biosynthétisés par la voie du desoxyxylulose et l'ergostérol par la voie de l'acide mévalonique (MVA). Par contre chez les animaux et les levures il n'existe qu'une seule voie, qui est celle par l'acide mévalonique (MVA) (Ngnokam et al., 2005).

I.B.3.2.2.1. Synthèse de l'unité isoprénique

- A partir de l'acide mévalonique

Pendant cette biosynthèse, deux molécules d'acétyl CoA **169** subissent une condensation du type Claisen pour aboutir à l'acétoacétyl CoA **170** par réaction d'addition aldolique, une molécule d'acétyl CoA réagit avec l'acétoacétyl CoA pour donner 3-hydroxy-3-méthylglutaryl CoA **171**, qui subit une réduction pour donner l'acide mévalonique. Suite à une phosphorylation de l'acide mévalonique on obtient le 3-phospho-5-pyrophosphomévalonate **172** et par élimination du phosphate et du dioxyde de carbone il y a formation de l'isopenténylpyrophosphate (IPP) **173** qui est isomérisé en diméthylallylpyrophosphate (DMAPP) **174** à l'aide d'une enzyme.

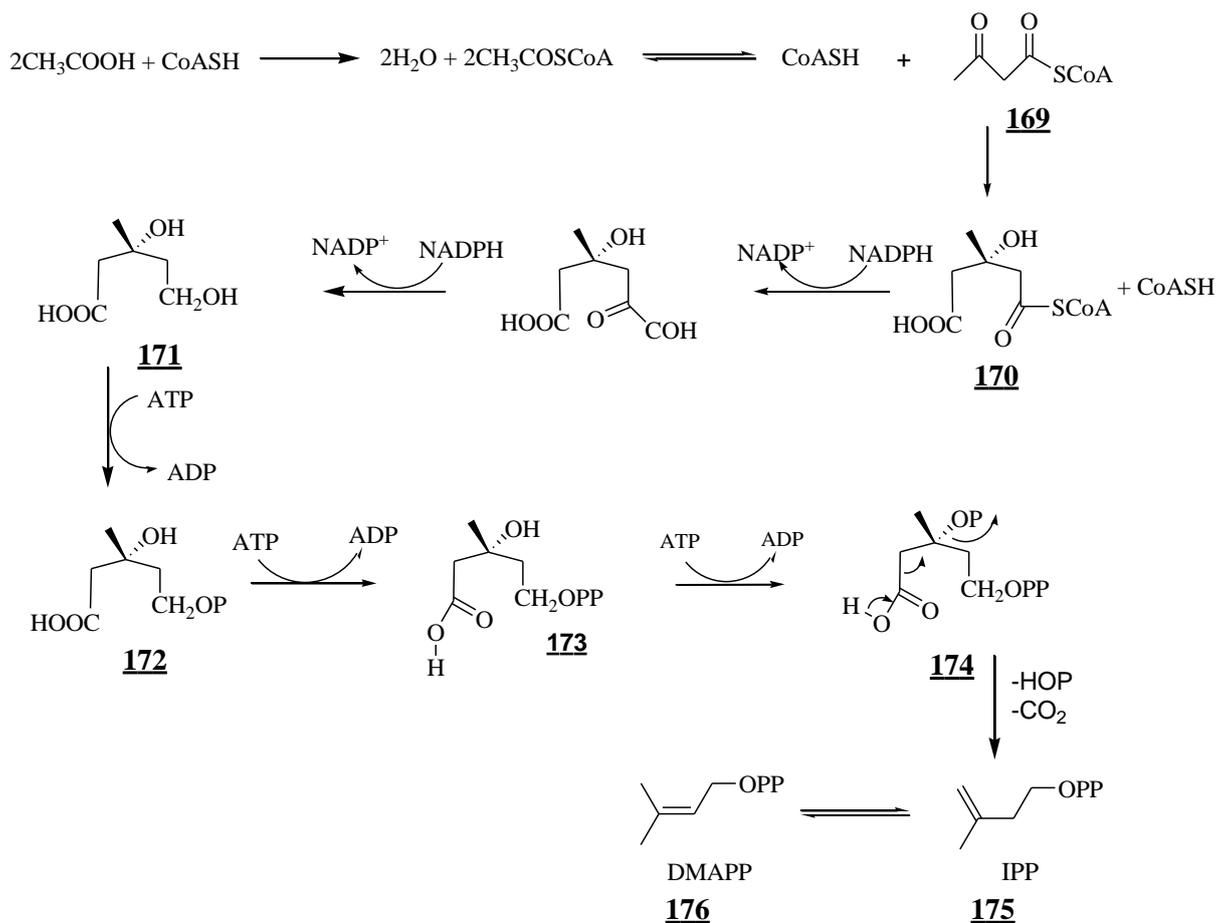


Schéma 9 : Formation de l'IPP et du DMAPP à partir de l'acide mévalonique

Après l'isomérisation de l'IPP **175** en DMAPP **176**, par condensation tête à queue de l'IPP avec cette dernière molécule, il y a formation du géranylpyrophosphate (GPP) **177**. Par ajout de l'IPP au GPP il y a formation du farnésylpyrophosphate (FPP) **178**. La combinaison de l'IPP au FPP donne le pyrophosphate de géranylgéranyle (GGPP) **179**, et l'IPP s'ajoute au GGPP pour donner le pyrophosphate de géranylfarnésyle (GFPP) **180**. Bien que toutes ces unités isopréniques soient reliées tête à queue, la formation du squalène **181** quant à elle passe par une condensation queue à queue de deux molécules de FPP.

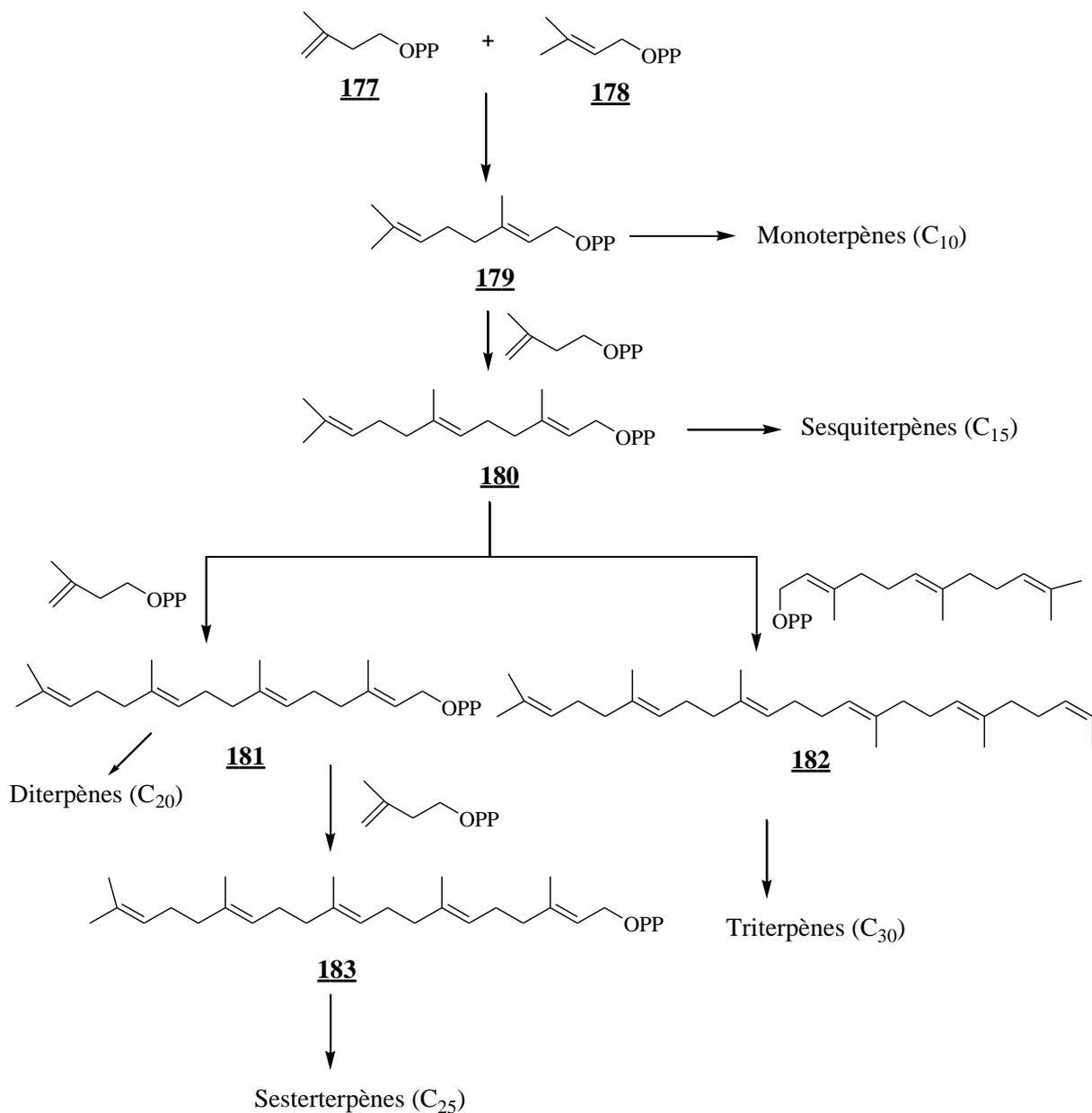
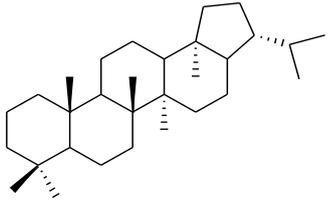
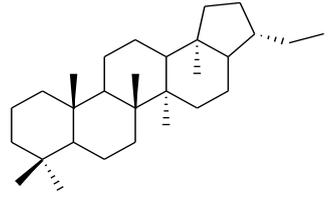
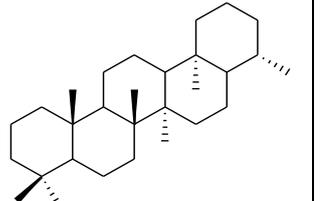
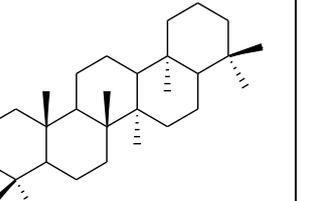
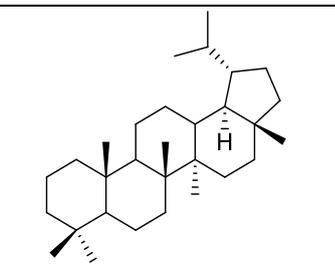
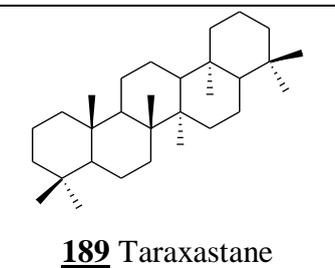
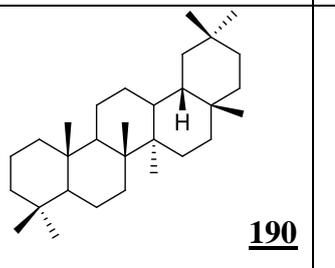
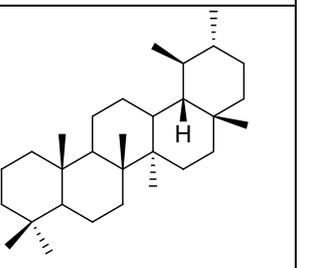
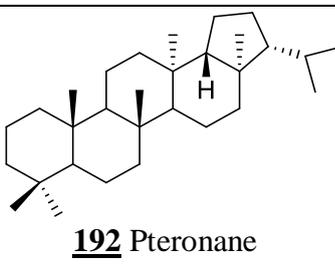
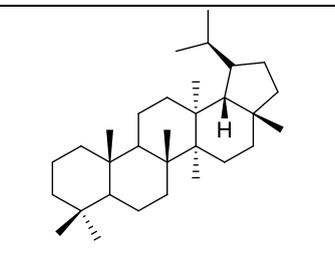
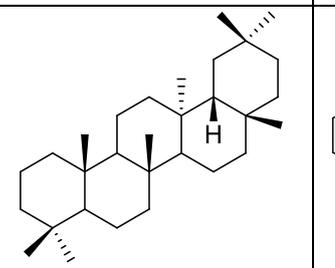
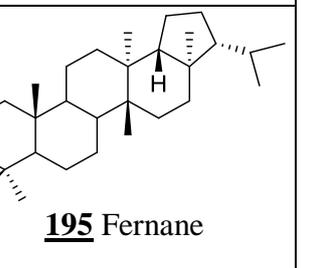
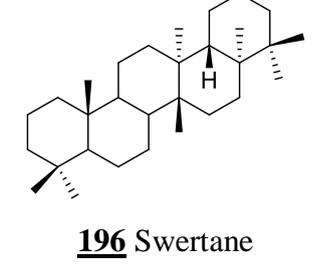
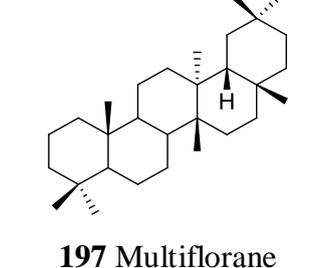
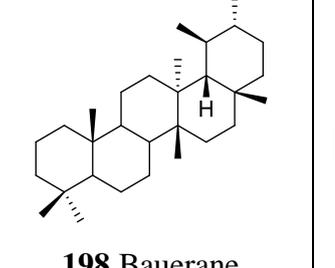
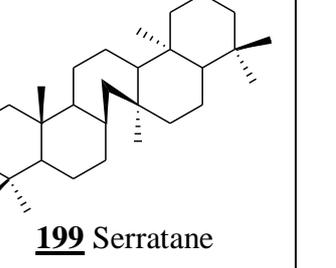
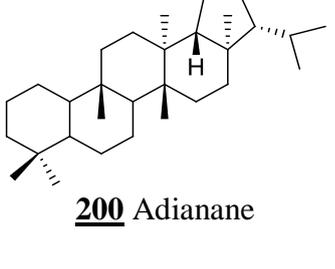
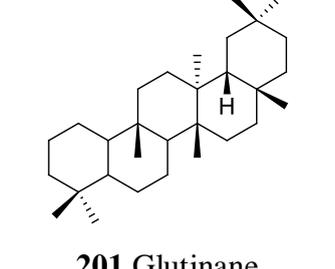
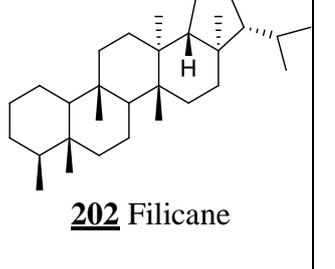
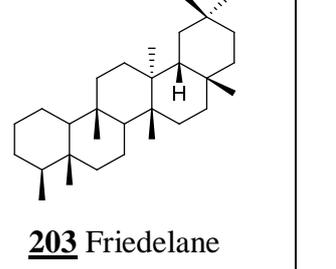


Schéma 10 : Chemin aboutissant à la Formation du squalène

I.B.3.2.2.3. Différentes classes de triterpènes pentacycliques

Les triterpènes pentacycliques sont une classe de métabolite secondaire à structure complexe constituées de cinq cycles formés chacun de six carbones ou encore de quatre cycles à six carbones et d'un cycle à cinq carbones. L'ensemble des composés de cette classe de métabolites secondaires sont constitués d'une variété structurale qui provient de l'ajacement des cycles, aux différentes positions occupées par les groupements méthyles sur le squelette de base, également de la présence d'insaturation et de groupements fonctionnels (hydroxyle, acide carboxylique et ester). On trouve dans le tableau suivant les différents squelettes de triterpènes pentacycliques.

Tableau 10 : Différentes classes de triterpènes pentacycliques (Mahato et Kundu, 1994)

 184 Hopane	 185 Adiantane	 186 Hakonane	 187 Gammacerane
 188 Lupane	 189 Taraxastane	 Oleanane 190	 191 Ursane
 192 Pteronane	 193 Lactucane	 194 Taraxerane	 195 Fernane
 196 Swertane	 197 Multiflorane	 198 Bauerane	 199 Serratane
 200 Adianane	 201 Glutinane	 202 Filicane	 203 Friedelane

I.B.3.2.2.3. Méthodes de détermination de structure des triterpènes pentacycliques

La détermination des structures des triterpènes pentacycliques se fait au moyen de deux méthodes de choix que sont la spectrométrie de masse et la résonance magnétique

nucléaire ^{13}C et ^1H . En effet, les informations que révèlent les fragmentations dans une molécule et les types de carbone présents nous permettent d'accéder à la classe du triterpène concerné ainsi qu'aux groupements fonctionnels présents dans la molécule.

I.B.3.2.3.1. La spectrométrie de masse

La formule brute, ainsi que les fragments importants d'une molécule sont déterminés grâce à des informations fournis par la spectrométrie de masse à haute résolution. Le mode de fragmentation dans une molécule, est contrôlé par les doubles liaisons présentes dans la molécule, les méthyles vicinaux et les groupements fonctionnels. Inversement, la position des groupements fonctionnels peut être déterminée en considérant ces différents modes de fragmentation.

Le mode de fragmentation caractéristique des oléan-12-ènes et urs-12-ènes, correspond à un rétro Diels Alder, qui conduit à deux fragments **A** et **B**. La substitution sur les cycles **A** et **B** n'affecte pas la masse du fragment **A** ce qui n'est pas le cas lorsque les cycles **D** et **E** sont substitués. Pour les triterpènes de cette classe non substitués, comme la β -amyrène, le fragment **A** apparaît à m/z 218. Pour les composés portant des substituants COOH , COOMe , CH_2OAc , sur les cycles D ou E le pic de base apparaîtra à m/z 203 et les autres pics à m/z 248 ($203+\text{COOH}$), 262 ($203+\text{COOMe}$), 276 ($203+\text{CH}_2\text{OAc}$) (**Ogunkoya, 1981**). Cette fragmentation de type rétro Diels Alder peut être employée comme élément d'analyse pour la présence de la double liaison C-12/C-13 dans les séries oléananes et ursanes.

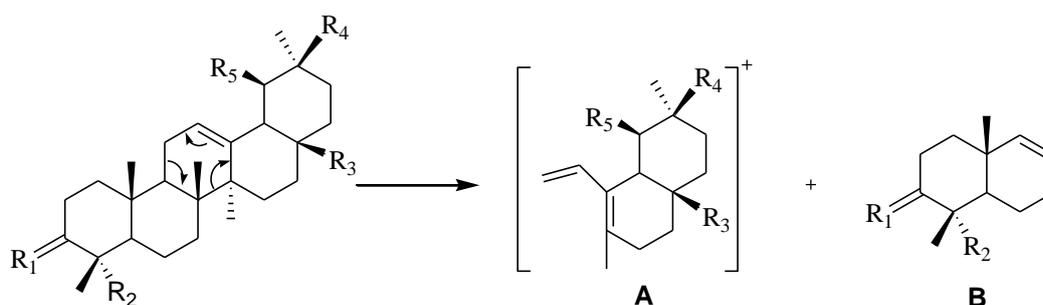
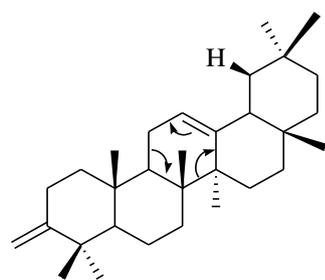
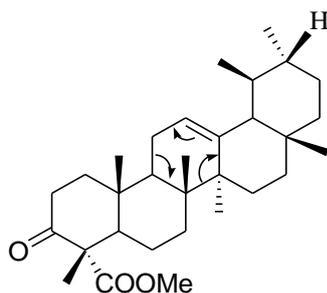
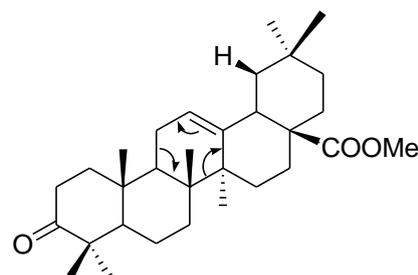
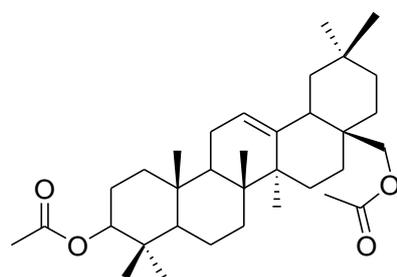


Schéma 11: fragmentation du type Rétro-Diels-Alder des series Oléan-12-ène et Urs-12-ène

C'est ainsi qu'en fonction de la nature des groupements alkyles R_1 , R_2 , R_3 et R_4 , nous pouvons avoir les ions fragments suivants avec variation de la valeur de m/z .

**204** (m/z 218)**205** (m/z 248)**206** (m/z 262)**207** (m/z 276)

En considérant le cas des oléananes et ursanes saturés, les fragments observables sont généralement ceux dus au pic de l'ion moléculaire, à la perte des substituants comme $-\text{CH}_3$, $-\text{CO}_2\text{Et}$. Dans le cas où le composé possède une fonction cétone comme le 3 β -acétoxy-12-oxoursane **207**, le pic le plus abondant apparaît à m/z 234, ce qui s'explique par la fragmentation de type rétro Diels Alder de l'énol correspondant

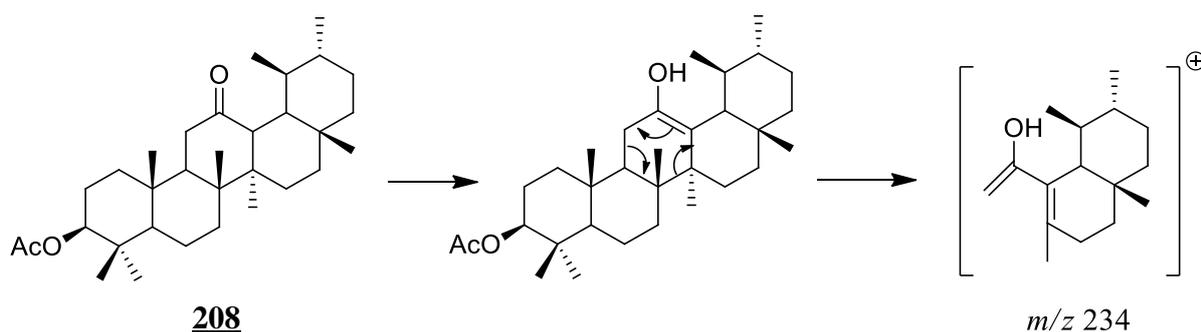


Schéma 12 : fragmentation du type Rétro-Diels-Alder de la 3 β -acétoxy-12-oxoursane **208**

Pour les Δ^{14} -taraxerènes, la fragmentation observée est de type rétro Diels Alder dans le cycle D, le fragment majoritaire contient cette fois les cycles A, B et C. La masse de ce fragment est de m/z 300, 302 et 344 correspondant respectivement au taraxerone **209**, taraxarol **210** et myricadiol diacétate **211** ceci étant lié à la substitution en position 3.

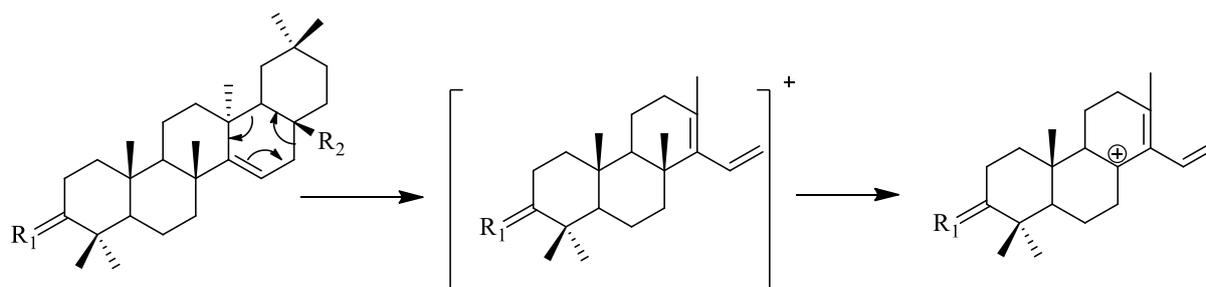
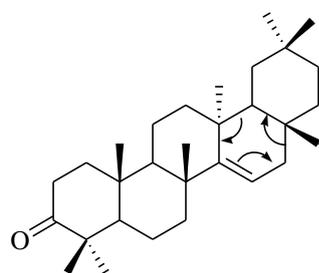
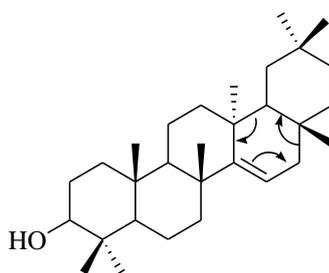


Schéma 13 : Fragmentation RAD des Δ^{14} -taraxerènes

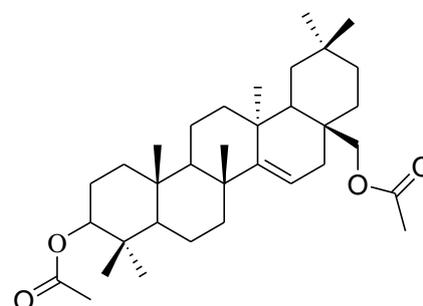
En fonction de la nature des groupements alkyles R_1 et R_2 , nous pouvons avoir les molécules suivantes avec variation de la valeur de m/z .



212 (m/z 300)



213 (m/z 302)



214 (m/z 344)

Sur le spectre de masse des lupanes **215** et hopanes **216**, l'on observe dans plusieurs cas la perte d'un ion fragment à m/z 43 correspondant au groupement isopropyl C_3H_7 , mais ceci devient plus rare pour les composés fortement substitués et ceux portant un groupement isopropenyl (lup-20(29)-ènes et hop-22(29)-ènes). Dans les lupanes saturés et lupènes, les fragments importants observés à m/z 191, 218 sont issus de la rupture de la liaison C-8/C-14.

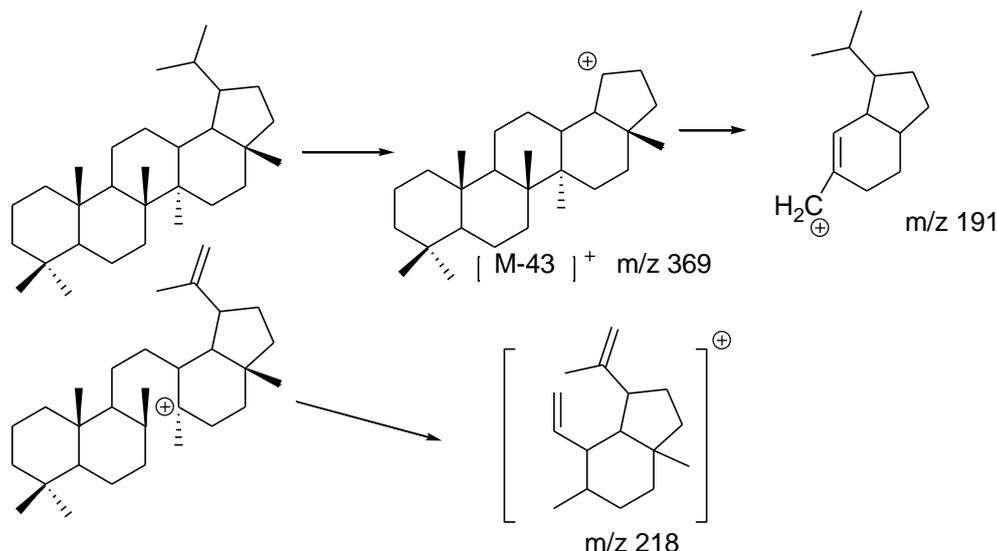


Schéma 14 : Fragmentation des séries lupanes et lupènes

En ce qui concerne les séries friedelane **218** et filicane, la coupure initiatrice se fait par rupture des liaisons grâce à l'apport d'énergie à la molécule, ce qui permet d'accéder au pic de base mais aussi à d'autres fragments caractéristiques. Le pic caractéristique pour les composés saturés n'ayant pas de substituant sur les cycles D et E apparaît à m/z 205, et à m/z 273 pour les composés substitués sur les cycles A et E.

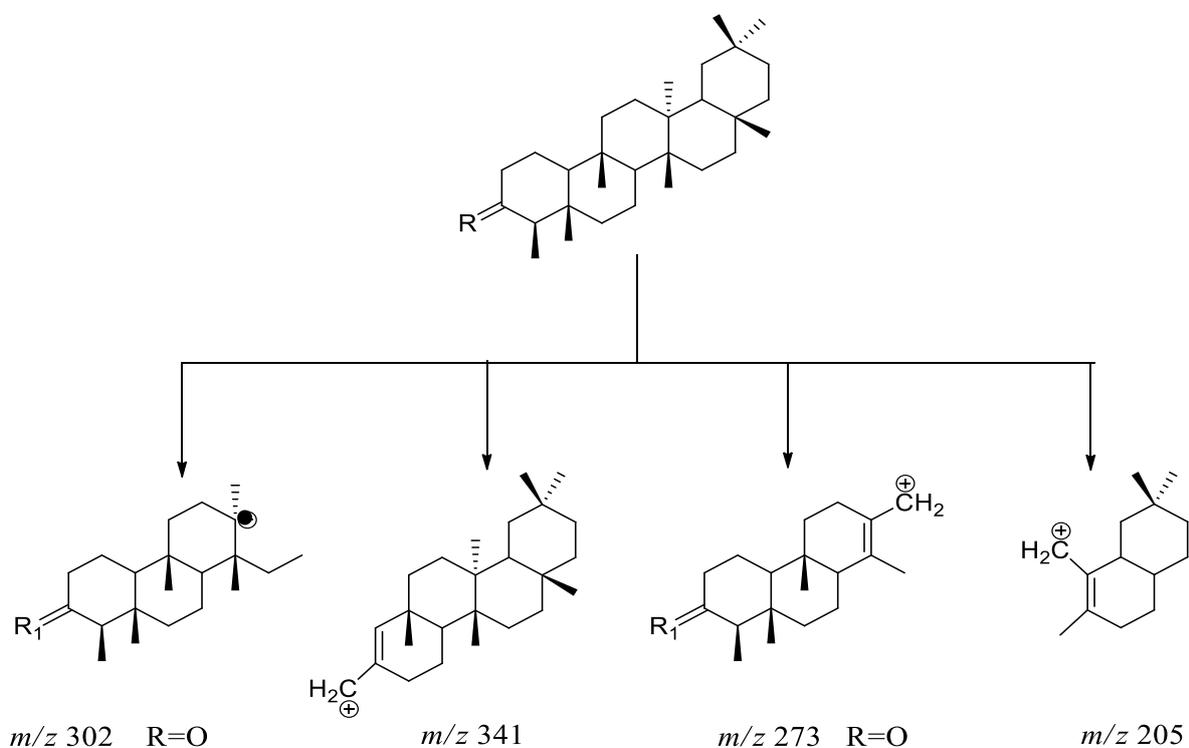


Schéma 15 : Fragmentation de la friedeline

I.B.3.2.2.3.2. La Résonance magnétique nucléaire du carbone 13

Si la spectrométrie de masse nous donne une idée générale sur les ions fragments et la formule brute, les techniques de RMN (^{13}C et ^1H) sont d'une importance capitale pour l'élucidation structurale des triterpènes pentacycliques. En effet, les différentes variantes des spectres DEPT permettent d'avoir accès aux types de carbone selon leur multiplicité dans la molécule, ce qui peut permettre d'accéder à la classe du triterpène concerné.

Les déplacements chimiques des méthyles présents dans la structure des triterpènes pentacycliques sont également utiles pour la détermination de la classe de triterpènes. Ainsi, alors que les huit méthyles des oléananes et des ursanes résonnent d'une part entre 10,0- 33,3 ppm et entre 10,0- 28,7 ppm, respectivement d'autre part ces méthyles résonnent entre 14,6- 33,4 ppm pour les lupanes, entre 6,8- 35,0 ppm pour les friedelanes, et entre 15,6- 33,4 ppm pour les hopanes.

Pour les triterpènes pentacycliques possédant des doubles liaisons sans groupement fonctionnel à proximité, les déplacements chimiques des carbones vinyliques sont caractéristiques. En effet, les déplacements chimiques des carbones vinyliques Δ_{12} et Δ_{13} permettent de distinguer aisément les oléan-12-ènes des urs-12-ènes comme le montre le Tableau 5. Cette différence de déplacements chimiques des carbones 12 et 13 peut s'expliquer par le fait que dans la série des ursanes la jonction entre les cycles D et E est cis (conformation chaise chaise) ceci rapproche le méthyle en position 19β de la double liaison (Doddred et al., 1974).

Tableau 11: Déplacements chimiques des carbones vinyliques pour quelques classes de triterpènes pentacycliques

Classes de composés	Déplacements chimiques des carbones oléfiniques (δ en ppm)
Oléanane Δ^{12}	C_{12} : 121- 129; C_{13} : 136- 145
Oléanane Δ^{18}	C_{18} : 136- 142; C_{19} : 136- 149
Ursane Δ^{12}	C_{12} : 126- 129; C_{13} : 129- 138
Lupane Δ^{20}	C_{20} : 106- 110; C_{29} : 149- 156
Taraxarane Δ^{14}	C_{14} : 155- 162; C_{15} : 115- 118

Les déplacements chimiques des carbones sont non seulement influencés par la présence des groupements fonctionnels OH, COOH, COOR mais aussi par la configuration du carbone 18.

- Effet des substituants hydroxyles

L'introduction d'un groupement hydroxyle entraîne en général une variation de 34 à 50 ppm vers les champs faibles des carbones α et de 2 à 10 ppm pour les carbones β , les carbones γ quant à eux sont déplacés de 0 à 9 ppm dans les champs forts. Le positionnement d'un groupement OH sur les méthyles C-23, C-24, C-29 et C-30 peut être déterminé à partir du déplacement chimique du carbone de l'hydroxyméthylène en considérant que les hydroxyméthylènes équatoriaux (C-23 et C-29) sont plus déblindés que ceux axiaux (C-24 et C-30).

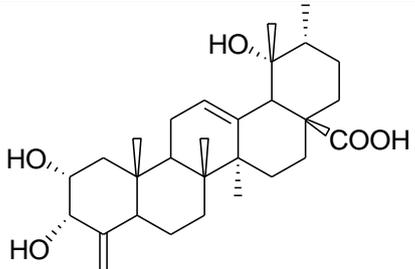
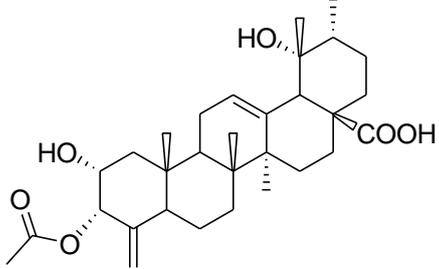
La présence d'un groupement hydroxyle en C-3 influence les déplacements chimiques des carbones C-1, C-3, le méthyle axial en C-4. En effet non seulement le carbinyl d'un 3 α -hydroxy est plus déblindé que celui d'un 3 β -hydroxy, mais également le méthyle axial en C-4 et le méthylène C-1.

La présence d'un hydroxyle en C-23 abaisse le déplacement chimique du carbinyl en C-3 de 6,0 ppm environ si le groupement -OH est en β et reste sans effet s'il est en α (Srivastara et al, 1989).

- Configuration du carbone 18

La configuration du carbone 18 peut être déterminée en inspectant les déplacements chimiques de quelques carbones caractéristiques. Pour les oléananes, la géométrie des cycles D/E n'a aucun effet sur les déplacements chimiques des cycles A et B. Dans le cycle C, les carbones C-12 et C-13 de la série 18 α présentent un déblindage d'environ 5 et 2,5 respectivement, comparé aux mêmes carbones de la série 18 β . Pour le carbone C-12, cette variation de déplacement chimique dans les champs forts est attribuée à la forte interaction stérique avec le carbone C-19. Le déplacement chimique du carbone C-18 est sensible à sa configuration absolue. En effet, sa valeur dans la série 18 α est de 7- 8 ppm plus élevé que dans la série 18 β dû à une interaction γ -gauche entre le proton H-18 et le méthyle C-27. Le méthyle C-28 dans la série 18 α apparaît à plus de 11 ppm dans les champs forts comparativement à celui de la série 18 β dû à deux interactions γ -gauche avec les hydrogènes axiaux en C-19 et C-21 (Mahato et Kundu, 1994).

I.B.3.2.2.3.2. Triterpènes isolés des plantes de la famille du genre *Mostuea*.Tableau 12 : Triterpènes et stéroïdes isolés du genre *Mostuea*

Essences	Structures	Références
<i>Mostuea hirsuta</i>	 <p>Acide 2α, 3β, 19α-trihydroxy-24-norurs-4 (23),12-diène-28-oïque 4</p>	Ekon et al., 2015
	 <p>Acide 3β-acétoxy-2α, 19α-dihydroxy-24-norurs-4 (23), 12-diène-28-oïque 220</p>	

Il ressort de tout ce qui précède que les Gelsemiaceae constituent une famille de plantes qui a fait l'objet de peu d'étude à en juger par le nombre réduit de publications enregistrées dans la littérature. Les métabolites secondaires que renferment cette famille de plantes appartiennent dans une large mesure aux alcaloïdes et aux triterpènes pentacycliques, deux classes de substances naturelles aux propriétés diverses et variées fort intéressantes (activité antimicrobienne, cytotoxique, antioxydant). Tout ceci montre qu'il y a un intérêt certain à poursuivre les investigations sur les plantes des genres répertoriés dans cette famille. D'où nos travaux sur le genre *Mostuea* (*M. batesii* Baker et *M. thomsonii* (Oliv.) Benth).

CHAPITRE II : RESULTATS ET DISCUSSION

Ce chapitre concerne nos travaux personnels qui ont été effectués sur deux espèces du genre *Mostuea* : *Mostuea batesii* Baker et *Mostuea thomsonii* (Oliv.) Benth, plantes de la famille des Gelsemiaceae. Ces travaux revêtent trois aspects : phytochimique, transformations chimiques et biologique.

II-A. Travaux phytochimiques

Ces travaux ont porté sur l'extraction, l'isolement, la purification et la caractérisation des constituants chimiques des extraits au méthanol des racines, des tiges et des feuilles de *M. batesii* Baker et de *M. thomsonii* (Oliv.) Benth. Si les différents organes de *M. batesii* Baker ont été récoltés en Février 2014 au Mont Eloumdem dans la localité de Mbankomo, ceux de *M. thomsonii* (Oliv.) Benth l'ont été en Février 2015 à Kribi, région du Sud (Cameroun).

II-A-1. Extraction et isolement des composés

Le protocole utilisé pour chacune des parties de ces deux plantes, à savoir les racines, les tiges et les feuilles a été presque le même. En effet, après la récolte de ces deux plantes, chacune de leurs différentes parties ont été séparément découpée, séchée, puis broyée pour donner différentes poudres. Chacune de ces poudres a été par la suite extraite par macération dans le méthanol pendant 48 heures. Après filtration, chaque solution résultante a été concentrée à sec, sous pression réduite, pour donner un extrait brut.

En raison de leur grande quantité, seuls les extraits bruts au méthanol des tiges de ces deux plantes ont d'abord été soumis à un fractionnement par chromatographie flash sous gel de silice éluée avec un mélange de solvant hexane/acétate d'éthyle puis acétate d'éthyle méthanol de polarité croissante, pour donner plusieurs fractions. Les fractions ainsi obtenues ont été à leur tour soumises à une série de chromatographies sur colonne de gel de silice éluées avec un mélange de solvants de polarité croissante pour donner des produits purs. Quant aux autres extraits, à savoir ceux issus des racines et des feuilles, de ces deux plantes, ils ont, en raison de leur faible quantité, directement fait l'objet d'une série de chromatographies sur colonne de gel de silice éluée au mélange hexane/acétate d'éthyle, ensuite au mélange acétate d'éthyle/méthanol de polarité croissante, pour donner des produits purs.

➤ De la sorte, nous avons isolé de l'extrait au méthanol des racines (65g), des tiges (120g) et des feuilles (36g) de *M. thomsonii* (Oliv.) Benth, respectivement, quatre composés indexés de GMT8 à GMT11 (**schéma 15**) ; sept composés indexés GMT12 à GMT18 (**schéma 13**) et cinq composés indexés de GMT1 à GMT5 (**schéma 14**).

➤ De la même manière, ont été obtenus de la deuxième plante à savoir de *M. batesii* Baker:

-Des extraits des racines (75g) de cette plante, quatre composés indexés de GMB11 à GMB15 (**schéma 16**) ;

-Des tiges (199g) de cette plante, six composés indexés : GMB1, GMB2, GMB5, GMB4, GMB9 et GMB10 (**schéma 17**) ;

-Enfin des feuilles (36g) de cette, quatre composés indexés de GMF2 à GMF5 (**schéma 18**).

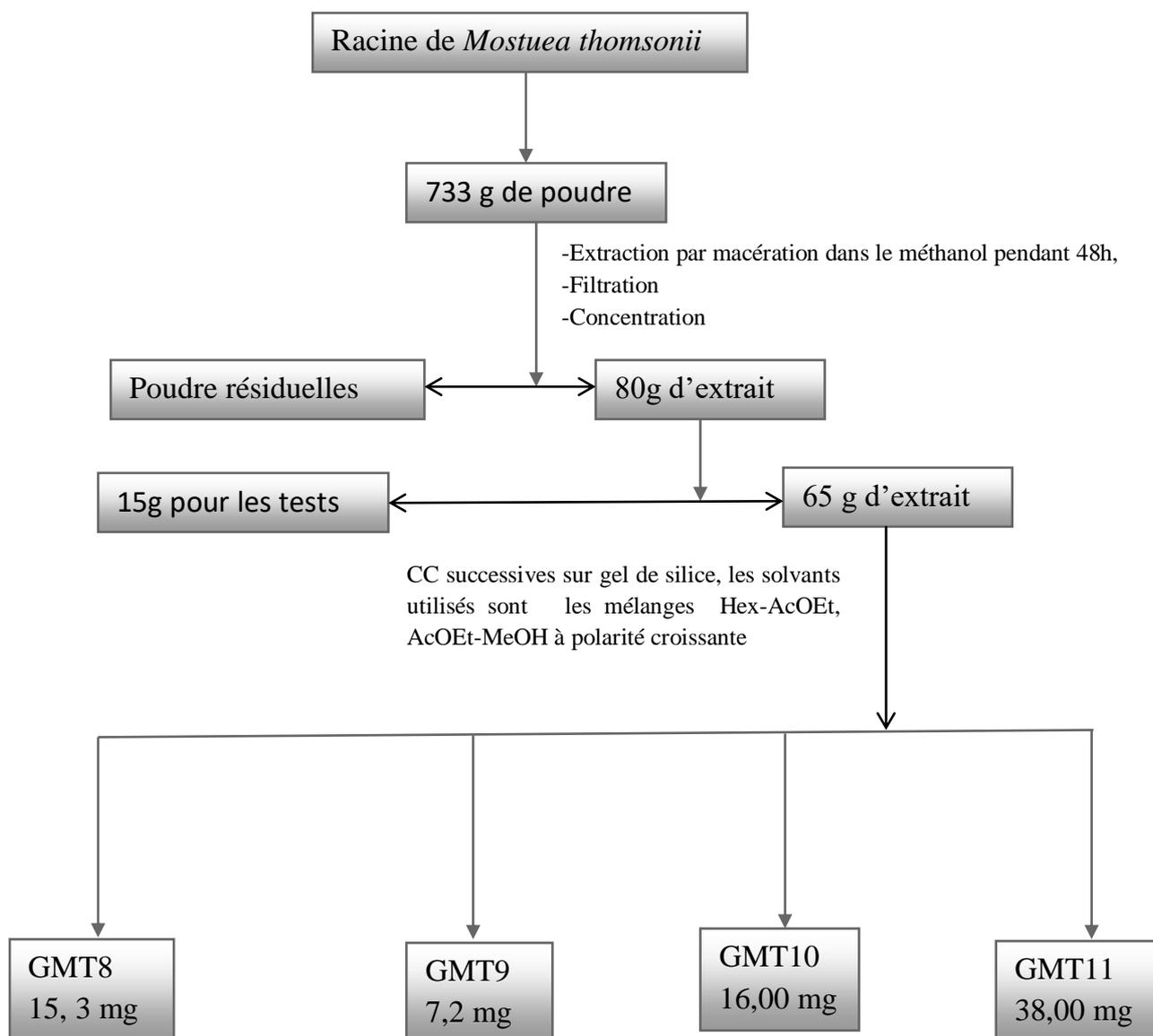


Schéma 16 : Protocole d'extraction et d'isolement des composés des racines *Mostuea thomsonii* (Oliv.) Benth

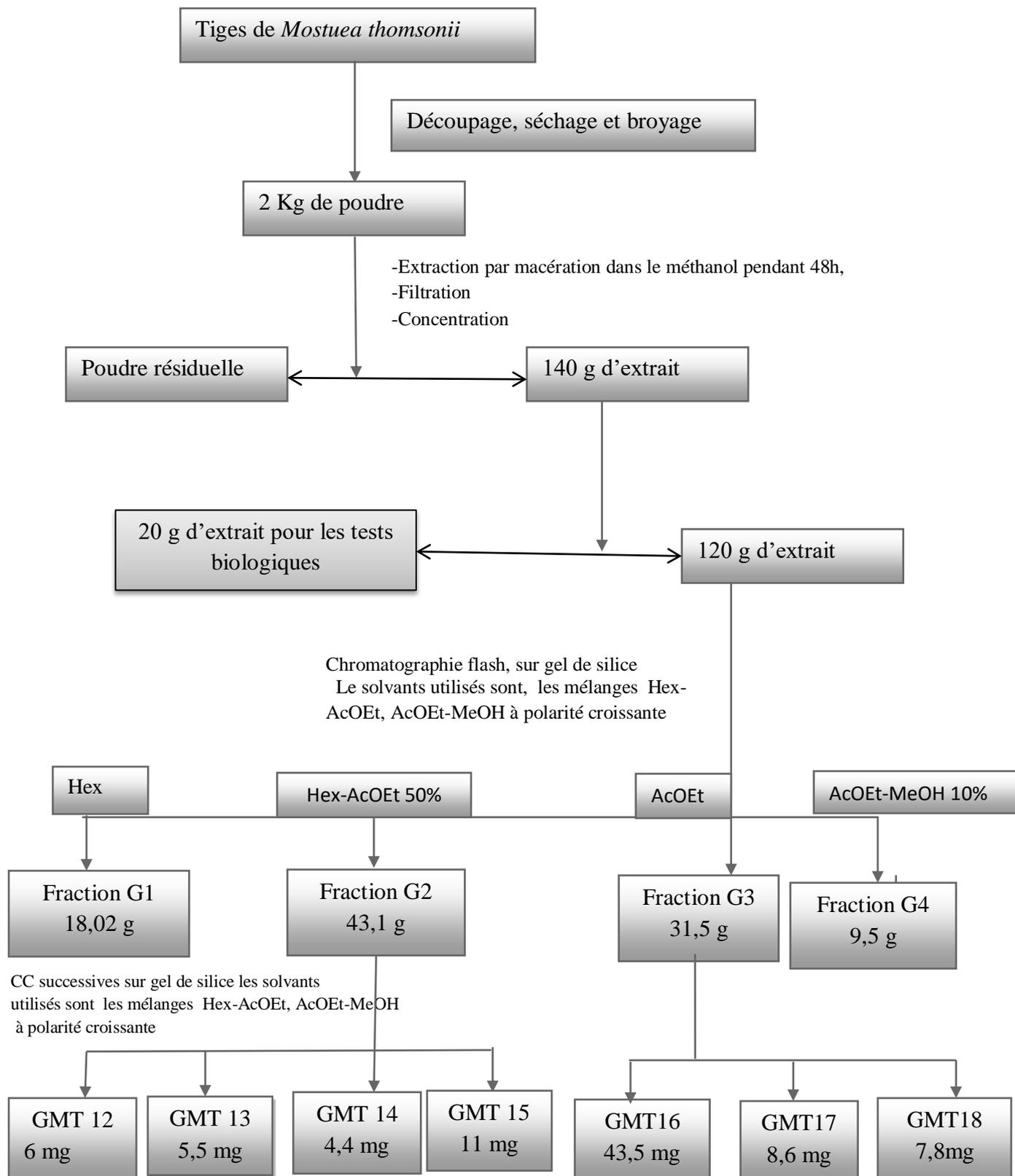


Schéma 17 : Protocole d'extraction, de fractionnement et d'isolement des composés des tiges de *Mostuea thomsonii* (Oliv.) Benth

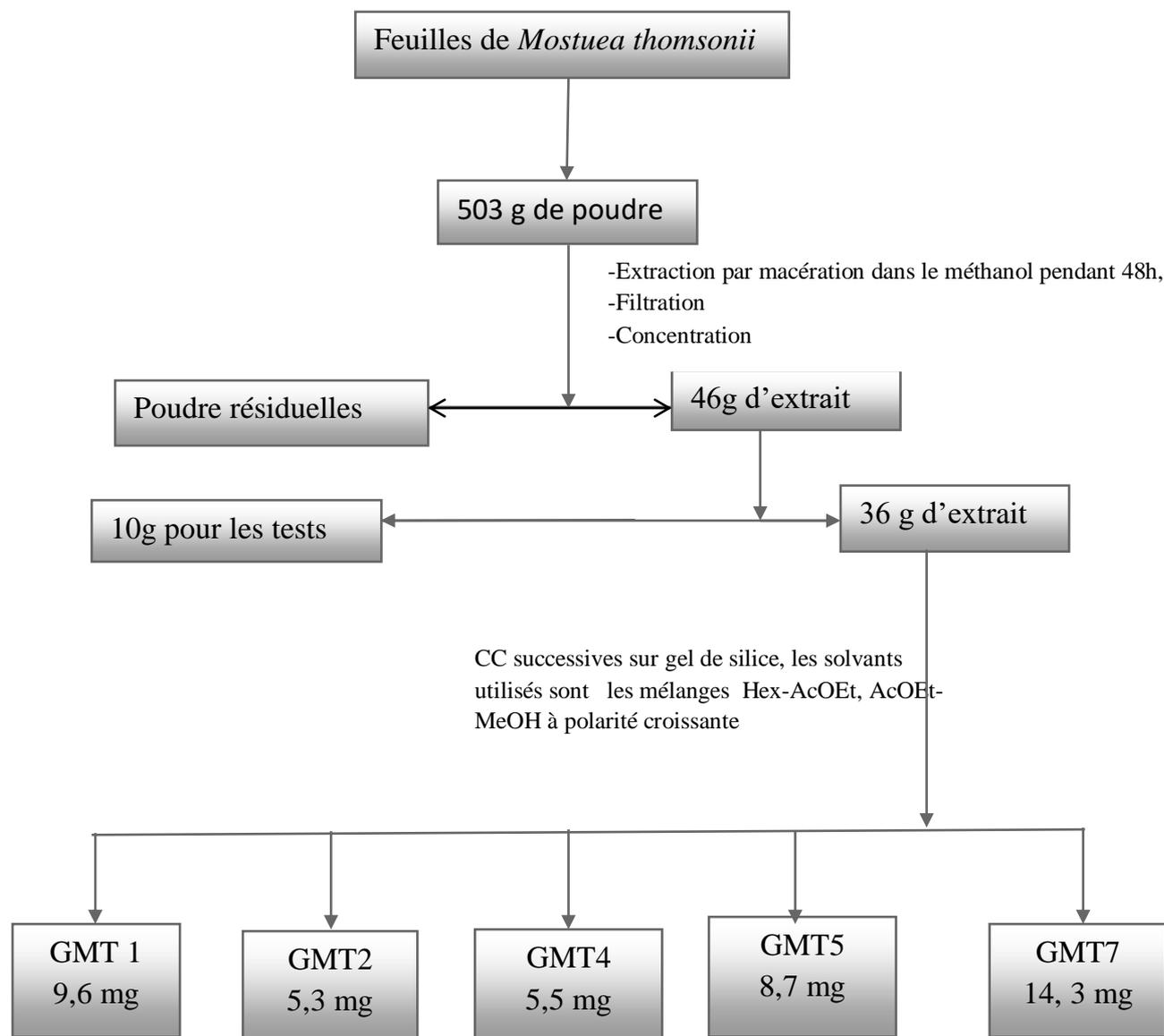


Schéma 18: Protocole d'extraction, et d'isolement des composés des feuilles *Mostuea thomsonii* (Oliv.) Benth

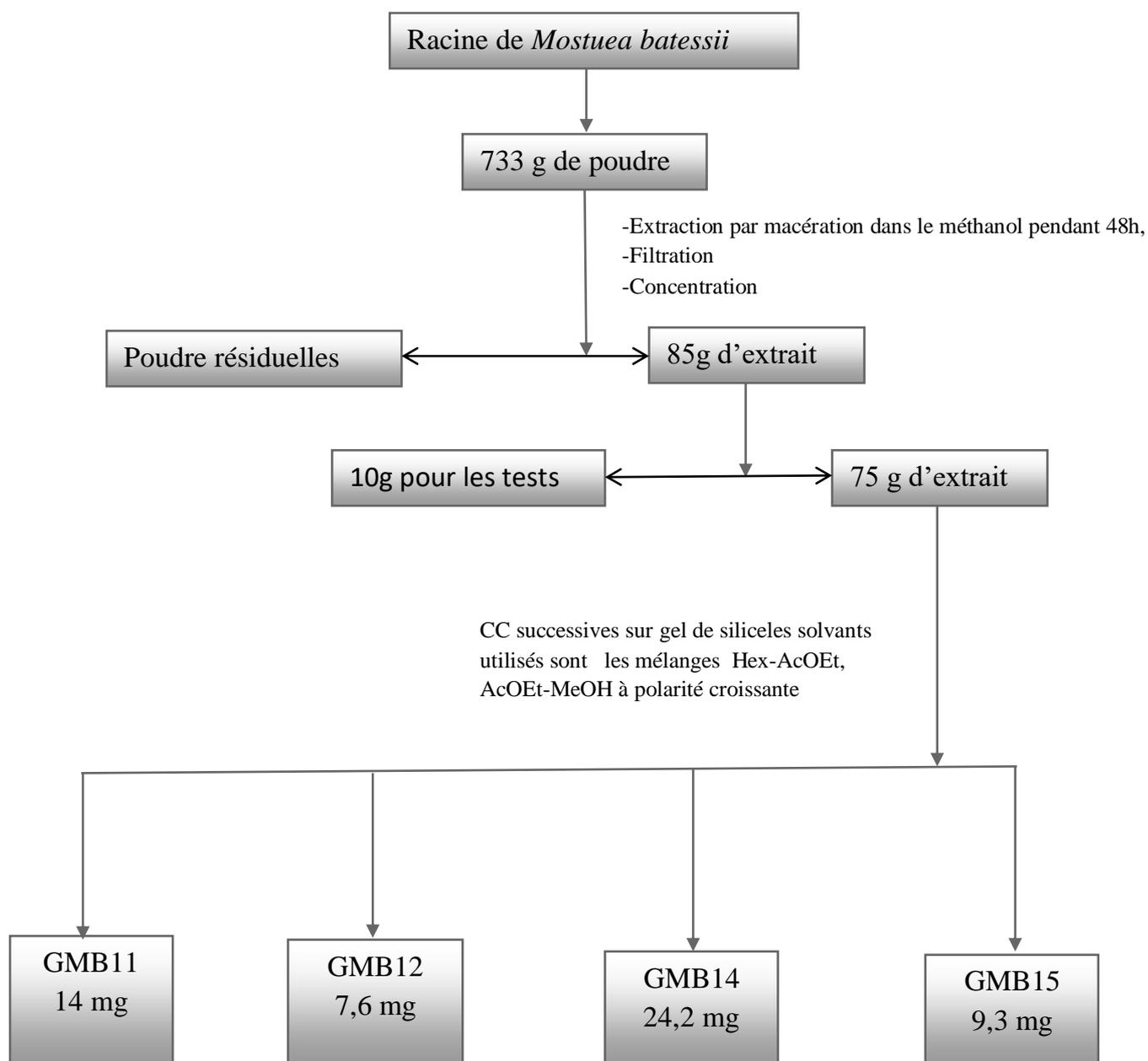


Schéma 19 : Protocole d'extraction et d'isolement des composés des racines *Mostuea batesii* Baker

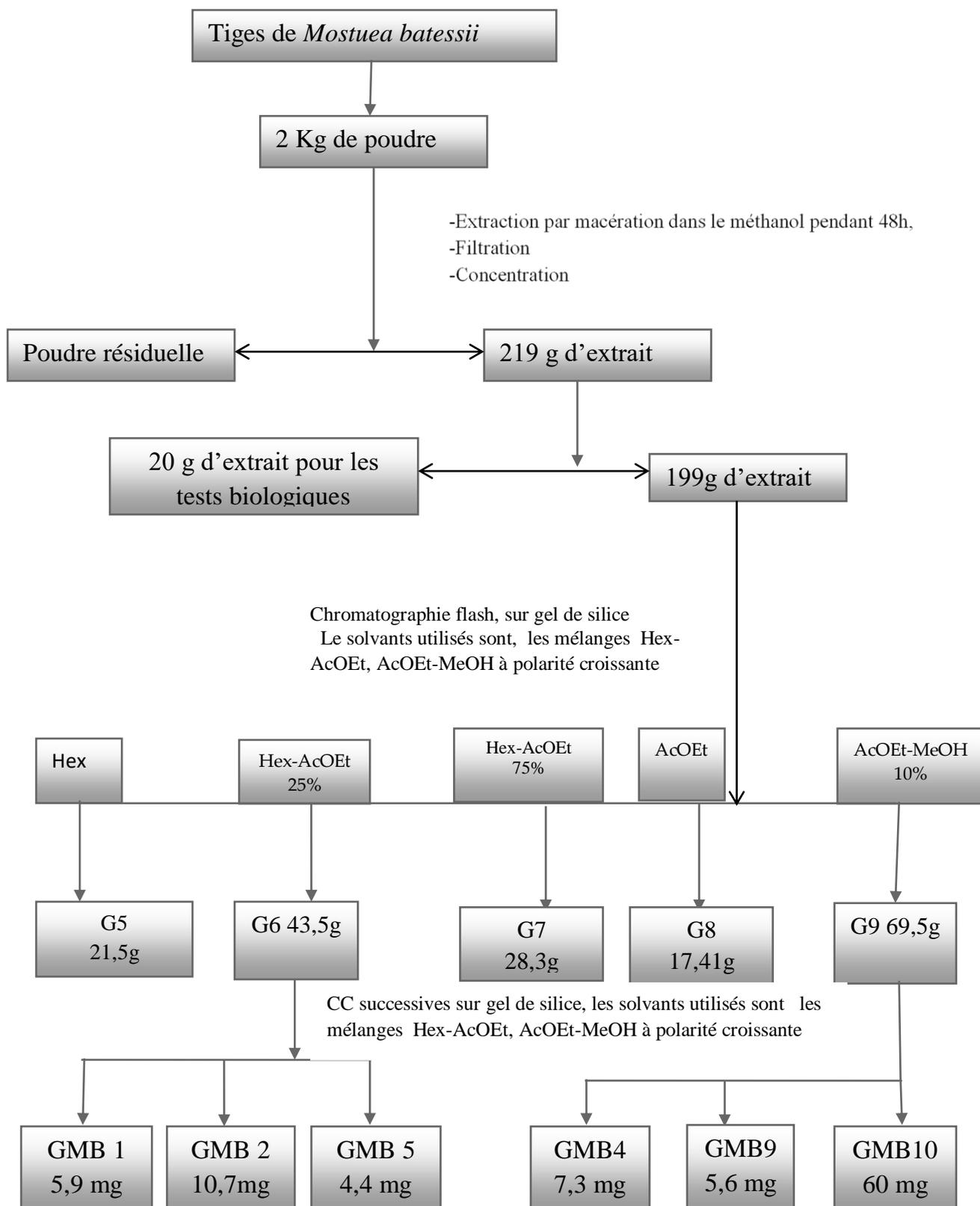


Schéma 20 : Protocole d'extraction, de fractionnement et d'isolement des composés des tiges *Mostuea batesii* Baker

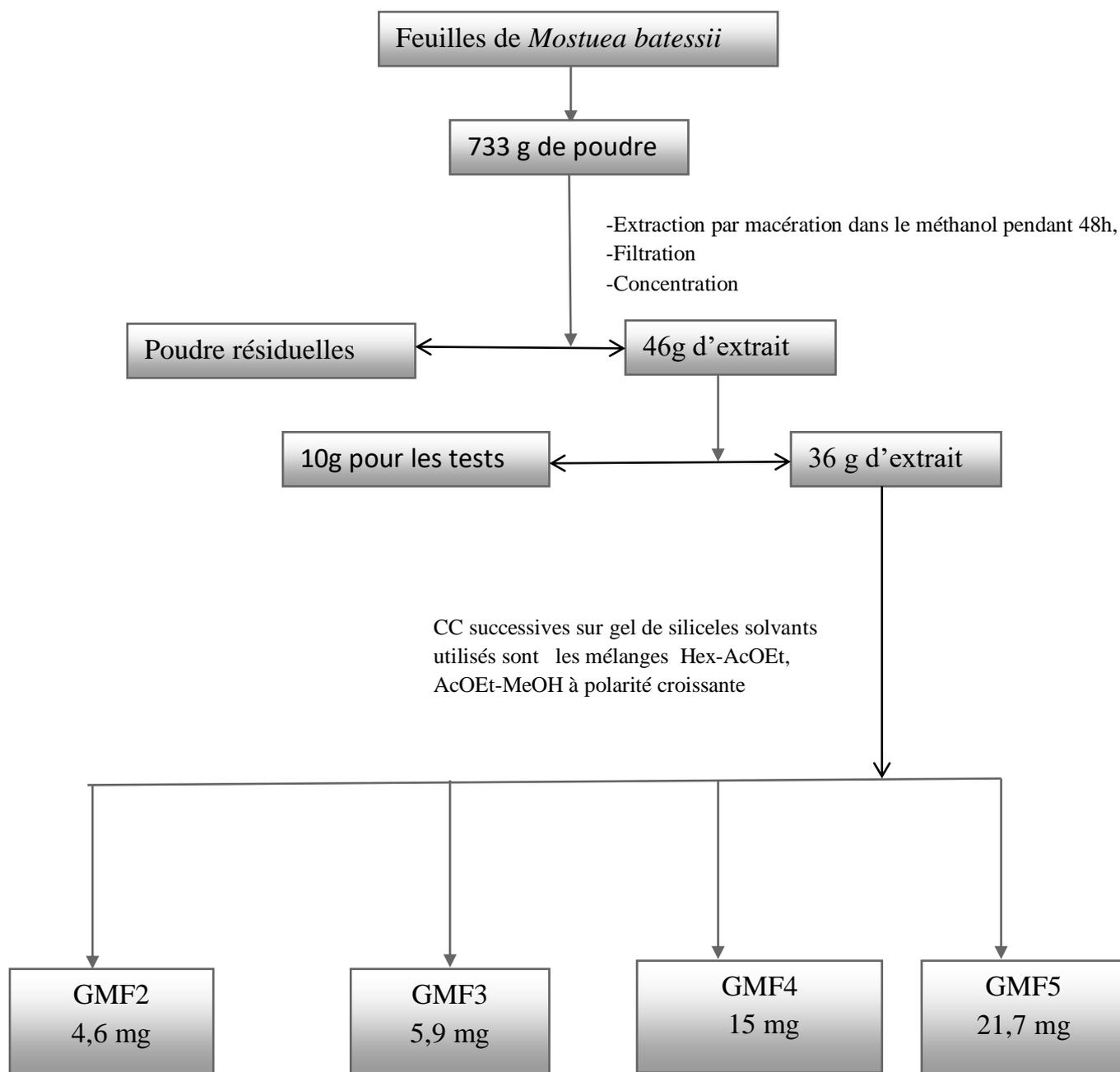


Schéma 21 : Protocole d'extraction et d'isolement des composés des feuilles *Mostuea batesii* Baker

Au terme de ces différents processus d'extraction, de fractionnement, d'isolement et de purification, trente-un (31) composés ont été isolés à partir des différents organes de ces deux plantes, et sont consignés dans le tableau suivant.

Tableau 13: Récapitulatif des composés isolés des deux plantes

Sources	Composés Isolés	Masses (mg)	Sources	Composés Isolés	Masses (mg)
Tiges de <i>Mostuea thomsonii</i> (Oliv.) Benth	GMT12	6,00	Racines de <i>Mostuea batesii</i> Baker	GMB11	14,00
	GMT13	5,50		GMB12	7,60
	GMT14	7,40		GMB14	24,20
	GMT15	11,00		GMB15	9,30
	GMT16	43,50	Tiges de <i>Mostuea batesii</i> Baker	GMB1	5,90
	GMT17	8,60		GMB2	10,70
	GMT18	7,80		GMB4	7,30
Feuilles de <i>Mostuea thomsonii</i> (Oliv.) Benth	GMT1	9,20		GMB5	21,00
	GMT2	7,30		GMB9	5,60
	GMT4	5,50	GMB10	6,00	
	GMT5	8,70	Feuilles de <i>Mostuea batesii</i> Baker	GMF2	4,6
	GMT7	14,30		GMF3	5,90
Racines de <i>Mostuea thomsonii</i> (Oliv.) Benth	GMT8	15,30		GMF4	15,00
	GMT9	7,20		GMF5	21,50
	GMT10	16,00	GMF6	4,54	
	GMB11	38,00			

De tous les 31 composés obtenus, il est apparu que certains d'entre eux ont été isolés à la fois des différents organes de ces deux plantes. C'est le cas, par exemple, des composés GMT1 et GMB1 isolés respectivement des feuilles de *Mostuea thomsonii* (Oliv.) Benth et des tiges de *Mostuea batesii* Baker, et qui se sont révélés identiques. C'est aussi le cas, des

composés GMT15 et GMB2 isolés respectivement des tiges de *Mostuea thomsonii* (Oliv.) Benth et des tiges de *Mostuea batesii* Baker, d'une part, et des composés GMT7 et GMB9 isolés respectivement des tiges de *Mostuea batesii* Baker et des feuilles de *Mostuea thomsonii* (Oliv.) Benth, d'autre part et qui se sont révélés eux aussi identiques. Ce qui, en termes de bilan, ramène à vingt-huit (28), le nombre total de composés distincts obtenus de ces deux plantes. Ces composés appartiennent à différentes classes de substances naturelles parmi lesquelles : six alcaloïdes, onze triterpènes, un composé phénolique, cinq phytostérols et deux sucres. Composés dont nous-nous proposons de décrire l'élucidation structurale dans les pages qui suivent.

II-A-2. ETUDE STRUCTURALE DES COMPOSES ISOLES

II-A-2-1. Les Alcaloïdes

II-A-2-1-1. Détermination de la structure du composé GMT 16

Le composé GMT16 a été isolé des tiges de *M. thomsonii* (Oliv.) Benth. Il précipite dans un mélange hexane-acétate d'éthyle (13:7) sous forme de poudre amorphe jaunâtre. Il est soluble dans le DMSO et répond positivement au test de Dragendorff (coloration orangé en présence d'une solution de tétraiodo-bismuthate de potassium) et de Valsér-Mayer, (coloration blanche avec la solution de mercuri-iodure de potassium), caractéristiques des alcaloïdes (Bassène, 2012).

Son spectre de masse sous ionisation ESI (fig.7), présente en mode positif le pic de l'ion pseudo moléculaire $[M+H]^+$ à m/z 379 dont l'analyse à haute résolution $[M+H]^+$ à m/z 378,3768 nous permet de lui attribuer la formule brute moléculaire $C_{21}H_{18}N_2O_5$ renfermant 14 degrés d'insaturation (calcd. m/z 378,3768). Ce haut degré d'insaturation est en faveur d'une structure fortement aromatique.

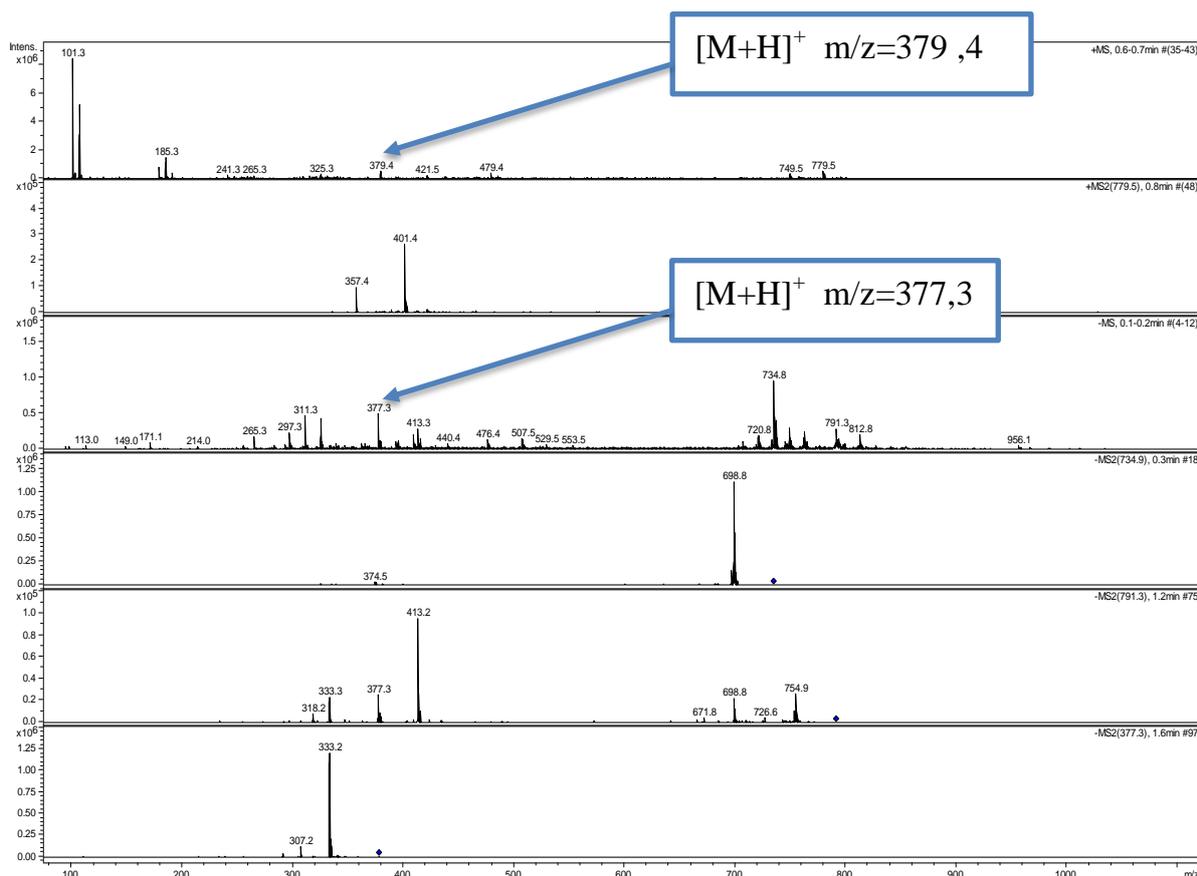


Figure 7 : Spectre de masse ESI du composé GTM16

Son spectre infra-rouge à transformée de Fourier (**fig. 8**) présente des bandes de vibration intenses caractéristiques des groupements hydroxyyles à ν_{max} 3393 cm^{-1} , de carbonyles d'amide à ν_{max} 1682 cm^{-1} et de carbonyles d'ester et à ν_{max} 1689 cm^{-1} .

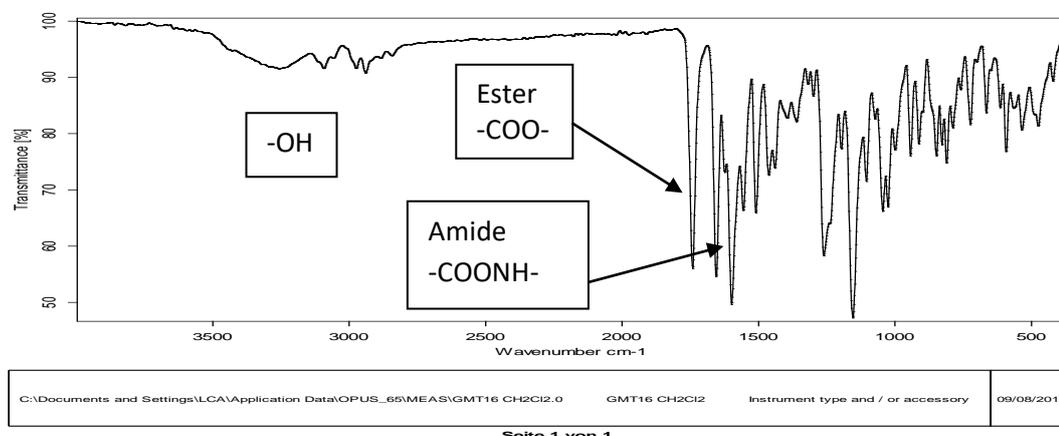
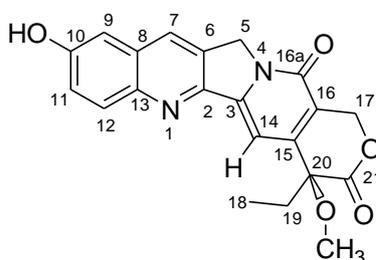


Figure 8: Spectre IR du composé GMT16

L'interprétation des données spectrales de RMN ^{13}C , de RMN ^1H à une et à deux dimensions, de masse et de IR du composé GMT16, suivie de leur comparaison avec celles de la littérature nous a permis d'attribuer à ce composé la structure **221**, qui correspond à celle de la 20-méthoxy-10-hydroxy-camptothécine, un alcaloïde de type quinoléique (Long-Ze et al., 1990; Jin-Rui et al., 1999 ; Shou-Fang et al., 2008; Sabhash et al., 2005, Biswanath et al., 2001);



221

En effet, sur le spectre de RMN ^{13}C de ce composé (**fig 9. Tableau 14**), on observe 21 signaux de carbone correspondant aux 21 atomes de carbone de la formule brute. L'analyse de ces signaux au moyen de la technique DEPTQGP (*DEPT Quaternary Gradient Pulse*), dont l'interprétation est identique à celle d'un spectre APT, permet de mettre en évidence :

- 11 signaux de carbones quaternaires apparaissant avec une phase positive, parmi lesquels : deux carbonyles dont un d'amide à δ_C 158,0 (C-16a) et un d'ester à δ_C 172,4 (C-21) ; deux carbones quaternaires oxygénés dont un hybridé sp^3 à δ_C 72,3 et l'autre hybridé sp^2 à δ_C 156,7 attribuables respectivement aux carbones C-20 et C-10, et 7 autres carbones tous

hybridés sp^2 à δ_C 150,1 (C-2) ; 145,6 (C-3); 129,3 (C-6) ; 129,3 (C-8) ; 143,8 (C-13) ; 149,9 (C-15) et 118,2 (C-16).

- 3 signaux de méthylènes tous hybridés sp^3 dont un oxygéné à δ_C 65,1 (C-17) et les deux autres tous hybridés sp^3 à δ_C 50,1 et 30,1, attribuables respectivement aux carbones C-5 et C-19 ;

- 5 signaux méthines, apparaissant avec une phase négative, tous hybridés sp^2 à δ_C 130,1; 129,8; 129,3 ; 122,9 ; et 95,9 attribuables respectivement aux carbones C-7, C-9, C-11, C-12 et C-14 et deux signaux de carbone primaire, attribuables à un groupement méthoxy à δ_C 55,5 et à un méthyle à δ_C 7,7 (C-18).

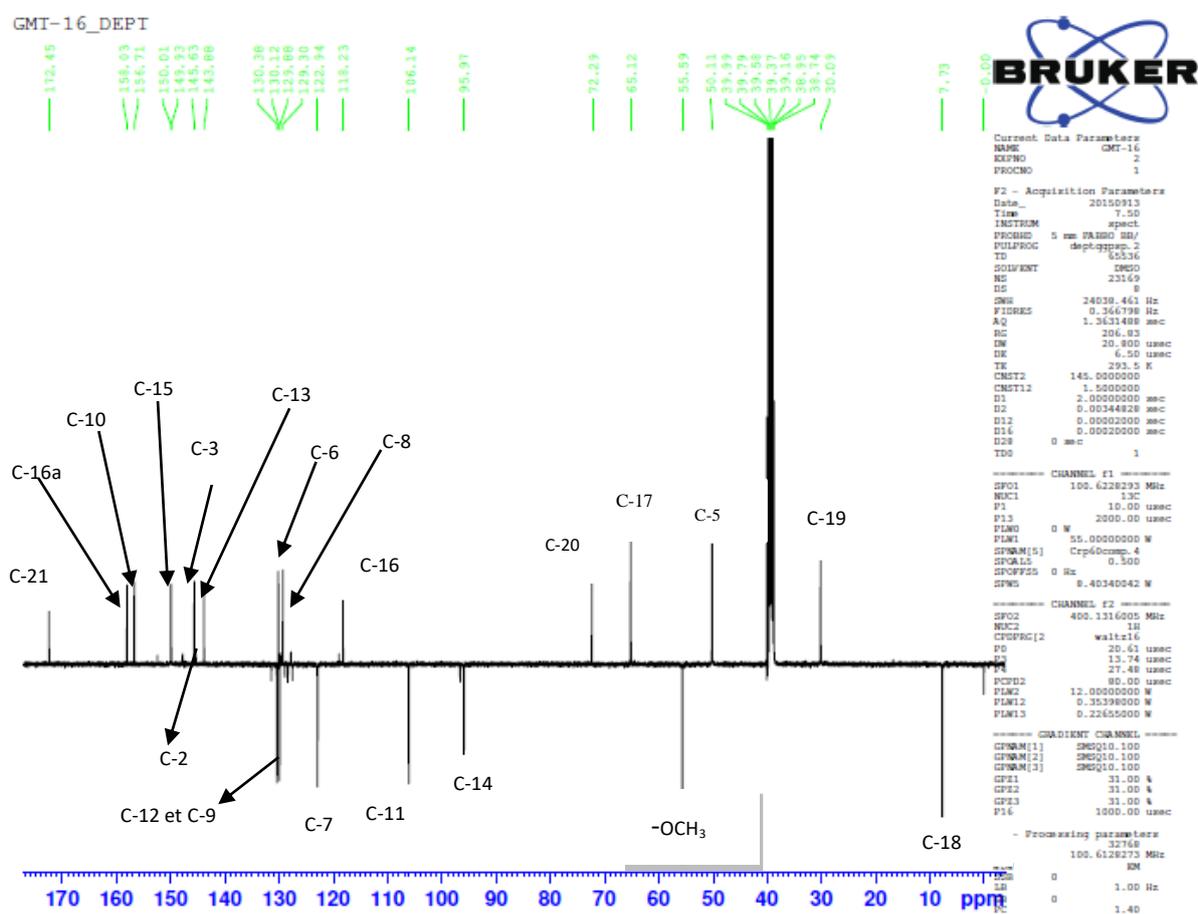


Figure 9: Spectre DEPTQGP (*DEPT Quaternary Gradient Pulse*) (100 MHz, DMSO- d_6) de GMT 16

L'analyse de son spectre de RMN¹H (**Fig. 10**, **Tableau14**) couplée à celle de son spectre de HSQC (**fig. 11**), révèle la présence:

- D'un système ABX de 3 protons aromatiques à, δ_H 8,06 (1H, d, $J = 9,2$ Hz, H-11) / δ_C 122,9 (C-11), δ_H 7,51 (1H, d, $J = 8,4$ Hz, H-9) / δ_C 129,8 (C-9), δ_H 7,52 (1H, s, H-12) / δ_C 106,8 (C-12) attribuable à un cycle aromatique 1,2,4-trisubstitué; un singulet d'un proton à δ_H

8,54 (1H, s, H-7) / δ_C 130,1 (C-7) correspondant au proton aromatique en position 7 et un autre singulet d'un proton à δ_H 7,25 (1H, s, H-14) / δ_C 95,9 (C-14) dû au proton méthylénique en position C-14;

On observe également sur ce spectre :

- Deux singulets de deux protons chacun attribuables aux protons de deux groupements méthyléniques à δ_H 5,42 (2H, s, H-17) / δ_C 65,1(C-17) et δ_H 5,26 (2H, s, H-5) / δ_C 50,1 (C-5),

- Un signal de trois protons attribuable au groupement méthoxyle à δ_H 3,94 (3H, s) / δ_C 55,5 (C-1') ; un multiplet de deux protons à δ_H 1,85 (2H, m, H-19) / δ_C 30,1 (C-19) et un triplet de trois protons à δ_H 0,99 (3H, t, H-19, $J=14,4$ Hz) / δ_C 7,7 (C-18) correspondant à un groupement éthyle localisé en position C-20.

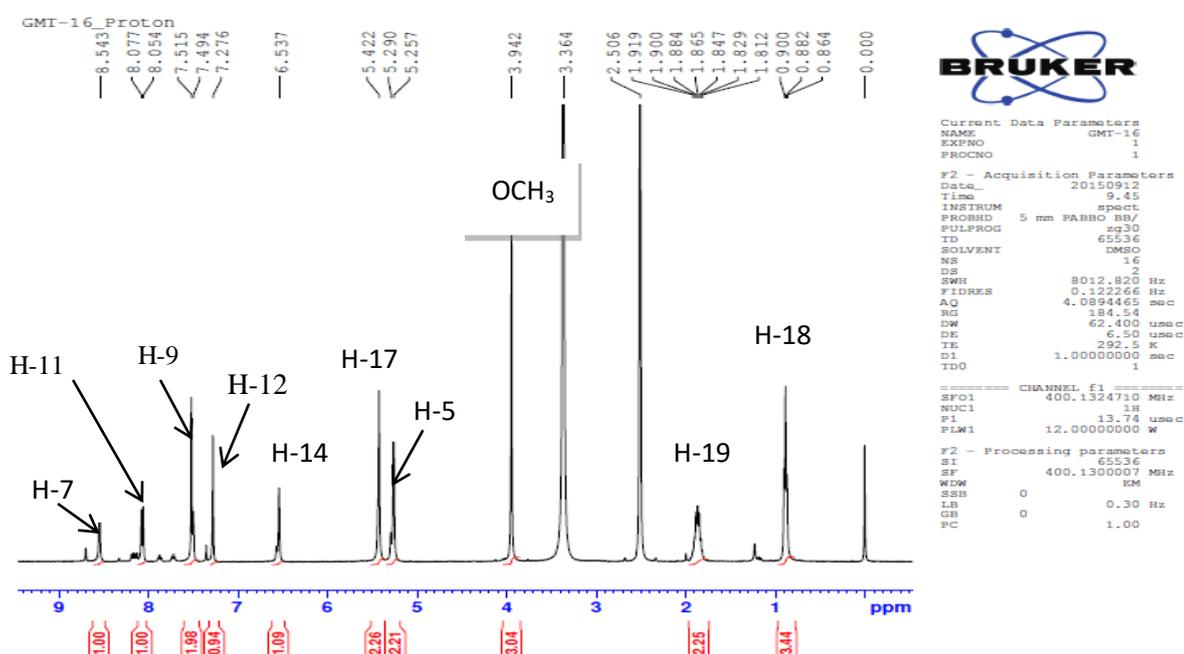
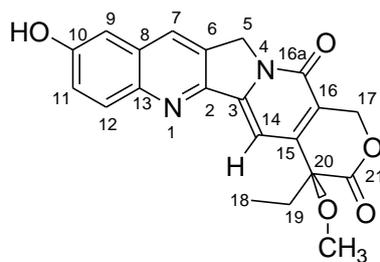


Figure 11: Spectre de RMN ^1H (400 MHz, $\text{DMSO-}d_6$) de GMT16

Le groupement méthoxyle a été localisé en position C-20, grâce aux corrélations hétéronucléaires $^1\text{H-}^{13}\text{C}$ J^2 , J^3 observées sur le spectre HMBC (**Fig. 12**) de ce composé, entre les protons H-1' à δ_H 3,94 (3H, s, -OCH₃) et le carbone C-20 (δ_C 72,2), d'une part et entre les protons H-18 à δ_H 0,95 (3H, m) et le carbone C-20 (δ_C 72,2), d'autre part.

Sur la base de tout ce qui précède, nous avons attribué au composé GMT16 la structure **221**, qui est celle de la 10-hydroxy-20-méthoxycamptotecine, composé nouveau, auquel le nom trivial thomsonine B a été attribué.



221

Schéma 20 : Structure du composé GMT 16

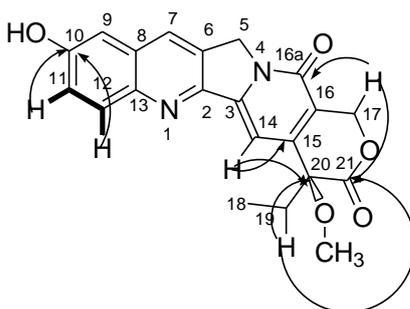


Schéma 21 : Quelques corrélations HMBC et COSY de GMT 16

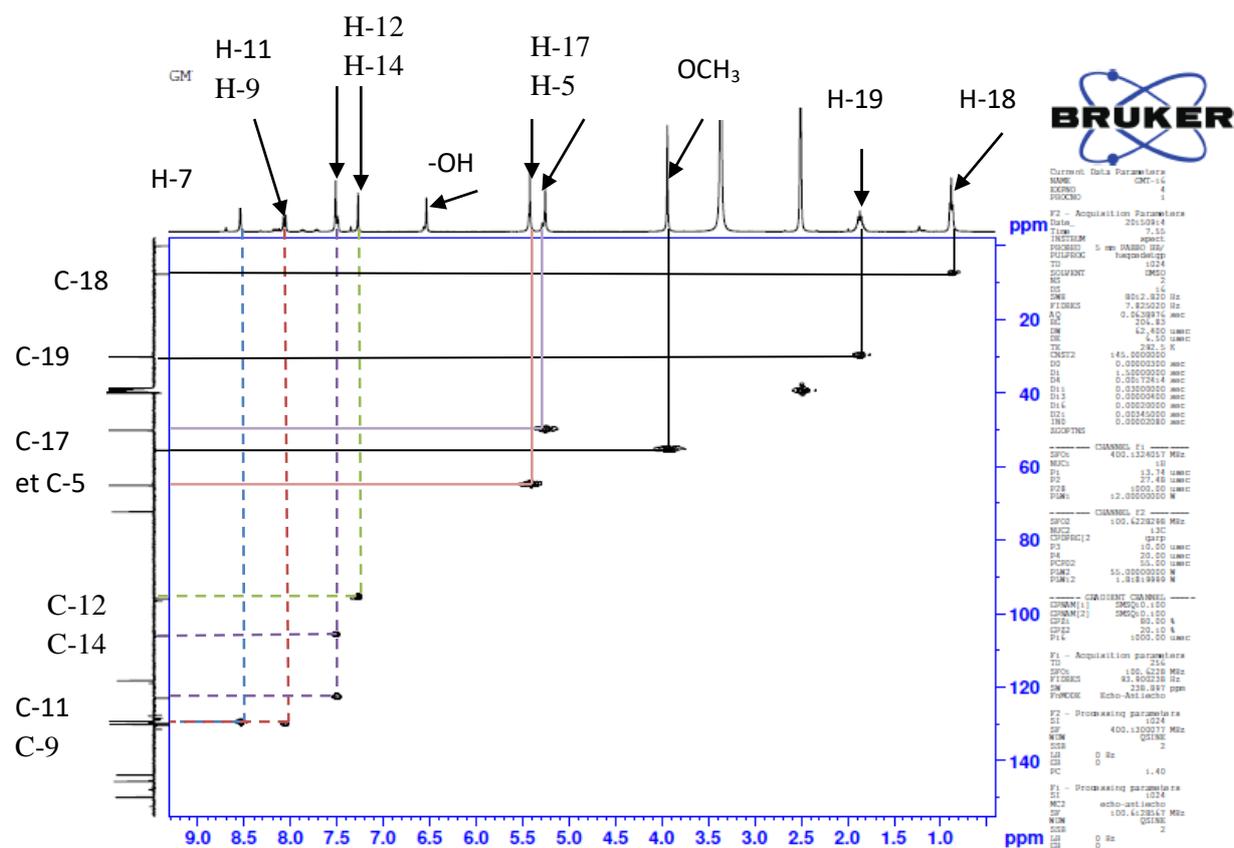


Figure 11 : Spectre HSQC du composé GMT 16

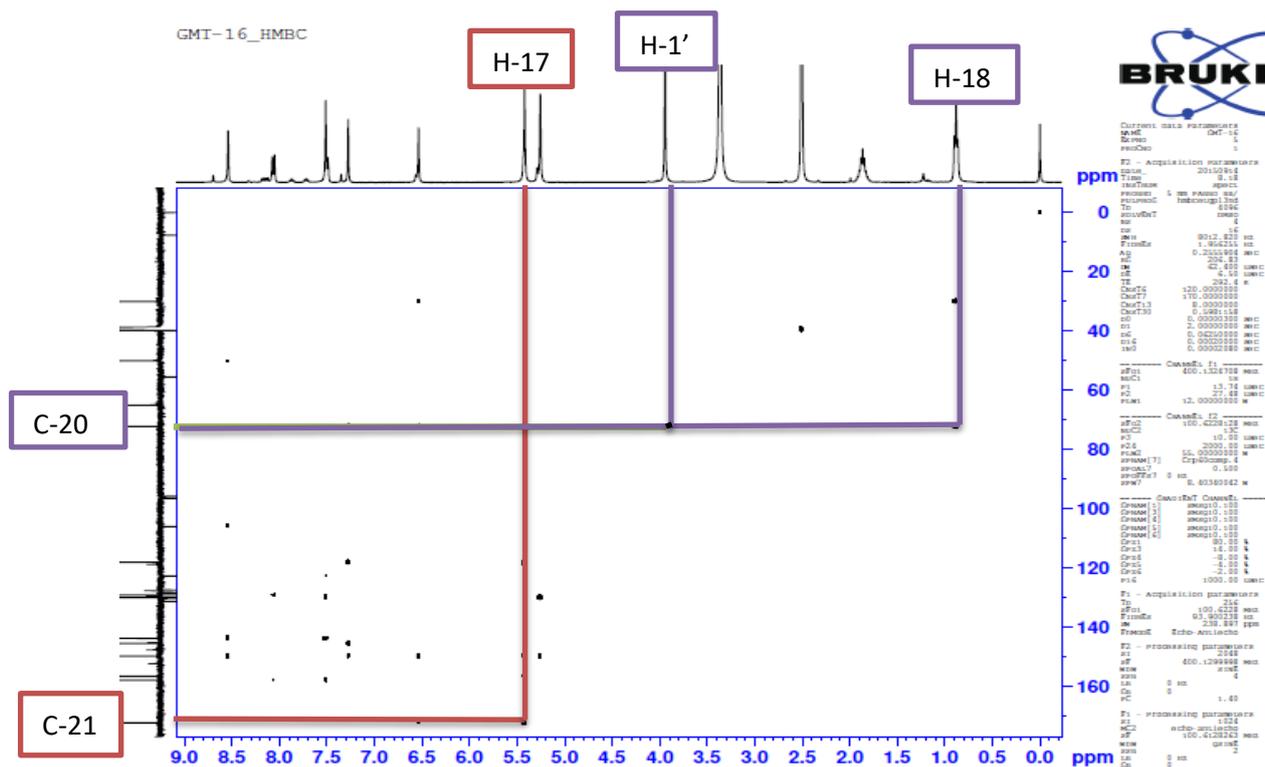


Figure 12: Spectre HMBC du composé GMT 16

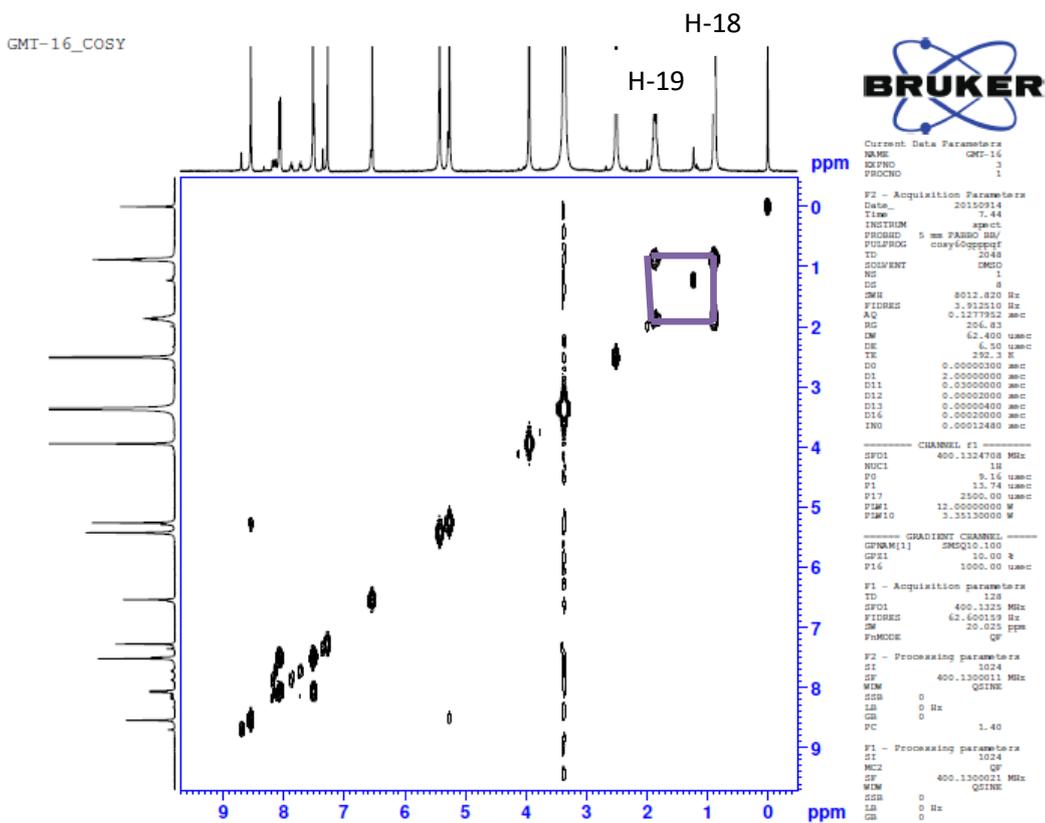


Figure 13 : Spectre COSY du composé GMT 16

Tableau 14 : Données spectrales de RMN¹H (400 MHz, DMSO-*d*₆) et RMN¹³C (100 MHz, DMSO-*d*₆) de GMT 16 . 221

Positions	¹³ C en ppm	¹ H en ppm [nH, m, <i>J</i> (Hz)]
1		
2	150,1	
3	145,6	
4		
5	50,1	5,27 (2H,s)
6	129,3	
7	123,1	8,54 (1H, s)
8	129,3	
9	129,8	7,51 (1H, d, 8,4)
10	156,7	
11	122,9	8,05 (1H, dd, 2,4 et 9,2)
12	129,8	7,52 (1H, d, 8,4)
13	143,8	
14	95,9	7,25 (1H, s)
15	149,9	
16	118,2	
16a	158,7	
17	65,1	5,41 (2H,s)
18	7,7	0,99 (3H, t, 8,4)
19	30,1	1,85 (2H, q, 8,2)
20	72,3	
21	172,4	
-OCH ₃	55,5	3,99
OH		6,49

II.A.2.1.2. Identification du composé GMT11 (10-hydroxy-camptothecine)

Soluble dans le DMSO, le composé GMT11 a été obtenu des racines de *M. thomsonii* (Oliv.) Benth sous forme de poudre de couleur jaunâtre dans le mélange hexane-acétate d'éthyle (3:2). Il répond positivement à la fois aux tests de Dragendorff (coloration orangé en présence d'une solution de tétraiodo-bismuthate de potassium) et de Valser-Mayer, (coloration blanche avec la solution de mercuri-iodure de potassium), suggérant ainsi sa nature alcaloïdique (**Bassène, 2012**). Son spectre de masse sous ionisation électrospray montre en mode positif, le pic de l'ion pseudo moléculaire $[M+H]^+$ à m/z 365 dont l'analyse à haute résolution $[M+H]^+$ à m/z 365,2145, permet de lui attribuer la formule brute $C_{20}H_{16}N_2O_5$ (calcd. Pour m/z 364,21441) renfermant 14 degrés d'insaturation. Comparée à celle du composé GMT16, la formule brute du composé GMT11 présente un atome de carbone et trois atomes d'hydrogènes de moins soit 15 unités de masse de moins attribuable à une perte d'un groupement méthyle.

Son spectre IR à transformée de Fourier présente, entre autres, des bandes de vibration intenses caractéristiques des groupements hydroxyles à ν_{max} 3493 cm^{-1} , des carbonyles d'amide à ν_{max} 1682 cm^{-1} et de carbonyle d'ester à 1689 cm^{-1} .

Le spectre de RMN ^{13}C (**fig.14; Tableau 15**) du composé GMT11 fait ressortir 20 signaux de carbone correspondant aux 20 carbones de la formule brute. Parmi ces signaux, on distingue : onze signaux de carbones quaternaires, cinq signaux de carbones tertiaires, trois signaux de carbones secondaires et un signal de carbone primaire. Son spectre, comparé à celui du composé GMT16, montre de nombreuses similitudes, ce qui suggère que ces deux composés ont le même squelette de base. La seule différence entre les deux spectres, réside en l'absence sur le spectre de RMN ^{13}C du composé GMT11^b du signal du carbone du groupement méthoxyl à δ_C 55,5. Cette information a été confortée par le spectre de RMN 1H (**fig.15; Tableau 15**) du composé GMT11^b sur lequel on observe la disparition du signal d'un singulet de trois protons dû au groupement méthoxyl à δ_H 3,99.

Sur la base de toutes ces informations, la structure **222**, correspondant à celle de la 10-hydroxylcamptothécine, a été attribuée au composé GMT11. C'est un alcaloïde quinoléique qui, bien que connu, est isolé ici pour la première fois du genre *Mostuea* (Long-Ze et al., 1990; Jin-Rui et al., 1999).

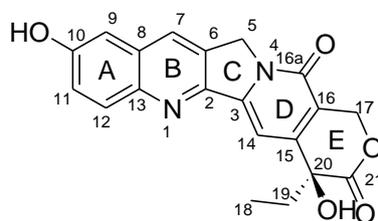
**222**

Tableau 15 : Données spectrales de RMN¹H (400 MHz, DMSO-*d*₆) et RMN¹³C (100 MHz, DMSO-*d*₆) de GMT 11. **222**

GMT 11			La camptothecin (Jin-Rui et al., 1999)
Positions	¹³ C en ppm	¹ H en ppm [nH, m, <i>J</i> (Hz)]	* ¹³ C
1			
2	150,1		150,3
3	145,6		146,2
4			
5	50,1	5,27 (2H, s)	51,4
6	129,3		130,9
7	130,1	8,54 (1H, s)	130,3
8	129,3		129,9
9	129,8	7,51(1H, d, 8,4)	129,7
10	156,7		129,1
11	122,9	8,05 (1H, dd, 2,4 et 9,2)	123,3
12	129,8	7,52 (1H, d, 8,4)	129,8
13	149,8		148,9
14	95,9	7,25 (1H, s)	96,5
15	149,9		149,2
16	118,2		122,0
17	65,1	5,41(2H, s)	67,8
18	7,7	0,99 (3H, t, 8.4)	8,4
19	30,1	1,85 (2H, q, 8.2)	33,9
20	72,3		73,1
21	172,4		172,3
22	156,7		158,1
OH		6,53	

*C données ¹³C de la littérature dans chloroforme deutéré

II.A.2.1.3. Identification du composé GMT15 (Camptothecine)

Isolé à la fois des racines *M. Thomsonii* (Oliv.) Benth et des tiges de *M. batessii* Baker, le composé GMT15 a été obtenu sous forme de poudre amorphe jaune orangée, dans le mélange hexane-acétate d'éthyle (11:7). Soluble dans le chloroforme et le DMSO, ce composé réagit positivement au réactif de Dragendorff (coloration orangé en présence d'une solution de tétraiodo-bismuthate de potassium) et de Valser-Mayer; (coloration blanche avec la solution de mercuri-iodure de potassium), suggérant ainsi sa nature alcaloïdique (**Bassène, 2012**).

Son spectre de masse sous ionisation ESI (**Fig. 16**) présente le pic de l'ion moléculaire protoné $[M+H]^+$ à m/z 349 compatible avec la formule brute $C_{20}H_{16}N_2O_4$ (calcd. pour m/z 348,3509) renfermant 14 degrés d'insaturation. La formule brute de GMT15 comparée à celle du composé GMT11 possède un oxygène de moins ce qui explique la différence de 16 unités de masse observée entre les masses de ces deux composés.

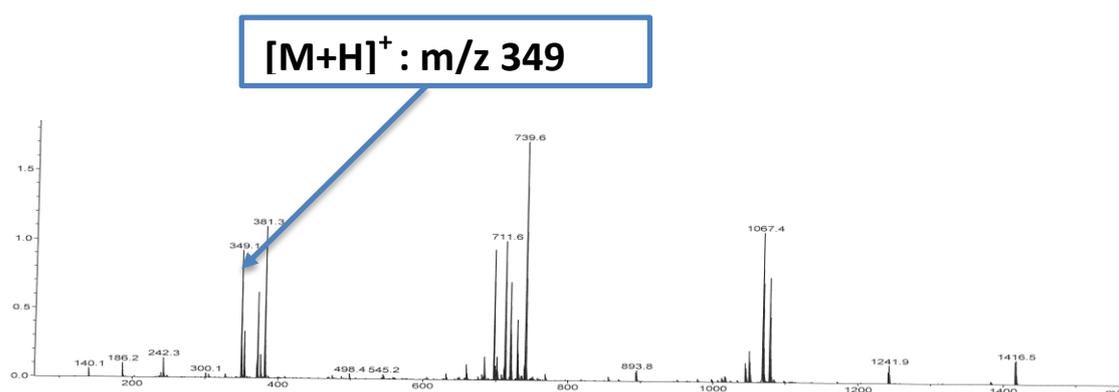


Figure 16 : Spectre de masse ESI-HR du composé GMT15

Sur son spectre IR à transformée de Fourier (**fig.17**), on observe des bandes de vibration caractéristiques des groupements hydroxyls à ν_{max} 3493 cm^{-1} , de carbonyle d'amide, à ν_{max} 1689 , et de carbonyle d'ester à ν_{max} 1782 cm^{-1} .

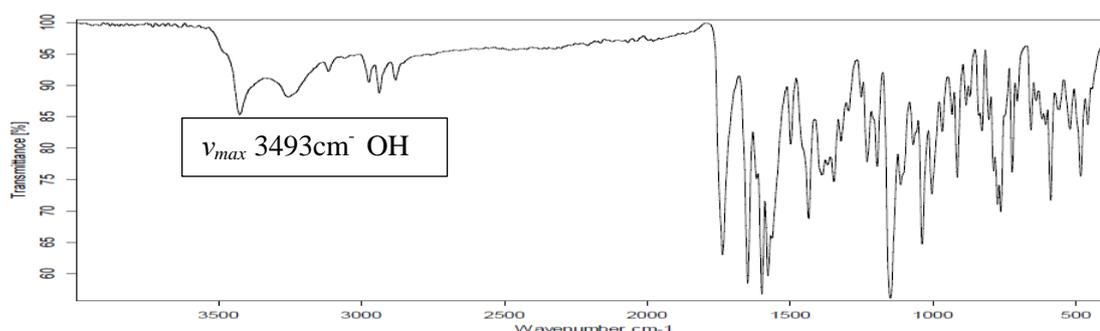
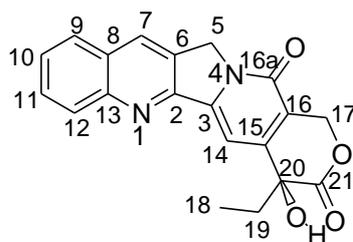


Figure 17 : Spectre IR du composé GMT 15

Le spectre de RMN ^{13}C (**fig.18 ; Tableau 16**) de ce composé fait ressortir 20 signaux de carbone correspondant aux 20 carbones de la formule brute.

Une étude comparative des spectres de RMN ^{13}C des composés GMT15 et GMT11, révèle de nombreuses similitudes, ce qui indique que ces deux composés ont le même squelette de base. En effet, les deux composés présentent le même nombre de carbone tous hybridés sp^2 et sp^3 . La seule différence se situe au niveau de la disparition du signal du carbone sp^2 oxygéné qui apparaissait à δ_{C} 156,4 sur le spectre du composé GMT11^a au profit du signal d'un méthine hybridé sp^2 à δ_{C} 110,5 sur le spectre du composé GMT15^b. Ce qui explique la différence de 17 unités entre la masse du composé GMT11 et celle du composé GMT15. Ceci est conforté par le spectre de RMN ^1H (**fig. 19 ; Tableau 16**) de GMT15^a sur lequel on observe, en dehors des signaux superposables à ceux du composé GMT11, quatre signaux d'un système aromatique *orthodisubstitué* constitué de δ_{H} 8,13 (1H, d, H-9, $J = 8\text{Hz}$) ; δ_{H} 7,84 (1H, t, H-10, $J = 8,8\text{Hz}$), δ_{H} 7,86 (1H, t, H-11, $J = 8,8\text{Hz}$) et 8,18 (1H, d, H-11, $J = 8\text{Hz}$).

L'ensemble de toutes ces informations, a permis d'attribuer au composé GMT15, la structure **223**, qui est celle de la camptothécine. C'est un alcaloïde quinoléique, isolé pour la première fois du genre *Mostuea* (*Mostuea brunoniis*), par Jin-Rui et collaborateur en 1999 et qui possède une activité cytotoxique à l'égard des cellules cancéreuses du poumon (**Long-Ze et al., 1990; Jin-Rui et al., 1999**).

**223**

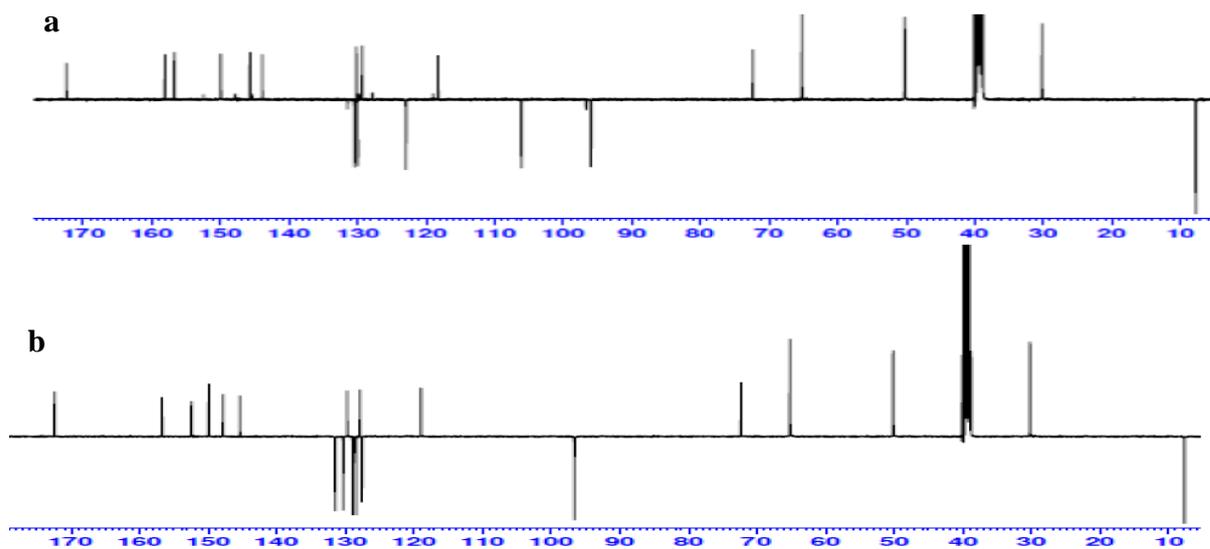


Figure 18 : Spectres comparatifs des Spectres *DEPTQGP* (*DEPT Quaternary Gradient Pulse*) (100 MHz, DMSO-*d*₆) de GMT11^a et de GMT 15^b

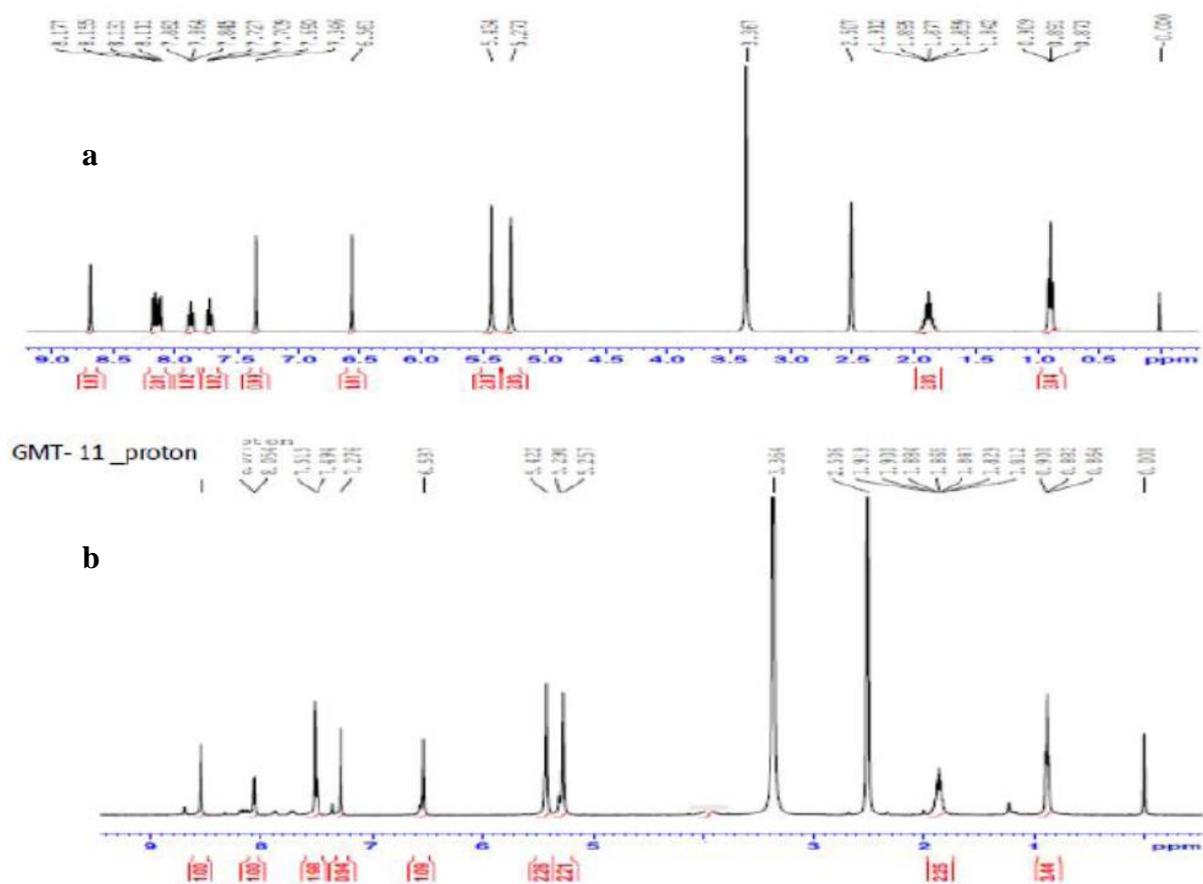


Figure 19 : Spectre de RMN ¹H (400 MHz, DMSO -*d*₆) comparatif de GMT15^a et GMT11^b

Tableau 16 : Données spectrales de RMN¹H (400 MHz, DMSO-*d*₆) et RMN¹³C (100 MHz, DMSO -*d*₆) de GMT15. 223

GMT15		<i>La Camptothecin</i> (Jin-Rui et al., 1999).	
Positions	¹ H en ppm [nH, m, <i>J</i> (Hz)]	¹³ C en ppm	* ¹³ C
1			
2		152,6	153,9
3		147,5	146,2
4			
5	5,27 (2H, s)	50,3	51,4
6		129,8	130,9
7	8,67 (1H, s)	131,6	133,3
8		129,0	129,9
9	8,13 (1H, d, 8)	127,9	129,7
10	7,84 (1H, t, 8,8)	127,7	129,1
11	7,86 (1H, t, 8,8)	130,4	131,9
12	8,18 (1H, d, 8)	128,5	129,8
13		150,0	149,9
14	7,33 (1H, s)	96,7	96,9
15		147,9	149,2
16		119,1	120,0
16a		156,9	157,3
17	5,41 (2H, s)	65,3	67,8
18	0,88 (3H, t, 8)	7,8	8,4
19	1,92 (2H, dq, 8)	32,3	33,9
20		72,4	73,1
	6,52 (1H, s)		
21		172,5	171,1

*C données ¹³C de la littérature dans chloroforme deutéré

II.A.2.1.4. Détermination de la structure du composé GMB 14

Obtenu des racines de *M. batessii* Baker, le composé GMT14 précipite sous forme de poudre amorphe de couleur jaune-verdâtre, dans le mélange hexane-acétate d'éthyle (1:3). Il est soluble dans le DMSO, et réagit positivement au test de Dragendorff (coloration orangé en présence d'une solution de tétraiodo-bismuthate de potassium) et de Valsér-Mayer; (coloration blanche avec la solution de mercuri-iodure de potassium), caractéristiques des alcaloïdes (Bassène, 2012). Son spectre de masse sous ionisation FAB (fig. 20) montre en mode positif le pic de l'ion pseudo-moléculaire $[M+H]^+$ à m/z 513,5 dont l'analyse à haute résolution $[M+H]^+$ à m/z 513,51531 est en accord avec la formule brute $C_{26}H_{28}N_2O_9$ (calc. pour $C_{26}H_{28}N_2O_9$ à m/z 512,5072) renfermant 14 degrés d'insaturation. Ce nombre très élevé du nombre d'insaturation suggère que le composé GMB14 aurait une structure fortement aromatique.

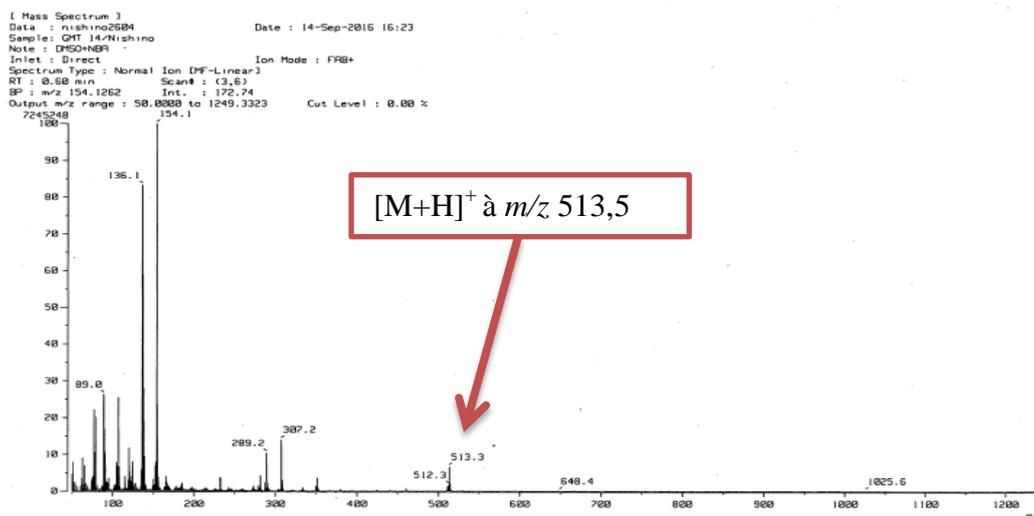


Figure 20 : Spectre de masse FAB-HR du composé GMB14

Son spectre IR à transformée de Fourier (fig. 21), présente des bandes de vibration caractéristiques des groupements hydroxyles à ν_{max} 3336 cm^{-1} , de carbonyles d'amide à ν_{max} 1682 cm^{-1} et d'ester à ν_{max} 1739 cm^{-1} ainsi que les doubles liaisons C=C des aromatiques et des oléfines à ν_{max} 1600 cm^{-1} .

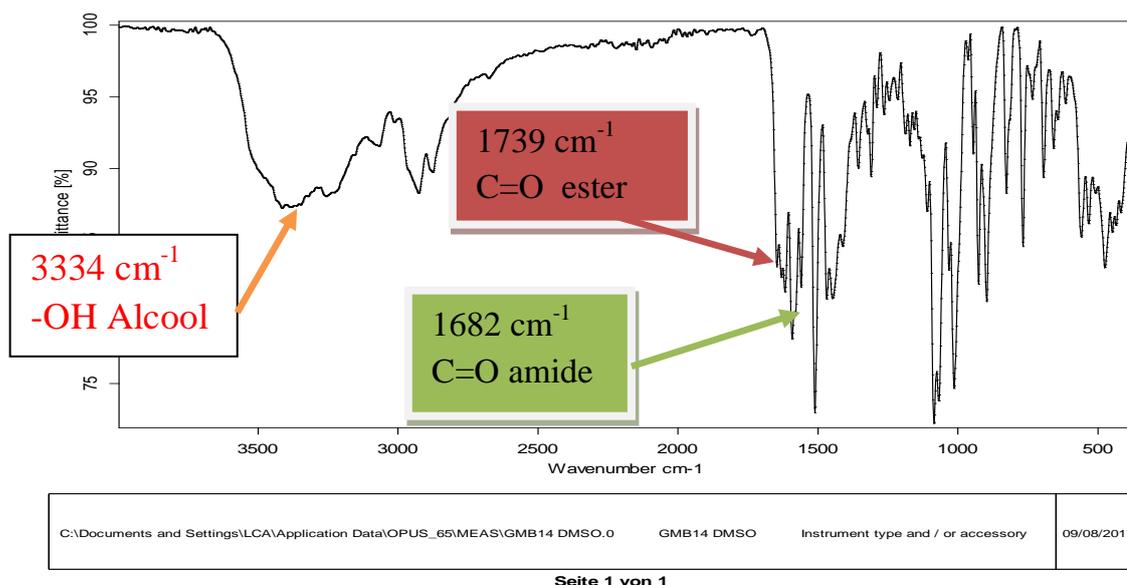


Figure 21 : Spectre IR du composé GMB14

Le spectre de RMN ^{13}C complètement découplé (fig. 22 ; tableau 17) de GMB14 fait ressortir 26 signaux correspondant aux 26 atomes de carbone présents dans sa formule brute. L'analyse de ces signaux à l'aide de la technique *DEPTQGP*, permet de mettre en évidence la présence de :

- Sept signaux de carbones quaternaires, tous hybridés sp^2 , parmi lesquels deux signaux de carbonyles à δ_C 163,9 et à δ_C 172,9 attribuables respectivement au carbonyle de la fonction amide et à celui de l'ester et de cinq autres signaux apparaissant à δ_C 143,7, 140,3, 125,3, 120,5 et 112,9;

- 15 signaux de méthines parmi lesquels, six sont hybridés sp^2 à δ_C 145,7, 139,5, 132,4, 131,4; 124,6 et 118,2, et neuf autres, hybridés sp^3 . Parmi ces neuf méthines hybridés sp^3 , trois sont non oxygénés et résonnent à δ_C 43,4; 59,5 et 23,7 tandis que les six autres à δ_C 94,7 ; 97,4 ; 77,3; 76,2 ; 73,1 et 69,9, sont porteurs d'oxygène, parmi lesquels cinq à δ_C 97,4 ; 77,3 ; 76,2 ; 73,1 ; 69,9 sont ceux d'une unité osidique et le sixième à δ_C 94,7 étant dû à un deuxième carbone d'hémiacétal. La comparaison des déplacements chimiques de cette unité osidique avec les données de la littérature nous a permis de l'identifier au *D*-glucopyranoside (Yu et al., 1999).

- On observe également sur ce spectre, 4 signaux méthylènes dont un hybridé sp^2 à δ_C 108,9 et trois hybridés sp^3 parmi lesquels un oxygéné à δ_C 61,1 appartenant à l'unité osidique, et deux autres non oxygénés à δ_C 47,4 et 28,1.

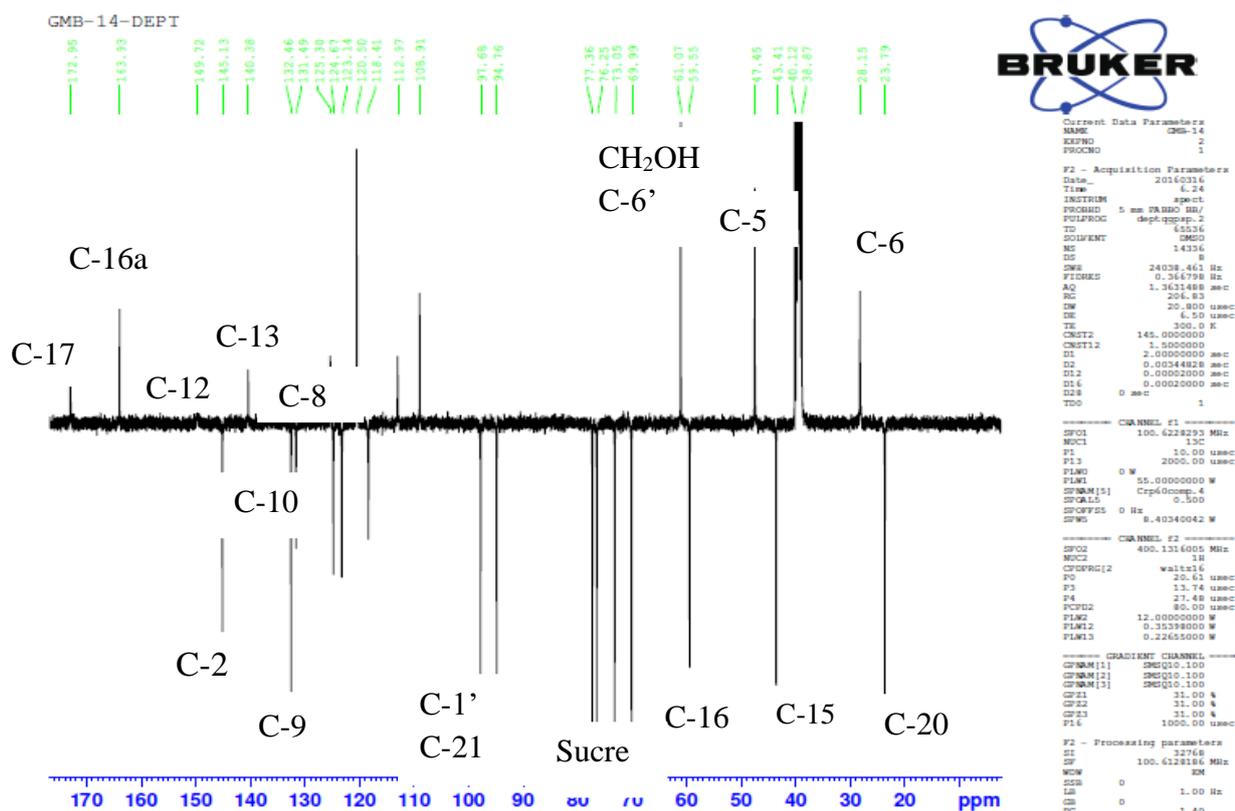
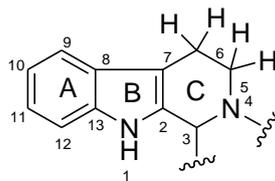
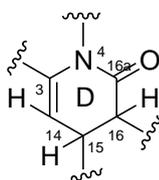


Figure 22 : Spectre *DEPTQGP* (100 MHz, DMSO-*d*₆) du composé GMB14

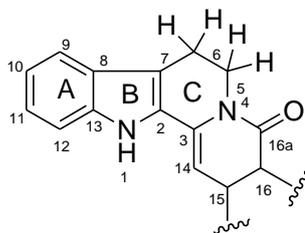
L'analyse combinée des spectres de RMN ¹H (Fig. 23 ; Tableau 17), de HSQC (Fig. 25) de COSY (Fig. 26), et de HMBC (Fig. 24) permet de mettre en évidence la présence d'un noyau aromatique *ortho*-disubstitué, dont les signaux des quatre protons apparaissent sous forme de quatre multiplets d'un proton chacun, à δ_H 7,36 (1H, ddd, H-10, $J = 1,2, 8,0$ et $8,5$ Hz) / δ_C 131,4 (C-10) ; à δ_H 7,68 (1H, ddd, H-11, $J = 1,2 ; 8,5$ et $8,0$ Hz) / δ_C 124,6 (C-11) ; à δ_H 7,61 (1H, dd, H-12, $J = 1,2$ et $8,5$ Hz) / δ_C 145,7 (C-12) ; et à δ_H 8,12 (1H, dd, H-9, $J = 1,2$ et $8,5$ Hz) / δ_C 132,4 (C-9), d'une fonction d'amine secondaire (-NH-), dont le proton apparaît sous forme d'un singulet d'un proton à δ_H 12,1 (1H, s) et d'un fragment de type -CH₂-CH₂-N dont tous les signaux apparaissent sous forme de deux triplets de deux protons chacun respectivement à δ_H 2,02 (1H, t, H-5b, $J = 1,2$ Hz) / δ_C 28,1 (C-5) ; δ_H 2,51 (1H, t, H-5a, $J = 1,2$ Hz) / δ_C 28,1 (C-6) ; δ_H 4,34 (1H, t, H-6b, $J = 11,6$ Hz) / δ_C 47,4 (C-5) et δ_H 4,51 (1H, t, H-6a, $J = 11,6$ Hz) / δ_C 47,4 (C-5). Toutes ces informations plaident en faveur de l'existence au sein du composé GMB14, d'un squelette du type β -carboline (sous structure A) (Jingyong et al., 2008).

**A**

On observe également sur ce spectre, un ensemble de signaux constitué d'un doublet d'un proton correspondant à une double liaison à δ_H 7,05 (1H, d, $J = 2,4$ Hz) / δ_C 108,4 (C-14), d'un doublet d'un proton méthinique fortement déblindé porté par un carbone sp^3 à δ_H 6,01 (1H, d, $J = 2,4$ Hz) / δ_C 59,5 (C-16) caractéristique d'un proton méthine situé entre deux fonctions carbonyle (**Jingyong et al., 2008**), et d'un triplet d'un proton méthine apparaissant à δ_H 4,31 (1H, t, $J = 1,2$ Hz) / δ_C 43,4 (C-15) ; attribuable à un cycle de type β -lactame (**Jingyong et al., 2008**). Ce qui nous amène à la sous structure **B**

**B**

La présence de ce cycle type β -lactame a été confirmée, d'une part, par les corrélations observées sur le spectre COSY (**fig.26**) entre le signal du proton oléfinique H-14 à δ_H 7,05 (1H, d, $J = 2,4$ Hz) et le signal du proton H-15 à δ_H 4,31 (1H, t, $J = 1,2$ Hz), qui corrèle à son tour avec le signal du proton H-16 fortement déblindé à δ_H 6,01 (1H, d, $J = 2,4$ Hz) et d'autre part, par la présence sur le spectre HMBC (**fig.24**) des corrélations $^1H-^{13}C$, J^2 et J^3 entre le proton à δ_H 7,05 (1H, d, $J = 2,4$ Hz) et le signal du carbone à δ_C 143,7 et entre le proton à δ_H 4,31 (1H, t, $J = 1,2$ Hz) et le signal du carbone à δ_C 120,5 et en fin entre le signal à δ_H 4,31 (1H, t, $J = 1,2$ Hz) et le carbonyle d'amide à δ_C 163,9. Ces informations montrent que le cycle β -lactame est accolé au cycle de type β -carboline, d'où la sous structure **C**.

**C**

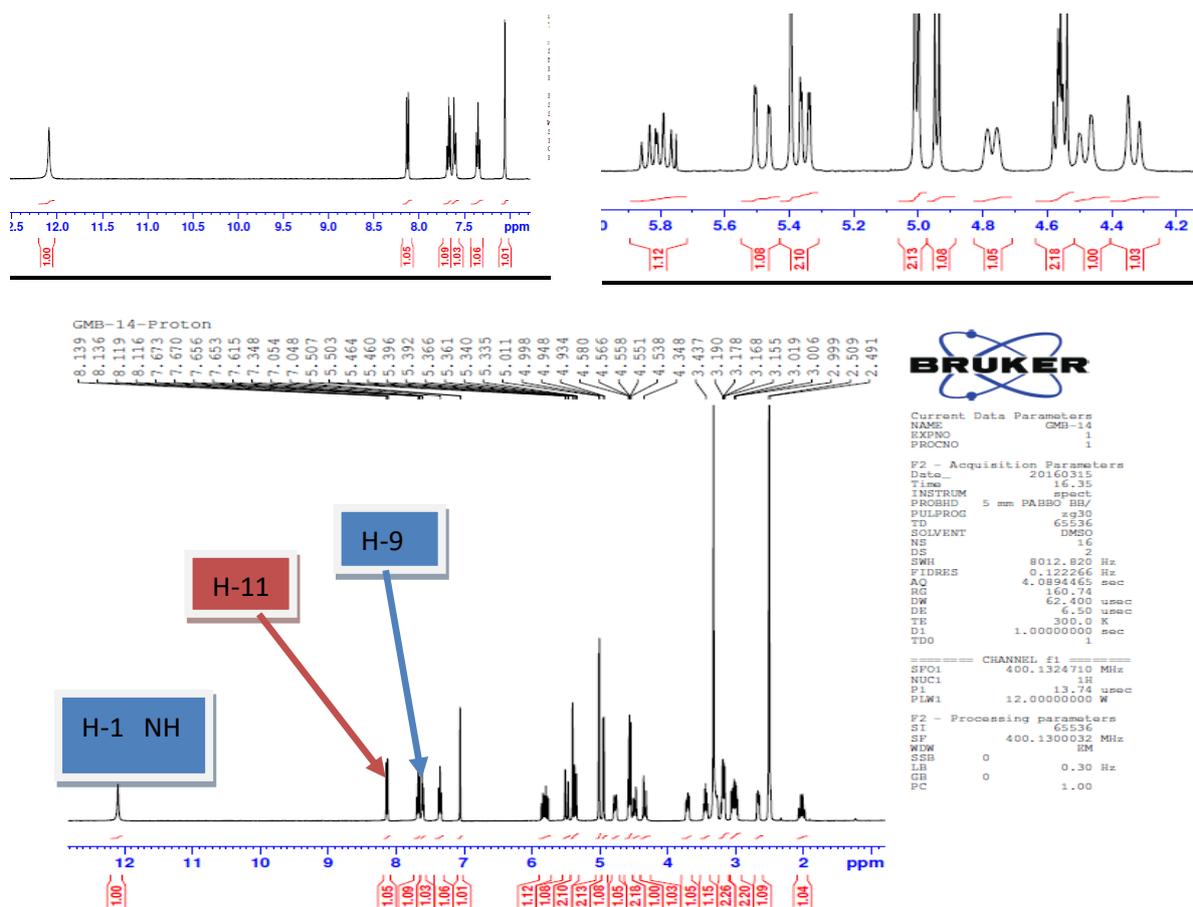
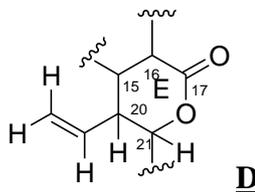


Figure 23 : Spectre de RMN ^1H (400 MHz, DMSO $-d_6$) de GMB14

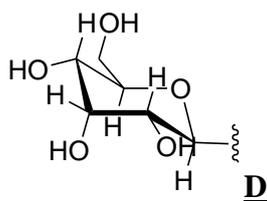
Sur le même spectre, apparaissent des signaux attribuables à un cycle de type lactone constitué d'un multiplet d'un proton à δ_H 3,11 (1H, m) / δ_C 23,7 (C-20) et d'un doublet d'un proton à δ_H 4,55 (1H, d, H-21, $J = 2,8$ Hz) / δ_C 94,7 (C-21), en plus de ceux d'un groupement vinylique, constitué de trois multiplets d'un proton chacun résonant, respectivement à δ_H 5,78 (1H, ddd, $J = 17,2$; 10,4 et 6,0 Hz) / δ_C 123,1 (C-19) et à δ_H 5,48 (1H, dd, $J = 1,6$ et 17,2 Hz) / δ_C 108,9 (C-18), et δ_H 5,31 (1H, dd, $J = 1,6$ et 10,4 Hz) nous conduisant ainsi à la sous structure **D**



Ceci a été conforté par les corrélations observées sur le spectre COSY (**fig. 27**). entre le proton H-20 à δ_H 3,11 (1H, m) et le proton hémiacétalique à δ_H 4,55 (1H, d, H-21, $J = 2,8$ Hz), d'une part, et entre le proton vinylique H-19 à δ_H 5,78 (1H, ddd, $J = 17,2$; 10,4 et 6,0 Hz) d'autre part, qui à son tour corrèle avec le signal des deux protons vinylique H-18 à δ_H 5,48

(1H, dd, $J = 1,6$ et $17,2$ Hz) / δ_C 108,9. La localisation du groupement vinylique sur le cycle lactonique en position C-20 a été déterminée grâce aux corrélations hétéronucléaires ^1H - ^{13}C , J^2 et J^3 observées sur le spectre de HMBC (**fig. 24**), entre le proton à δ_H 2,11 (1H, m) / δ_C 23,7 et les carbones respectifs à δ_C 123,1, à δ_C 108,4, à δ_C 94,7 et à 59,5.

Par ailleurs, la présence d'une unité de type osidique identifié au *D*-glucopyranoside, suggéré par l'analyse du spectre de RMN ^{13}C a été confirmée par les signaux caractéristiques à δ_H 5,46 (1H, d, H-1', $J = 7,3$ Hz) / δ_C 97,7 (C-1') ; δ_H 3,59 (1H, m, H-2') / δ_C 73,1 (C-2') ; δ_H 2,99 (1H, m, H-3') / δ_C 72,4 ; δ_H 3,09 (1H, m, H-4) / δ_C 76,2 (C-4'), δ_H 3,15 (1H, m, H-5') / δ_C 77,3 ; δ_H 3,12 (2H, m, H-6') / δ_C 61,1 (C-6'). La localisation de cette unité osidique en position C-21, sur le cycle lactonique du squelette de base, a été déterminée grâce aux corrélations ^1H - ^{13}C , J^2 et J^3 , observées sur le spectre HMBC, entre le proton anomérique à δ_H 5,46 (1H, d, H-1', $J = 7,3$ Hz) et les carbones C-21 (δ_C 97,7) et C-2' (δ_C 73), d'une part et entre le proton H-20 à δ_H 3,11 (1H, m) et le signal du carbones C-21 (δ_C 97,7).



La stéréochimie relative β de la *D*-glucopyranoside, a été établie à partir de la valeur de la constante de couplage $J = 7,3$ Hz entre le proton anomérique H-1' et le proton H-2' d'une part, et par les données de la littérature, d'autre part. (Sous structure **D**) (Yu et al., 1999 et Sun et al., 2014).

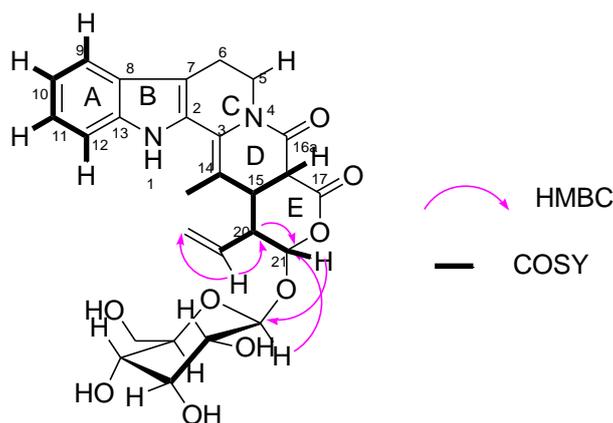


Schéma 22 : Quelques corrélations HMBC et COSY de GMB 14

L'ensemble de toutes ces informations, nous ont permis d'attribuer au composé GMB14 la structure **224** suivante, qui correspond à un alcaloïde indolo-monoterpénique, isolé et décrite ici pour la première fois, et trivialement nommé thomsonine A.

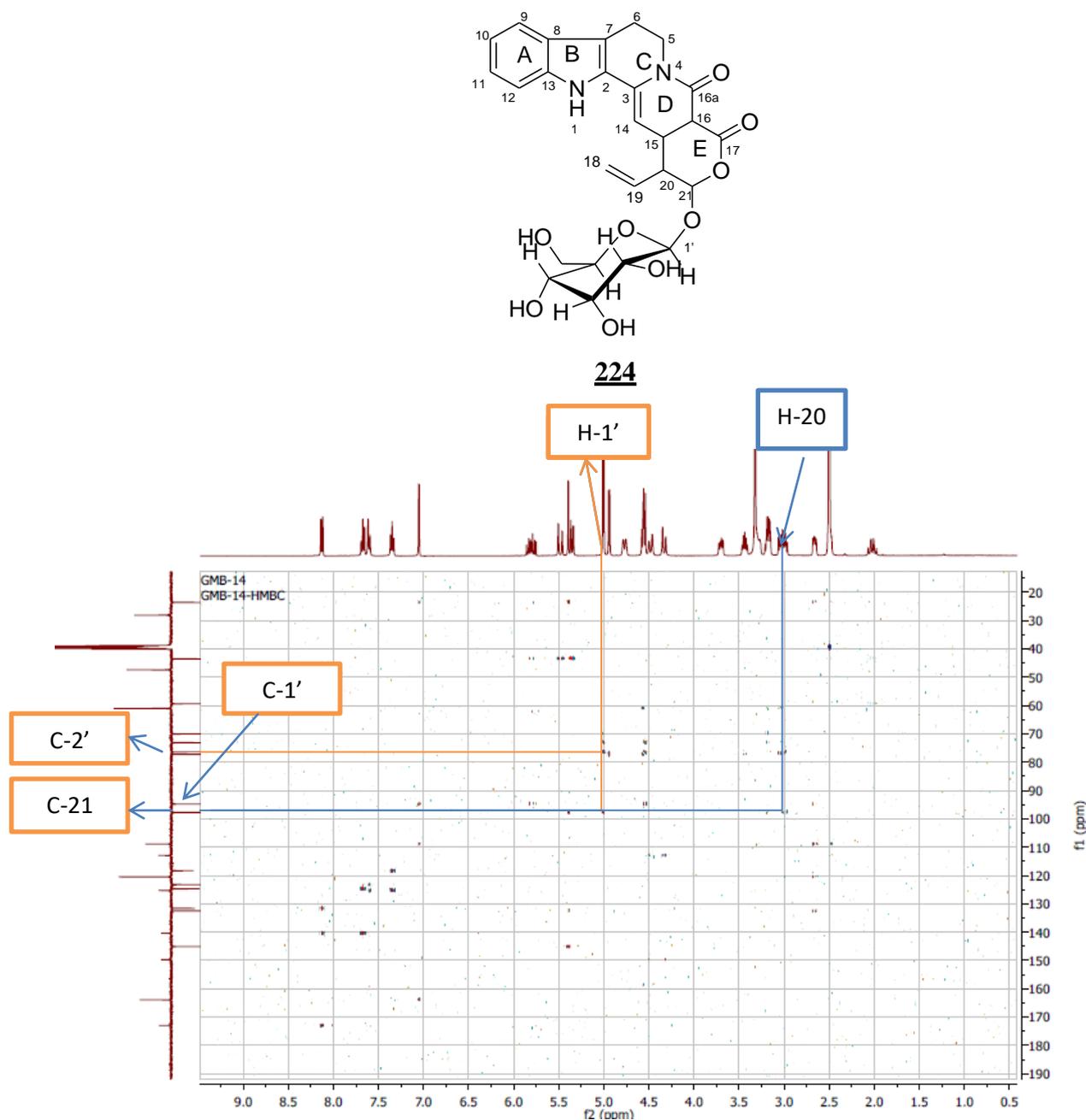


Figure 24 : Spectre HMBC partiel du composé GMB14

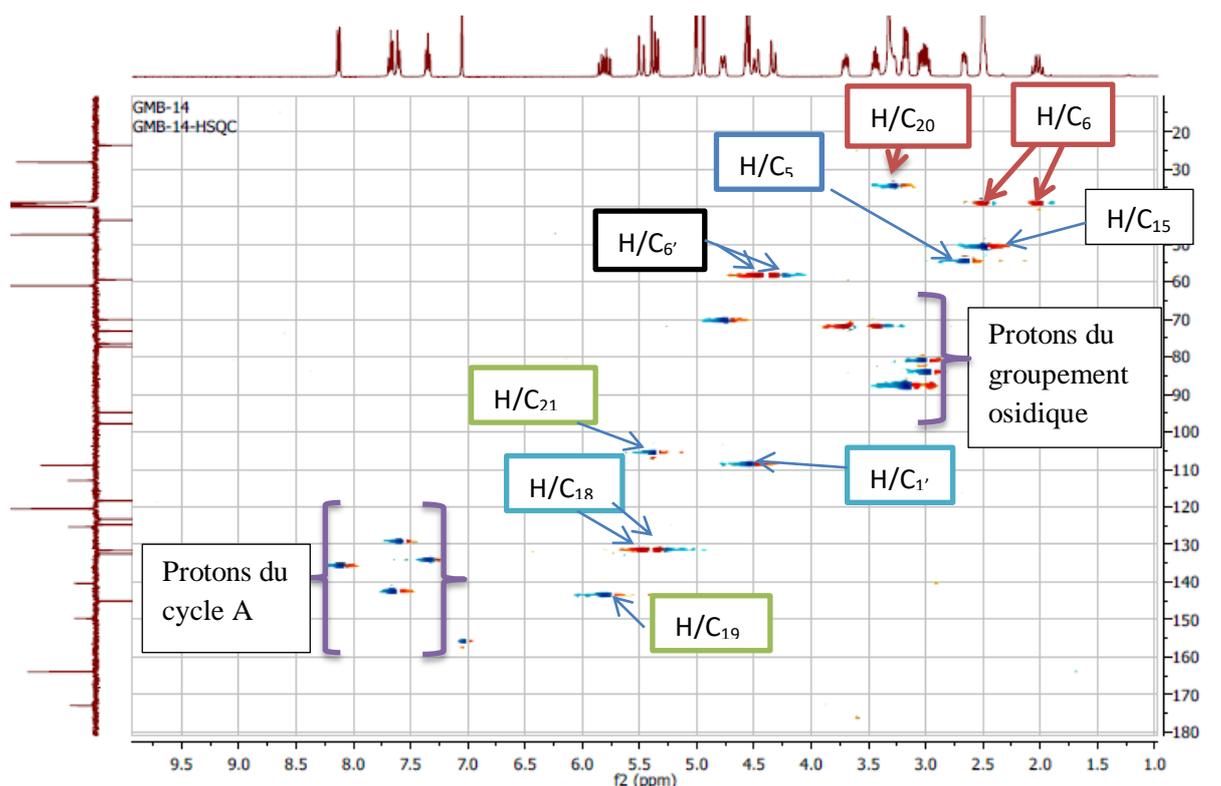


Figure 25: Spectre HSQC partiel du composé GMB14

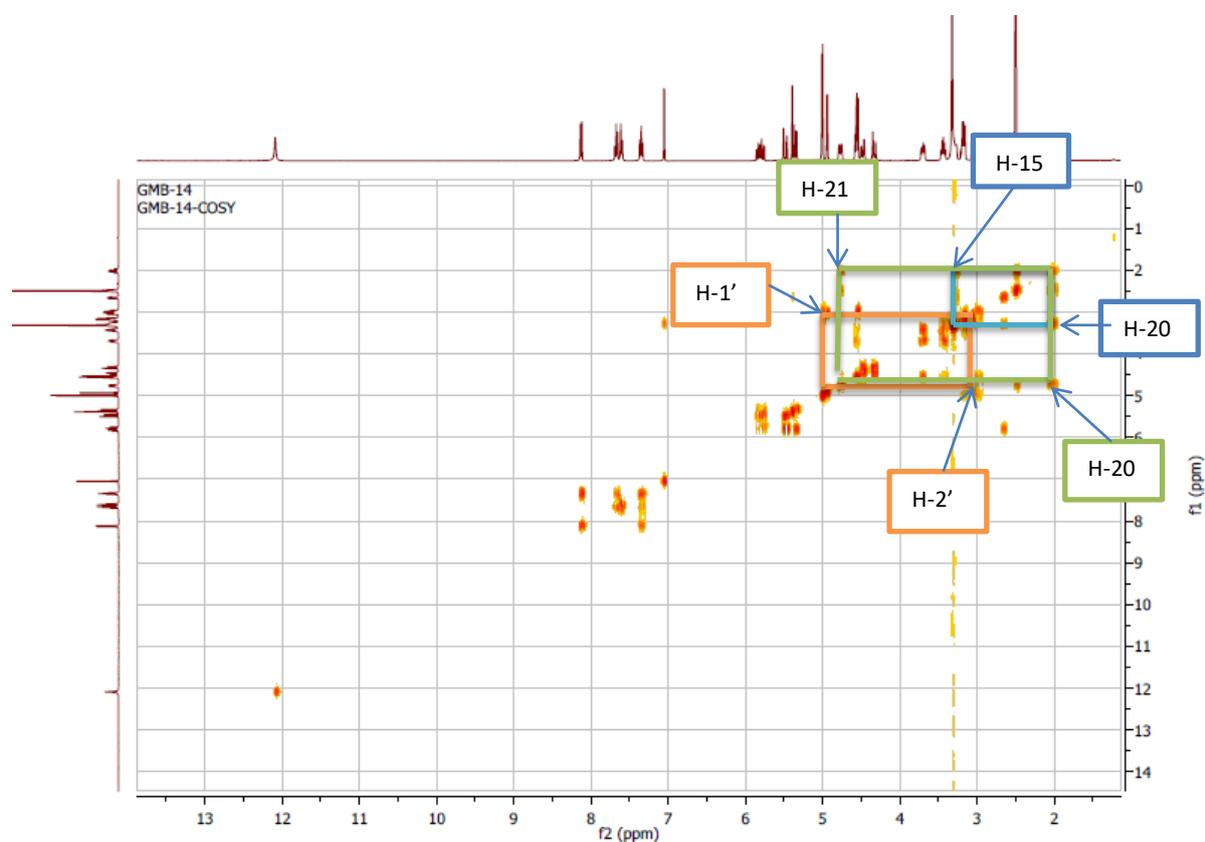


Figure 26 : Spectre COSY partiel du composé GMB14

Tableau 17: Données spectrales de RMN ^1H (400 MHz, DMSO $-d_6$) et RMN ^{13}C (DEPTQGP) (100 MHz, DMSO $-d_6$) du GMB14. Thomsonine A. 224

Positions	^{13}C en ppm	^1H en ppm [nH, m, J (Hz)]
1		12,01
2	143,7	
3	120,5	
4		
5	47,4	1,51 (1H, t, 11,6 Hz) ; 4,34 (1H, t, 11,6)
6	28,1	2,38 (1H, t, 1,2Hz); 2,02 (1H, t, 1,2)
7	112,9	
8	125,3	
9	132,4	8,12 (1H, dd, H-9, 1,2 et 8,5)
10	131,4	7,36 (1H, ddd, H-10, 1,2 et 8,0)
11	124,6	7,68 (1H, ddd, H-11, 1,2; 8,5 et 8,0)
12	145,7	7,61 (1H, dd, H-12, 1,2 et 8,5)
13	140,3	
14	108,4	7,05 (1H, d, H-14, 2,4)
15	43,4	4,31 (1H, t, 1,2)
16	59,5	6,01 (1H, d, 2,4)
17	172,9	
18	108,9	5,48 (1H, dd, 1,6 et 17,2 Hz); 5,31 (1H, dd, 1,6 et 10,4)
19	123,1	5,81 (1H, ddd, 17,2; 10,4 et 6,0)
20	23,7	3,11(1H, m)
21	97,7	4,55 (1H, d, 2,8)
22	163,5	
1'	94,7	5,46 (1H, d, 7,3)
2'	73,1	3,59 (1H, m)
3'	76,7	2,99 (1H, m)
4'	76,2	3,09 (1H, m)
5'	77,3	3,15 (1H, m)
6'	61,1	3,12; 3,18 (2H, m)

II.A.2.1.5. Détermination de la structure du composé GMF 5

Soluble dans le DMSO, le composé GMF5 a été isolé des feuilles de *M. batesii* Baker, dans le mélange acétate d'éthyle-méthanol (8:2), sous forme d'une poudre amorphe de couleur jaune. Il répond positivement au test de Dragendorff (coloration rouge-orangée, en présence d'une solution de tétraiodo-bismuthate de potassium) suggérant ainsi sa nature alcaloïdique (**Bassène, 2012**). Son spectre de masse sous ionisation ESI (SM-ESI), montre en mode positif le pic de l'ion moléculaire protoné $[M+H]^+$ à m/z 499 dont l'analyse à haute résolution $[M+H]^+$ à m/z 498,5237 est en accord avec la formule brute $C_{26}H_{30}N_2O_8$ (calc. pour $C_{26}H_{30}N_2O_8$ m/z 498,5237) renfermant 13 degrés d'insaturation, suggérant ainsi que le composé GMF5 aurait une structure fortement conjuguée. Comparée à celle du composé GMB 14, la formule brute du composé GMF5 présente deux atomes d'hydrogène de plus et un atome d'oxygène de moins, expliquant ainsi cette différence de 14 unités de masse observée entre les masses molaires moléculaires de ces deux composés.

Son spectre IR à transformée de Fourier (**fig. 27**) présente, entre autres, des bandes de vibration intenses caractéristiques des groupements hydroxyle à ν_{max} 3346 cm^{-1} , de carbonyle d'amide à ν_{max} 1682 cm^{-1} ainsi que des doubles liaisons C=C, des aromatiques et des oléfines à ν_{max} 1600 cm^{-1} .

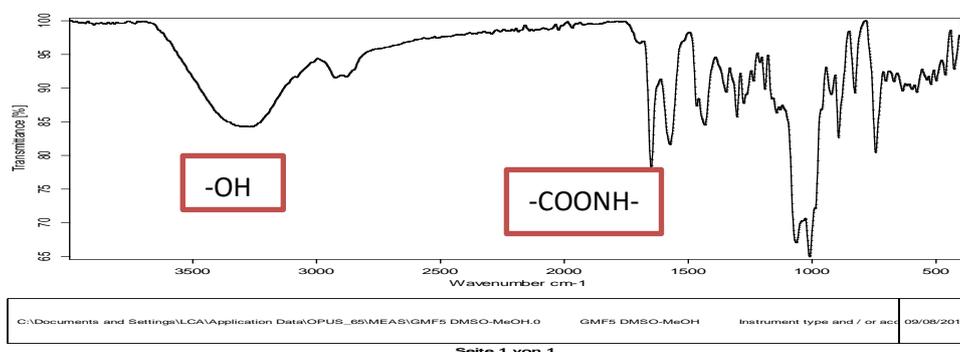
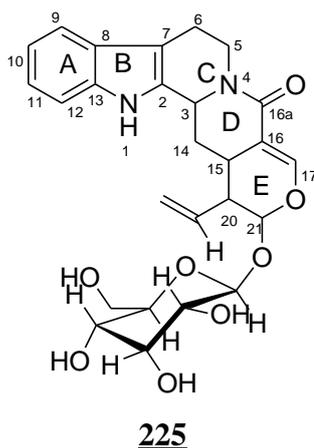


Figure 27: Spectre IR du composé GMF5

L'analyse de ses spectres de RMN ^{13}C (**fig. 28; tableau 18**), RMN 1H (**fig. 29 ; tableau 18**), à une et à deux dimensions en conjonction avec les spectres de masse et l'IR, nous a permis de lui attribuer la structure d'un alcaloïde de type indolo-monoterpénique correspondant à la structure **225** (**Yu et al., 1999 ; Dzoyem et al., 2007 et Sun et al., 2014 Jingyong et al., 2008**)



En effet, le spectre de RMN ^{13}C complètement découplé (**fig. 30. Tableau 18**) de ce composé, montre 26 signaux de carbone, correspondant aux 26 atomes de carbone de la formule brute. Ces 26 signaux ont été repartis grâce à la technique DEPTQGP (*DEPT Quaternary Gradient Pulse*), en:

- Six signaux de carbones quaternaires, tous hybridés sp^2 , parmi lesquels : un signal de carbonyle d'amide à δ_C 163,3 et les cinq autres résonant à δ_C 107,4 ; 108,3 ; 126,9 ; 134,4 et 135,5.

- Quinze signaux de méthines repartis en deux groupes dont : six hybridés sp^2 à δ_C 111,2 ; 117,5 ; 118,6 ; 120,8 ; 133,3 et 146,7, et neuf autres tous hybridés sp^3 incluant cinq signaux de carbone porteur d'oxygène à δ_C 98,8 ; 77,2 ; 76,7 ; 72,6 et 69,8; indiquant ainsi la présence au sein du composé GMF5, d'une unité osidique. Cette unité osidique a été identifiée au *D*-glucopyranoside grâce à la comparaison des déplacements chimiques de ces carbones à ceux de la littérature (**Yu et al., 1999 ; Dzoym et al., 2007 et Sun et al., 2014**). D'un signal d'un carbone d'hémiacétal à δ_C 95,6 et trois autres non porteurs d'oxygène à δ_C 52,5; 42,8 et 23,3.

- Cinq signaux de méthylènes dont un hybridé sp^2 à 119,8 et quatre hybridés sp^3 dont un porteur d'oxygène à δ_C 60,8 et les autres à δ_C 42,3 ; 25,8 et 20,5.

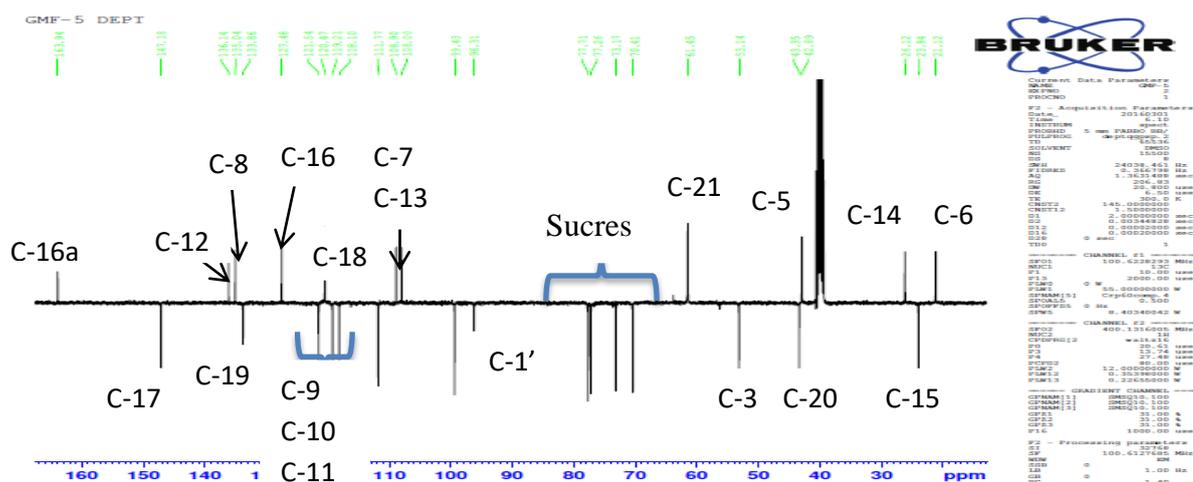


Figure 28 : Spectre *DEPTQGP* (*DEPT Quaternary Gradient Pulse*) (100 MHz, DMSO - d_6) du composé GMF5

L'ensemble de ces informations comparées à celles du composé GMB14, montre une très grande similitude entre les structures de ces deux composés.

En effet, comme éléments de similitude, on peut citer la présence de :

- D'un squelette de type β -carboline, dont les signaux caractéristiques résonnent à : δ_H 4,88 (1H, t, 12,0 Hz) / δ_C 52,5 (C-3), δ_H 4,36 (2H, t, 6,6 Hz) / δ_C 42,3 (C-5), δ_H 3,14 (2H, t, 6,6 Hz) / δ_C 20,5 (C-6), δ_H 7,33 (1H, d, 7,9 Hz) / δ_C 117,5 (C-9), δ_H 7,22 (1H, t, 7,6 Hz) / δ_C 120,8 (C-10), δ_H 7,24 (1H, d, 7,25 Hz) / δ_C 107,5 (C-11), δ_H 7,32 (1H, t, 7,4 Hz) / δ_C 135,5 (C-12) δ_C 118,2 (C-13), δ_C 134,4 (C-2), 126,9 (C-8), δ_C 108,3 (C-7)
- D'un squelette de type β -lactame, caractérisé par la présence des signaux à δ_H 1,93, 2,44 (2H, m) / δ_C 25,5 (C-14), δ_H 2,45 (1H, m) / δ_C 42,8 (C-15), δ_C 98,8 (C-16) et à δ_C 146,7 (C-17) ;
- Un groupement vinylique caractérisé par les signaux à δ_H 4,79 (1H, t, 12,6 Hz) / δ_C 118,2 (C-18) ; δ_H 5,42 (2H, t, 12,4) / (C-18) et δ_H 7,45 (1H, m) / δ_C 124,7 (C-19) ;
- Et une unité osidique de type *D*-glucopyranoside justifié par la présence des signaux caractéristiques à δ_H 5,81 (1H, m) / δ_C 102,7 (1'), δ_H 3,01 (1H, m) / 70,4 (C-2'), δ_H 3,15 (1H, m) / δ_C 74,1 (C-3'), δ_H 3,18 (1H, m) / δ_C 76,3 (C-4'), δ_H 3,56 (1H, m) / δ_C 77,2 (C-5'); δ_H 3,17 (2H, m) / δ_C 60,3 (C-6') (Sun et al., 2014 et Yu et al., 1999).

Les seules différences observées entre les structures de ces deux composés, résident en la disparition du carbonyle de la fonction ester à δ_C 172,9 en position C-17 de la structure de GMB14 et qui a été remplacé par un méthine oléfinique à δ_C 146,7 dans la structure de GMF5, d'une part et de la disparition du signal du carbone quaternaire hybridé sp^2 à δ_C 120,5 / C-3, du signal du méthines hybridés sp^2 à δ_C 108,5 / C-14 de la structure du composé

GMB14 qui ont respectivement, été remplacés par des signaux des carbones hybridés sp^3 à δ_C 52,5 / C-3 et à δ_C 25,5 / C-14 (Jingyong et al., 2008).

Ces informations sont confortées par les données du spectre de RMN 1H (Fig. 29 ; Tableau 18), du composé GMF5, sur lequel on observe un singulet d'un proton oléfinique à 7,34 (1H, s) / C-17, d'un triplet de un proton à δ_H 2,44 (2H, t, $J = 8,01$) / δ_C 25,5 (C-14) et d'un multiplet d'un proton à δ_H 2,45 (1H, m) / δ_C 42,8 (C-15)

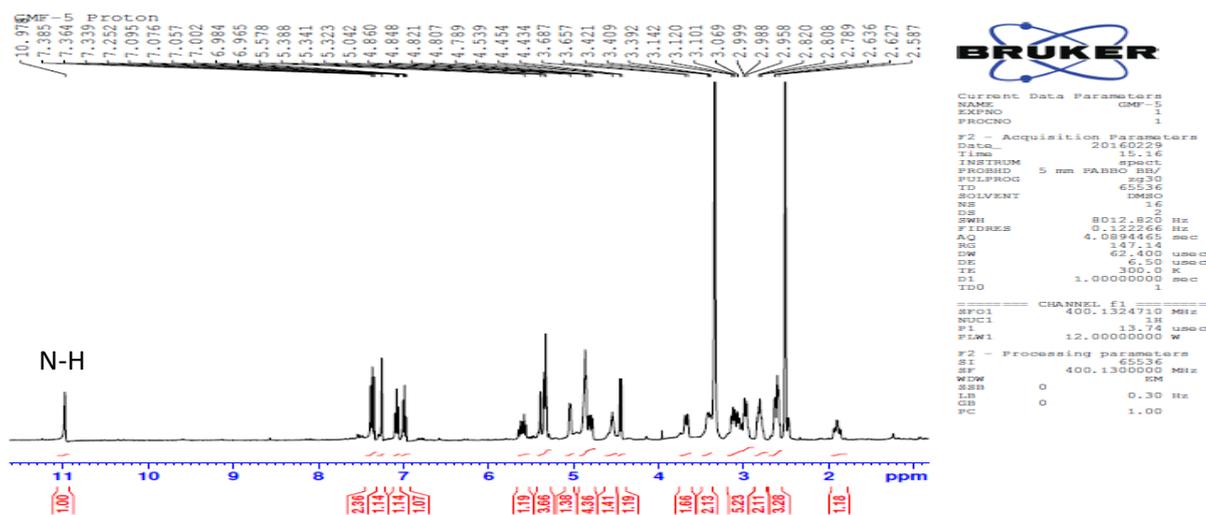


Figure 29 : Spectre de RMN 1H (400 MHz, DMSO $-d_6$) de GMF5

L'analyse du spectre HMBC (fig.30) de GMF5 fait ressortir entre autres les tâches de corrélation hétéronucléaire J^2 et J^3 entre le proton anomérique à δ_H 5,46 (C-1') et le carbone C-21 d'une part, et entre le proton H-20 (δ_H 2,59) et le signal du carbone C-21. Ces informations permettent de localiser le groupement osidique en C-21 dont le signal apparaît à δ_C 97,4.

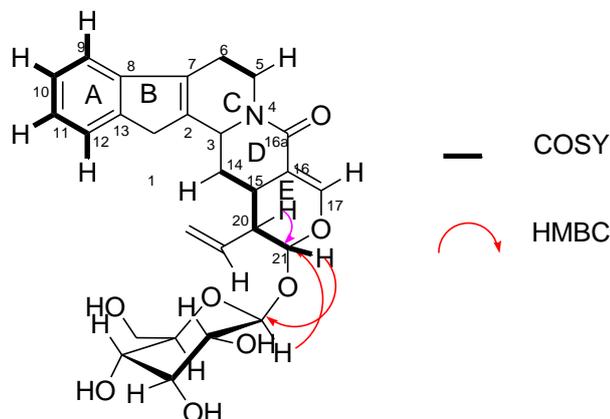
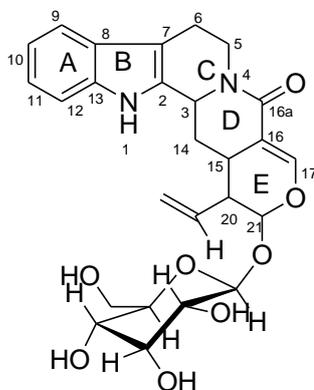


Schéma 23 : Quelques corrélations HMBC et COSY de GMF5

L'ensemble de toutes ces données spectrales a permis d'attribuer au composé GMF5 la structure **225** suivante, qui est celle d'un alcaloïde indolo-monoterpenique correspondant à la C-21-O-D-glucopyranosylstrictosamide, trivialement nommé mostueatecine A, isolé et décrit ici pour la première fois.



225 Mostueatecine A

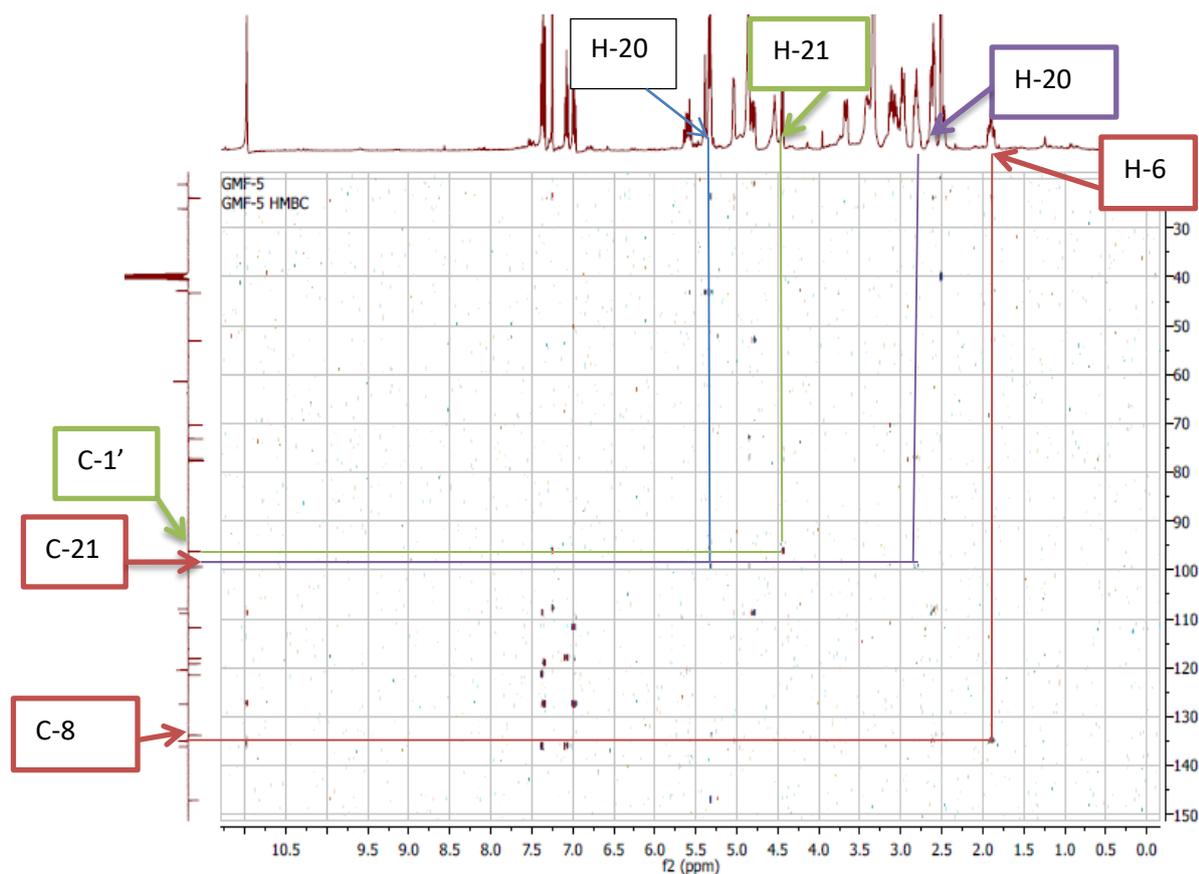


Figure 30 : Spectre HMBC du composé GMF5

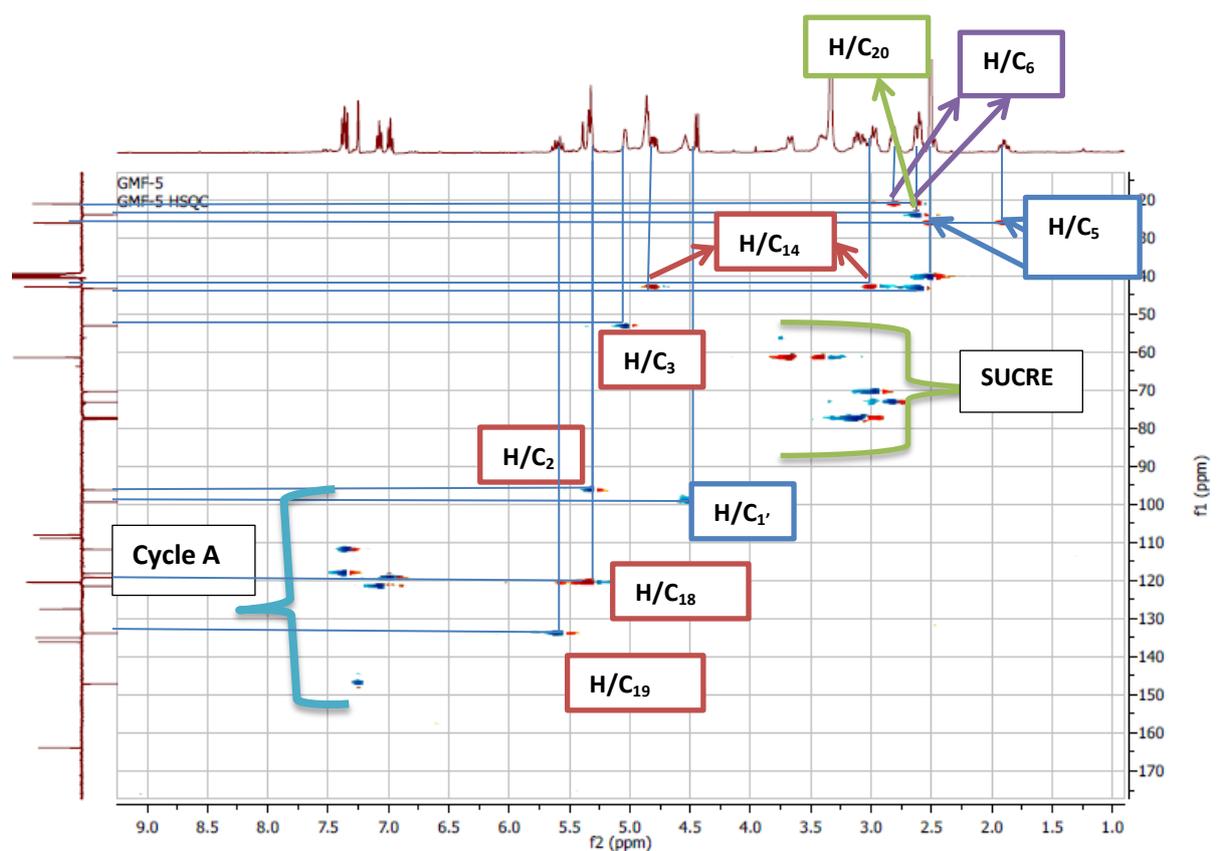


Figure 31 : Spectre HSQC du composé GMF5

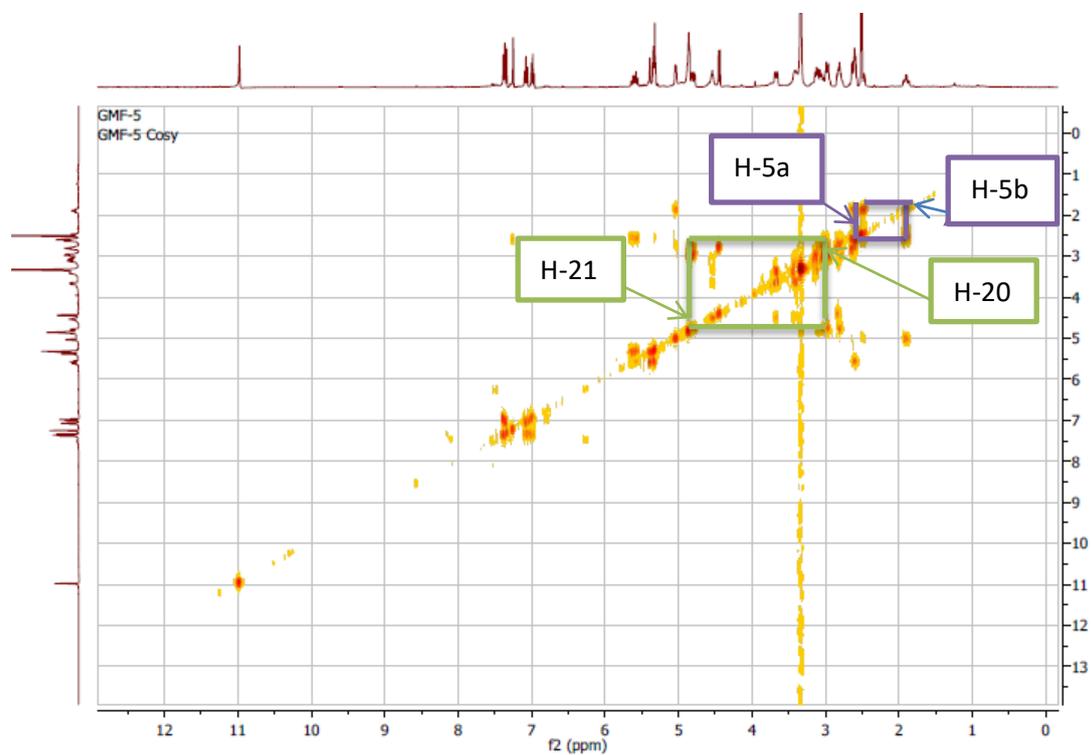


Figure 32 : Spectre COSY du composé GMF5

Tableau 18: Données spectrales de RMN ^1H (400 MHz, DMSO $-d_6$) et RMN ^{13}C (100 MHz, DMSO $-d_6$) du composé GMF5. 225

Positions	^{13}C en ppm	^1H en ppm [nH, m, J (Hz)]
1		10 (1H, s)
2	134,4	
3	52,5	4,88 (1H, t, 12,0)
4		
5	42,3	4,46 (2H, t, 6,5)
6	20,5	3,14 (2H, t, 6,5)
7	108,3	
8	126,9	
9	117,5	7,33 (1H, d, 7,9)
10	120,8	7,22 (1H, t, 7,6)
11	107,5	7,25 (1H, t, 7,5)
12	135,5	7,32 (1H, d, 7,4)
13	118,6	
14	25,5	1,93 ; 2,44 (2H, m)
15	42,8	2,45 (1H, m)
16	98,8	
17	146,7	7,34 (1H, s)
18	118,2	5,49 (2H, t, 12,4)
19	133,3	6,95 (1H, m)
20	42,8	2,59 (1H, m)
21	97,4	4,58 (1, m)
16a	163,3	
1'	95,6	5,59 (1H, d, 7,3)
2'	72,6	2,99 (1H, m)
3'	69,8	3,09 (1H, m)
4'	76,7	3,15 (1H, m)
5'	60,8	3,12 (2H, m)
6'	77,2	3,56 (1H, m)

II.A.2.1.6. Détermination de la structure du composé GMB 11

Le composé GMB11 a été isolé des tiges de *M. batesii* Baker. Il précipite dans le mélange acétate d'éthyle-méthanol (13:7), sous forme de poudre amorphe de couleur jaune-orangée. Soluble dans le DMSO, ce composé donne une réaction positive respectivement avec les réactifs de Dragendorff et de Valser-Mayer, suggérant ainsi sa nature alcaloïdique (Bassène, 2012). Son spectre de masse sous ionisation en ESI (Fig. 33) présente en mode positif le pic de l'ion moléculaire protoné $[M+H]^+$ à m/z 835,3 dont l'analyse à la haute résolution $[M+H]^+$ m/z 834,7719 est en accord avec la formule brute $C_{38}H_{46}N_2O_{19}$, m/z 835,3456 (calc. $C_{38}H_{46}N_2O_{19}$, 834,7719) renfermant 17 degrés d'insaturation. Ce haut degré d'insaturation, plaide en faveur d'une structure fortement aromatique.

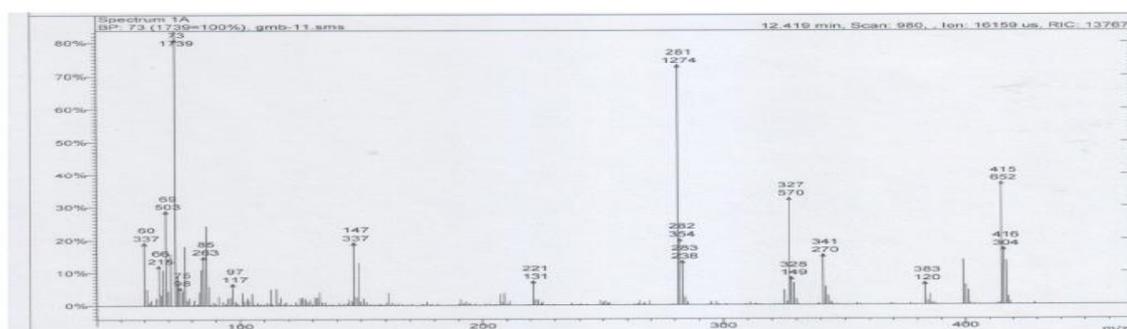


Figure 33 : spectre de masse en ESI de GMB11

Son spectre Infra Rouge à transformée de Fourier (fig. 34), présente des bandes de vibration intenses correspondant au groupement hydroxyle à ν_{max} 3336 cm^{-1} , aux carbonyles des amides et des esters, respectivement à ν_{max} 1682 cm^{-1} et à ν_{max} 1739 cm^{-1} et enfin aux doubles liaisons C=C des aromatiques et des oléfines à ν_{max} 1600 cm^{-1} .

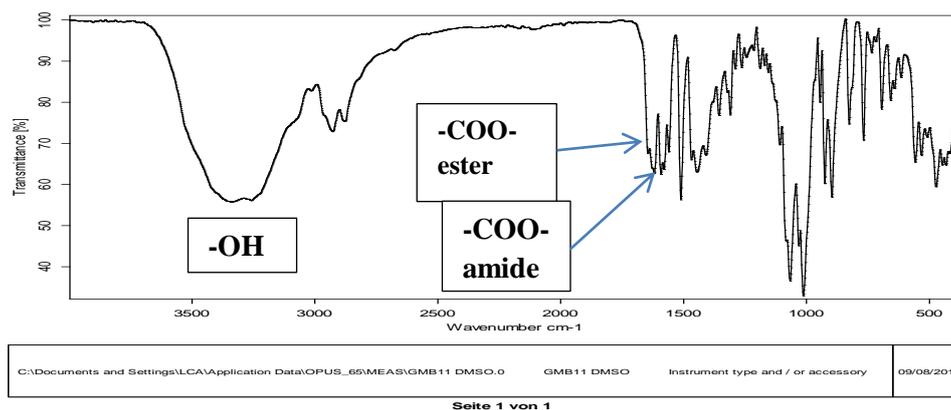


Figure 34 : Spectre IR du composé GMB11

Sur son spectre de RMN ^{13}C complètement découplé (fig. 35 et 36, tableau 19), on observe 38 signaux de carbone, qui correspondent aux 38 atomes de carbone figurants dans sa

formule brute. L'analyse de ces signaux au moyen de la technique DEPTQGP (*DEPT Quaternary Gradient Pulse*), nous a permis de mettre en évidence au sein de ce composé, la présence de:

- 11 signaux de carbones quaternaires, parmi lesquels : deux carbonyles à δ_C 172,8 et à δ_C 163,8 attribuable respectivement aux carbonyles des fonctions ester et amide ; huit carbones tous hybridés sp^2 dont un oxygéné à δ_C 149,6 et les autres à δ_C 125,2 ; 140,2 ; 112,8 ; 120,4 ; 140,2 ; 108,8 et 145,1 et un carbone hybridé sp^3 à δ_C 103,9 correspondant au carbone d'un hémiacétal.

- 19 signaux de méthines, parmi lesquels : cinq carbones tous hybridés sp^2 à δ_C 145,1 ; 131,2 ; 124,7 ; 123,2 et 118,1 et quatorze carbones tous hybridés sp^3 et porteurs oxygène à δ_C 97,7 ; 94,7 ; 91,5 ; 82,4 ; 77,2 ; 76,9 ; 76,9 ; 74,1 ; 76,3 ; 73,3 ; 72,7 ; 71,5 ; 70,4 et 69,3.

- 8 signaux de méthylènes incluant : un hybridé sp^2 à δ_C 121,2 et six hybridés sp^3 porteurs d'oxygène à δ_C 69,7 ; 62,1 ; 61,9 ; 60,9 47,3 et un non porteur d'oxygène à δ_C 23,6.

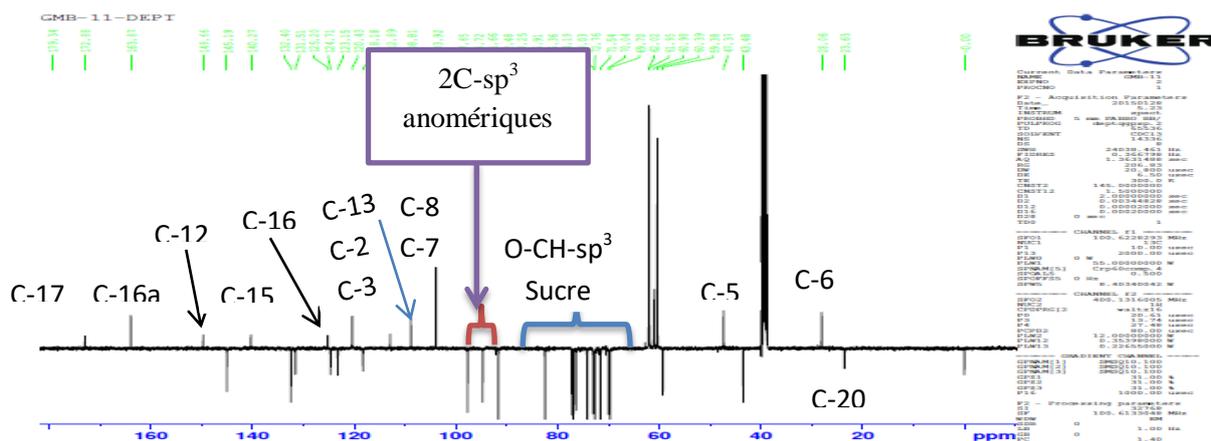


Figure 35 : Spectre *DEPTQGP* (*DEPT Quaternary Gradient Pulse*) (100 MHz, $DMSO-d_6$) du composé GMB11

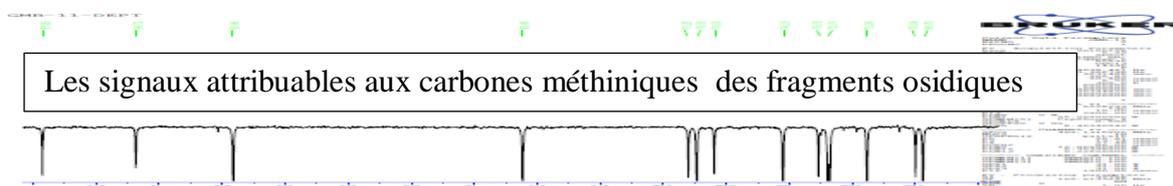


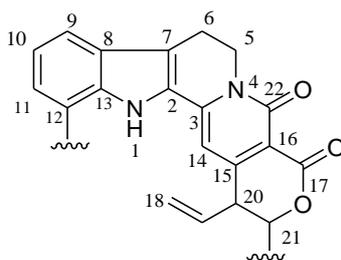
Figure 36 : Spectre *DEPTQGP* (*DEPT Quaternary Gradient Pulse*) élargi (100 MHz, $DMSO-d_6$) du composé GMB11 (zone de 60ppm à 80ppm)

Associée aux spectres de RMN 1H (fig. 37 et 38 ; tableau 19) et HSQC (fig. 39), l'analyse des données du spectre de RMN ^{13}C (fig. 35 et 36, tableau 19) de ce composé

comparées à celles du composé GMB14, révèle de nombreuses similitudes, notamment la présence au sein de GMB11 :

- D'un squelette de type β -carboline, dont les signaux caractéristiques résonnent à : δ_C 125,2 (C-2), 140,2 (C-3), δ_H 4,52 (2H, t, 6,6 Hz) / δ_C 47,3 (C-5), δ_H 3,20 (2H, t, 6,6 Hz) / δ_C 28,1 (C-6), δ_C 112,8 (C-7), 120,4 (C-8), δ_H 7,51 (1H, d, 8,1 Hz) / δ_C 97,6 (C-9), δ_H 8,15 (1H, t, 8,1Hz) / 124,7 (C-10), δ_H 7,53(1H, d, 8,1Hz) / δ_C 118,1 (C-11), δ_C 149,6 (C-12) et 140,2 (C-13),
- D'un squelette de type β -lactame, caractérisé par la présence des signaux à δ_H 7,02(1H, s) / δ_C 94,7 (C-14), δ_C 145,1 (C-15), δ_C 108,8 (C-16) et à δ_C 163,8 (C-22) ;
- D'un squelette de type β -lactone, dont les signaux apparaissent à δ_C 172,8 (C-17), δ_H 3,60 (1H, m) / δ_C 23,6 (C-20) et δ_H 5,38 (1H, d, 12,2) / δ_C 103,9 (C-21) ;
- Un groupement vinylique caractérisé par les signaux à δ_H 5,15 et 5,21 (2H, t, 12,6Hz) / δ_C 118,2 (C-18) et δ_H 7,45 (1H, m) / δ_C 124,7 (C-19) ;
- Et une unité osidique de type *D*-glucopyranoside justifié par la présence des signaux caractéristiques à δ_H 5,81 (1H, m) / δ_C 102,7 (1'), δ_H 3,01 (1H, m) / 70,4 (C-2'), δ_H 3,15 (1H, m) / δ_C 74,1 (C-3'), δ_H 3,18 (1H, m) / δ_C 76,3 (C-4'), δ_H 3,56 (1H, m) / δ_C 77,2 (C-5'); δ_H 3,17 (2H, m) / δ_C 60,3 (C-6') (Sun et al., 2014 ; Sun et al., 2007 et Yu et al., 1999).

Toutes ces informations montrent que le composé GMB11 a le même squelette de base de type nucléoficine B (Sous structure **A**) que le composé GMB14 (Dzoyem et al., 2007 et Jingyong et al., 2008).



Sous structure **A**

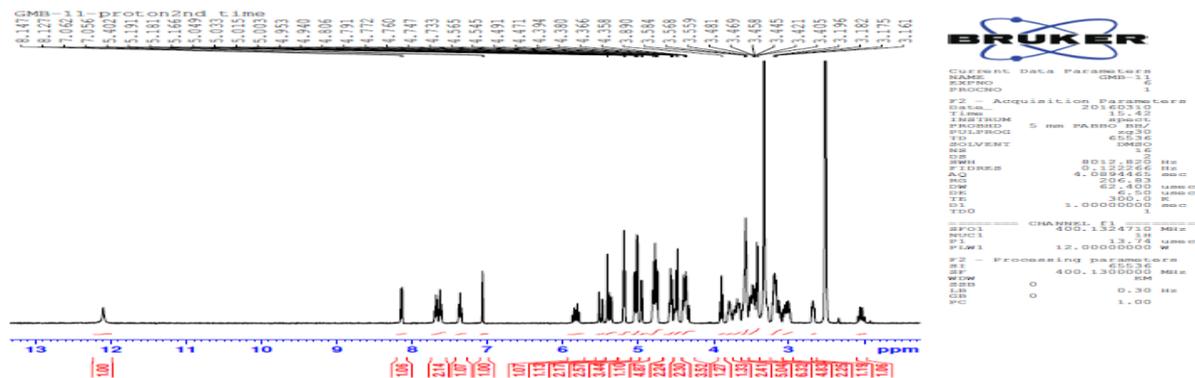


Figure 37 : Spectre de RMN ^1H (400 MHz, $\text{DMSO}-d_6$) de GMB11

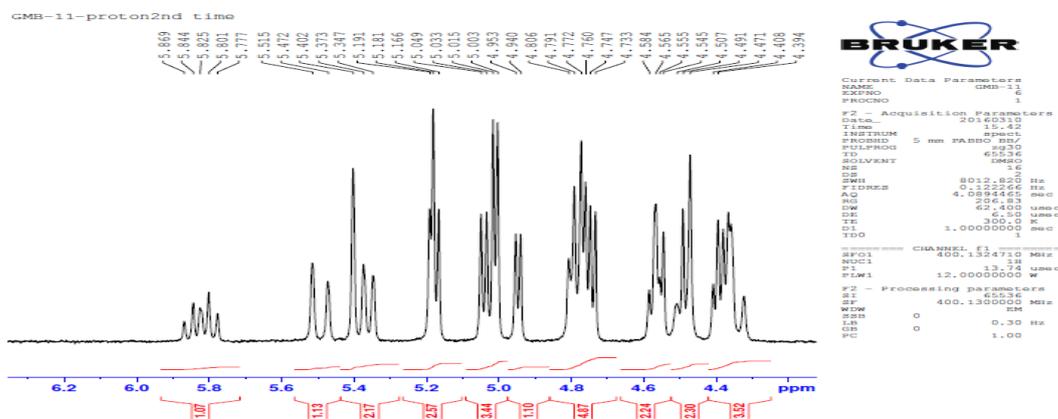


Figure 38 : Spectre élargit de RMN ^1H (400 MHz, $\text{DMSO}-d_6$) de GMB11

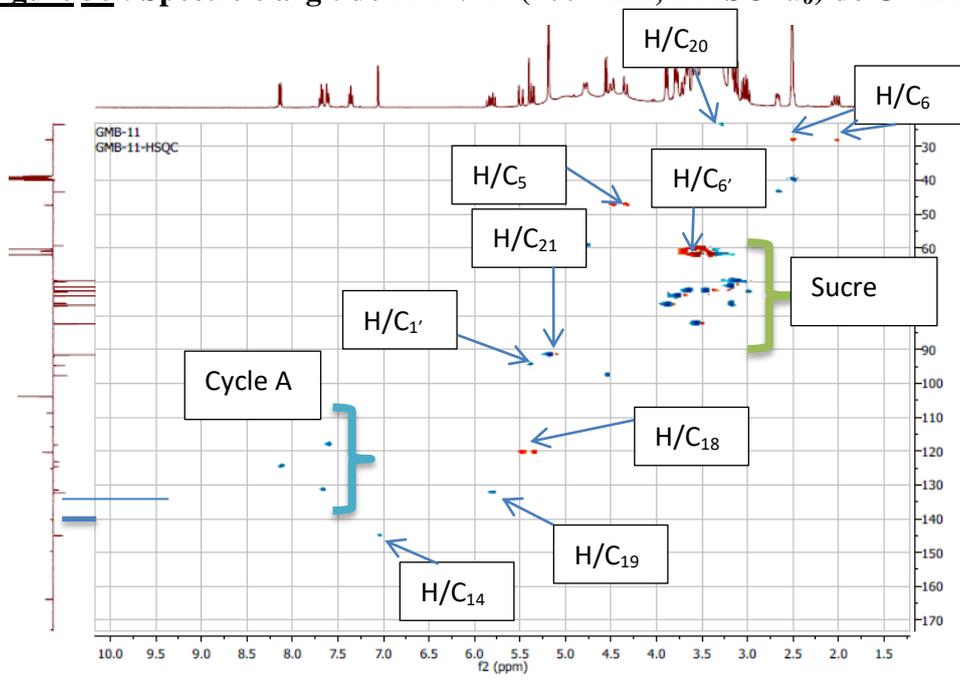
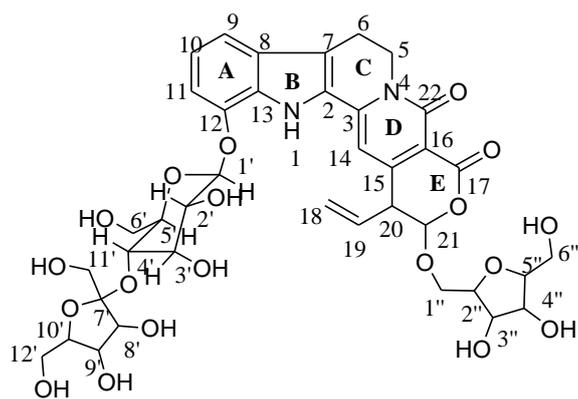


Figure 39 : Spectre partiel HSQC du composé GMB11

Toutefois, la seule différence entre ces deux composés, réside en la présence sur le spectre de RMN ^{13}C du composé GMB11 de 12 signaux supplémentaires de carbone tous hybridés sp^3 et porteurs d'oxygène, à δ_{C} 103,9, 76,9, 72,7, 82,4, 61,9, 62,1, 69,7, 76,8, 76,9, 71,5, 82,4, 60,9, correspondant à deux unités osidiques. La comparaison de leurs déplacements chimiques, avec ceux décrits dans la littérature, permet d'identifier ces deux unités osidiques à la *D*-fructofuranosyde (Sun et al., 2014 ; Wang et al., 1999 et Yu et al., 1999).. Ceci a été confirmé par l'analyse des spectres de RMN ^1H et de HSQC sur lesquels les signaux des protons d'oxyméthine et d'oxyméthylène apparaissent respectivement δ_{H} 3,19 (1H, m) / δ_{C} 76,9(C-8'), δ_{H} 3,11 (1H, m) / δ_{C} 72,7 (C-9'), δ_{H} 3,66 (1H, m) / δ_{C} 82,4 (C-10'), δ_{H} 3,14 (1H, m) / δ_{C} 61,9 (C-11'), δ_{H} 3,14 ; 3,19 (2H, m) / δ_{C} 62,1(C-12'), δ_{H} 3,81 ; 3,77 (2H, m) / δ_{C} 69,7 (C-1''), δ_{H} 3,48 (1H, m) / δ_{C} 76,8 (C-2''), δ_{H} 3,71 (1H, m) / δ_{C} 76,9 (C-3''), δ_{H} 3,81 (1H, m) / δ_{C} 71,5 (C-4''), δ_{H} 3,89 (1H, m) / δ_{C} 82,4 (C-5'') et δ_{H} 3,81 (1H, m) / δ_{C} 60,9 (C-6'').

A ce stade de la discussion, il nous restait donc à déterminer les positions respectives des trois unités osidiques (constitués de deux unités de *D*-fructofuranosyl et d'une unité de *D*-glucopyranosyl) sur le squelette de base de type nucléoficine B. Pour y parvenir, nous avons eu recours à l'analyse du spectre HMBC (fig. 41 et 42). En effet, les corrélations J^2 et J^3 observées entre le proton H-1'' à δ_{H} 3,81 ; 3,77 (2H, m) et le carbone (C-21) résonant à δ_{C} 103,9, montrent que la première unité de la *D*-fructofuranosyl est fixée sur le carbone C-21. Le déplacement chimique du carbone C-12 à δ_{C} 149,6 très élevé laisse présager que ce carbone serait lié à un hétéroatome qui ici correspondrait à un atome d'oxygène du groupement osidique ; ces informations couplées à celles de la littérature, nous ont permis de positionner la *D*-glucopyranosyl sur le carbone C-12 (Sun et al., 2014). Il nous restait à déterminer la position de la deuxième unité de *D*-fructofuranosyl. Elle a été localisée en position C-4' de la *D*-glucopyranosyl grâce à la corrélation observée sur le spectre de HMBC, entre le signal du proton H-4' à δ_{H} 3,18 et le signal du carbone hémi-acétalique C-7' résonant à δ_{C} 103,9 de la deuxième unité de la *D*-fructofuranosyde.

Toutes ces informations, nous ont permis d'attribuer la structure **226** au composé GMB11, qui correspondant au 21-furanosyl-12-*D*- β -glucopyranosyl-furanosyl-naucleoficine B. Un alcaloïde indolo-monoterpénique, isolé et décrite ici pour la première fois trivialement nommé mostueatecine B **226**.



Mostueatecine B 226

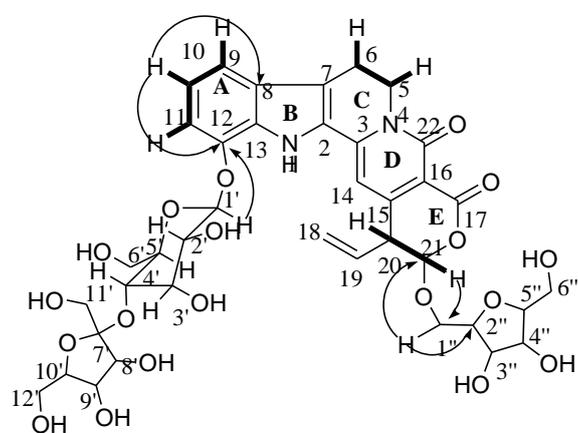


Schéma 24 : quelques corrélations HMBC et COSY du composé GMB11

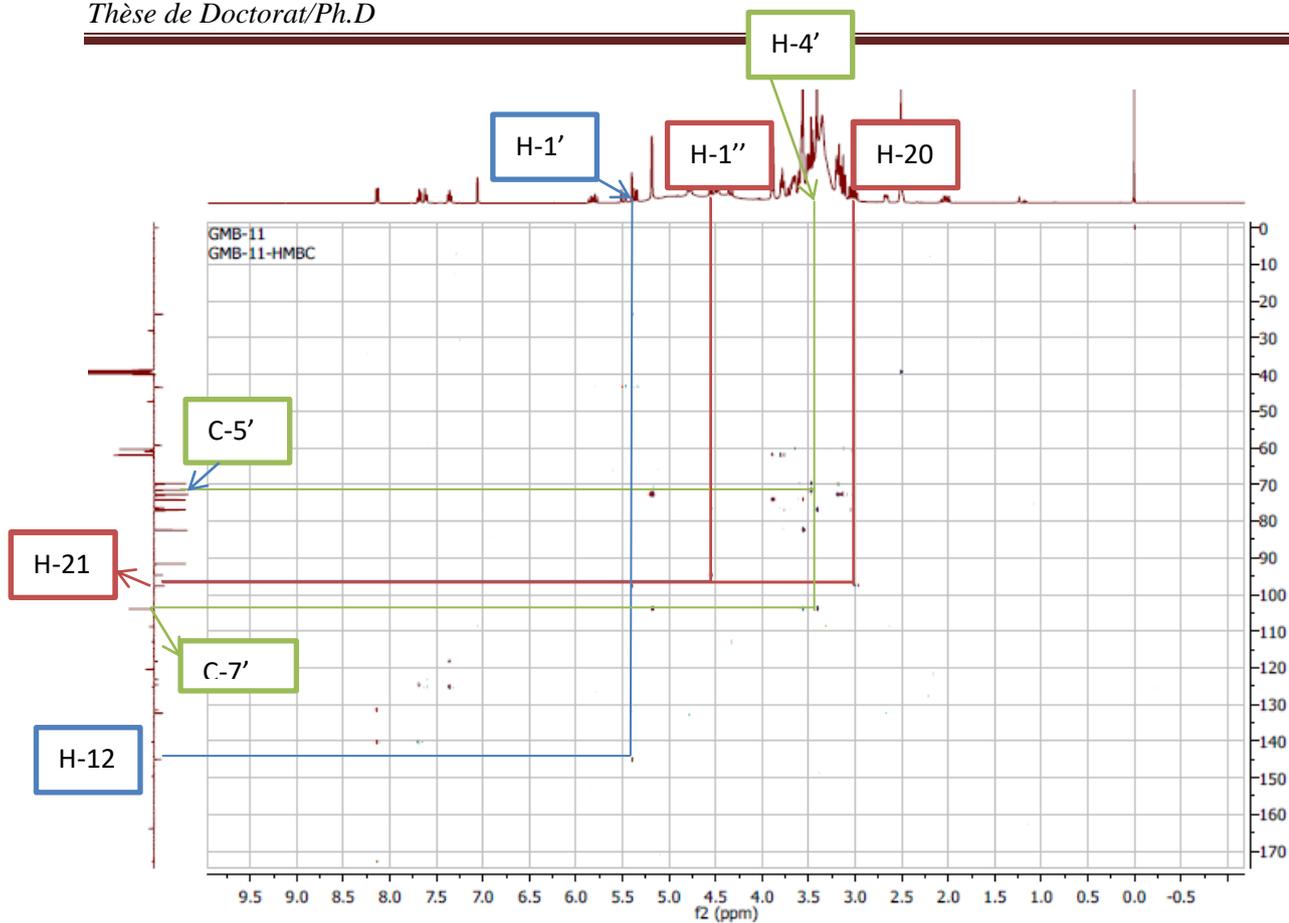


Figure 41 : Spectre HMBC du composé GMB11

GMB-11-COSY

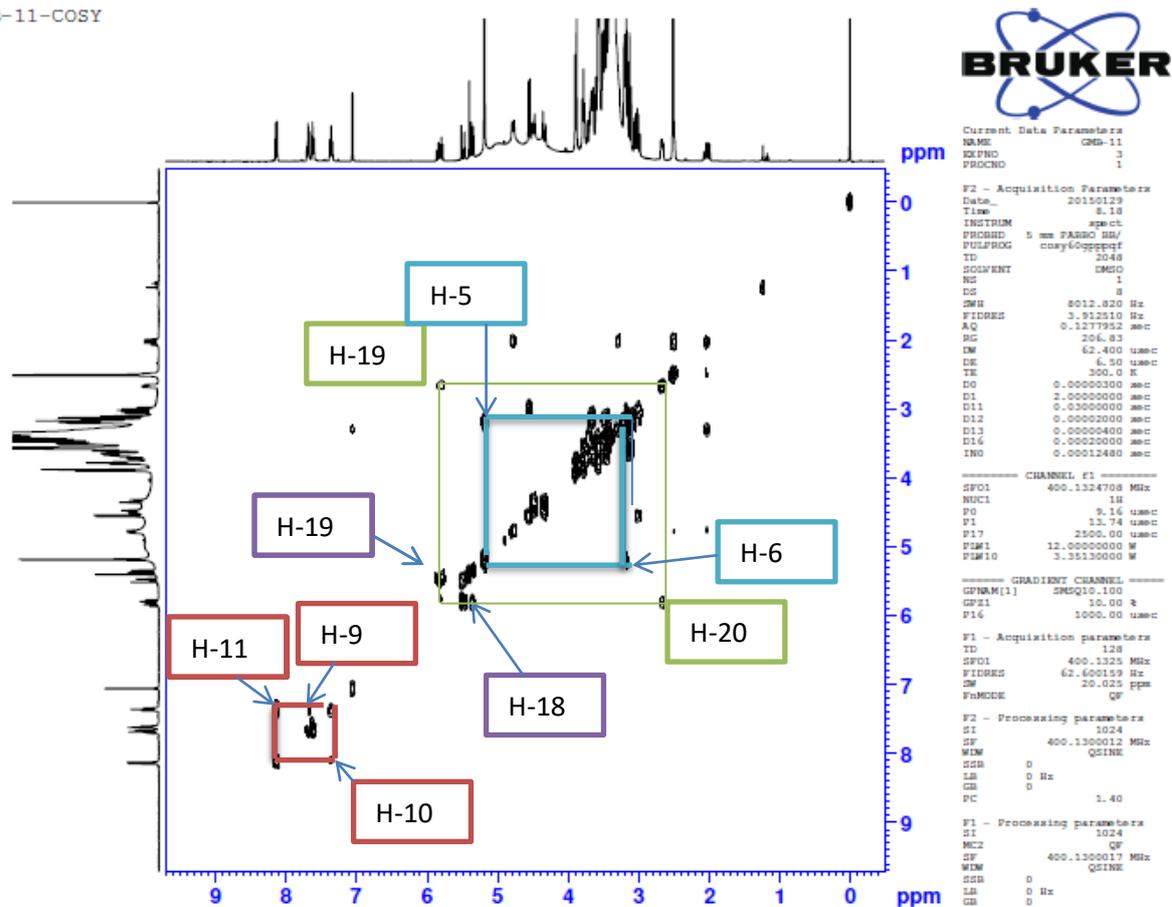


Figure 43 : Spectre COSY du composé GMB11

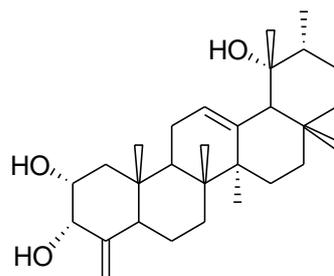
Tableau 19 : Données spectrales de RMN ^1H (400 MHz, DMSO $-d_6$) et RMN ^{13}C (100 MHz, DMSO $-d_6$) de GMB11. 226

Positions	^{13}C en ppm	^1H en ppm [nH, m, J (Hz)]
1		12,13(1H,s)
2	125,2	
3	140,2	
4		
5	47,3	4,52(2H, t, 6,6)
6	28,1	3,20(2H, t, 6,6)
7	112,8	
8	120,4	
9	97,6	7,51(1H, d, 8,1)
10	124,7	7,53 (1H, t, 8,1)
11	118,1	8,15 (1H, d, 8,1)
12	149,6	
13	140,2	
14	94,7	7,02(1H, s)
15	145,1	
16	108,8	
17	172,8	
18	118,2	5,15 et 5,21 (1H, t, 12,6)
19	124,7	7,45 (1H, m)
20	23,6	3,60 (1H, m)
21	103,9	5,38(1H, d, 12,2)
22	163,8	
1'	102,7	5,81 (1H, m)
2'	70,4	3,01 (1H, m)
3'	74,1	3,15 (1H, m)
4'	76,3	3,18 (1H, m)
5'	77,2	3,56 (1H, m)
6'	60,3	3,13 ; 3,17 (2H, m)
7'	103,9	
8'	76,9	3,19 (1H, m)
9'	72,7	3,11 (1H, m)
10'	82,4	3,66 (1H, m)
11'	61,9	3,14 (1H, m)
12'	62,1	3,14 ; 3,19 (2H, m)
1''	69,7	3,81 ; 3,77 (2H, m)
2''	102,8	3,48 (1H, m)
3''	76,9	3,71 (1H, m)
4''	71,5	3,81 (1H, m)
5''	82,4	3,89 (1H, m)
6''	60,9	3,81 (1H, m)

II.A.2.2. Les Triterpenes

II.A.2.2.1. Détermination de la structure GMT9

Ce composé a été isolé des feuilles et des tiges de *M. thomsonii* (Oliv.) Benth. Il précipite sous forme de poudre amorphe de couleur blanche dans le mélange *n*-Hexane-EtOAc (1:1). Soluble dans le DMSO, il réagit positivement au réactif de Lieberman-Burchard suggérant ainsi sa nature triterpenique.



Le spectre de RMN ^{13}C (DMSO- d_6 , 100 MHz) (**Fig. 44, tableau 20**), dispose de 29 signaux de carbone. L'analyse de ces 29 signaux de carbone au moyen de la technique *DEPTQGP*, nous a permis d'observer :

- Cinq signaux méthyles angulaires entre δ_C 16,2 et δ_C 26,9 ;
- Huit méthylènes hybridés sp^3 qui résonnent entre δ_C 17,6 et δ_C 47,6 et un autre hybridé sp^2 résonnant à δ_C 104,5.
- Sept signaux méthines parmi lesquels un hybridé sp^2 à δ_C 127,4 (H-12) et six autres hybridés sp^3 dont deux oxyméthines à δ_C 78,7 et δ_C 72,5 attribuables respectivement aux carbones C-2 et C-3 et quatre autres signaux de méthine résonnant à δ_C 47,2 ; 47,3 ; 53,2 ; 55,7.
- six signaux de carbones quaternaires, dont deux sont hybridés sp^2 à δ_C 151,6 et δ_C 139,3, sont attribuables respectivement, aux carbones C-4 et C-13, et les six autres carbones tous hybridés sp^3 à δ_C 31,1 ; 32,2 ; 37,8 ; 41,6 ; 43,8 ; 44,0.

La comparaison de toutes ces données spectrales du composé GMT9 à celles du composé GMT5 montre de nombreuses similitudes, la seule différence réside en l'absence du signal sur le spectre de RMN ^{13}C (**fig. 45, tableau 20**) du composé GMT9, bien que présent sur le spectre du composé GMT12 à δ_C 173,9 et la présence sur le spectre RMN ^{13}C (**fig. 44, tableau 20**) du signal à δ_C 31,2 attribuable à un méthyle angulaire qui résulterait de la réduction de la fonction acide présent dans la structure du composé GMT12.

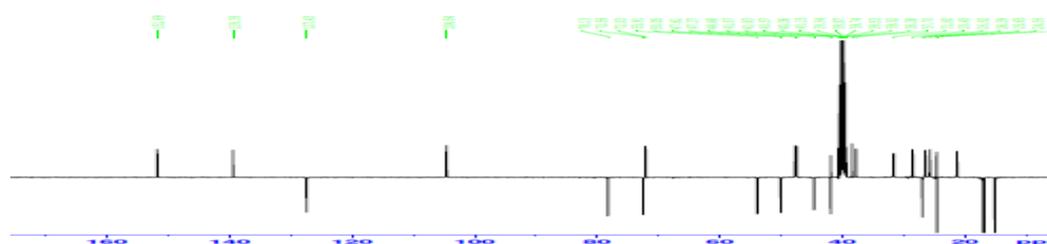


Figure 44 : Spectre de *DEPTQGP* (100 MHz, DMSO -*d*₆) de GMT 9

Ces informations sont corroborées par l'analyse du spectre de RMN ¹H (fig. 45, tableau 20), qui permet de noter la disparition du singulet à δ_H 12,22 de la fonction acide carboxylique en faveur d'un singulet de trois protons à δ_H 1,22 caractéristique des protons du groupement méthyle angulaire H-28 du squelette triterpénique pentacyclique.

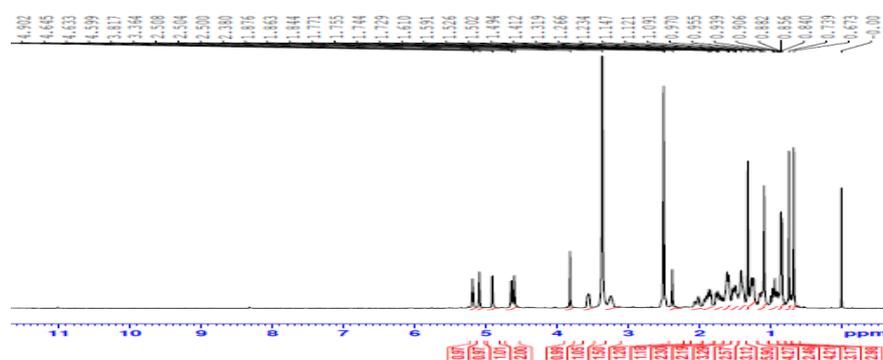
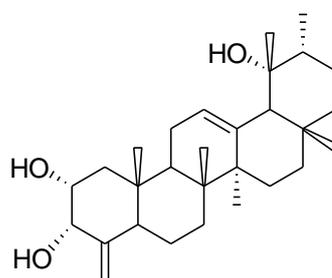


Figure 45 : Spectre de RMN ¹H (400 MHz, DMSO -*d*₆) de GMT 9

L'ensemble de toutes ces données spectrales nous a permis d'attribuer à GMT9 la structure 227 qui est celle de la 2 α , 3 α , 19 α -trihydroxy-24-norurs-4(23),12-diene, composé nouveau isolé et décrit ici pour la première de *M. thomsonii*.



227

Figure 46 : Spectre COSY (DMSO -*d*₆) de GMT 9

Tableau 20: Données spectrales de RMN ^1H (DMSO- d_6 , 400 MHz) et RMN ^{13}C (DMSO- d_6 , 100 MHz) de GMT9 (2a, 3a, 19a-trihydroxy-24-norurs-4(23), 12-diene) 227

N°C	δ_H en ppm (nH, m, J en Hz)	δ_C en ppm
1	1,76; 1,67 (2H, t)	36,4
2	3,45 (1H, d, 1)	72,5
3	3,77 (1H, dd; 12; 4,5)	78,7
4		151,6
5	2,05 (1H, d)	49,9
6	1,52 ; 1,56 (2H, t)	31,3
7	2,04 (2H,t)	46,9
8		39,8
9	1,69 (1H, d; 7,5)	41,7
10		37,9
11	2,06 (1H, s)	20,9
12	5,28 (1H, d; 4)	127,4
13		139,3
14		41,6
15	1,22; 2,34 (2H, dt)	26,3
16	2,05 ;3,12 (2H, dt)	41,6
17		47,8
18	2,00 (1H, dd; 13,5; 5)	53,8
19		72,1
20	1,52(1H, s)	41,6
21	1,35; 2,10 (2H,t)	25,8
22	2,05 et 2,18(2H, t)	28,9
23	5,22 (1H, dd; 13,5; 5). 4,98 (1H, dd; 13,5; 5)	104,5
24	0,86 (3H, s)	16,2
25	1,08 (3H, s)	13,0
26	1,00 (3H, s)	18,0
27	1,22 (3H, m)	26,2
28	1,22 (3H, m)	31,4
29	0,89 (3H, s)	33,2
30	0,87 (3H, s)	23,6

II.A.2.2.2. Identification de la structure GMT12 (acide 2 α , 3 α , 19 α -trihydroxy-24-norurs-4(23), 12-dien-28-oïque)

Le composé GMT12 a été isolé à la fois des feuilles de *M. batesii* Baker et des racines de *M. thomsonii* (Oliv. Benth). Il précipite sous forme de poudre amorphe de couleur blanche dans le mélange *n*-Hexane-EtOAc (2:3). Soluble dans le DMSO il réagit positivement au réactif de Lieberman-Burchard suggérant ainsi sa nature triterpénique.

Son spectre de masse en ESI (**Fig. 47**), présente en mode négatif le pic de l'ion pseudo moléculaire $[M-H]^-$ à m/z 472 dont l'analyse à la haute résolution $[M-H]^-$ à m/z 472, 3413 permet de lui attribuer la formule brute $C_{29}H_{44}O_5$ m/z 472, 65533 (calc. $C_{29}H_{44}O_5$, 472,6553) renfermant 7 degrés d'insaturations.

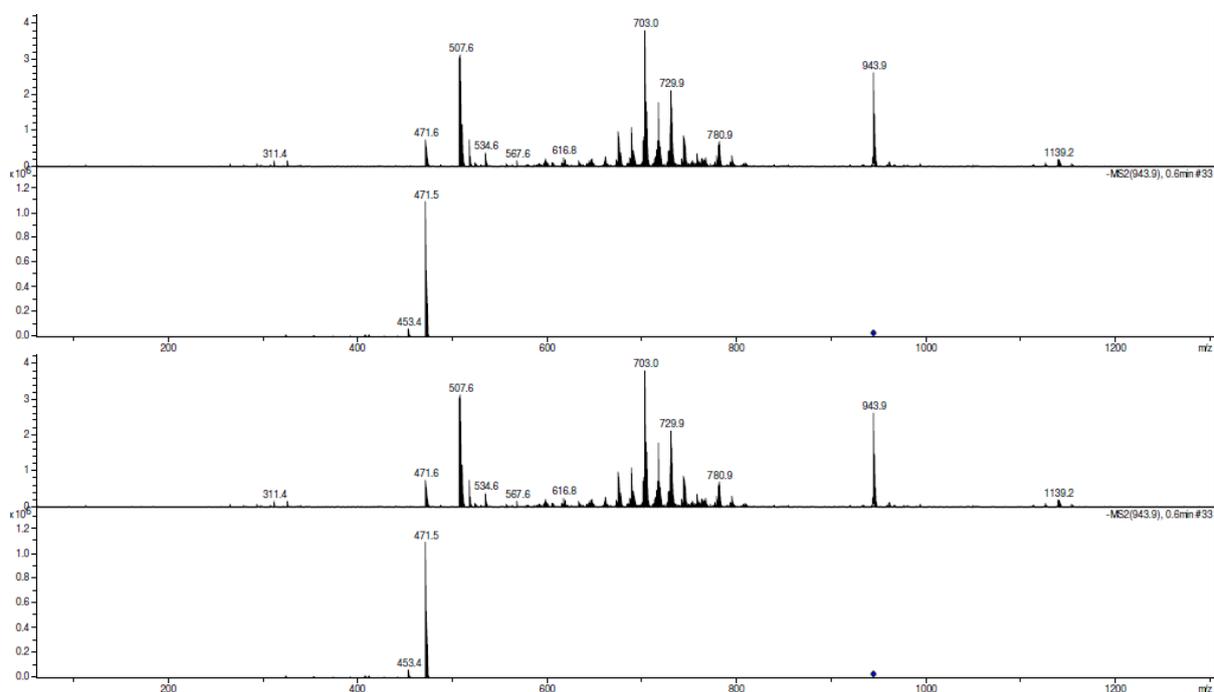


Figure 47 : spectre de masse en ESI de GMT12

Son spectre de RMN ^{13}C (DMSO- d_6 , 100 MHz) (**fig. 48, tableau 21**) totalement découplé, dispose des 29 signaux de carbone de la formule brute. L'analyse de ces signaux par les techniques *DEPTQGP* et *HSQC* fait ressortir la présence de signaux qui, par comparaison avec les données de la littérature serait caractéristiques d'un squelette triterpénique de type nor-ursane constitués de :

- Cinq méthyles angulaires entre δ_C 33,2, 26,9, 18,0, 16,2 et 13,0
- Huit méthylènes hybridés sp^3 qui résonnent entre δ_C 17,6 et δ_C 47,6 et un autre hybridé sp^2 résonnant à δ_C 104,5.

- Sept méthines parmi lesquels un hybridé sp^2 à δ_C 127,4 (H-12) et six autres hybridés sp^3 dont deux oxy-méthine à δ_C 78,7 et δ_C 72,5 attribuables respectivement aux carbones C-2 et C-3 et en fin 4 autres résonnant à δ_C 47,2 ; 47,3 ; 53,2 ; 55,7.
- Les autres signaux sont ceux de carbones quaternaires dont 3 hybridés sp^2 : un carbonyle d'acide carboxylique à δ_C 179,4 et deux autres à δ_C 151,6 et δ_C 139,3 et les six autres signaux de carbone quaternaire, tous hybridé sp^3 à δ_C 31,1 ; 32,2 ; 37,8 ; 41,6 ; 43,8 ; 44,0.

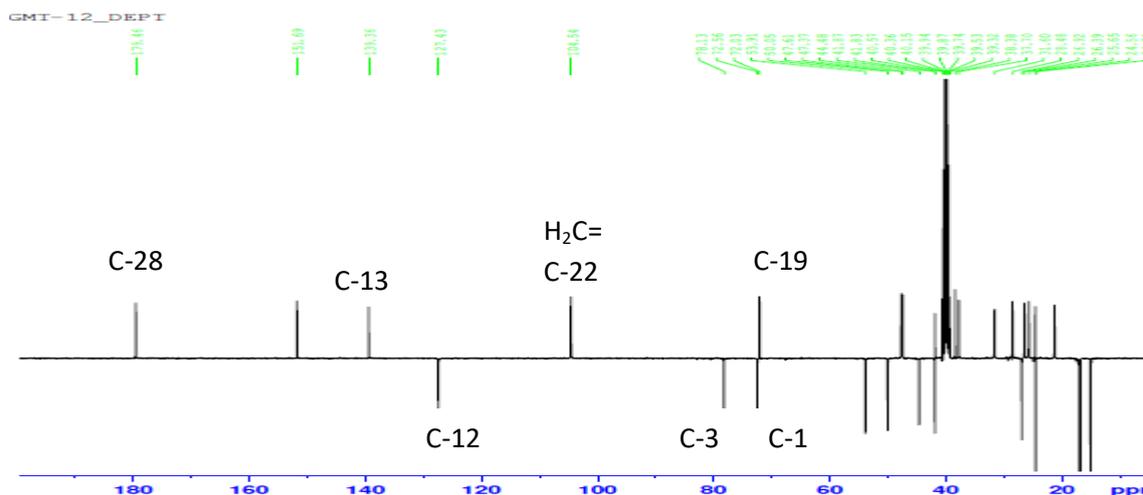


Figure 48 : Spectre de DEPTQGP (100 MHz, DMSO -d₆) de GMT 12

Ces informations sont en accord l'analyse de ces spectres de RMN 1H (fig. 49, tableau 21) et de HSQC (Fig. 50) qui nous permet d'observer entre autres des signaux à : δ_H 1,76; 1,67 (2H, t) / δ_C 36,4 (C-1), δ_H 3,45 (1H d, $J = 1$ Hz) / δ_C 72,5 (C-2), δ_H 3,77 (1H, dd; $J = 12$; 4,5 Hz) / δ_C 78,7 (C-3), δ_H 2,05 (1H, d) / δ_C 49,9 (C-5), δ_H 1,52; 1,56 / (2H, t,) / δ_C 31,3 (C-6), δ_H 2,04 (2H, t) / 46,9 (C-7), δ_H 1,69 (1H, d; $J = 7,5$ Hz) / δ_C 41,7 (C-9), δ_H 2,06 (1H, s) / δ_C 20,9 (C-11), δ_H 5,28 (1H, d; $J = 4$ Hz) / δ_C 127,4 (C-12), δ_H 1,22; 2,34 (2H, dt) / δ_C 26,3 (C-15), δ_H 2,05; 3,12(2H, dt) / δ_C 41,6 (C-16), δ_H 2,00 (1H, dd; $J = 13,5$; 5 Hz) / δ_C 53,8 (C-18), δ_H 1,52 (1H, s) / δ_C 41,6 (C-20), δ_H 1,35; 2,10 (2H,t) / δ_C 25,8 (C-21), δ_H 2,05 et 2,18 (2H, t) / δ_C 28,9 (C-20), δ_H 5,22 (1H, dd; $J = 13,5$; 5 Hz), δ_H 4,98 (1H, dd; $J = 13,5$; 5 Hz) / δ_C 104,5 (C-23) et δ_H 12,22 (1H, s) / δ_C 179,4 (C-28).

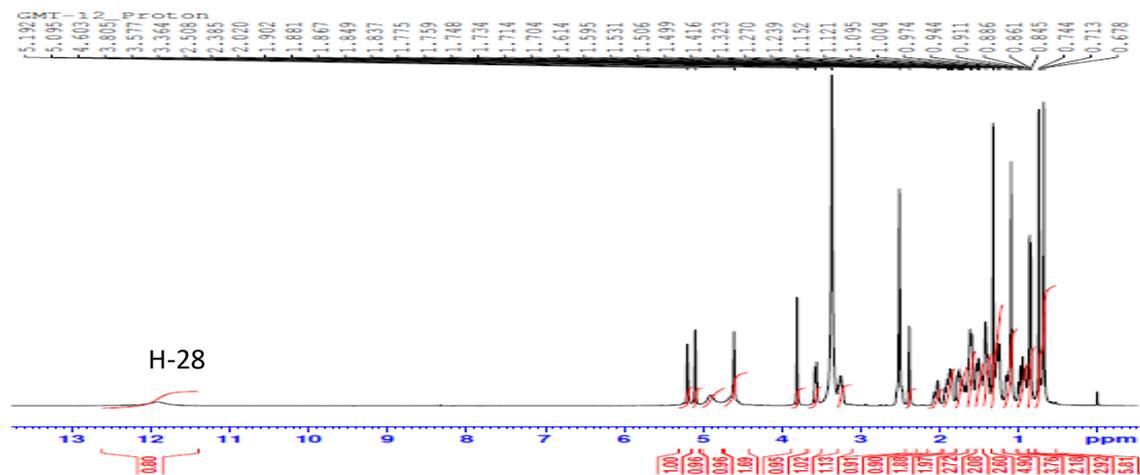


Figure 49 : Spectre de RMN ^1H (400 MHz, DMSO $-d_6$) de GMT 12

Sur la base de toutes ces données spectrales et par comparaison avec les données de la littérature, nous avons attribué au composé GMT 12 la structure **228** suivante qui est celle de l'acide $2\alpha,3\beta,19\alpha$ -trihydroxy-24-norurs-4(23),12-dien-28-oïque. Isolé précédemment de l'espèce *Mostuea hirsuta* par Longue *et al.*, (2015)

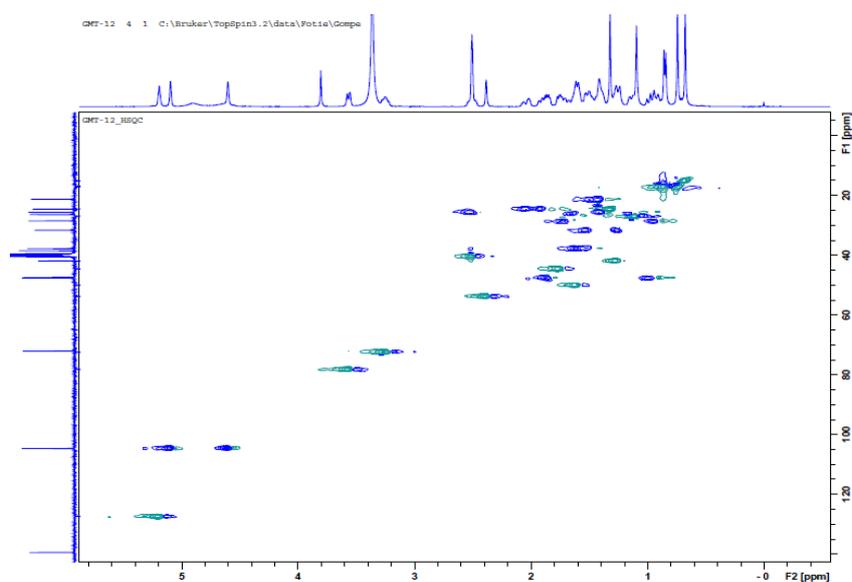
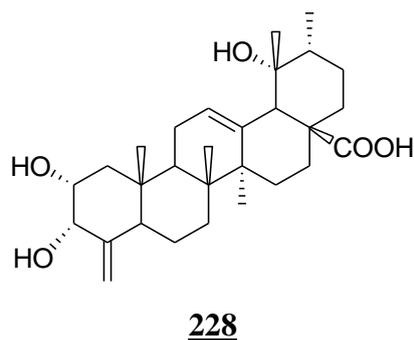


Figure 50 : Spectre HSQC (DMSO $-d_6$) de GMT 12

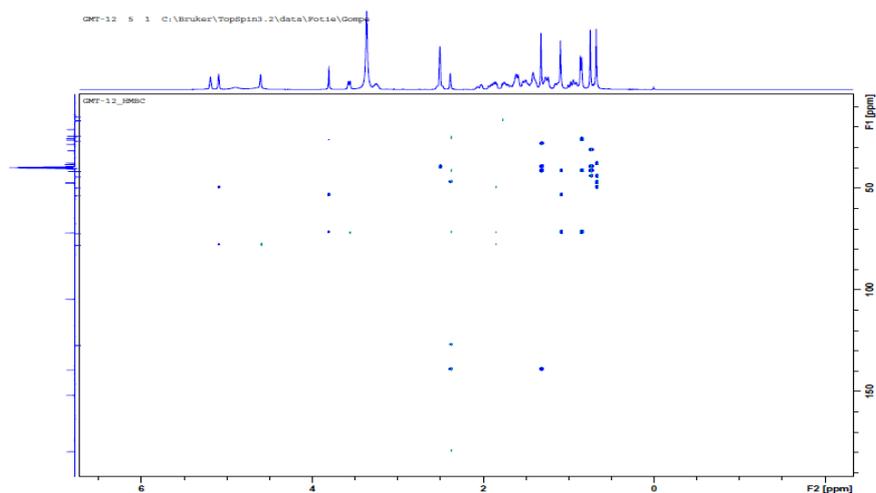


Figure 51: Spectre HMBC (DMSO -*d*6) de GMT 12

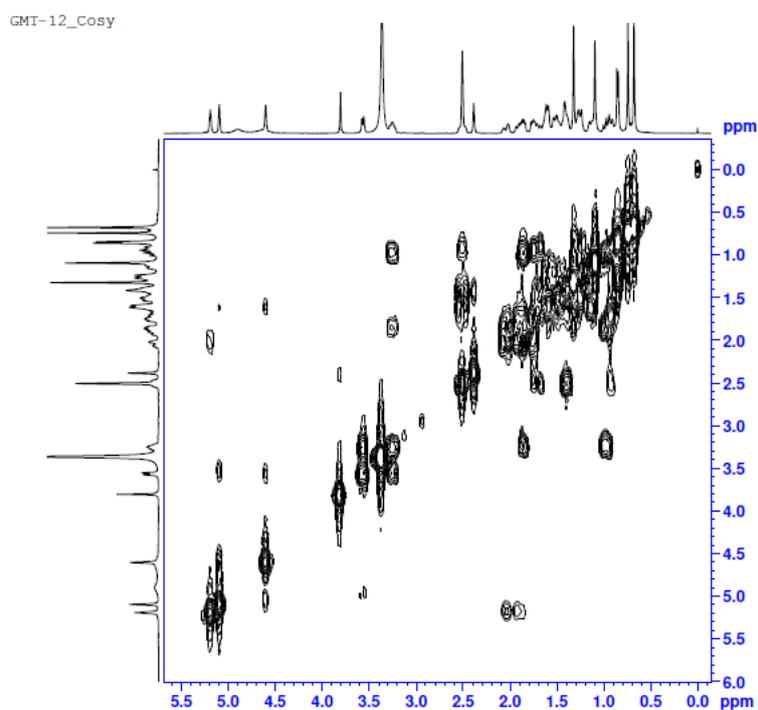


Figure 52 : Spectre COSY (DMSO -*d*6) de GMT 12

Tableau 21: Données spectrales de RMN ^1H (DMSO- d_6 , 400 MHz) et RMN ^{13}C (DMSO- d_6 , 100 MHz) de (acide $2\alpha,3\beta,19\alpha$ -trihydroxy-24-norurs-4(23),12-dien-28-oïque) **228**

GMT12		acide $2\alpha,3\beta,19\alpha$ -trihydroxy-24-norurs-4(23),12-dien-28-oïque (Akon et al., 2015)	
N°C	δ_H en ppm (nH, m, J en Hz)	δ_C en	δ_C en ppm
1	1,76; 1.67 (2H, d,6),	36,4	37,0
2	3,45(1H t, 1,4),	72,5	73,5
3	3,77 (1H, dd; 12; 4,5)	78,7	77,7
4		151,6	152,6
5	2.05 (1H, d ; 4,6),	49,9	49,8
6	1,52 ; 1,56 (2H,t,4,6)	31,3	32,3
7	2.04 (2H,t; 4,5),	46,9	47,1
8		39,8	38,8
9	1,69 (1H, d; 7,5)	41,7	41,7
10		37,9	37,9
11	2.06 (1H, t, 5,4)	20,9	21,3
12	5,28 (1H, d; 4,0)	127,4	126,9
13		139,3	140,1
14		41,6	41,6
15	1,22; 2,34 (2H, dt; 4,0)	26,3	21,1
16	2.05 ;3.12(2H, dt; 4,3)	41,6	41,6
17		47,8	47,8
18	2,00 (1H, dd; 13,5; 5,0)	53,8	54,2
19		72,1	72,7
20	1,52(1H, s)	41,6	41,4
21	1,35; 2,10 (2H,t,6,0)	25,8	25,6
22	2.05 and 2.18(2H, t, 6,2)	28,9	28,7
23	5,22 (1H, dd; 13,5; 5,0) (1H, dd; 13,5; 5,0).	104,5	103,5
24	0,86 (3H, s)	16,2	16,2
25	1,08 (3H, s)	13,0	13,0
26	1,00 (3H, s)	18,0	17,9
27	1,22 (3H, s)	26,2	27,2
28	12,22 (1H, s)	179,4	178,4
29	0,89 (3H, s)	33,2	34,2
30	0,87 (3H, s)	23,6	23,6

II.A.2.2.3. Identification de la structure GMT 5 (acide 3 β -acetoxy-2 α ,19 α -dihydroxy-24-norurs-4(23),12-dien-28-oïque)

Le composé GMT5 a été isolé à la fois des feuilles de *M. batesii* Baker et des racines de *M. thomsonii* (Oliv.) Benth. Ce composé précipite sous forme de poudre de couleur blanche dans le mélange *n*-hexane-EtOAc (7:11). Soluble dans le DMSO, il réagit positivement au réactif de Lieberman-Burchard suggérant ainsi sa nature triterpenique.

Son spectre de masse sous ionisation ESI, présente, en mode négatif, le pic de l'ion pseudo moléculaire $[M-H]^-$ à m/z 513 dont l'analyse à la haute résolution $[M-H]^-$ à m/z 514, 6918 est en accord avec la formule brute $C_{29}H_{44}O_5$ m/z 514, 6918 (calcd. $C_{31}H_{46}O_6$, 514, 6918) renfermant 8 insaturations. Soit une différence de 43 unités de masse atomique par rapport à la masse du composé GMT 12.

Son spectre de RMN ^{13}C (DMSO- d_6 , 100 MHz) (**fig. 53, tableau 22**), dispose de 31 signaux de carbone, dont l'analyse combinée au moyen des techniques DEPTQGP et HSQC, permet de mettre en évidence la présence de:

- Cinq signaux méthyles angulaires entre δ_C 16,2 et δ_C 26,9 ; Huit méthylènes hybridés sp^3 qui résonnent entre δ_C 17,6 et δ_C 47,6 et un autre hybridé sp^2 résonant à δ_C 104,5.
- Sept signaux méthines parmi lesquels un hybridé sp^2 à δ_C 127,4 (H-12) et six autres hybridés sp^3 dont deux oxyméthines à δ_C 78,7 et δ_C 72,5 attribuables respectivement aux carbones C-2 et C-3 et quatre autres signaux de méthine résonnant à δ_C 47,2 ; 47,3 ; 53,2 ; 55,7.
- Sept signaux de carbones quaternaires, dont 3 hybridé sp^2 à δ_C 179,4, 151,6 et δ_C 139,3, sont attribuables respectivement au carbonyle d'acide carboxylique, au carbone C-4 et C-13, et les six autres carbones tous hybridé sp^3 à δ_C 31,1 ; 32,2 ; 37,8 ; 41,6 ; 43,8 ; 44,0.

La comparaison de toutes ces données spectrales du composé GMT12 à celles du composé GMT5 montre de nombreuses similitudes, la seule différence réside en la présence sur le spectre de RMN ^{13}C du composé GMT5 de deux signaux de carbone supplémentaires à δ_C 173,9 et à δ_C 36, attribuable respectivement au carbonyle d'ester et à un méthyle du groupement acétoxy.

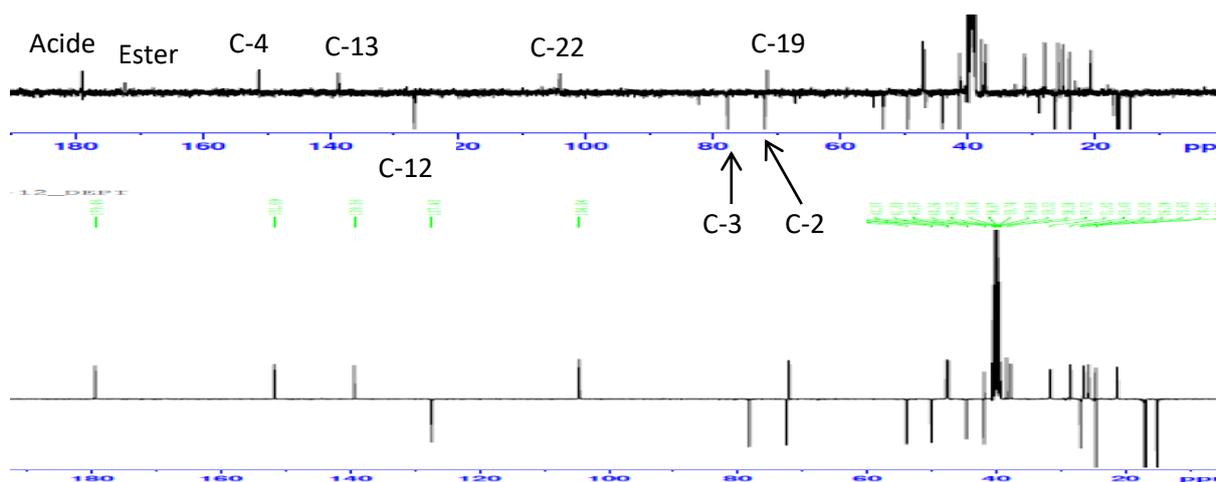


Figure 53 : Superposition des Spectres de DEPTQGP (100 MHz, DMSO $-d_6$) de GMT 12 et de GMT5

En accord avec le spectre de RMN ^{13}C (fig. 53, tableau 22), l'analyse combinée des spectre de RMN ^1H (fig. 54, tableau 22) et de HSQC (fig. 57), du composé GMT5, présente : δ_{H} 1,76; 1,67 (2H, t) / δ_{C} 36,4 (C-1), δ_{H} 3,45 (1H d, $J = 1\text{ Hz}$) / δ_{C} 72,5 (C-2), δ_{H} 3,77 (1H, dd; $J = 12; 4,5\text{ Hz}$) / δ_{C} 78,7 (C-3), δ_{H} 2,05 (1H, d) / δ_{C} 49,9 (C-5), δ_{H} 1,52; 1,56 / (2H, t) / δ_{C} 31,3 (C-6), δ_{H} 2,04 (2H, t) / 46,9 (C-7), δ_{H} 1,69 (1H, d; $J = 7,5\text{ Hz}$) / δ_{C} 41,7 (C-9), δ_{H} 2,06 (1H, s) / δ_{C} 20,9 (C-11), δ_{H} 5,28 (1H, d; $J = 4\text{ Hz}$) / δ_{C} 127,4 (C-12), δ_{H} 1,22; 2,34 (2H, dt) / δ_{C} 26,3 (C-15), δ_{H} 2,05 ; 3,12 (2H, dt) / δ_{C} 41,6 (C-16), δ_{H} 2,00 (1H, dd; $J = 13,5; 5\text{ Hz}$) / δ_{C} 53,8 (C-18), δ_{H} 1,52 (1H, s) / δ_{C} 41,6 (C-20), δ_{H} 1,35; 2,10 (2H, t) / δ_{C} 25,8 (C-21), δ_{H} 2,05 et 2,18 (2H, t) / δ_{C} 28,9 (C-20), δ_{H} 5,22 (1H, dd; $J = 13,5; 5\text{ Hz}$), δ_{H} 4,98 (1H, dd; $J = 13,5; 5\text{ Hz}$) / δ_{C} 104,5 (C-23) et δ_{H} 12,22 (1H, s) / δ_{C} 179,4 (C-28), qui sont superposables aux signaux observés sur les spectres de GMT12. L'on observe en plus de ces signaux un singulet de trois protons à δ_{H} 2,04 (3H, s) / δ_{C} 21,2 et un doublet dédoublé de un proton à 4,55 (1H, dd, 9,6 7,5 Hz) attribuables respectivement, aux protons du méthyle du groupement acétoxy et au proton de l'oxyméthine, caractéristique du proton H-3 α des triterpènes pentacycliques acétylés (Longue et al., 2015).

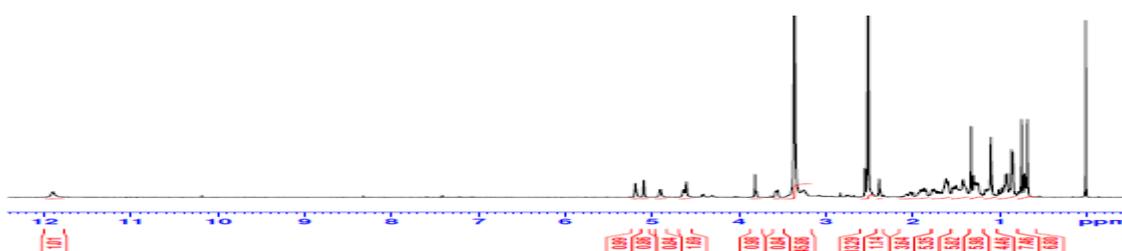
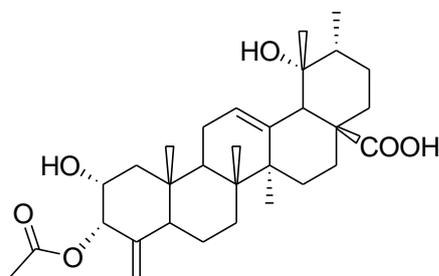


Figure 54 : Spectre de RMN ^1H (400 MHz, DMSO $-d_6$) de GMT 5

Sur la base de toutes ces données spectrales et par comparaison avec les données de la littérature, la structure **229** correspondant à l'acide 3 β -acetoxy-2 α ,19 α -dihydroxy-24-norurs-4(23),12-dien-28-oïque a été attribuée au composé GMT 12. Triterpène pentacyclique isolé précédemment de l'espèce *Mostuea hirsuta* par (Akon et al., 2015).



229

Tableau 22: Données spectrales de RMN ^1H (DMSO- d_6 , 400 MHz) et RMN ^{13}C (DMSO-6, 100 MHz) de GMT5 (acide 3 β -acetoxy-2 α ,19 α -dihydroxy-24-norurs-4(23),12-dien-28-oïque 229)

GMT5			
acide 3 β -acetoxy-2 α ,19 α -dihydroxy-24-norurs-4(23),12-dien-28-oïque			
N $^{\circ}\text{C}$	δ_{H} en ppm (nH, m, J en Hz)	δ_{C} en ppm	δ_{C} en ppm
1	1,76; 1.67 (2H, t)	36,4	37,2
2	3,45(1H d, 1)	72,5	73,5
3	3,77 (1H, dd; 12; 4,5)	78,7	79,7
4	//	151,6	152,1
5	2.05 (1H, d),	49,9	50,1
6	1,52 ; 1,56 (2H, t, 4,5)	31,3	32,3
7	2.04 (2H, t, 5,4),	46,9	47,0
8	//	39,8	39,8
9	1,69 (1H, d; 7,5)	41,7	42,3
10	//	37,9	37,9
11	2.06 (1H, s)	20,9	20,9
12	5,28 (1H, d; 4,0)	127,4	127,7
13	//	139,3	139,6
14	//	41,6	42,1
15	1,22; 2,34 (2H, dt, 4,0)	26,3	27,3
16	2.05 ;3.12 (2H, dt, 4,3)	41,6	41,6
17	//	47,8	46,8
18	2,00 (1H, dd; 13,5; 5)	53,8	54,3
19	//	72,1	72,1
20	1,52 (1H, s)	41,6	41,6
21	1,35; 2,10 (2H, t,6)	25,8	25,8
22	2.05 and 2.18 (2H, t, 6,2)	28,9	28,9
23	5,22 (1H, dd; 13,5; 5,0). 4,98 (1H, dd; 13,5; 5,0).	104,5	104,5
24	0,86 (3H, s)	16,2	16,2
25	1,08 (3H, s)	13,0	13,0
26	1,00 (3H, s)	18,0	18,0
27	1,22 (3H, s)	26,2	26,2
28	12,22 (1H, s)	179,4	179,4
29	0,89 (3H, s)	33,2	33,2
30	0,87 (3H, s)	23,6	23,6
H ₃ CCOO-	//	172,5	173,2
H ₃ CCOO-	2,04 (3H, s)	21,2	22,2

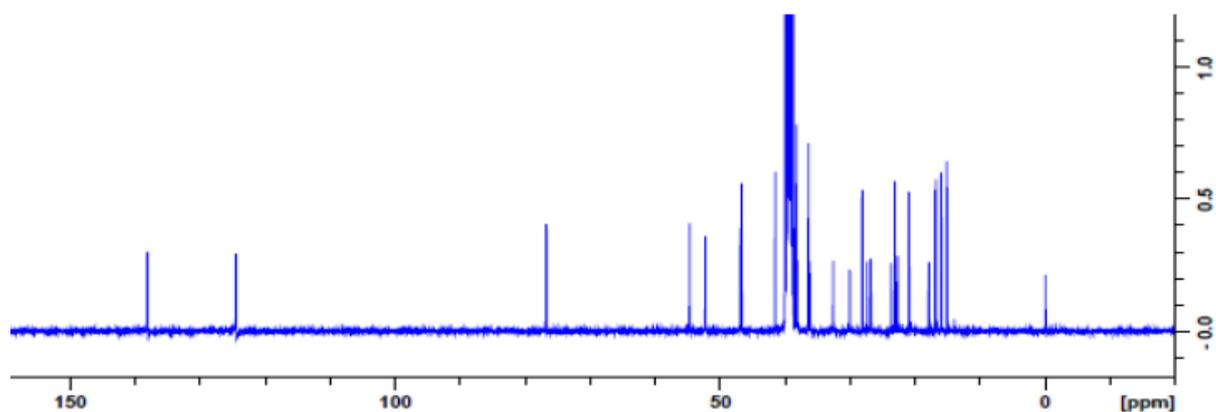


Figure 56 : Spectre de RMN ^{13}C (100 MHz, DMSO $-d_6$) de GMT5

Sur la base de toutes ces données spectrales, comparées à celles décrites dans la littérature (**Ebajo Jr. et al., 2015**) nous avons identifié le composé GMT5 à la α -amyrine structure **230**, composé possédant une activité anti-inflammatoire (**Okoye et al., 2014**).

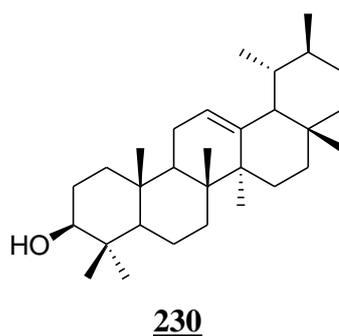


Tableau 23: Données spectrales de RMN ^1H (DMSO- d_6 , 400 MHz) et RMN ^{13}C (DMSO- d_6 , 100 MHz) de GMT5. α -amyrine. **230**

N $^{\circ}$ C	GMT5		α -amyrine (Ebajo Jr. et al., 2015)	
	δ_H en ppm (nH, m, J en Hz)	δ_C en ppm	δ_H en ppm	δ_C en ppm
1		38,8		38,4
2	1,86 (1H, m); 1,77 (1H, m)	28,1	1,86 (1H, m); 1,77 (1H,	27,3
3	4,57 (1H, dd; 12,0; 4,5)	76,3	4,47 (1H, dd; 12; 4,5)	76,4
4		37,8		37,7
5		55,2		55,3
6		17,6		18,1
7		32,7		32,9
8		40,8		40,0
9	1,69 (1H, d; 7,5)	47,7	1,69 (1H, d; 7,5)	47,9
10		36,8		36,8
11		23,9		23,4
12	5,28 (1H, d; 4,0)	124,5		124,3
13		139,1		139,6
14		41,6		42,1
15		26,3		26,6
16		28,6		28,1
17		32,2		33,1
18	2,00 (1H, dd; 13,5; 5,0)	46,2	2,00 (1H, dd; 13,5; 5,0)	46,3
19		39,5		39,6
20		31,1		31,2
21		34,7		34,6
22		41,8		41,6
23	0,80 (3H, s)	28,4	0,80 (3H, s)	28,6
24	0,86 (3H, s)	16,2	0,86 (3H, s)	16,9
25	1,08 (3H, s)	15,0	1,08 (3H, s)	15,1
26	1,00 (3H, s)	16,0	1,00 (3H, s)	16,7
27	1,22 (3H, s)	26,2	1,22 (3H, s)	26,2
28	1,27 (3H, s)	28,1	1,29 (3H, s)	28,1
29	0,89 (3H, s)	17,2	0,89 (3H, s)	17,5
30	0,87 (3H, s)	21,6	0,87 (3H, s)	21,3

II.A.2.2.5. Identification de la structure du composé GMT 9. (β -amyrine)

GMT9 est obtenu des racines de *M. thomsonii* (Oliv.) Benth sous forme de poudre blanche dans le mélange Hex-AE (39:1). Il est soluble dans le chloroforme et répond positivement au test de Liebermann-Burchard en donnant une coloration rouge violacée (Fabiya *et al.*, 2012).

Son spectre de masse en IE montre le pic de l'ion moléculaire $[M^+]$ à m/z 468 dont l'analyse combinée avec les spectres de RMN permet de lui attribuer la formule brute $C_{32}H_{52}O_2$ renfermant 7 insaturations.

En effet, son spectre de RMN 1H (Fig. 56 ; tableau 24) présente :

Six singulets de trois protons chacun à δ_H 0,79; 0,80; 0,92; 0,98; 1,03 et δ_H 1,07 caractéristiques des 6 groupements méthyles angulaires ;

Deux doublets de 3 protons chacun à δ_H 0,87 et δ_H 0,88. Ce qui suggère que GMT9 serait un triterpène de la série des urs-12-ène (Connolly *et al.*, 1991).

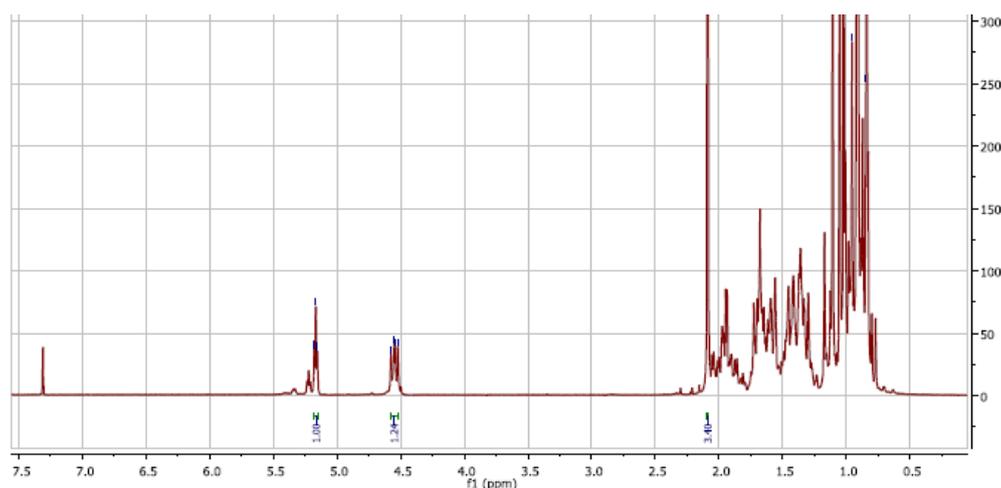


Figure 56: spectre de RMN 1H (CDCl $_3$, 300 MHz) de GMT9

Cette suggestion est confirmée par le spectre de RMN ^{13}C (Fig. 57, tableau 24) où l'on observe :

Trois signaux à δ_c 124,3 et 139,6 et 80,9, correspondant respectivement aux carbones C $_{12}$, C-13 et C-3. Caractéristiques d'un squelette de type urs-12-ène acétylé en C-3 (Mahato et Kundu, 1994);

En plus de tous les signaux attribuable aux carbones de la structure de l' α -amyrine, on observe signal à δ_c 170,9 attribuable au carbonyle d'un ester confirmant ainsi la présence du acétoyle dans la structure de GMT9, cette information est confortée par le spectre RMN 1H (Fig. 56, Tableau 24) de GMT9 qui dispose d'un singulet de trois protons à δ_H 2,10 attribuable aux protons du méthyle d'un groupement acétoyle et d'un doublet dédoublé de un proton à δ_H 4,55

(1H, *dd*, $J=9,6$; $7,5$ Hz) caractéristique du proton H-3 α des triterpènes pentacycliques acétylés en C-3 (Connolly et Hill, 1991). (Mahato et Kundu, 1994).

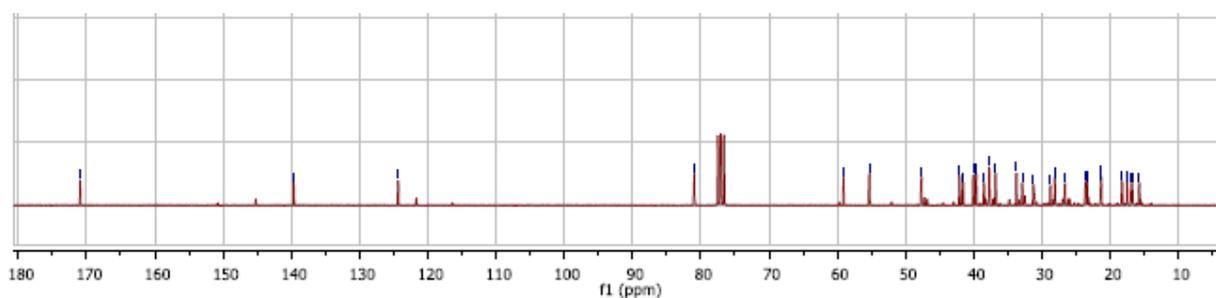


Figure 57 : Spectre de RMN ^{13}C (CDCl_3 , 100 MHz) de GMT9 ou acétate d' α -amyrine

L'ensemble de ces données spectrales comparées à celles décrites dans la littérature (Ebajo Jr. et al., 2015) nous permet d'attribuer à GMT9 la structure 231 qui est celle de l'acétate d' α -amyrine qui possède une activité anti-inflammatoire (Okoye et al., 2014).

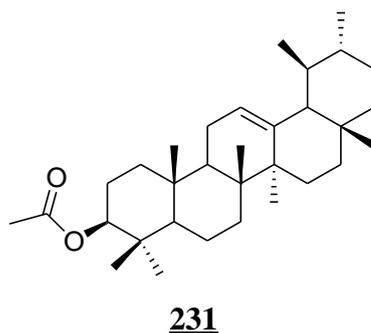


Tableau 24 : Comparaison des données spectrales de RMN ^{13}C (CDCl_3 , 75 MHz) de GMT9 avec Acétate d' α -amyrine (CDCl_3 , 150 MHz), 231

GMT 17			Acétate d' α -amyrine (Ebajo et al., 2015)	
N°C	δ_H en ppm	δ_C en ppm	δ_H en ppm	δ_C en ppm
1		37,9		38,4
2		28,6		27,7
3	3,14 (1H, dd, 5,0; 5,0)	80,3	3,16 (1H, dd, 5,0; 5,0)	81,1
4		37,7		38,7
5		55,6		55,2
6		17,9		18,3
7		34,2		34,6
8		40,0		40,0
9		47,7		47,7
10		38,6		38,6
11		23,3		23,3
12	5,35 (1H, m)	121,3	5,38 (1H, m)	121,5
13		139,3		140,3
14		42,0		42,0
15		27,2		27,2
16		28,6		27,6
17		33,7		33,7
18	2,78 (1H, dd, 11,5; 6,0)	55,9	2,77 (1H, dd, 11,5; 6,0)	56,0
19		39,6		39,6
20		39,6		39,6
21		31,1		31,1
22		41,8		41,8
23	0,85 (3H, s)	28,3	0,85 (3H, s)	27,3
24	0,96 (3H, s)	11,7	0,96 (3H, s)	12,7
25	0,90 (3H, s)	11,8	0,90 (3H, s)	11,8
26	0,75 (3H, s)	18,9	0,75 (3H, s)	18,9
27	1,07 (3H, s)	23,2	1,07 (3H, s)	23,2
28	0,70 (3H, s)	28,1	0,70 (3H, s)	28,1
29	0,94 (3H, d)	17,4	0,94 (3H, d)	17,4
30	0,81 (3H, d)	21,4	0,81 (3H, d)	21,4
1'		170,9		171,0
2'	2,10 (3H,t)	21,6		21,3

II.A.2.2.6. Identification de la structure du composé GMT 17 la 3-O- β -D-glucopyranosyl- α -amyrine

Le composé GMT 17 a été isolé des tiges de *M. thomsonii* (Oliv.) Benth. Il précipite sous forme de poudre de couleur blanche dans le mélange *n*-hexane-EtOAc (13:7). Soluble dans le DMSO, il réagit positivement au réactif de Lieberman-Burchard suggérant ainsi sa nature triterpenique.

Sa formule brute, $C_{36}H_{56}O_7$, renfermant 7 degrés d'insaturation, a été déduite de l'analyse en mode négatif de l'ion pseudo-moléculaire apparaissant à m/z 599 (calc. $C_{36}H_{56}O_7$, 599,8081) sur son spectre de masse en HR-ESI (**Fig. 58**). La comparaison de la masse de ce composé à celle du composé GMT5 présente une différence de 163 unités, correspondant à la masse d'une unité osidique. Cette information permet de suggérer que, le composé GMT17 contiendrait dans sa structure une unité osidique.

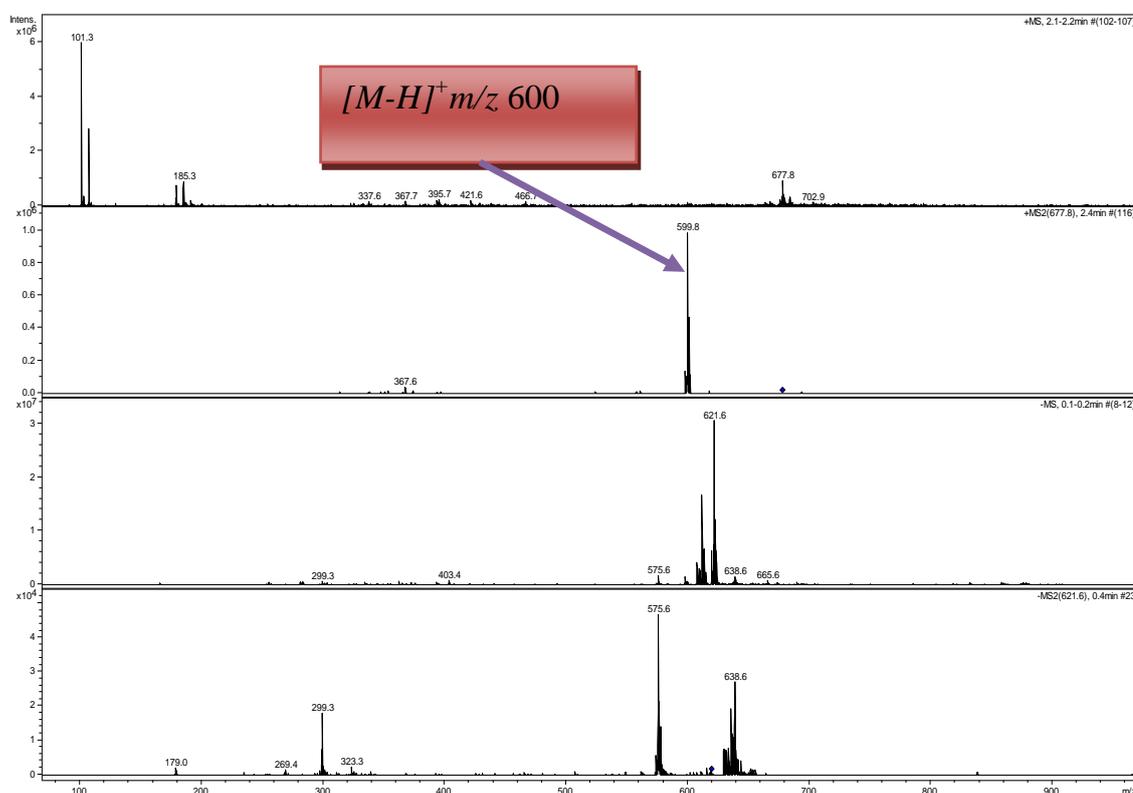


Figure 58 : spectre de masse en ESI de GMT17

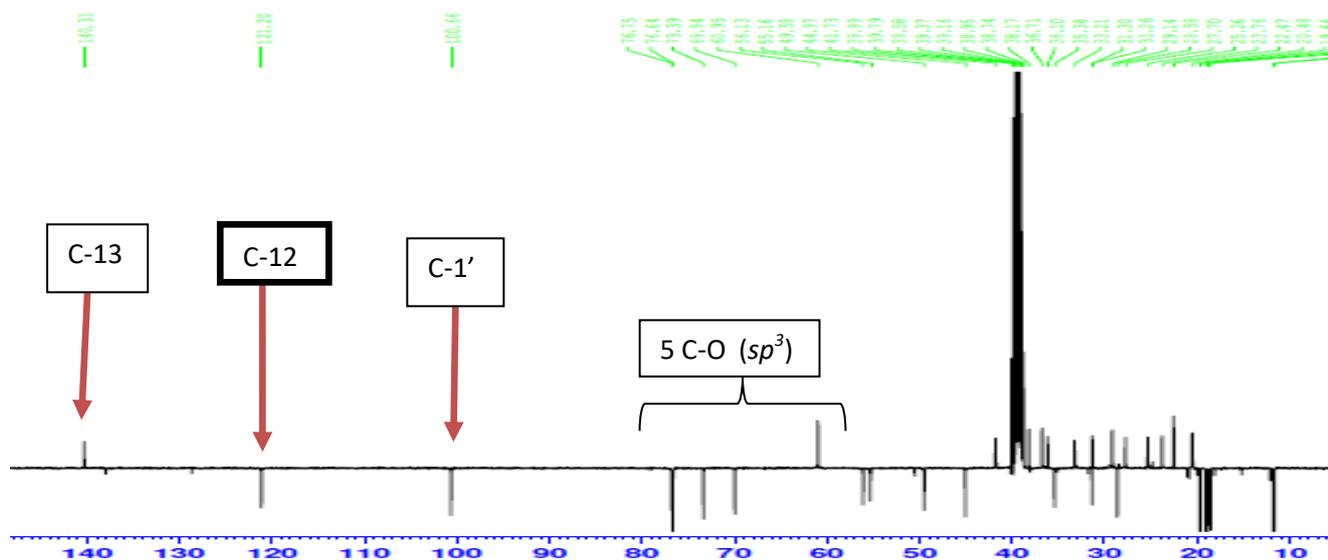
Son spectre de RMN ^{13}C (DMSO, 100 MHz) (**Fig. 59, Tableau 25**), exhibe 30 signaux de carbone, dont l'analyse par la technique DEPTQGP permet de mettre en évidence la présence dans la structure de ce composé:

- Cinq signaux de carbone quaternaire à δ_C 140,3 ; 41,5 ; 38,7 ; 40,9 et 38,6;
- Sept signaux de carbone tertiaire à δ_C 121,3 ; 73,3 ; 33,2 ; 56,0 ; 31,1 ; 41,8 et 28,3 ;

- Neuf signaux de carbones secondaires à δ_C 38,7 ; 38,7 ; 47,7 ; 33,7 ; 31,1 ; 39,6 ; 39,6 ; 27,2 et 26,6 ;
- Huit signaux de carbone primaire à δ_C 11,7 ; 11,8 ; 18,9 ; 23,2 ; 28,1 ; 17,4 et 21,4.

Les signaux caractéristiques des carbones C-12 et C-13 à δ_C 121,3 et à δ_C 140,3 suggèrent qu'il s'agit d'un triterpène de type urs-12-ène. Ceci a été confirmé par l'exploitation des données du spectre de RMN¹H (**fig. 60, tableau 25**), sur lequel on observe:

Deux doublets de 3 protons chacun à δ_H 0,87 et 0,88 et un doublet dédoublé d'un proton à δ_H 5,35 (1H, dd, $J = 11,5$; 6 Hz) attribuables respectivement aux protons H-19 et H-20 des deux groupements méthyles en C-19 et C-20 et au proton H-12, d'un triterpène de type urs-12-ène (**Connolly et al., 1991**). En plus, de ces signaux dus au squelette triterpénique, on observe également sur le spectre de RMN ¹³C six autres signaux à δ_C 100,6, 76,4, 73,8, 71,7, 66,5 et 63,3 attribuables à une unité osidique. L'analyse de ces six signaux à l'aide de la technique HSQC nous permet d'observer les corrélations suivantes : δ_H 4,27 / δ_C 100,6 ; δ_H 4,24 / δ_C 73,8 ; δ_H 3,14 / δ_C 71,7 ; δ_H 3,40 / δ_C 66,5 ; δ_H 4,33 / δ_C 63,3 ; δ_H 3,27 / δ_C 76,4. Ces données, comparées à celle de la littérature, nous permettent d'identifier la partie osidique à la *D*-glucopyranosyl. Ce qui nous permet de suggérer que ce composé est une saponine. La position C-3 de la *D*-glucopyranosyl sur le squelette triterpénique (aglycone), a été déduite sur la base biogénétique d'où le proton de l'oxyméthine qui apparaît à δ_H 3,14 (1H, dd, $J = 5$; 5 Hz) et signal du carbone qui résonne à δ_C 73,3.



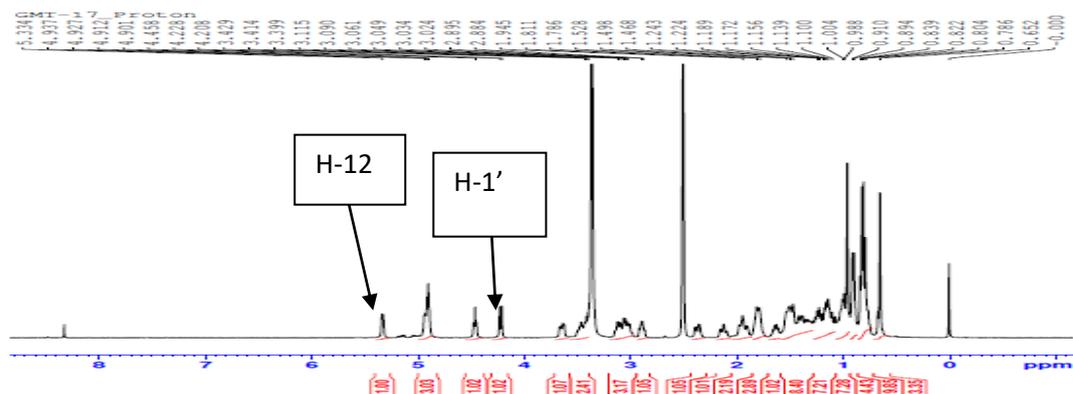
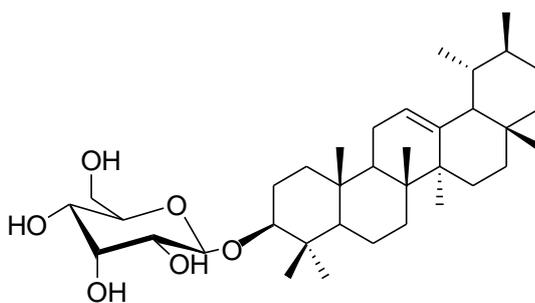


Figure 60 : Spectre de RMN ^1H (400 MHz, DMSO $-d_6$) de GMT17

Sur la base de toutes ces données spectrales et par comparaison avec celles décrites dans la littérature, la structure **232** qui celle de la 3-*O*- β -D-glucopyranosyl- α -amyrine a été attribué au composé GMT 17, composé déjà isolé de *Cassia abtusifolia* (Vázquez, et al., 2010).



232

Tableau 25: Données spectrales de RMN ^1H (DMSO- d_6 , 400 MHz) et RMN ^{13}C (DMSO- d_6 , 100 MHz) de GMT 17. (3-*O*- β -*D*-glucopyranosyl- α -amyrine) 232

GMT 17		3- <i>O</i> - β - <i>D</i> -glucopyranosyl- α -amyrine (Ebajo. et al., 2015)		
N ^o C	δ_H en ppm	δ_C en ppm	δ_H en ppm	δ_C en ppm
1		37,9		38,7
2		28,6		28,7
3	3,14 (1H, dd, 5,0; 5,0)	73,3	3,16 (1H, dd, 5,0; 5,0)	73,3
4		38,7		38,7
5		55,6		55,2
6		17,9		18,3
7		34,2		34,6
8		40,0		40,0
9		47,7		47,7
10		38,6		38,6
11		23,3		23,3
12	5,35 (1H, m)	121,3	5,38 (1H, m)	121,5
13		140,3		140,3
14		42,0		42,0
15		27,2		27,2
16		26,6		26,6
17		33,7		33,7
18	2,78 (1H, dd, 11,5; 6)	55,9	2,77 (1H, dd, 11,5; 6)	56,0
19		39,6		39,6
20		39,6		39,6
21		31,1		31,1
22		41,8		41,8
23	0,85 (3H, s)	28,3	0,85 (3H, s)	27,3
24	0,96 (3H, s)	11,7	0,96 (3H, s)	12,7
25	0,90 (3H, s)	11,8	0,90 (3H, s)	11,8
26	0,75 (3H, s)	18,9	0,75 (3H, s)	18,9
27	1,07 (3H, s)	23,2	1,07 (3H, s)	23,2
28	0,70 (3H, s)	28,1	0,70 (3H, s)	28,1
29	0,94 (3H, d; 5,1)	17,4	0,94 (3H, d; 5,3)	17,4
30	0,81 (3H, d; 6,3)	21,4	0,81 (3H, d; 6,2)	21,4
1'	4,27 (1H, d; 7,1)	100,6	4,27 (1H, d; 7,1)	100,6
2'	4,24 (1H, t)	73,8	4,24 (1H, t)	73,7
3'	3,14 (1H, m)	71,7	3,14 (1H, m)	71,6
4'	3,40 (1H, d, 6)	69,5	3,40 (1H, d, 6)	69,5
5'	4,33 (1H, d ; 7,1)	60,3	4,33 (1H, d ; 7,1)	61,3
6'	3,27 (1H, s)	76,4	3,27 (1H, s)	75,4

II.A.2.2.7. Identification de la structure du composé GMT7. (3-O- β -D-glucopyranosyl-28-hydroxy- α -amyrine)

Le composé GMT7 a été isolé des tiges de *M. thomsonii* (Oliv.) Benth. Il précipite sous forme de poudre blanche dans un mélange *n*-hexane-acétate d'éthyle (3 :17). Soluble dans le DMSO- d_6 , ce composé répond positivement au test de Liebermann- Burchard caractéristique des triterpènes, et au test de Mölish caractéristiques des sucres, suggérant ainsi que le composé GMT7 serait un triterpène glucosylé (saponine).

L'analyse et l'interprétation des spectres de RMN ^1H (DMSO- d_6 , 400 MHz, (**fig. 61**, **tableau 26**) et RMN ^{13}C (DMSO- d_6 , 100 MHz) de ce composé, permet de mettre en évidence, plusieurs similitudes avec celles du composé GMT 17. Les signaux apparaissent à δ_C 121,3 et 140,3 suggèrent qu'il s'agit d'un triterpène de type urs-12-ène (**Connolly et al., 1991**). Ceci a été confirmé par l'analyse du spectre de RMN ^1H , sur lequel on observe les signaux à δ_H 5,35 (1H, m) et 2,78 (1H, dd, $J = 11,5; 6$ Hz). En plus de ces signaux dus au squelette triterpénique, on observe également sur le spectre de RMN ^{13}C six autres signaux correspondant à une unité osidique de type *D*-glucopyranoside, dont l'analyse à l'aide de la technique HSQC nous a permis d'observer à δ_H 4,27 / δ_C 100,6 ; δ_H 4,24 / δ_C 73,8 ; δ_H 3,14 / δ_C 71,7 ; δ_H 3,40 / δ_C 66,5 ; δ_H 4,33 / δ_C 63,3 ; δ_H 3,27 / δ_C 76,4. La seule différence entre les composés GMT17 et GMT7 est liée à la présence sur le spectre de RMN ^1H du composé GMT7 d'un signal de deux protons, attribuable à un hydroxyméthylène à δ_H 3,40 / δ_C 62,9 au détriment d'un méthyle en position 28, ce qui nous permet de suggérer que groupement méthyle en position 28 du composé GMT17 aurait subi une hydroxylation pour donner le composé GMT7.

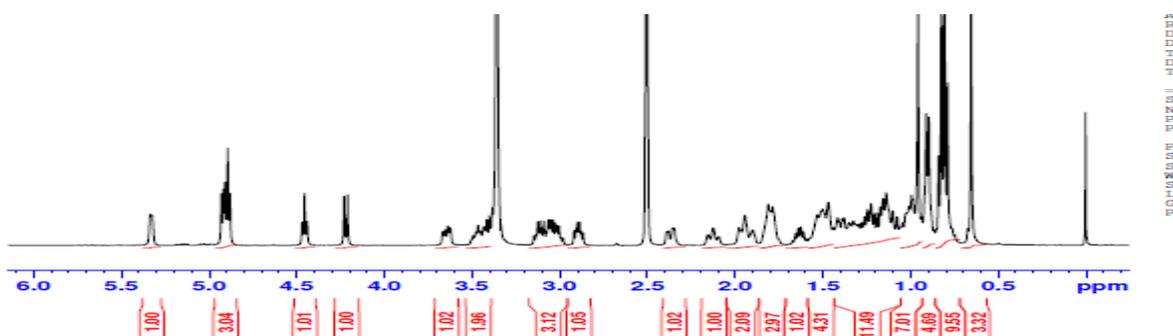


Figure 61 : Spectre de RMN ^1H (DMSO- d_6 , 400 MHz) de GMT7

Sur la base de toutes ces données spectrales et par comparaison avec celles de la littérature, nous avons attribué au composé GMT7, la structure **233** qui est celle de la 3-O- β -

D-glucopyranosyl-28-hydroxy- α -amyrine, précédemment isolé de *Eclipta alba* par (Upadhyay et al., 2001).

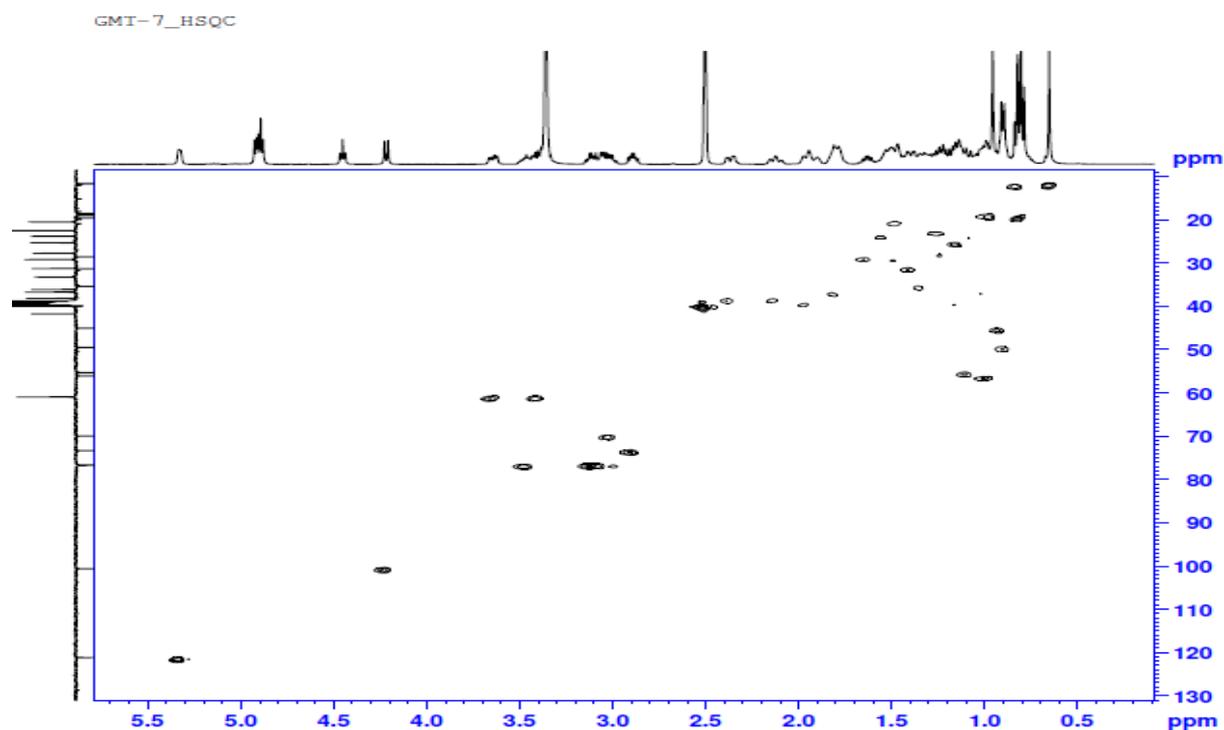
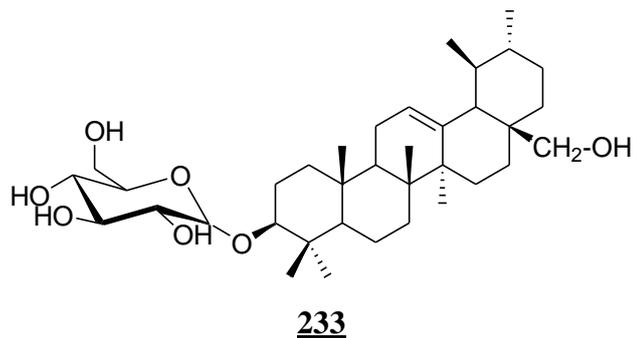


Figure 62 : Spectre de HSQC de GMT 7

**Tableau 26: Données spectrales de RMN ^1H (DMSO- d_6 , 400 MHz) et RMN ^{13}C (DMSO- d_6 , 100 MHz) de GMT7. (3-*O*- β -D-glucopyranosyl-28-hydroxy- α -amyrine).
233**

GMT7		3- <i>O</i> - β -D-glucopyranosyl-28-hydroxy- α -amyrine. Upadhyay et al., (2001)	
N°C	δ_H en ppm	δ_C en ppm	δ_C en ppm
1		38,7	37,7
2		28,7	28,7
3	3,14 (1H, dd, 5,0; 5,0)	72,3	72,3
4		38,7	38,7
5		55,2	56,2
6		18,3	18,3
7		33,2	33,2
8		40,0	41,0
9		47,7	47,7
10		38,6	38,6
11		23,3	23,3
12	5,25 (1H, m)	124,3	124,3
13		138,5	137,5
14		42,0	42,0
15		27,2	27,2
16		26,6	26,6
17		33,7	33,7
18	2,78 (1H, dd, 11,5; 6,0)	59,3	59,0
19		39,6	38,6
20		39,6	39,6
21		31,1	31,1
22		41,8	41,8
23	0,85 (3H, s)	28,3	28,3
24	0,96 (3H, s)	11,7	11,7
25	0,90 (3H, s)	11,8	11,8
26	0,75 (3H, s)	18,9	18,9
27	1,07 (3H, s)	23,2	23,2
28	3,40 (2H, s)	66,3	66,3
29	0,94 (3H, s)	17,4	17,4
30	0,81 (3H, s)	21,4	21,4
1'	4,47 (1H, d, 7,1)	104,2	104,2
2'	4,24 (1H, s)	73,8	73,8
3'	3,14 (1H, s)	71,7	71,7
4'	3,40 (1H, d, 6)	66,5	66,5
5'	4,33 (1H, 7,1)	63,3	63,3
6'	3,27 (1H, s)	76,4	76,4

II.A.2.2.8. Identification de la structure du composé GMB 3 (*acide ursolique*)

Le composé GMB3 est obtenu sous forme de poudre de couleur blanche, des racines de *M. batesii* Baker dans un mélange *n*-Hexane-EtOAc (13:7). Il est soluble dans le DMSO et réagit positivement au réactif de Lieberman-Burchard suggérant ainsi sa nature triterpenique

L'analyse de son spectre de RMN ^{13}C (DMSO- d_6 , 100 MHz) (**fig. 63, tableau 27**), fait ressortir 30 signaux de carbone. L'analyse de ces signaux par la technique DEPTQGP, couplée à son spectre de HSQC, permet de mettre en évidence :

- Six signaux de carbone quaternaire à δ_C 178,1, 138,5, 55,2, 42,0, 40,0 et 33,7
- Sept signaux de carbone tertiaire à δ_C 121,3, 73,3, 33,2, 56,0, 31,1, 41,8 et 28,3 ;
- Neuf signaux de carbone secondaire à δ_C 38,7, 38,7, 47,7, 33,7, 31,1, 39,6, 39,6, 27,2 et 26,6 ;
- Sept signaux de carbone primaire à δ_C 11,7, 11,8, 18,9, 23,2, 28,1, 17,4 et 21,4.

Parmi ces signaux, figurent ceux caractéristiques d'un squelette triterpénique de type ursane, il s'agit des pics à δ_C 138,5 et 121,3. La présence du signal δ_C 178,1 / C-28 sur le spectre de RMN ^{13}C (fig. 53), nous permet de mettre en évidence la présence du carbonyle de l'acide carboxylique dans la structure du composé GMB3.

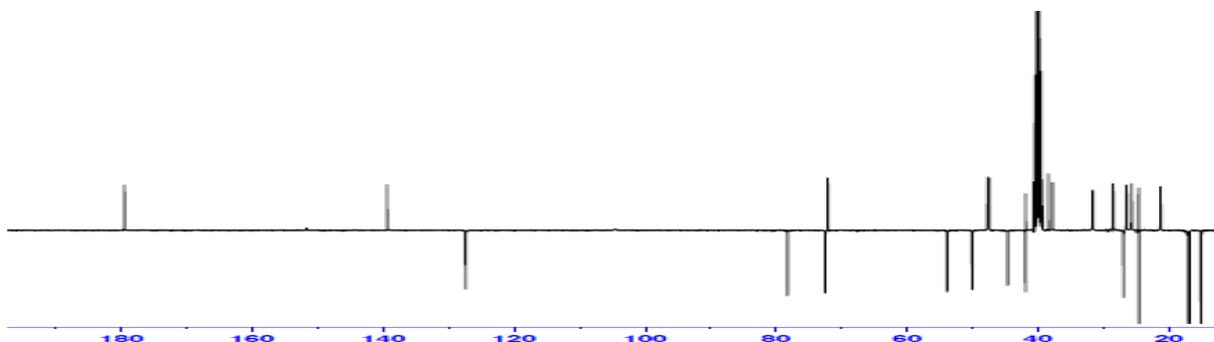


Figure 63 : Spectre de RMN ^{13}C (100 MHz, DMSO - d_6) de GMB3

Ces informations sont corroborées par le spectre de RMN ^1H (**fig. 67, tableau 27**), qui dispose de :

- Cinq singlets de trois protons chacun à δ_H 0,79, 0,80, 0,98, 1,03 et 1,07 caractéristiques des cinq groupements méthyles angulaires ;
- Deux doublets de 3 protons chacun à δ_H 0,87 et 0,88 et un triplet d'un proton à δ_H 5,25 attribuable au proton H-12. Ce qui suggère que GMT5 serait un triterpène de la série des urs-12-ène (**Connolly et al., 1991**).

- D'un singulet d'un proton à δ_H 12,23, caractéristique du proton de la fonction acide carboxylique H-28. Confirmant ainsi que le composé aurait une fonction acide carboxylique (**Ramandan et al., 2009**).

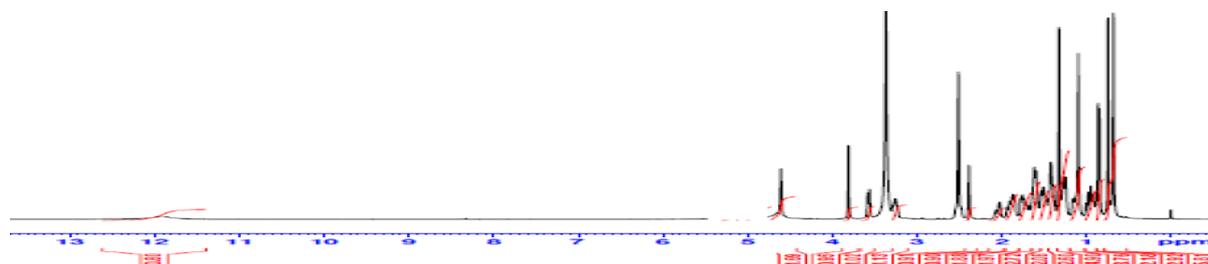


Figure 64 : Spectre de RMN ^1H (400 MHz, DMSO $-d_6$) de GMB 3

L'ensemble de toutes ces informations, comparée à celle de la littérature, nous a permis d'attribuer au composé GMB3 la structure **234**, qui est celle de l'acide α -amyrin-28-oïque, isolé déjà des écorces de tronc et des feuilles du *Ficus pandurata* Hance (**Ramandan et al., 2009**).

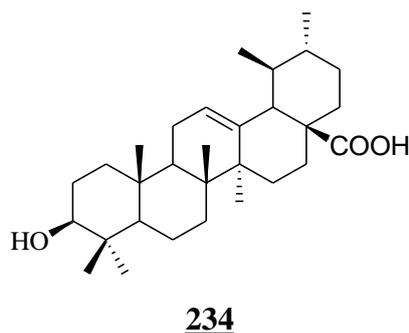


Tableau 27: Données spectrales de RMN ^1H (DMSO- d_6 , 400 MHz) et RMN ^{13}C (DMSO- d_6 , 100 MHz) de GMT7. (Acide α -amyrin-28-oïque) 234

<i>GMT7</i>			acide α -amyrin-28-oïque (Connolly et al., 1991)
N°C	δ_H en ppm	δ_C en ppm	δ_C en ppm
1		38,7	38,8
2		28,7	27,3
3	3,14 (1H, dd, 5; 5)	72,3	72,8
4		38,7	38,8
5		55,2	55,4
6		18,3	18,4
7		33,2	33,0
8		40,0	39,6
9		47,7	47,5
10		38,6	37,0
11		23,3	23,3
12	5,25 (1H, m)	124,3	125,7
13		138,5	138,0
14		42,0	42,1
15		27,2	28,1
16		26,6	26,3
17		33,7	48,0
18	2,78 (1H, dd, 11,5; 6)	52,0	52,7
19		39,6	39,1
20		39,6	38,9
21		31,1	30,7
22		36,8	36,8
23	0,85 (3H, s)	28,3	28,2
24	0,96 (3H, s)	11,7	15,5
25	0,90 (3H, s)	11,8	15,7
26	0,75 (3H, s)	18,9	17,9
27	1,07 (3H, s)	23,2	23,6
28	12,23 (1H, s)	178,1	177,9
29	0,94 (3H, d, 7,1)	17,4	17,1
30	0,81 (3H, d, 7,1)	21,4	21,2

II.A.2.2.9. Identification du composé GMT8. (β -amyrine)

Le composé GMT8 a été isolé des tiges de *M. thomsonii* (Oliv.) Benth. Il précipite dans le mélange *n*-Hexane-EtOAc (4:1), sous forme de poudre de couleur blanche. Il est soluble dans le DMSO et réagit positivement au réactif de Lieberman-Burchard suggérant ainsi sa nature triterpenique.

Le spectre de RMN ^{13}C (DMSO- d_6 , 100 MHz) (**fig. 65, tableau 28**), dispose de 30 signaux. L'analyse de ces 30 signaux grâce à la technique de DEPTQGP, nous permet de les répartir en :

- Sept signaux de carbone quaternaire à : δ_C 140,3 ; 52,2 ; 43,8 ; 41,6 ; 42,4 ; 37,8 et 31,1 ;
- Huit signaux de méthylènes qui résonnent entre δ_C 36,4 ; 31,6 ; 4,40, 56,7 ; 26,3 ; 26,6 ; 46,2 ; 46,5 et 36,8 ;
- Neuf signaux de méthines parmi lesquels un méthine hybridé sp^2 à δ_C 121,1 et les
- cinq autres tous hybridés sp^3 à δ_C 76,7 ; 47,2 ; 53,2 ; 55,7
- Huit signaux des méthyles angulaires entre δ_C 16,2 ; 33,2.

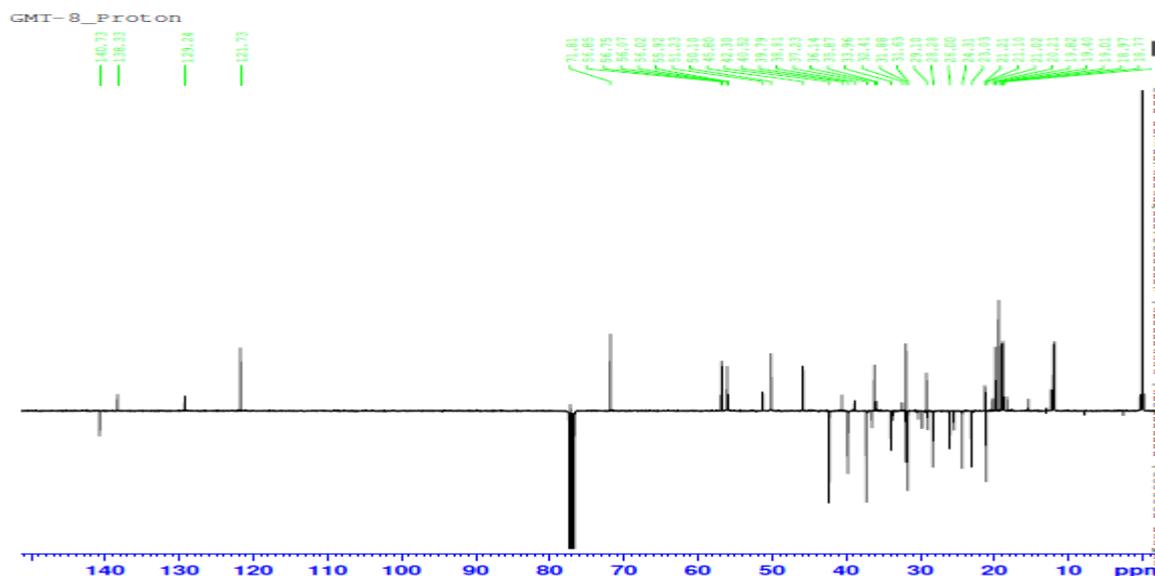


Figure 65 : Spectre de DEPTQGP (100 MHz, DMSO - d_6) de GMT 8

Le spectre de RMN ^1H (**fig. 66, tableau 28**) présente :

- Huit singulets de trois protons chacun à δ_H 0,79 ; 0,80 ; 0,86 ; 0,92 ; 0,95 ; 0,97 ; 1,03 et 1,07 caractéristiques des huit groupements méthyles angulaires ;
- Un triplet d'un proton à δ_H 5,25 attribuable au proton H-12. Ce qui suggère que GMT5 serait un triterpène de la série des urs-12-ène (**Connolly et al., 1991**).

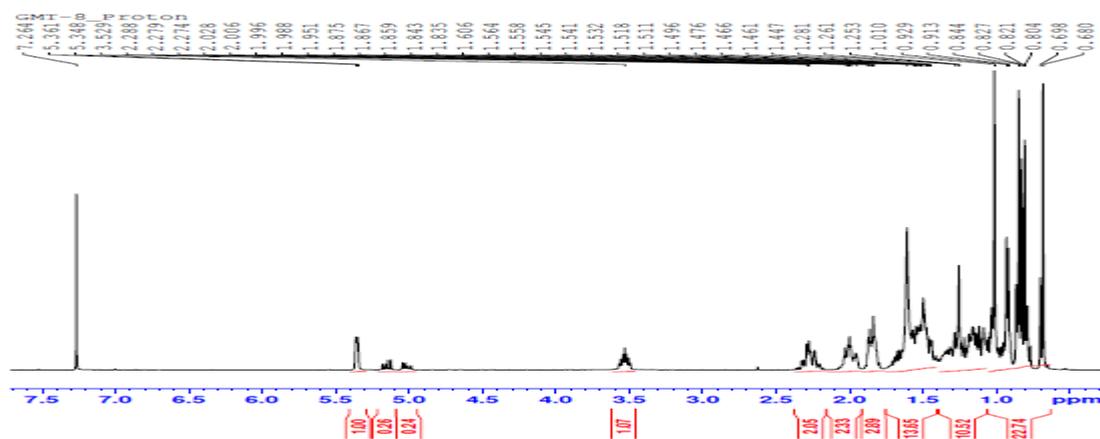
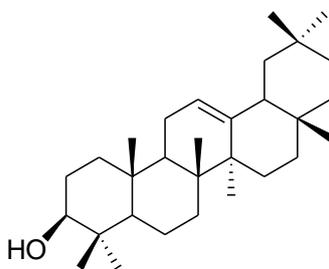


Figure 66 : Spectre de RMN ^1H (100 MHz, DMSO $-d_6$) de GMT 8

L'ensemble de tous ces données spectroscopiques et par comparaison avec les données de la littérature, nous a permis d'attribué au composé GMT8 la structure **235**, qui est celle de la β -amyrine.



235

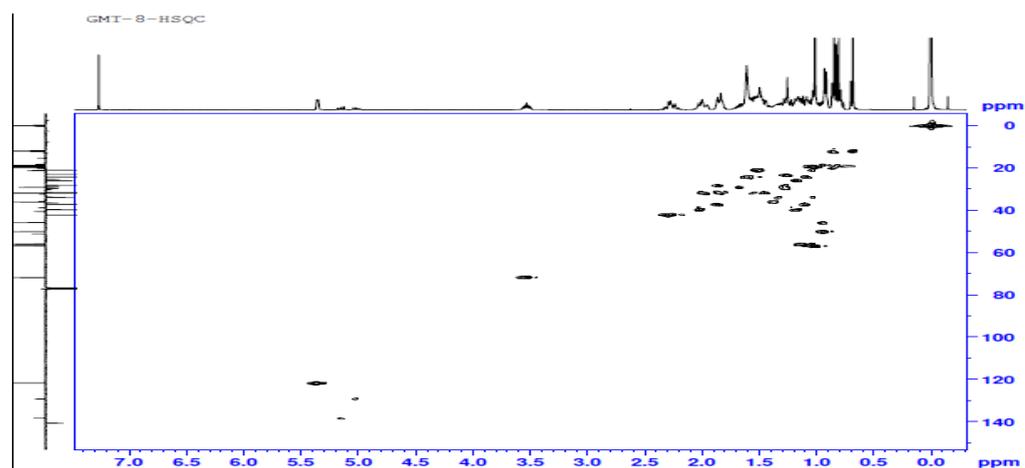


Figure 67: Spectre HSQC (DMSO $-d_6$) de GMT8

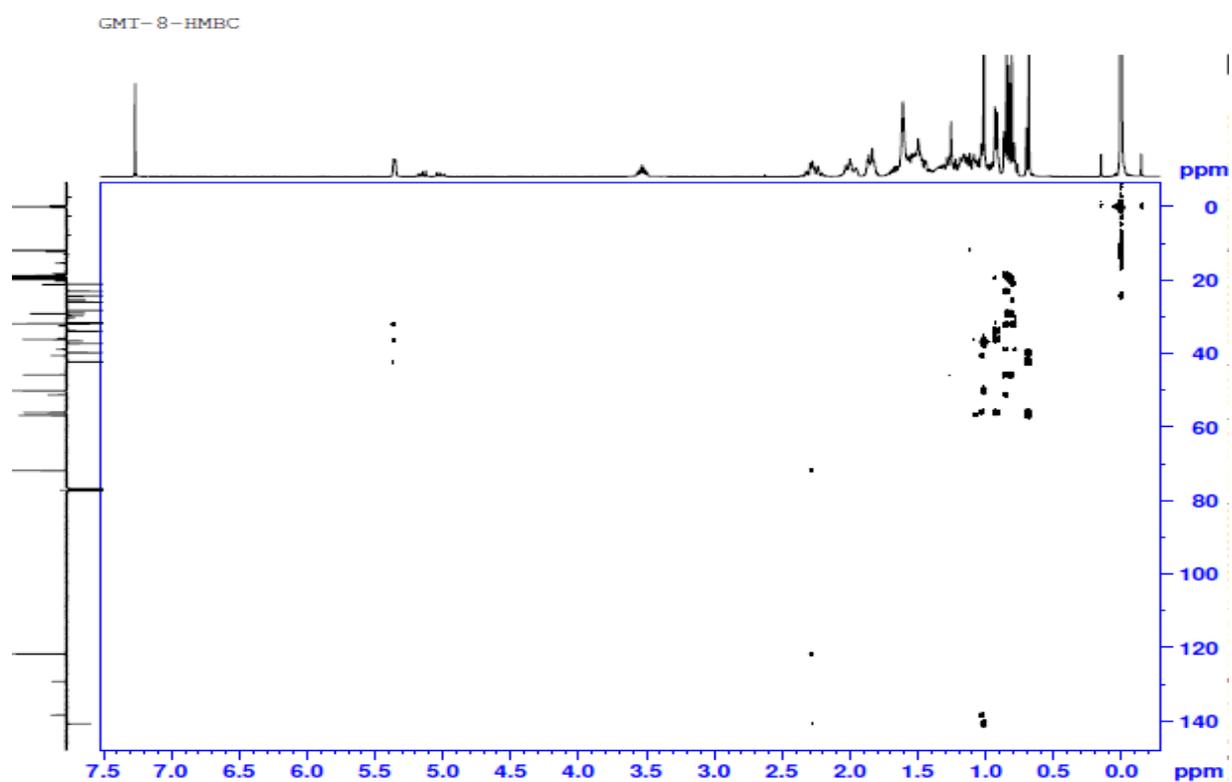


Figure 68: Spectre HMBC (DMSO $-d_6$) de GMT 8

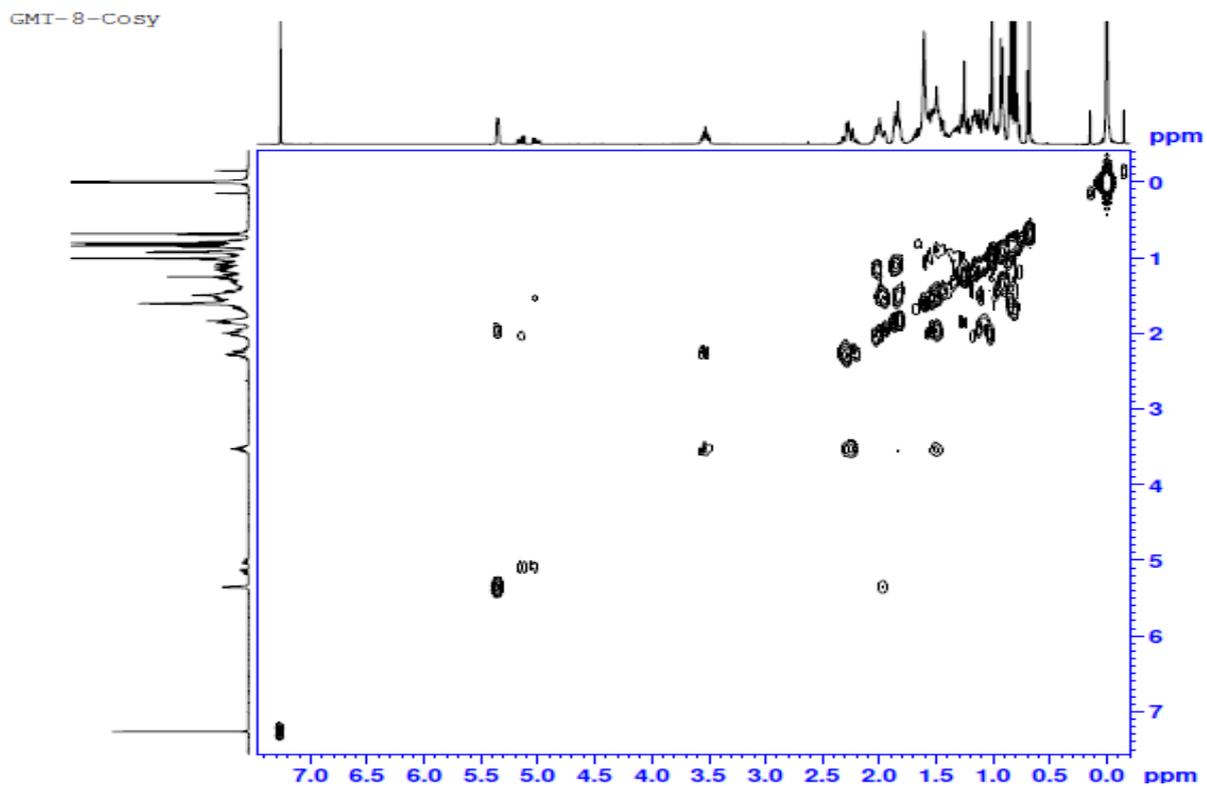


Figure 69 : Spectre COSY (DMSO - d_6) de GMT8

Tableau 28: Données spectrales de RMN ¹H (DMSO-*d*₆, 400 MHz) et RMN ¹³C (DMSO-*d*₆, 100 MHz) de GMF8.(*β*-amyrine) 235

N°C	<i>GMF8</i>		<i>β</i> -amyrine (Hernández-Vázquez et al., 2010)
	δ_H en ppm (nH, m, J en Hz)	δ_C en ppm	δ_C en ppm
1		36,4	37,7
2	1,86 (1H, m); 1,77 (1H,	26,9	27,2
3	4,57 (1H, dd; 12; 4,5)	78,9	79,3
4	//	37,8	38,5
5		54,2	55,1
6		17,6	18,6
7		32,7	32,4
8	//	39,6	39,8
9	1,69 (1H, d; 7,5)	47,9	47,6
10	//	37,0	36,9
11		23,9	23,6
12	5,28 (1H, d; 4)	121,9	121,7
13	//	146,2	145,2
14	//	41,6	41,7
15		26,3	26,1
16		31,6	32,6
17	//	46,9	47,2
18	2,00 (1H, dd; 13,5; 5)	46,2	46,8
19		32,5	31,0
20	//	31,1	32,0
21		36,7	37,1
22		36,8	37,0
23	0,80 (3H, s)	28,4	28,0
24	0,86 (3H, s)	16,2	15,9
25	1,08 (3H, s)	15,0	15,4
26	1,00 (3H, s)	18,0	17,9
27	1,22 (3H, s)	26,2	25,9
28	0,84 (3H, s)	27,9	28,4
29	0,89 (3H, s)	33,2	33,8
30	0,87 (3H, s)	23,6	23,7

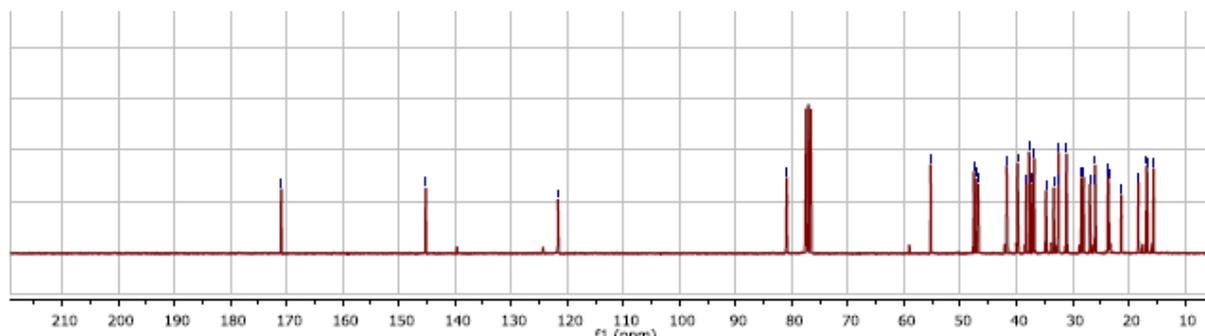
II.A.2.2.10. Identification de l'acétate de la β -amyrine : GMF3

GMF3 a été isolé des feuilles de *M. batesii* Baker sous forme de poudre blanche dans le mélange Hex-AcOEt (39:1). Il est soluble dans le chloroforme et fond entre 238–240 °C. Il donne une coloration rouge qui vire au violet en présence du réactif de Liebermann- Burchard, caractéristique des triterpènes (Fabiyyi et al., 2012). Son spectre de masse en IE montre le pic de l'ion moléculaire $[M^+]$ à m/z 468 dont l'analyse à haute résolution permet de lui attribuer la formule brute $C_{32}H_{52}O_2$ renfermant 7 insaturations. Ce qui nous permet de suggérer que notre composé est un triterpène pentacyclique avec cinq des sept insaturations correspondant aux cinq cycles.

Sur le spectre IR, on observe une bande de vibration à 1755 cm^{-1} , bande attribuable au groupement carbonyle (C=O) de type ester.

Sur son spectre de RMN ^{13}C (Fig. 70, tableau 29), nous observons effectivement 32 signaux d'atomes de carbones dont :

- Un signal à δ_c 171,0 attribuable au groupement carbonyle d'un ester,
- Un doublet à δ_c 121,7 et un singulet à δ_c 145,2 caractéristiques de la double liaison $\Delta_{12,13}$ des oléan-12-ènes (Connolly et Hill, 1991).



Figures 70: Spectre de RMN ^{13}C (CDCl_3 , 75 MHz) de GMF3 ou acétate de β -Amyrine

Ces informations sont en accord avec le spectre RMN ^1H (Fig.71, Tableau 29) qui dispose de:

- Un doublet dédoublé d'un proton à δ_H 4,55 de constantes de couplage 7,5 et 9,3 Hz caractéristique du proton H-3 α des triterpènes acétylés en C-3 (Connolly et Hill, 1991).
- Un triplet à δ_H 5,23 de constante de couplage $J=3,6$ Hz caractéristique du proton H-12 des urs-12-ènes et des oléan-12-ènes (Connolly et Hill, 1991).
- Un singulet de trois protons à δ_H 2,10 attribuable au méthyle d'un groupement acétyle

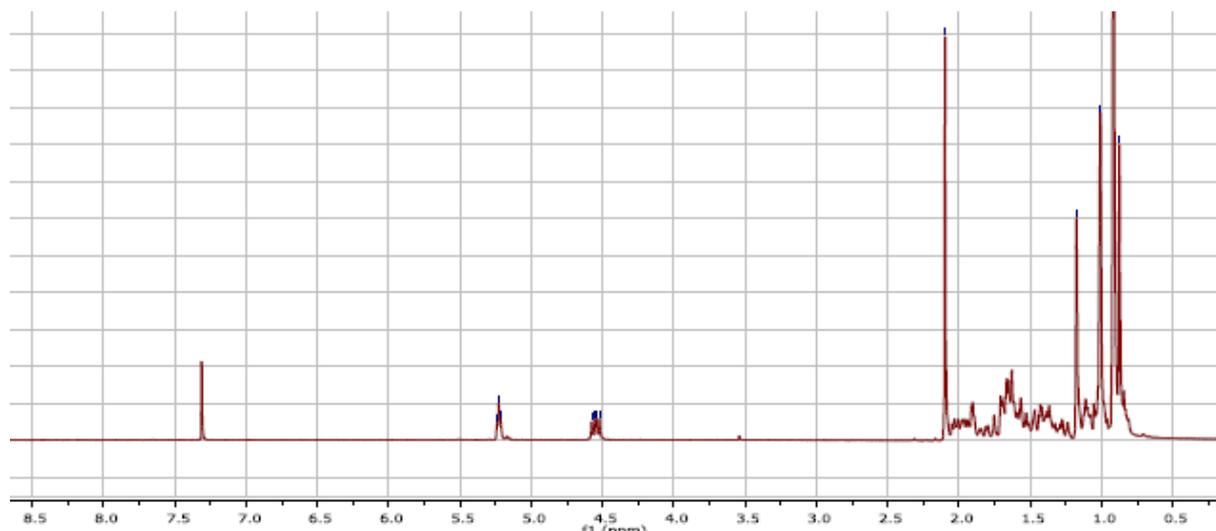
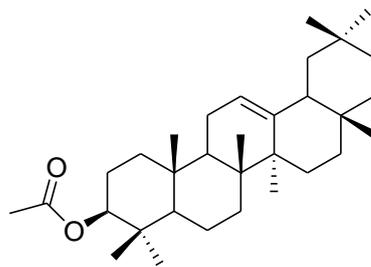


Figure 71 : spectre de RMN ^1H (CDCl_3 , 300 MHz) de GMF3 ou acétate de β -amyryne

Ces données comparées à celles décrites dans la littérature, nous permettent d'attribuer à GMF3 la structure 236 qui est celle de l'acétate de β -amyryne (Ebajo Jr. et al., 2015)



236

Tableau 29 : Comparaison des données spectrales de RMN ^{13}C (CDCl_3 , 75 MHz) de GMT9 avec Acétate de (la β -amyryne) (CDCl_3 , 150 MHz) 236

GMT 17		Acétate d' α -amyryne (Ebajo Jr. et <i>al.</i> , 2015)		
N $^{\circ}$ C	δ_H en ppm	δ_C en ppm	δ_H en ppm	δ_C en ppm
1		37,9		38,4
2		28,6		27,7
3	3,14 (1H, dd, 5,0; 5,0)	80,3	3,16 (1H, dd, 5,0; 5,0)	81,1
4		37,7		38,7
5		55,6		55,2
6		17,9		18,3
7		34,2		34,6
8		40,0		40,0
9		47,7		47,7
10		38,6		38,6
11		23,3		23,3
12	5,35 (1H, m)	121,3	5,38 (1H, m)	121,5
13		139,3		140,3
14		42,0		42,0
15		27,2		27,2
16		28,6		27,6
17		33,7		33,7
18	2,78 (1H, dd, 11,5; 6,0)	55,9	2,77 (1H, dd, 11,5; 6,0)	56,0
19		39,6		39,6
20		39,6		39,6
21		31,1		31,1
22		41,8		41,8
23	0,85 (3H, s)	28,3	0,85 (3H, s)	27,3
24	0,96 (3H, s)	11,7	0,96 (3H, s)	12,7
25	0,90 (3H, s)	11,8	0,90 (3H, s)	11,8
26	0,75 (3H, s)	18,9	0,75 (3H, s)	18,9
27	1,07 (3H, s)	23,2	1,07 (3H, s)	23,2
28	0,70 (3H, s)	28,1	0,70 (3H, s)	28,1
29	0,94 (3H, s)	17,4	0,94 (3H, d)	17,4
30	0,81 (3H, s)	21,4	0,81 (3H, d)	21,4
1'		170,9		171,0
2'	2,10 (3H,t)	21,6		21,3

II.A.2.2.11. Identification de la structure du composé GMF 2. l'acide β -amyrin-28-oïque

Le composé GMF2 a été isolé des feuilles de *M. batesii* Baker. Il précipite sous forme de poudre de couleur blanche dans le mélange *n*-Hexane-EtOAc (13:7). Il est soluble dans le DMSO et réagit positivement au réactif de Lieberman-Burchard suggérant ainsi sa nature triterpenique.

Le spectre de RMN ^{13}C (DMSO- d_6 , 100 MHz) (**fig. 72 et 73, tableau 30**) totalement découplé du composé GMF2 présente 30 signaux de carbone. L'analyse de ces 30 signaux par les techniques DEPTQGP permet de les classer en :

- Sept signaux de carbone quaternaire parmi lesquels le signal du carbone fonctionnel de l'acide carboxylique à δ_C 178,1, le signal d'un carbone hybridé sp^2 à δ_C 140,3 et les autres carbones tous hybridés sp^3 à 52,2 ; 43,8 ; 41,6 ; 42,4 ; 37,8 et 31,1

- Six signaux de méthines parmi lesquels un méthine hybridé sp^2 à δ_C 121,1 et les cinq autres tous hybridés sp^3 à δ_C 76,7 ; 47,2 ; 53,2 ; 55,7 et 41,8.

- Neuf signaux de méthylènes qui résonnent à δ_C 36,4 ; 31,6 ; 44,0 ; 56,7 ; 26,3 ; 26,6 ; 46,2 ; 46,5 et 36,8

- Huit signaux des méthyles angulaires entre δ_C 16,2 et 33,2.

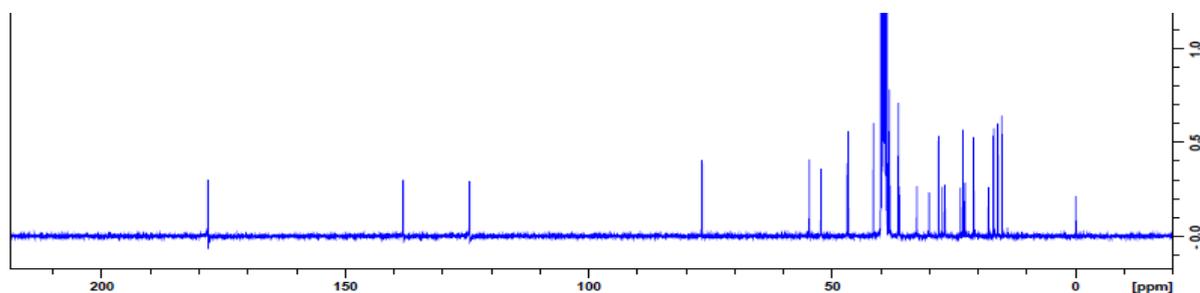


Figure 72 : Spectre de RMN ^{13}C (100 MHz, DMSO - d_6) de GMF 2

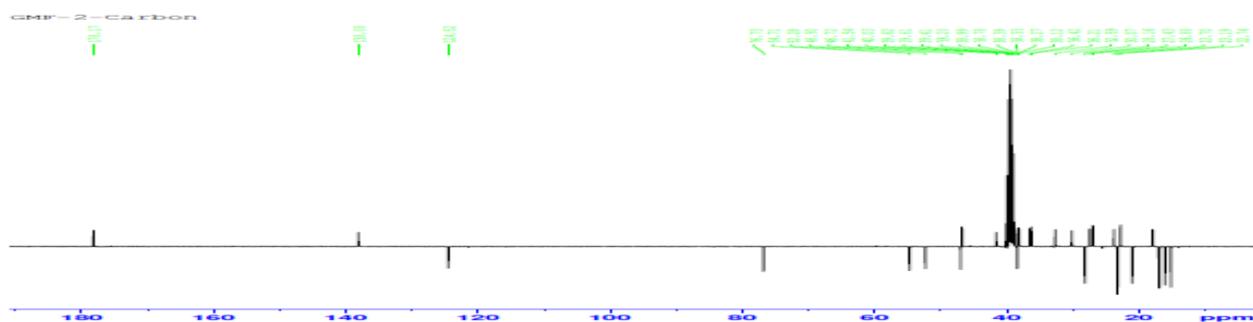


Figure 73 : Spectre de DEPTQGP (100 MHz, DMSO - d_6) de GMF 2

L'analyse du spectre de RMN¹H (**fig. 74, tableau 30**) de ce composé présente :

Deux singulets de trois protons chacun à δ_H 0,93 et 0,98, attribuables aux deux groupements méthyles en C-29 et C-30 et un signal d'un proton à δ_H 5,28 (1H, dd, 3,3 ; 8,1 Hz) caractéristique du proton H-12 des triterpènes de la série des oléan-12-ène (**Mahato et Kundo, 1994**). De plus on observe le signal d'un singulet d'un proton à δ_H 4,57 (1H, dd, 12,0,4,5°) attribuable au proton de l'oxyméthine en position C-3 du squelette triterpénique et d'un singulet d'un proton à δ_H 12,23 confirmant la présence de la fonction acide carboxylique au sein de la structure de GMF2 qui selon les données de la littérature serait en position C-28 (**Mahato et Kundo, 1994**).

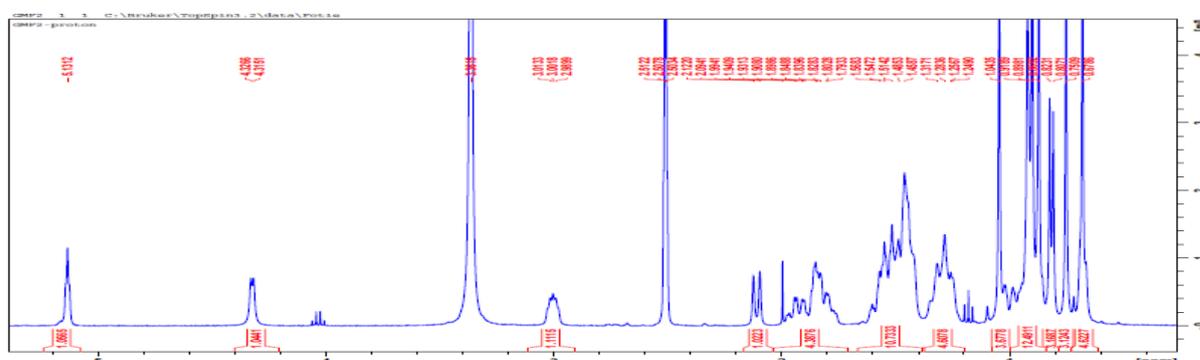
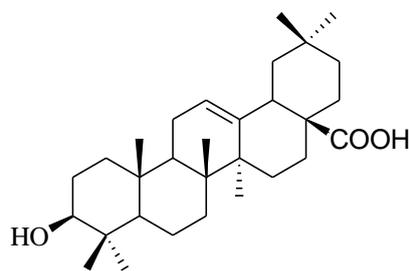


Figure 74: Spectre de RMN 1H (400 MHz, DMSO -*d*₆) de GMF 2

Sur la base de toutes ces données spectrales (**Tableau 30**) et par comparaison avec les données décrites dans la littérature, nous avons attribué au composé GMF2 la structure **237** suivante, qui est celle de l'acide β -amyrin-28-oïque (**Mahato et Kundo, 1994**).



237

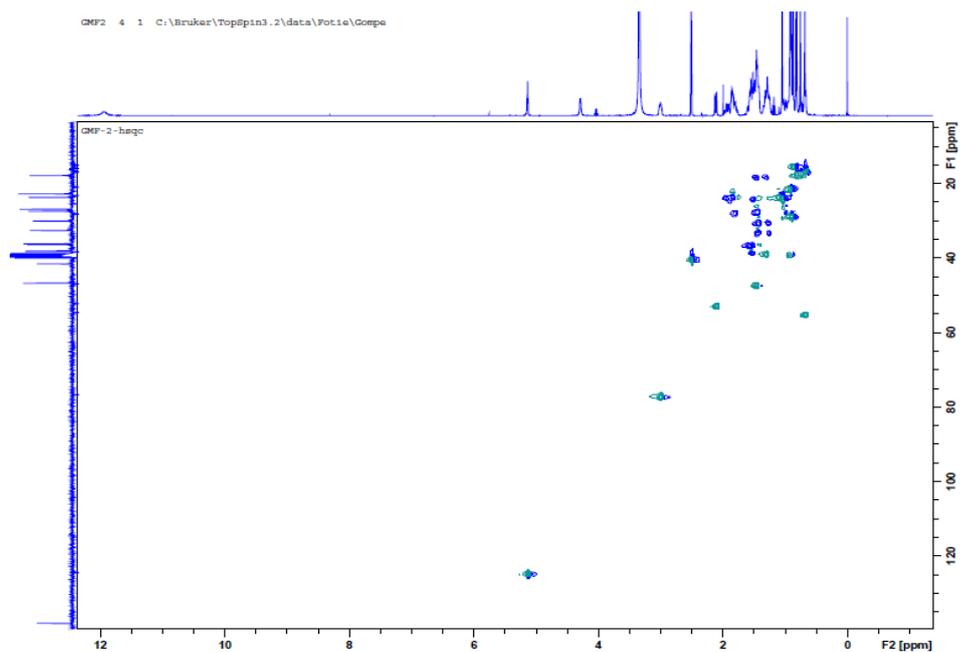


Figure 75 : Spectre de HSQC de GMF 2

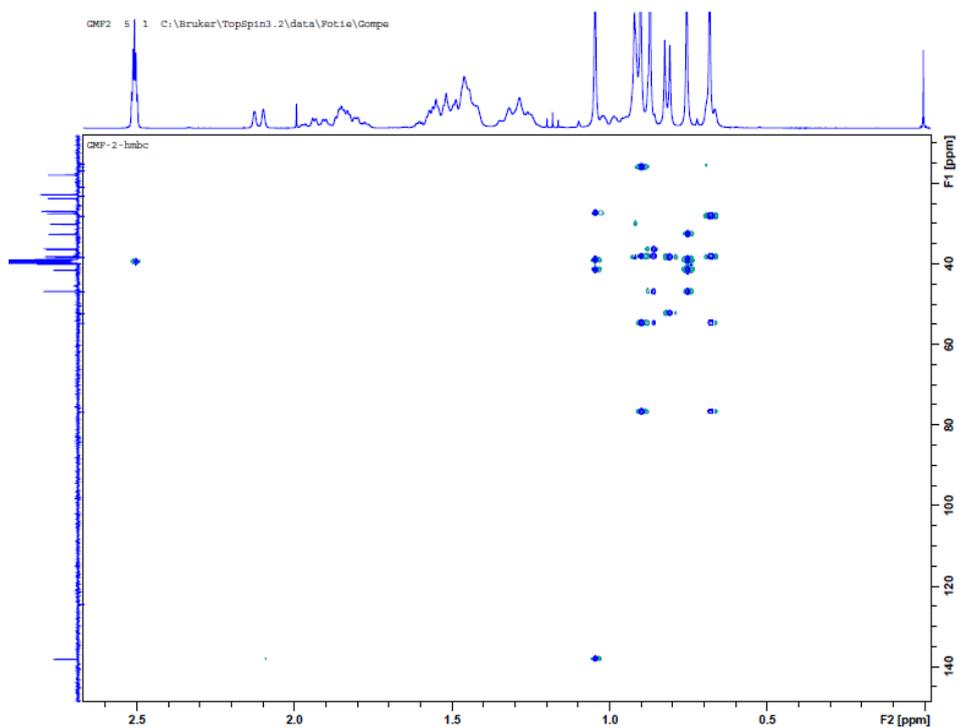


Figure 76 : Spectre de HMBC de GMF 2

Tableau 30: Données spectrales de RMN ^1H (DMSO- d_6 , 400 MHz) et RMN ^{13}C (DMSO- d_6 , 100 MHz) de GMF2. acide β -amyrin-28-oïque 237

<i>GMF2</i>		acide α -amyrin-28- oïque (Connolly et al., 1991)	
N $^{\circ}$ C	δ_H en ppm (nH, m, J en Hz)	δ_C en ppm	δ_C en ppm
1		36,4	36,8
2	1,86 (1H, m); 1,77 (1H, m)	31,6	27,3
3	4,57 (1H, dd; 12; 4,5)	76,3	77,8
4	//	37,8	38,8
5		52,2	53,4
6		17,6	18,4
7		32,7	33,0
8	//	43,8	39,6
9	1,69 (1H, d; 7,5)	56,7	47,5
10	//	44,3	44,0
11		23,2	23,3
12	5,28 (1H, d; 4)	124,5	125,7
13	//	138,1	138,0
14	//	41,6	42,1
15		26,3	27,1
16		26,6	25,3
17	//	48,2	48,0
18	2,00 (1H, dd; 13,5; 5)	51,9	52,7
19		37,5	39,1
20	//	31,1	30,9
21		30,7	30,7
22		36,8	36,8
23	0,80 (3H, s)	28,4	28,2
24	0,86 (3H, s)	16,2	15,5
25	1,08 (3H, s)	15,0	15,7
26	1,00 (3H, s)	18,0	17,9
27	1,22 (3H, s)	24,2	23,6
28	/	178,8	179,1
29	0,89 (3H, s)	17,1	17,1
30	0,87 (3H, s)	23,6	22,9
-COOH	12,27(1H, s)		

II.A.2.2.12. Identification de la structure du composé GMF4. La 3-O- β -D-glucopyranosyl- β -amyrine

Ce composé a été isolé des feuilles de *M. batesii* Baker. Il précipite sous forme de poudre de couleur blanche dans un mélange *n*-hexane-EtOAc (3:17). GMF4 est soluble dans le DMSO et réagit positivement au réactif de Lieberman-Burchard suggérant ainsi sa nature triterpenique.

Son spectre de masse sous ionisation en IE montre le pic de l'ion moléculaire $[M^+]$ à m/z 468 dont l'analyse combinée avec celles des spectres de RMN ^{13}C (fig. 77, tableau 31) et RMN 1H (fig. 78, tableau 31), permet de lui attribuer la formule brute $C_{36}H_{56}O_7$ renfermant 7 degrés d'insaturation. La comparaison de la masse de ce composé à celle β -amyrine présente une différence de 163 unités de masse atomique. Cette différence de 163 unités de masse atomique correspond à une unité osidique, suggérant ainsi que GMF4 aurait dans sa structure une unité osidique.

Le spectre de RMN ^{13}C (DMSO- d_6 , 100 MHz) totalement découplé du composé GMF4 présente 36 signaux de carbone. L'analyse de ces signaux par les techniques DEPTQGP et HSQC fait ressortir 30 signaux caractéristiques d'un squelette triterpénique de type oléan-12-ène constitués de :

- De plus, on observe six autres signaux supplémentaires tous hybridés sp^3 constitués de cinq oxyméthines à δ_C 104,2 ; 76,4 ; 73,8 ; 71,7 ; 66,5 et un oxyméthylène à δ_C 60,9 attribuables à une unité osidique identifiable à D-glucopyranosyl ;

- Cette information est en accord avec l'analyse de son spectre de RMN 1H qui fait ressortir le signal du proton anomérique à δ_H 4,47 (1H, d, $J = 7,1$ Hz). En conclusion, ce composé est une saponine.

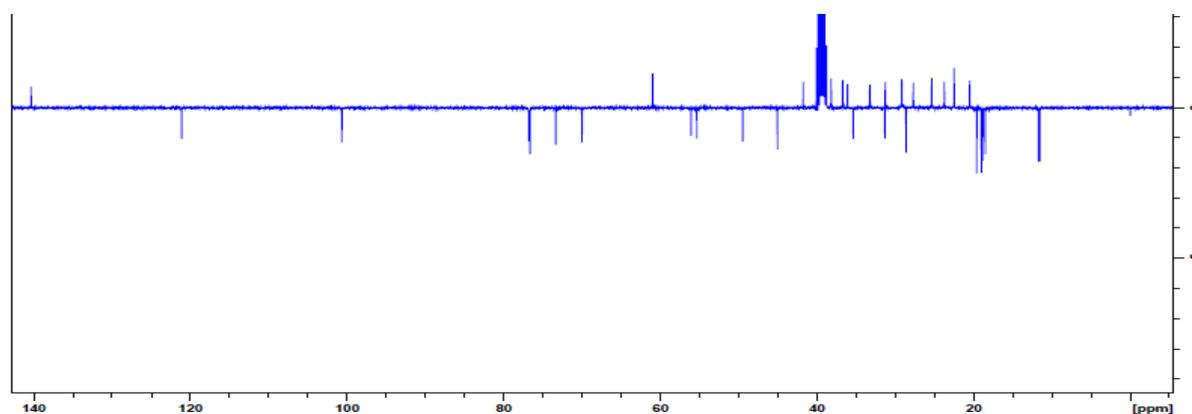


Figure 77 : Spectre de APT (100 MHz, DMSO - d_6) de GMF 4

L'unité osidique est fixée sur le carbone C-3, pour des raisons d'ordre biogénétiques et grâce au signal de l'oxyméthine H-3 qui résonne à 3,34 (1H, dd, $J = 5, 5$ Hz) / 73,8.

Sur la base de toutes ces données spectroscopiques, comparées à celles de la littérature, nous nous avons attribué au composé GMF 4 la structure **238** suivante qui est celle de 3-O- β -D-glucopyranosyl- β -amyrine.

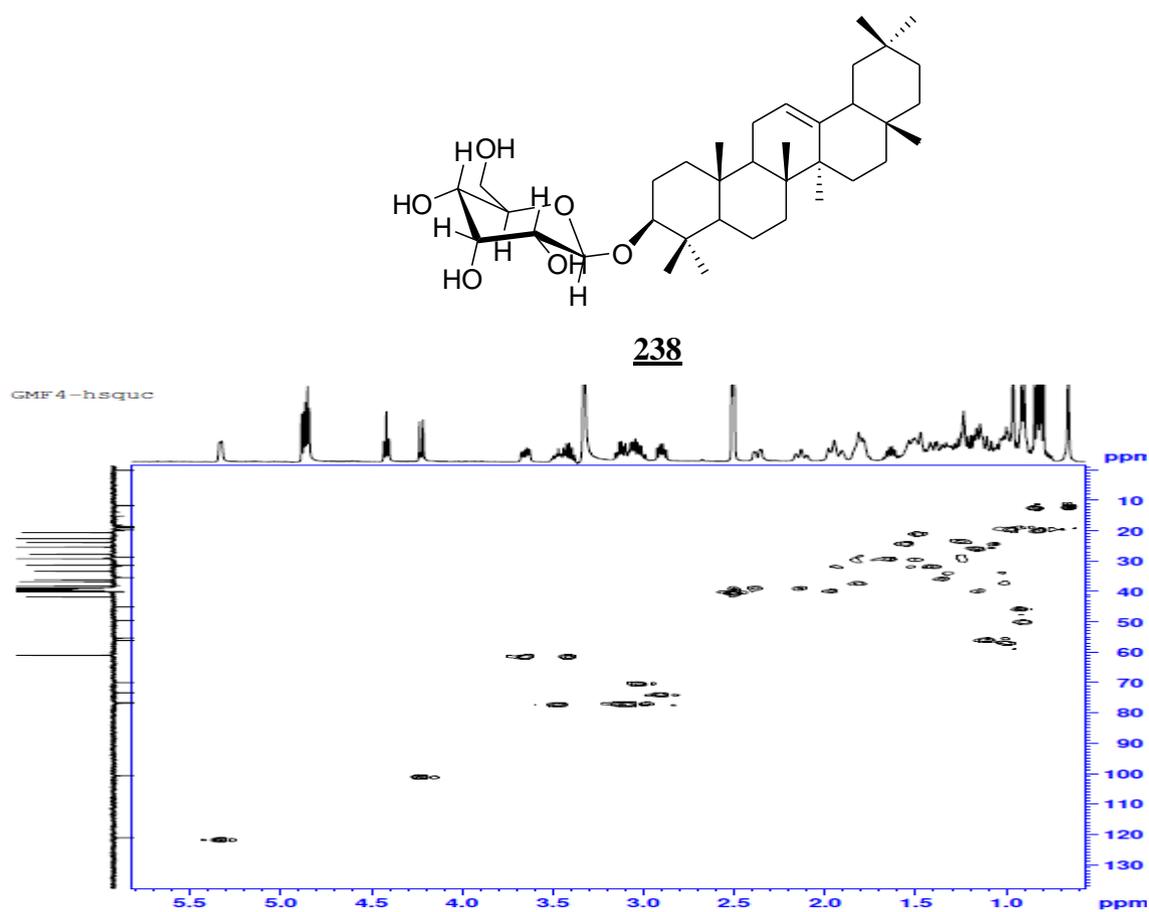


Figure 78 : Spectre HSQC (DMSO - d_6) de GMF 4

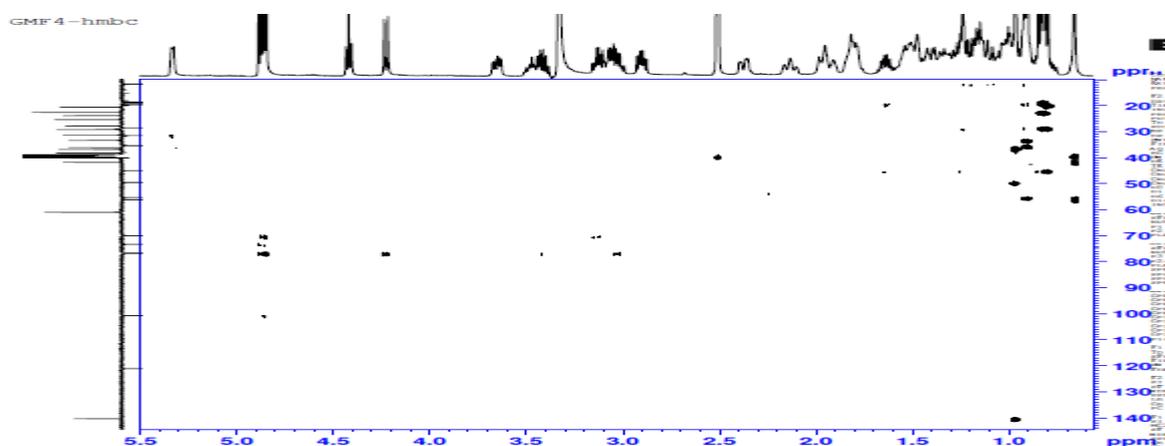


Figure 79: Spectre HMBC (DMSO - d_6) de GMF 4

Tableau 31: Données spectrales de RMN ^1H (DMSO- d_6 , 400 MHz) et RMN ^{13}C (DMSO- d_6 , 100 MHz) de GMF4 (3-O- β -D-glucopyranosyl- β -amyrine) 238

N $^{\circ}$ C	GMF4		3-O- β -D-glucopyranosyl- β -amyrine (Connolly et al., 1991)	
	δ_H en ppm (nH, m, J en Hz)	δ_C en ppm	δ_C en ppm	δ_C en ppm
1		38,7		38,7
2		28,7		27,9
3	3,34 (1H, dd, 5; 5)	79,6		80,9
4	/	38,7		39,0
5		55,2		54,2
6		18,3		18,0
7		33,2		32,9
8	/	40,0		40,0
9	1.56 et 1.60 (2H, m)	47,7		46,7
10	/	38,6		37,9
11		23,3		23,6
12	5,25 (1H, m)	124,3		124,0
13	/	143,5		144,2
14	/	42,0		41,8
15		33,2		33,9
16		26,6		27,8
17	/	33,7		34,5
18	2,78 (1H, dd, 11,5; 6)	43,0		42,8
19		39,6		41,7
20		39,6		38,8
21		31,1		31,4
22		41,8		41,7
23	0,85 (3H, s)	28,3		28,3
24	0,96 (3H, s)	11,7		11,7
25	0,90 (3H, s)	11,8		12,6
26	0,75 (3H, s)	18,9		18,6
27	1,07 (3H, s)	23,2		24,2
28	0,70 (3H, s)	28,1		27,8
29	0,94 (3H, s)	17,4		17,4
30	0,81 (3H, s)	21,4		21,4
1'	4,47 (1H, d, 7,1)	104,2		104,2
2'	4,24 (1H, s)	73,8		72,8
3'	3,14 (1H, s)	71,7		72,7
4'	3,40 (1H, d, 6)	66,5		68,5
5'	4,33 (1H, d ; 7,1)	63,3		65,3
6'	3,27 (1H, s)	76,4		75,4

II.A.2.3. Dérivé phénolique

I.A.2.3.1. Identification de la structure du composé GMB 16. La l'acide 2,3-dihydroxy-4,5-diméthylbenzoïque

Le composé GMB16 a été isolé des racines *M. batesii* Baker. Il se présente sous forme de poudre blanche dans le mélange hexane-acétate d'éthyle (6:4). Soluble dans le DMSO, ce composé réagit positivement au test au chlorure ferrique caractéristique des dérivés phénoliques. Son spectre de masse en impact électronique montre le pic de l'ion moléculaire, dont l'analyse à haute résolution $[M]^+$ à m/z 182,5431, est en accord avec la formule brute $C_9H_{10}O_4$, comportant 5 degrés d'insaturation.

Sur son spectre de RMN ^{13}C (DMSO- d_6 , 100 MHz, Figure 80, Tableau 32), on observe neuf signaux de carbone, correspondant à ceux de la formule brute. L'analyse de ces signaux grâce à la technique de DEPTDQP combinée à celle de son spectre HSQC, montre que parmi les neuf signaux on a :

- Un signal d'un méthine hybridé sp^2 à δ_C 143,3
- Deux signaux des oxyméthines tous hybridés sp^2 à δ_C 151,4 et 150,2
- Quatre signaux de carbones quaternaires tous hybridés sp^2 dont un carbonyle d'acide carboxylique à δ_C 155,6 et trois carbones non oxygéné à δ_C 150,2 ; 107,6 et 107,5.
- Deux méthyles à δ_C 33,9 et 28,9.

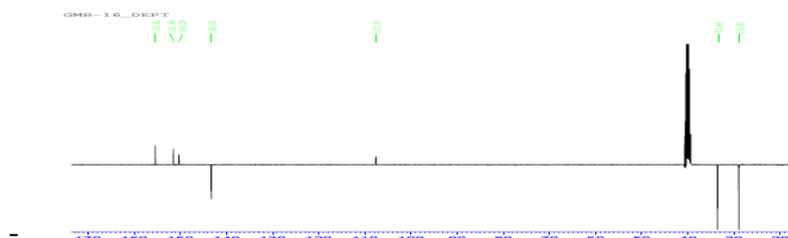


Figure 80 : Spectre de APT (100 MHz, DMSO - d_6) de GMB16

Son spectre RMN 1H (DMSO- d_6 , 400 MHz, Figure 81, Tableau 32) laisse apparaître quatre familles de protons tous resonant sous forme de singulet parmi lesquels deux échangeables à l'eau lourde à δ_H 11,08 et à δ_H 9,19 et 9,19 attribuables respectivement au proton d'un acide carboxylique et deux protons hydroxyles phénoliques. Les deux autres singulets à δ_H 7,91 et à δ_H 3,83 et à 3,31 qui intègrent respectivement pour un et six protons correspondent compte tenu de leur déplacement chimique à un proton aromatique et à 6 protons attribuables aux groupements méthyles équivalents.

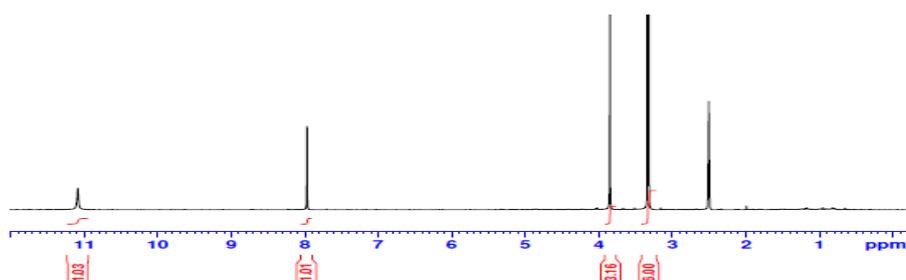
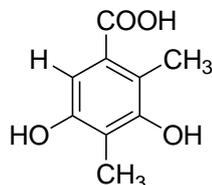


Figure 81 : Spectre de RMN ^1H (400 MHz, DMSO $-d_6$) de GMB16

A ce stade, il nous restait à placer le groupement acide carboxylique, hydroxyle et les deux méthyles sur le cycle benzénique. Nous y sommes parvenu grâce au spectre HMBC sur lequel le singulet du proton aromatique à δ_H 7,21 présente des tâches de corrélation avec le carbonyle de l'acide à δ_C 167,6 ; les carbones oxygénés à δ_C 147,8 ; 140,6 et le carbone quaternaire à δ_C 120,8. Les protons du méthyle établissent quant à eux des tâches de corrélation avec le carbone à δ_C 147,8.

L'ensemble de ces données spectrales en comparaison avec celle de la littérature, nous permis d'attribuer au composé GMB16 la structure **239** suivante qui est celle de l'acide 3,5-dihydroxy-3,5-diméthylbenzoïque, dérivé de l'acide gallique déjà isolé de *T. dodoneifolius* par Ogechukwu et collaborateur (Ogechukwu *et al.*, 2011).



239

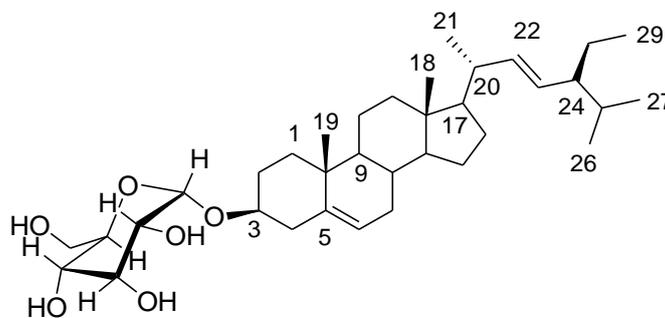
Tableau 32: Données spectrales de RMN ^1H (DMSO- d_6 , 400 MHz) et RMN ^{13}C (DMSO- d_6 , 100 MHz) de GMB16 (acide 4-hydroxy-3,5-diméthoxybenzoïque) **239**

Position	δ_H en ppm (nH, m, J en	δ_C en ppm
1	//	131,3
2	3,45 (1H, s),	108,5
3	//	154,7
4	//	120,1
5	//	155,8
6	//	119,7
7	12,04 (1H,s),	178,9
8	3,40(3H, s)	32,8
9	3,56 (3H, s)	29,7
HO-	3,99 (1H, s)	//
HO-	3,99 (1H, s)	//

II.A.2.4. Stéroïdes

II.A.2.4.1. Identification du composé GMT2 (3-O- β -D-glucopyranoside de stigmastérol)

Soluble dans la pyridine, le composé GMT2 a été obtenu des racines de *M. thomsonii* (Oliv.) Benth sous forme de poudre blanchâtre dans le mélange hexane-acétate d'éthyle (3:2). Il fond entre 272-274 °C et réagit positivement au test de Liebermann-Burchard, caractéristique des stérols, et à celui de Molish, caractéristique des sucres. L'analyse des spectres de RMN ^1H et ^{13}C (**Figure 82**) de ce composé a permis de l'identifier au 3-O- β -D-glucopyranoside de stigmastérol **240**, Ceci qui a été confirmé par la CCM comparative de GMT2 avec un échantillon de 3-O- β -D-glucopyranoside de stigmastérol disponible dans notre laboratoire.



240

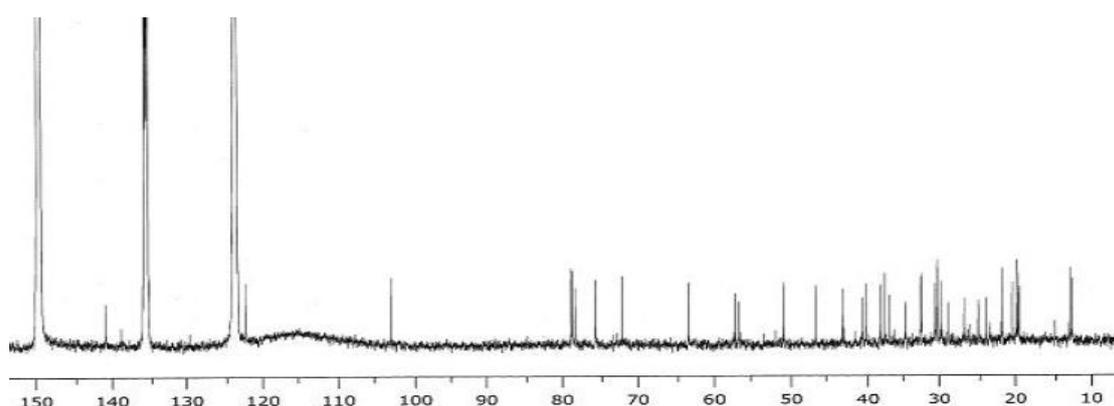


Figure 82 : Spectre de RMN ^{13}C (75 MHz, Pyridine- d_5) de GMT2

II.A.2.4.2. Identification du composé GMF3 (β -sitostérol et de Stigmastérol)

Le composé GMF3 se présente sous forme d'aiguilles blanches dans le mélange hexane acétate d'éthyle. Il est soluble dans le chlorure de méthylène et fond entre 139-141°C. Il donne une réaction positive au test de Liebermann-Burchard caractéristique des phytostérols. Son spectre de masse en impact électronique (**Fig. 83**) présente un pic de l'ion moléculaire à m/z 414 correspondant à la formule $C_{29}H_{50}O$ renfermant cinq degrés d'insaturation et un autre pic de l'ion moléculaire à m/z 412 en accord avec la formule brute $C_{29}H_{48}O$.

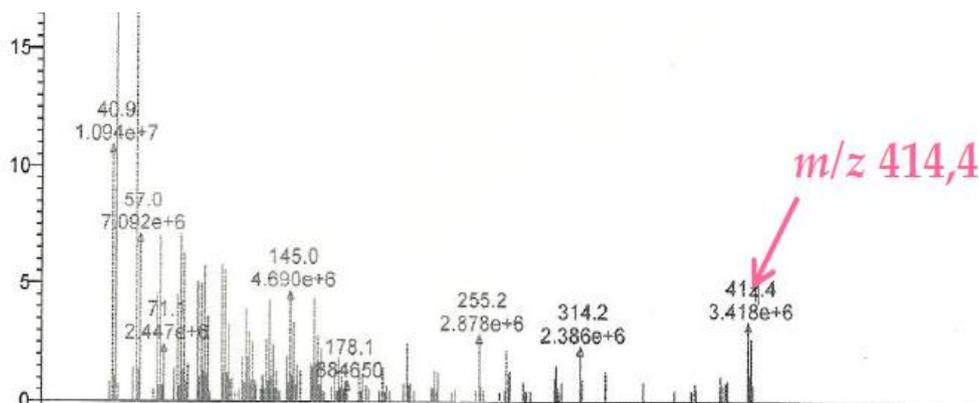


Figure 83 : Spectre de masse du composé GMF3

Sur son spectre de RMN 1H (**Fig. 84**) on observe les signaux de résonances de six groupements méthyles entre 0,67 et 1,00 ppm, de deux multiplets à δ_H 3,51 et à δ_H 5,34 indiquant la présence au sein de ce composé d'un proton géminé à un groupe hydroxyle en position C-3 et d'un proton vinylique en position H-6 β -sitostérol. De plus on observe un doublet dédoublé d'un proton à δ_H 5,0- (1H, dd, $J = 8,4$ 15,3 Hz) attribuable au proton H-23 et un doublet dédoublé à δ_H 5,20 (1H, dd, $J = 8,4$ 15,3 Hz) attribuable au proton H-22 et en fin un signal de deux protons à δ_H 5,40 (2H, dd, $J = 8,4$ Hz) attribuable au proton H-6 de la stigmastérol.

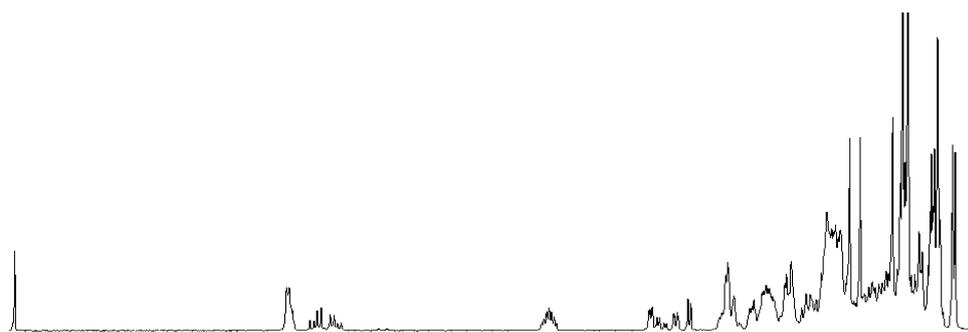
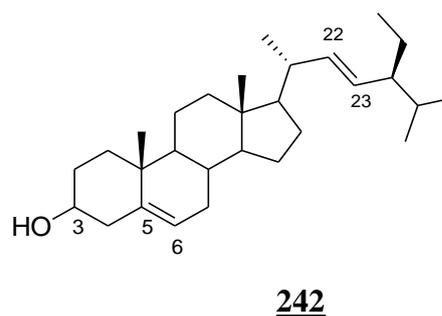
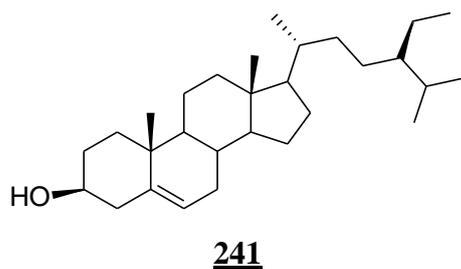


Figure 84 : Spectre de RMN ^1H (500 MHz, CDCl_3) du composé GMF3

Sur la base de toutes ces données spectrales, et par comparaison avec les données de la littérature nous a permis d'identifier le composé GMF3 à un mélange de β -sitostérol et stigmastérol **241** et **242** et déjà isolé de plusieurs espèces végétales. Ces structures ont également été confirmées par les CCM comparatives avec un échantillon authentique disponible dans notre laboratoire.



II.A.2.4.3 Identification du composé GMF1 (3-O- β -D-glucopyranoside de β -sitostérol)

Le composé GMF 1 a été isolé des feuilles de *M. batesii* Baker sous forme de poudre beige dans le mélange Hexane-AcOEt (3 :2). Soluble dans la pyridine, il fond entre 257-258 °C et réagit positivement au test de Liebermann-Burchard, caractéristique des stérols, et à celui de Molish, caractéristique des sucres. Le spectre de RMN ^1H (Fig. 85) de GMF1 est superposable à celui du 3-O- β -D-glucopyranoside de β -sitostérol 243. Ceci a été confirmé par CCM comparative avec un échantillon de ce composé disponible dans notre laboratoire.

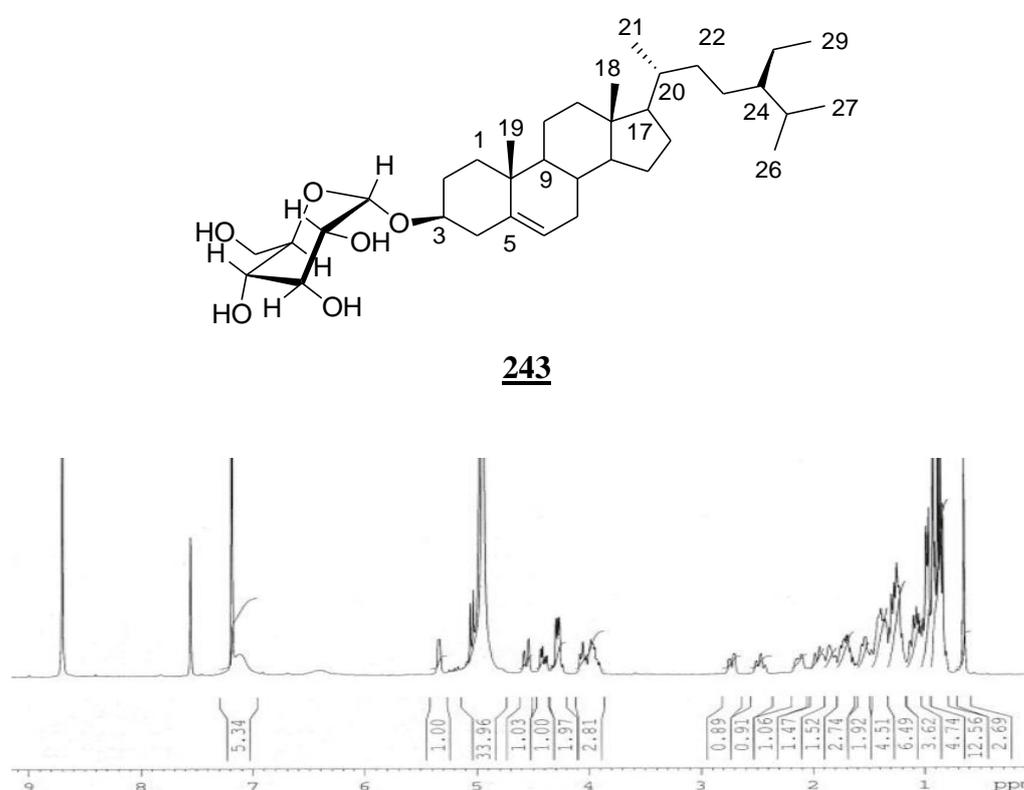


Figure 85: Spectre de RMN ^1H (300 MHz, Pyridine- d_5) de GMF1

II.A.2.4.4. Identification du composé GMB1 au spinasterol.

Le composé GMB1 a été obtenu des tiges de *M. batesii* Baker sous forme de poudre blanche dans le système Hex-AcOEt (9:1). Il est soluble dans le chloroforme et répond positivement au test de Liebermann-Burchard suggérant que GMB1 est un stéroïde (**Raju et al., 2012**). Son spectre de masse ESI-MS (**Fig. 86**) (en mode positif) exhibe le pic de l'ion pseudomoléculaire $[M+H]^+$ à $m/z = 413,2708$ dont l'analyse à haute résolution permet de lui attribuer la formule brute $C_{29}H_{48}O$ renfermant 6 insaturations.

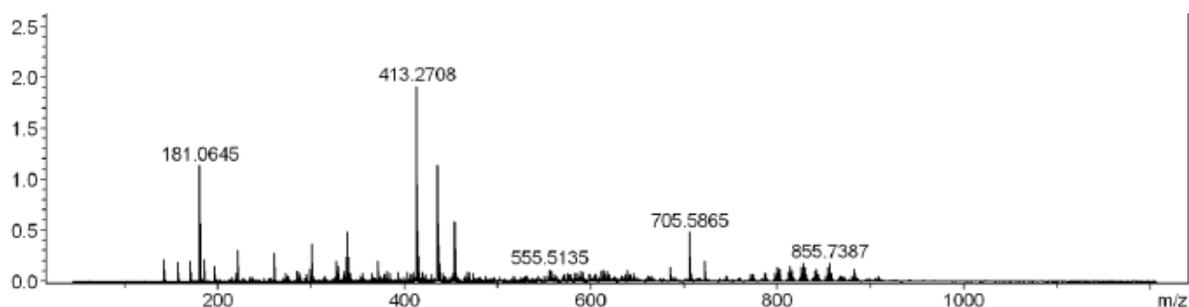


Figure 86: Spectre ESI-MS de GMB1 ou spinastérol

Sur le spectre RMN 1H (**Fig.87**), observe révèle le signal d'un multiplet d'un proton à δ_H 3,63 (1H, *m*) indicatif de l'oxyméthine des stéroïdes (**Raju et al., 2012**). Ceci est conforté par le spectre de RMN ^{13}C (**Fig. 88**), qui dispose d'un signal à δ_c 71,0 attribuable au carbone en position C-3. En plus de ces signaux, nous observons également les signaux à δ_H 0,59 (3H, *s*) et 0,83 (3H, *s*) attribuables aux protons H-18 et H-19 du squelette des stéroïdes. Ceci est confirmé par la présence sur le spectre RMN ^{13}C des signaux à δ_c 12,1 et 13,1 respectivement. Les particularités du squelette de ce composé sont : Le signal du proton H-7 à δ_H 5,06 (1H, *dd*, $J = 8,4 ; 15,0$ Hz) et le signal à δ_c 117,5 attribuable au carbone C-7 ; Les signaux des protons oléfiniques (H-22 et H-23) apparaissant à δ_H 5,19 (2H, *dd*, $J = 7,2 ; 16,0$ Hz) et leurs carbones correspondants à δ_c 138,2 et 129,4 respectivement pour C-22 et C-23.

Nous observons en plus sur ce spectre de RMN 1H des signaux à δ_H 0,83 (3H, *d*, $J = 2,7$ Hz) et 0,85 (3H, *d*, $J = 4,5$ Hz) attribuables aux Me-26 et Me-27 liés à C-25. La présence des signaux à 0,88 (3H ; *dd* ; $J = 4,5 ; 1,8$ Hz) et à 1,06 (3H, *d*, $J = 6,6$ Hz) correspondent aux groupements (Me-29 et Me-21) liés respectivement aux carbones C-28 et C-20 du squelette et leurs signaux respectifs à δ_c 12,3 et 21,1.

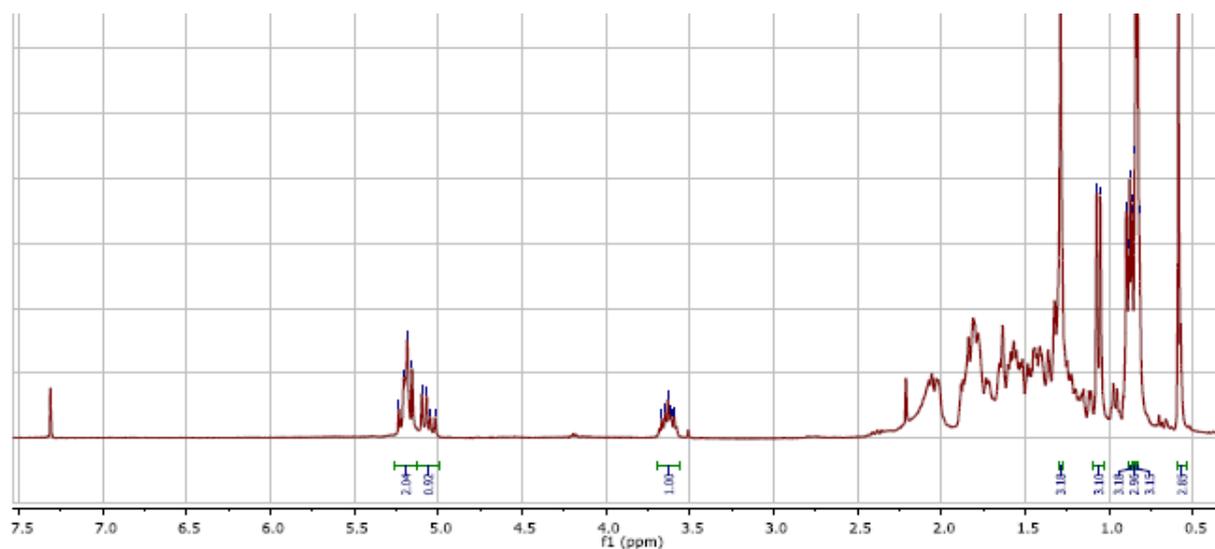


Figure 87 : Spectre RMN ^1H (CDCl_3 , 300 MHz) de GMB1 ou Spinasterol

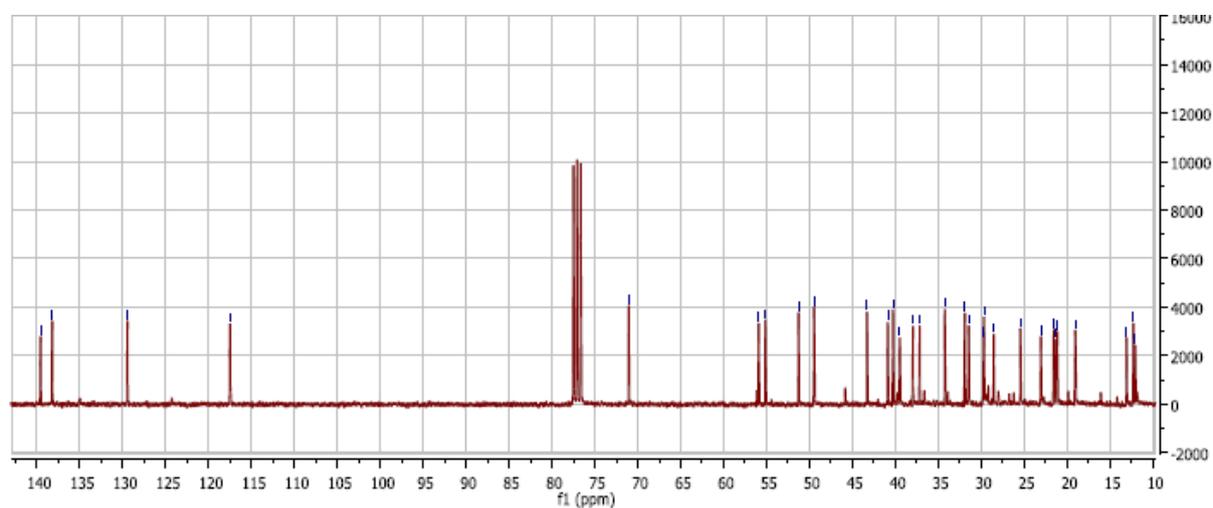
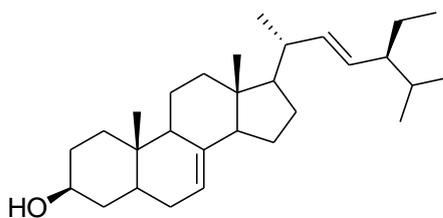


Figure 88 : Spectre RMN ^{13}C (CDCl_3 , 75 MHz) de GMB1 ou Spinasterol

L'ensemble des données RMN 1D de GMB1 comparées à celles décrites dans la littérature nous ont permis de l'identifier au stigmasta-7,22-diene-3 β -ol, communément appelé spinastérol structure 244 décrite précédemment par (Itoh *et al.*, 1981 ; Wandji *et al.*, 2002).



244

II.A.2.5. Les Hydrates de carbone

II.A.2.5.1. Identification de la structure GMB 10 ;

Le composé GMB10 a été isolé des racines de *M. batesii* Baker. Il précipite sous forme de poudre blanche dans l'AcOEt pur. Soluble dans le DMSO, l'eau et la pyridine. Il répond positivement au test de Molish, caractéristique des sucres.

Son spectre de masse sous ionisation ESI (**Fig. 89**) en mode négatif présente le pic de l'ion pseudomoléculaire $[M-H]^-$ à m/z 341,1 compatible avec la formule brute $C_{12}H_{22}O_{11}$ et renfermant deux degrés d'insaturation. Ce qui suggère que le composé GMB10 est un sucre.

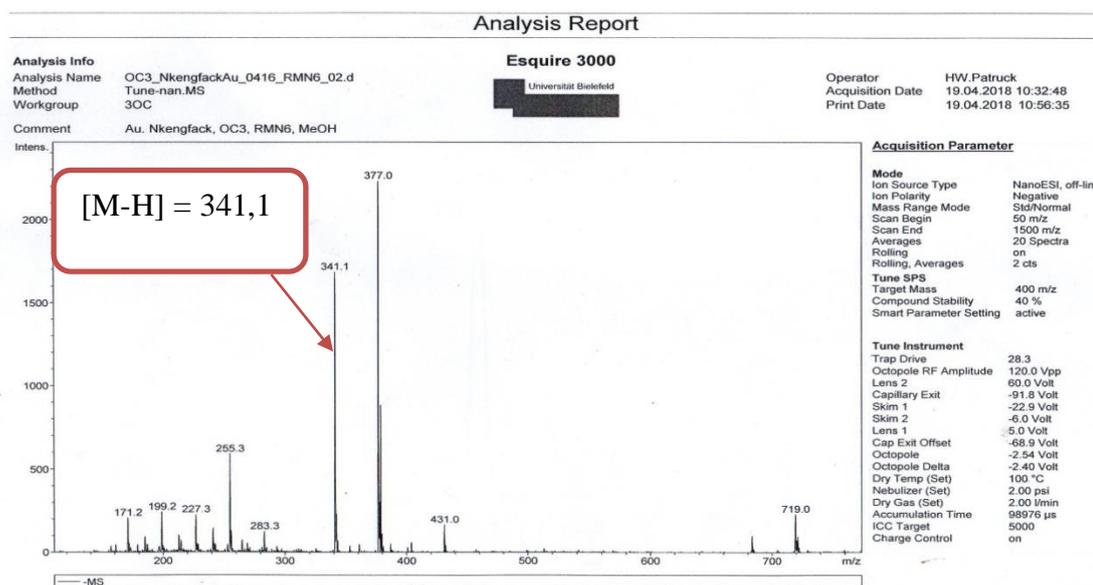


Figure 89 : spectre de masse du composé GMB10.

Son spectre de RMN ^{13}C (DMSO- d_6 ; 125MHz) (**fig. 90 et 91, tableau 33**) complètement découplé large bande fait ressortir 12 signaux de carbone tous oxygénés correspondants aux 12 atomes de carbone présent dans la formule brute. L'analyse de ces 12 signaux au moyen des techniques HMQC et DEPT fait ressortir :

-Deux signaux de carbone tous hybridés sp^2 et oxygénés à δ_C 104,5, 92,2, attribuables à des carbones anomériques l'un quaternaire à suggérant que le composé GMB10 serait dimère de sucre non symétrique.

-Trois méthylènes à δ_C 61,0 ; δ_C 62,6 et 62,5 indiquant que l'un des monomères possède un cycle à cinq atomes de carbones tandis que l'autre serait à six. Le reste des sept signaux sont des méthynes oxygénés tous hybridés sp^3 .

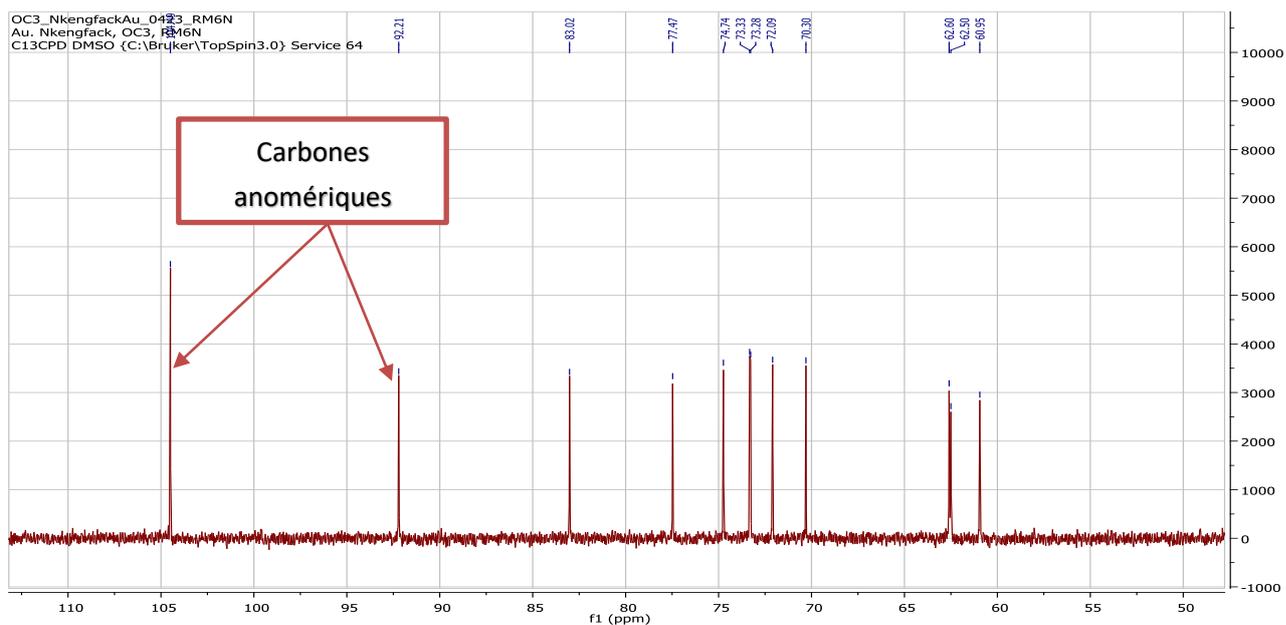


Figure 90 : Spectre DEPT (DMSO-d₆, 100 MHz) du composé GMB10.

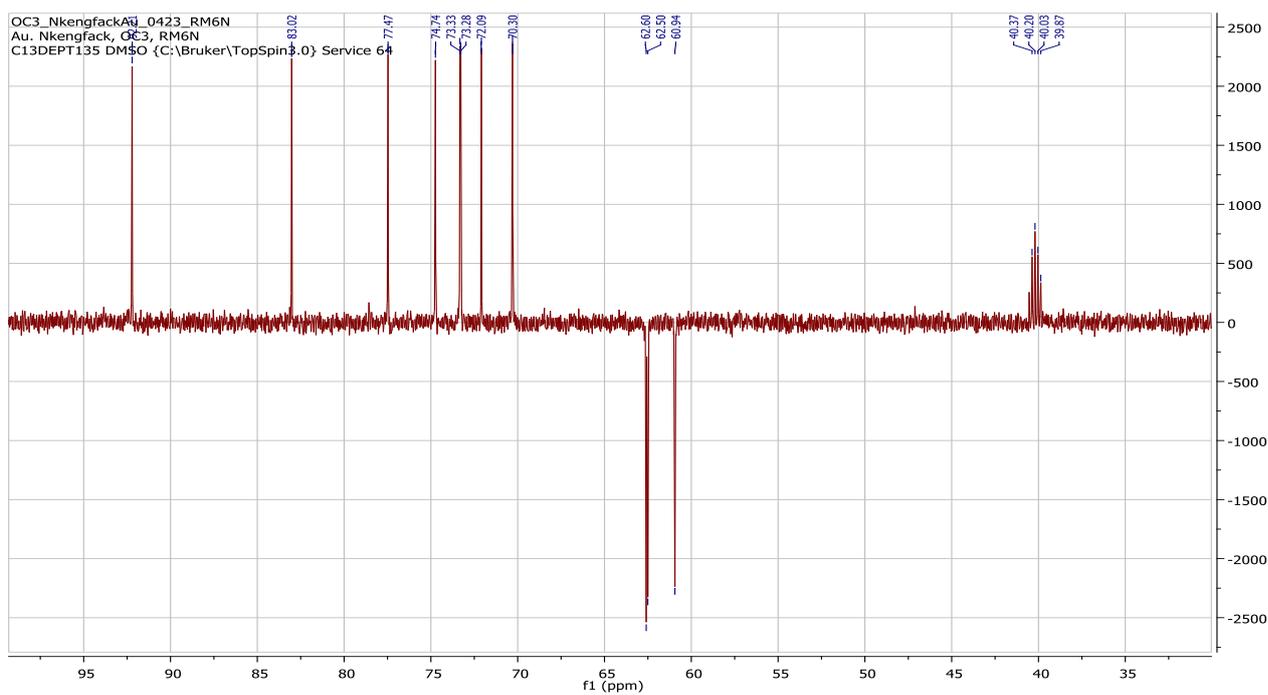


Figure 91 : Spectre DEPT (DMSO-d₆, 100 MHz) du composé GMB10

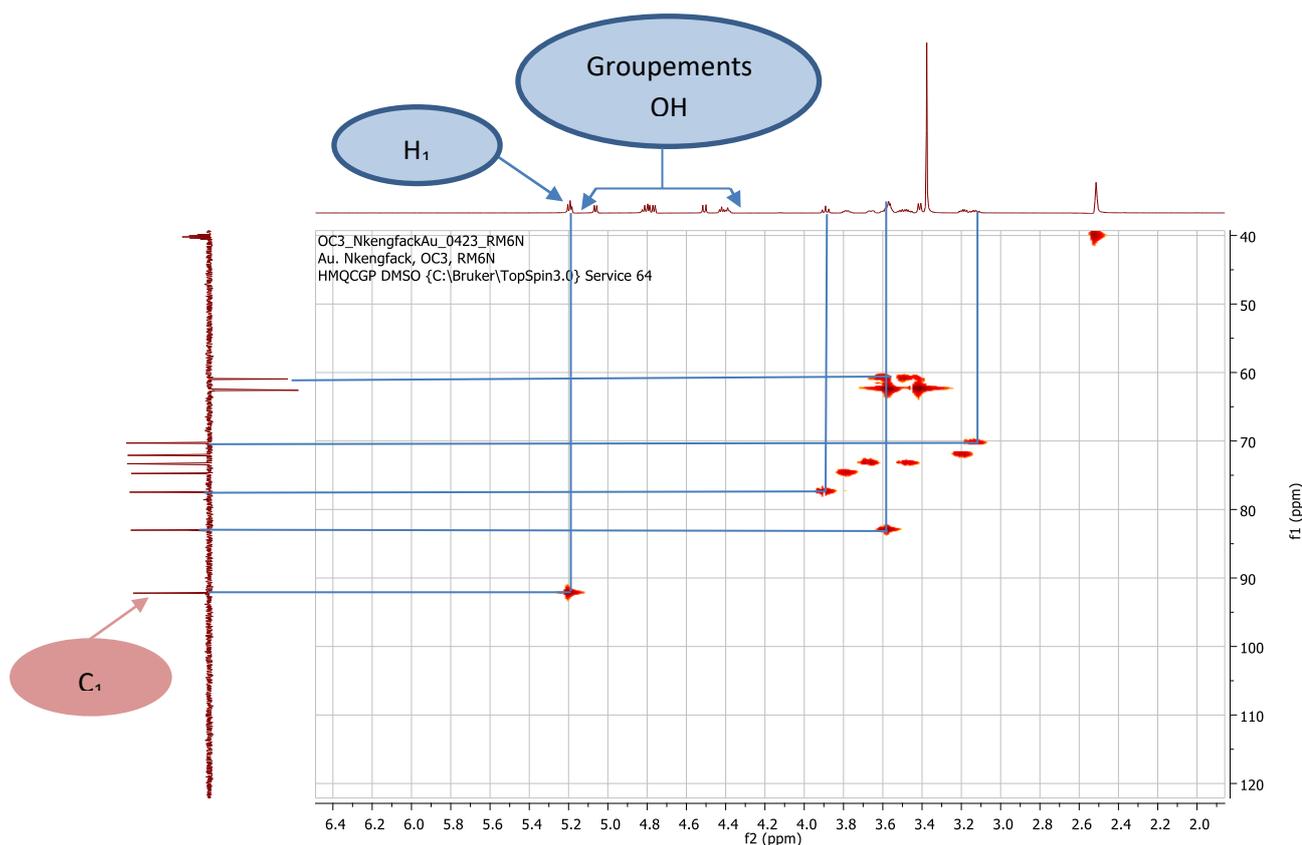


Figure 92 : Spectre HMQC du composé GMB10

Ces informations sont en coroboration avec l'analyse de son spectre de RMN ^1H (**Fig. 93, tableau 33**) couplé au spectre COSY (**Fig. 94**), présente :

- Un signale doublet d'un proton à δ_H 5,18, attribuable au proton anomérique ;
- Huit signaux de singulet de un proton à δ_H 5,04, 4,78, 4,74, 4,41, 4,80, 4,49, 5,16 et 4,37, montrant aucune tâche de corrélation 1J hétéronucléaire. Par conséquent ce sont les protons sont portés par un hétéroatome qui ici sont des atomes d'oxygène. On en déduit donc que GMB10 contient 8 fonctions hydroxyles.
- Trois signaux de proton oxyméthylènes oxy respectivement à δ_H 3,45 (2H, m) / 62,1, δ_H 3,41 (2H, s) / 62,2, et δ_H 3,61 (2H, t) / 62,3, ce qui nous permet de conclure que notre composé contient dans sa structure 3 groupements oxyméthylènes.

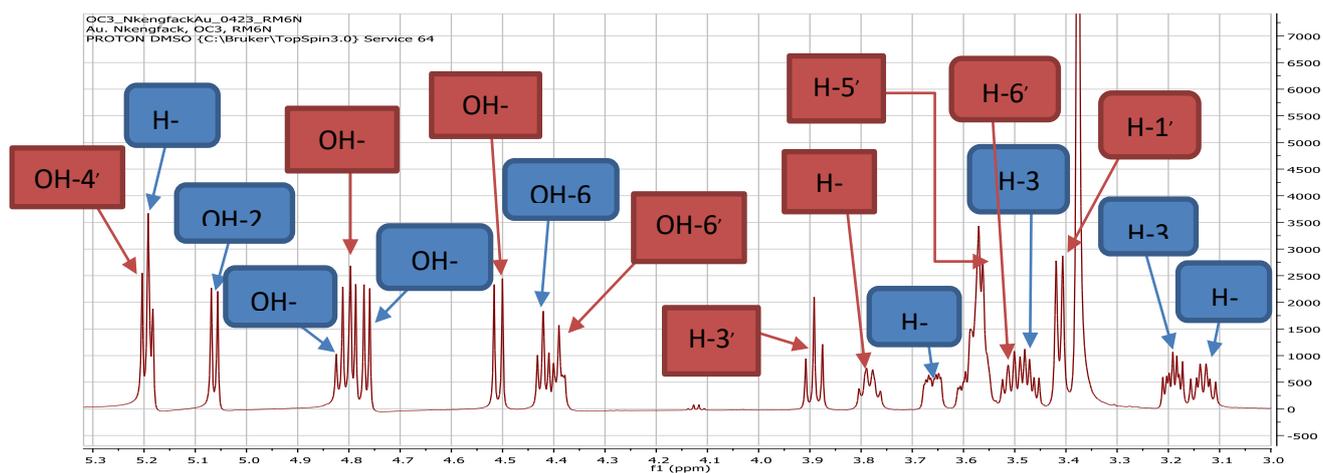


Figure 93 : Spectre de RMN¹H (DMSO-*d*₆, 500,16 MHz) du composé GMB10.

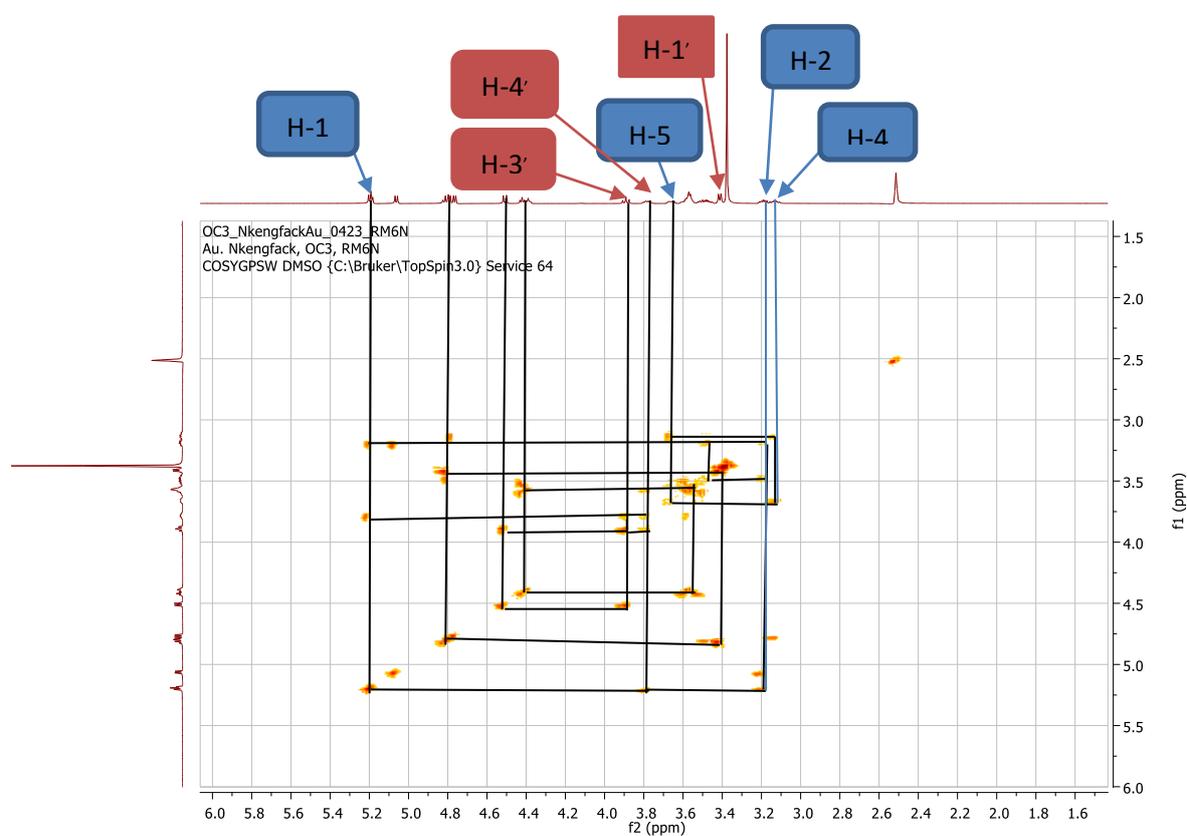
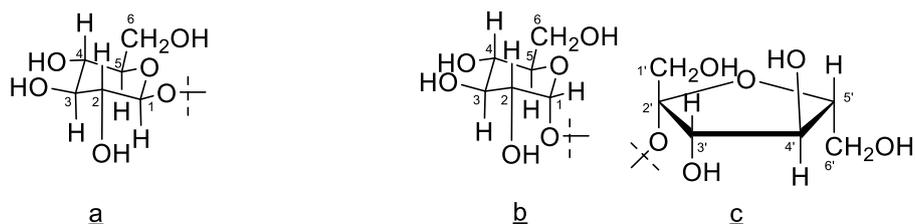


Figure 94 : Spectre COSY du composé GMB10

Au regard de ce qui précède le composé **GMB10** possèderai dans sa structure deux unités osidiques, identifiées respectivement à la glucopyranosyle et la fructofuranosyle.

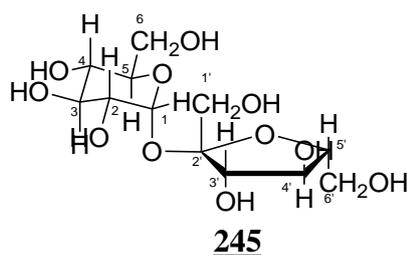


Sur le spectre COSY ci-dessus on observe des corrélations homonucléaire entre les protons H-1 et H-2, une corrélation entre les protons H-4 et H-5, une corrélation entre les protons H-3 et H-4 et une corrélation entre H-2 et H-3.

De même on observe toujours sur ce spectre COSY une corrélation entre les protons H-4' et H-3', une corrélation entre les protons H-4' et H-5', et enfin une corrélation entre les protons H-5' et H-6'.

A ce stade de la discussion, il nous reste à déterminer laquelle des sous structure **a** ou **b** il faudrait choisir afin de la joindre à la sous structure **c**. Pour y parvenir nous avons fait recours d'une part à la constante de couplage du proton anomérique et d'autre part aux données présentent sur le spectre HMBC du composé GMB10.

En effet, le proton anomérique H-1 couple avec le proton H-2 et sort sous forme de doublet avec une constante de couplage $J = 5\text{Hz}$, suggérant un couplage cis. D'autre part la présence sur le spectre HMBC d'une corrélation 3J entre le proton anomérique et le carbone C-2' nous ont permis de lui attribuer la structure **245** ci-dessous.



O- α -D-glucopyranosyl-(1-2)- β -D-fructofuranoside

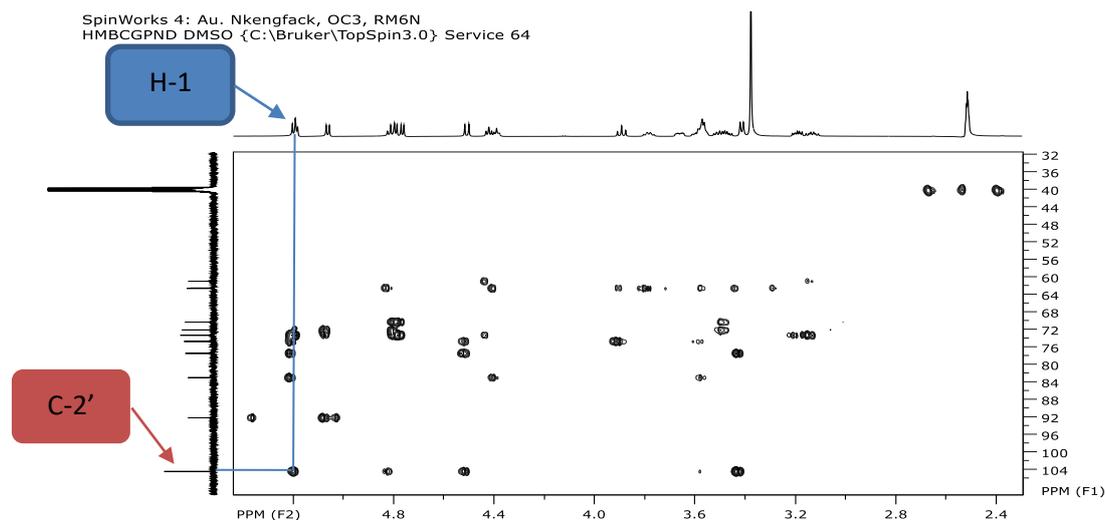


Figure 95 : Spectre HMBC du composé GMB10.

Tableau 33: Déplacements chimiques et attributions du composé GMB10 (DMSO- d_6 ; 500, MHz) (saccharose) 245

Positions		^1H en ppm [nH, m, J (Hz)]	^{13}C en ppm (m)
1	H	5,18 (1H)	92,1
2	H	3,17 (1H, m)	71,7
	O-H	5,04 (1H,d,)	
3	H	3,474 (1H,m)	72,8
	O-H	4,78 (1H, d, 5)	
4	H	3,09 (1H, m)	70,0
	O-H	4,74 (1H, d, 5)	
5	H	3,62 (1H, m)	82,6
6	H	3,54 (2H, d, 5)	62,1
	O-H	4,41 (1H,t, 5)	
1'	H	3,38 (2H, d, 6)	62,2
	O-H	4,80 (1H, t, 6)	
2'	/	/	104,1
3'	H	3,87 (1H, t, 8)	77,0
	O-H	4,49 (1H, d, 5)	
4'	H	3,751 (1H, q, 9)	74,3
	O-H	5,16 (1H, d, 4)	
5'	H	3,641(1H, m)	72,9
6'	H	3,57 (2H , d, 5)	62,1
	O-H	4,37 (1H, t, 5)	

II.A.2.5.2. Identification de la structure du composé GMB8

Le composé GMB a été isolé des racines *M. batesii* Baker sous forme de cristaux blancs dans le mélange AcOEt/ MeOH (85:15). Il répond positivement au test de Mölish suggérant sa nature osidique.

Sur son spectre de RMN ^{13}C (DMSO, 100 MHz) complètement découplé, on observe trois signaux de carbones dont l'analyse par la technique DEPT montre qu'il s'agit de trois oxyméthines résonnant respectivement à δ_{C} 73,2 ; 72,2 ; 70,7.

Sur son spectre de RMN ^1H (DMSO, 400 MHz), on observe six familles de signaux intégrant chacun pour un proton, il s'agit de :

- trois multiplets portés par des hydroxyméthines résonnant à δ_{H} 3,63 ; 3,40 ; 3,22
- les trois autres protons sont ceux de groupements hydroxyles, résonnant tous sous forme de doublet à δ_{H} 4,61 ; 4,40 ; 4,28.

Ces six familles de protons sont liées aux trois carbones observés sur le spectre de RMN ^{13}C , ce qui suppose l'existence au sein de notre molécule, d'un élément de symétrie. De plus, tous les groupements hydroxyles sont liés à des méthines, par conséquent GMB8 serait un composé cyclique.

L'ensemble de ces données comparées à celle de la littérature nous a permis d'attribuer au composé GMB8, la structure 246 qui est celle du myo- inisitol ou cyclohexane-1,2,3,4,5,6-hexol.



246

Tableau 34: Données spectrales de RMN ^1H (CDCl_3 , 400 MHz) et RMN ^{13}C (CDCl_3 , 100 MHz) de GMB8 (myo- inisitol ou cyclohexane-1,2,3,4,5,6-hexol) 246

Position	δ_{H} en ppm (nH, m, J en Hz)	δ_{C} en ppm
1, 6	3,22 (1H, m)	70,7
2, 5	3,40 (1H, m)	72,2
3, 4	3,63 (1H, m)	73,2
1-OH	4,28 (1H, d)	/
2-OH	4,40 (1H, d)	/
3-OH	4,61 (1H, d)	/

II.A.3. HYPOTHESE DE LIENS BIOGENETIQUES ENTRE LES ALCALOÏDES ISOLES

Au regard de l'élucidation structurale qui vient d'être faite, les alcaloïdes des espèces *M. thomsonii* et *M. batesii* sont de type monotépenique (type I), et présentent tous au sein de leur structure deux atomes d'azote respectivement en position 1 et en position 4. Ce qui nous permet de comprendre que le précurseur biogénétique principale de ces alcaloïdes serait la tryptophane (tryptamine) qui suite à des réactions de condensation du type Pictet-Spengler, d'une tryptamine et d'un aldéhyde monotépenique (iridoïne : sécologanoside) donne la strictosidine, qui par des réactions enzymatiques (transposition intramoléculaire, glycosylation, méthylation, condensation intramoléculaire ...) successives catalysées au sein de la plante conduirait à tous les autres alcaloïdes type indolo-monotépenique et type quinoléique.

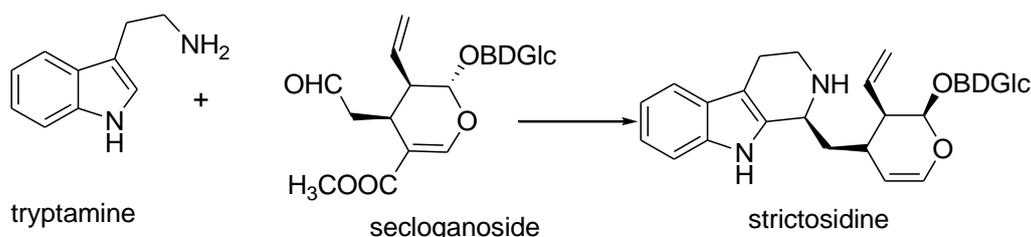


Schéma 25 : Synthèse de la strictosidine

C'est Ainsi, la strictosidine, subit une condensation intramoléculaire pour donner la strictosamide qui suite à un réarrangement puis une glycosylation en position 12 pour donner la mostueatecine A ; la série de réaction en partant toujours de la strictosidine au strictosamide par condensation intramoléculaire suivie d'un réarrangement et de la glycosylation en position 21 aboutis a la formation de la thomsoniine A. Une polyglycosylation de la strictosamide en position 12 et 21 permet d'avoir la mostueatesine B. Un réarrangement du cycle B par transposition permet de passer d'un cycle à 6 un cycle à 5 pour aboutir à la pumiloside qui suite à une réaction de réduction et d'hydrolyse donne la camptothecine qui par la suite subit une oxydation en position 10 pour donner la 10-hydroxylcamptothecine dont son méthylation et position 20 donne la thomsoniine B.

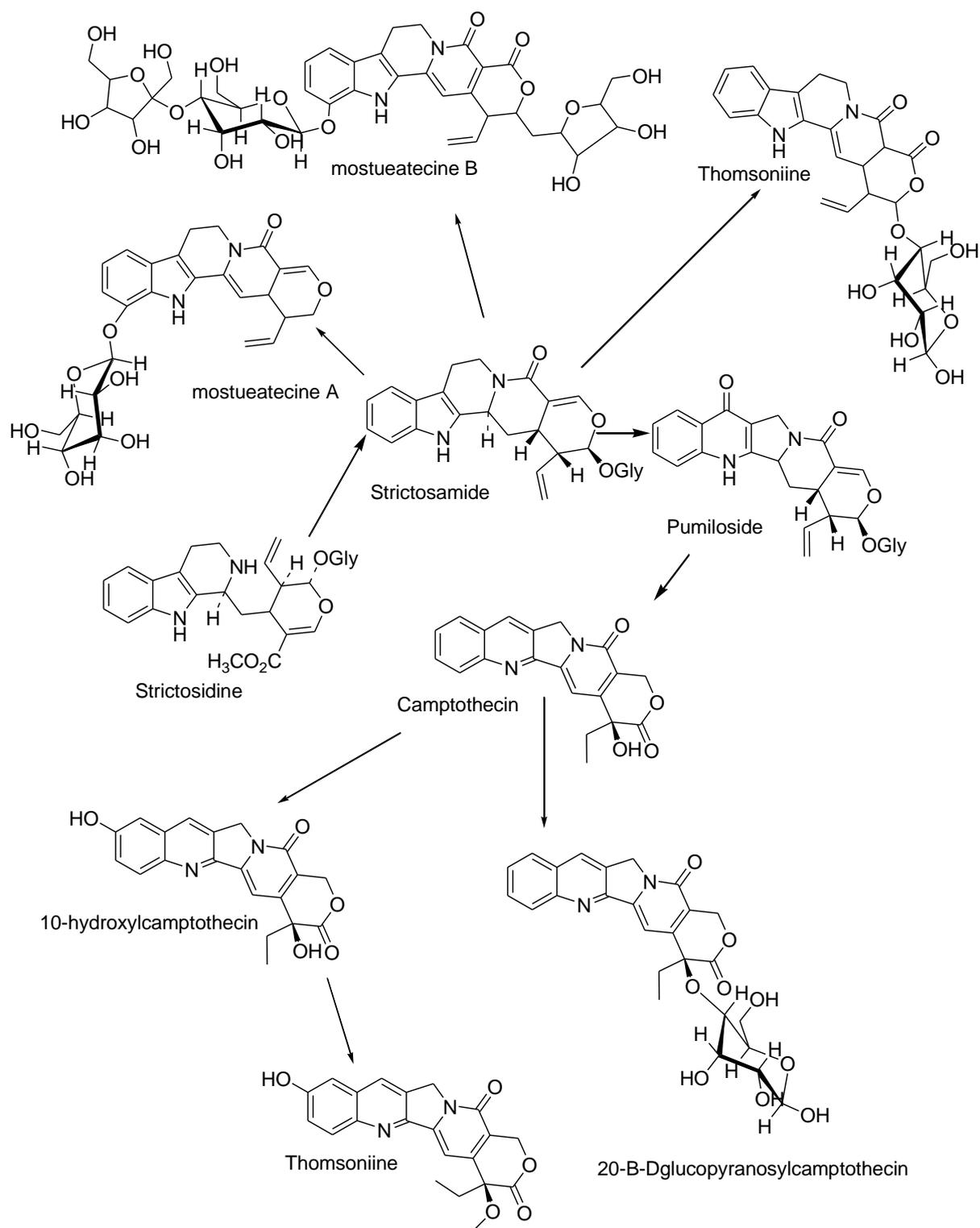


Schéma 26: hypothèse de liens biogénétiques entre les alcaloïdes isolés

II.A.4. Quelques réactions sur quelques produits isolés

Quelques transformations chimiques ont été effectuées au cours de nos travaux dans le cadre de la préparation de cette thèse sur un certain nombre de composés isolés en quantités appréciables tels que GMB 10 233, GMT 11 213.

II.A.4.1 Acétylation du Saccharose GMB 10 243

La réaction d'acétylation fait partie des réactions d'estérification, c'est-à-dire les réactions entre un alcool et un acide carboxylique. Ce sont des réactions lentes, limitées et réversibles. Elles peuvent se faire soit en milieu acide, soit en milieu basique. Pour les rendre plus rapide et quantitatives, on utilise en lieu et place de l'acide carboxylique, un dérivé d'acide comme l'anhydride d'acide ou le chlorure d'acide. Dans le cas d'espèce, la réaction a été faite en présence d'anhydride acétique et de la pyridine et en chauffant le mélange réactionnel à reflux pendant 24 heures.

Un ballon contenant une suspension de sucrose (40 mg), d'anhydride acétique (24 mL), de la pyridine (3 mL) et 2 gouttes d'acide sulfurique est placé sous agitateur magnétique pendant 24 heures. Le produit obtenu est mélangé à l'eau (50 ml), à l'acétate d'éthyle (30mL) et l'ensemble est introduit dans une ampoule à décanter permettant ainsi de récupérer la phase organique. Après traitement du milieu réactionnel et purification par chromatographie sur colonne de gel de silice, nous avons obtenu un dérivé orta-acétylé GMB 10a 237 avec un rendement de 54,2 %. Le produit ainsi obtenu se présente sous forme de poudre jaunâtre, soluble dans le chloroforme, le méthanol et le DMSO.

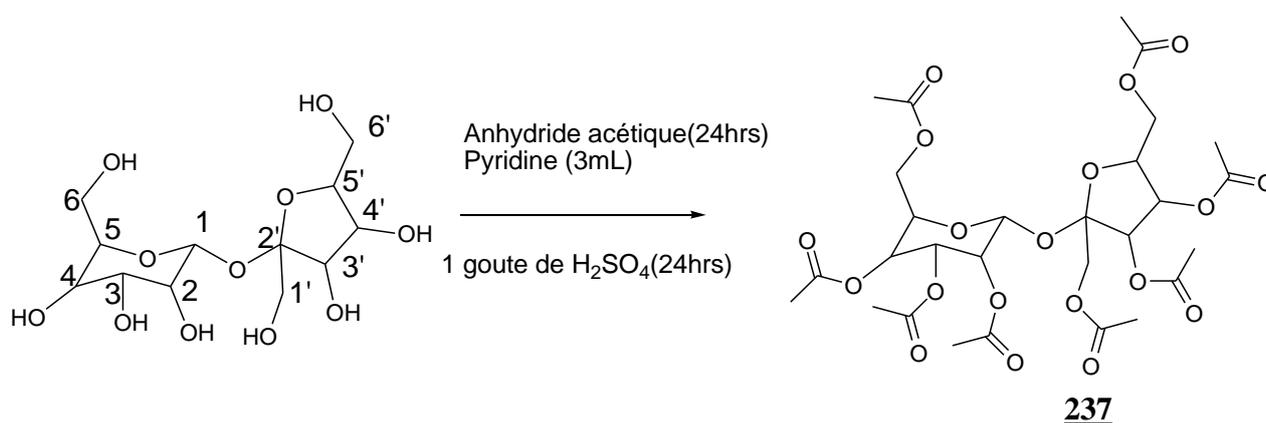


Schéma 27: Etape de réaction d'hemi-synthèse de l'acétylation du sucrose

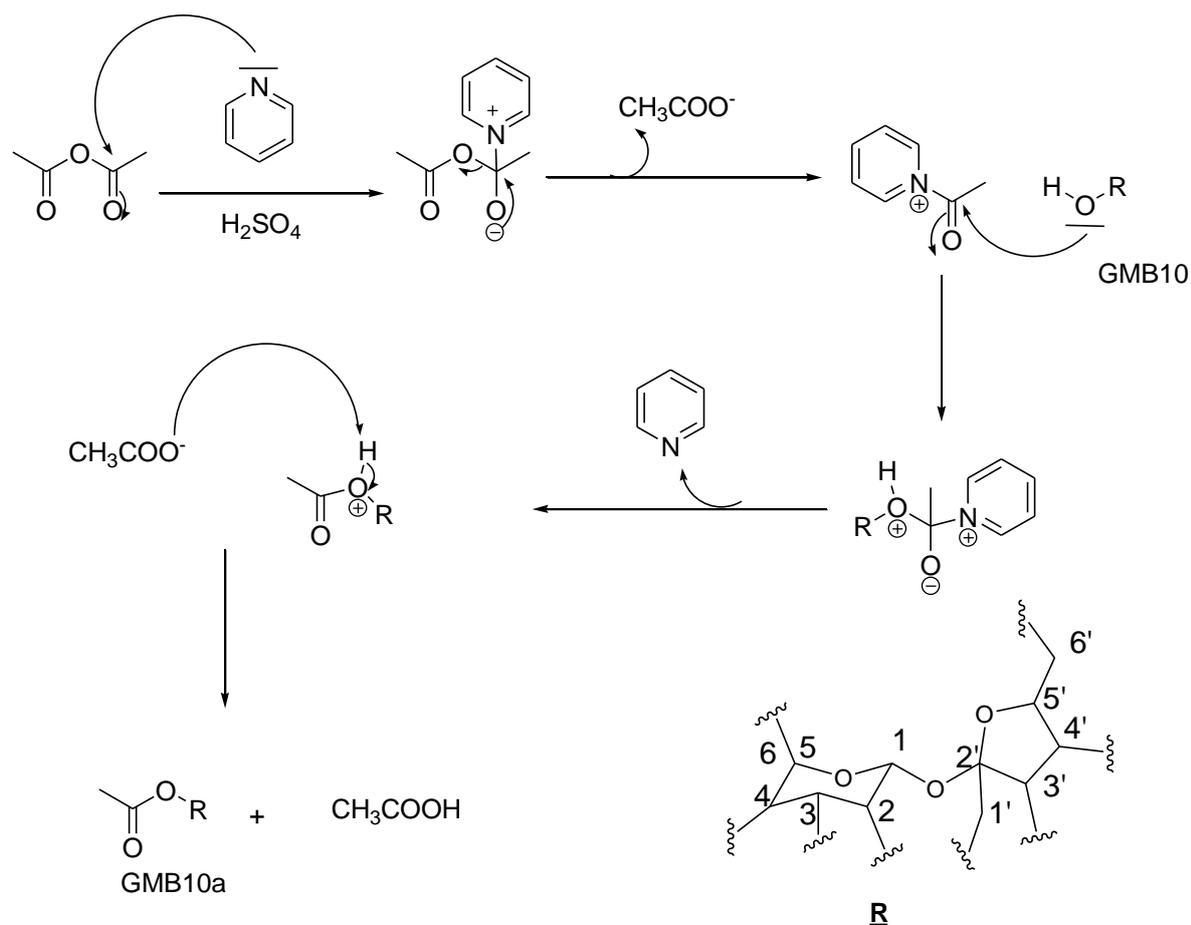


Schéma 28 : Mécanisme d'acétylation du composé GMB 10

Son spectre de masse ESI-TOF enregistré en mode positif (**Figure 98**), présente le pic de l'ion moléculaire sodique $[\text{M}+\text{Na}]^+$ à m/z 701 correspondant à la formule brute $\text{C}_{28}\text{H}_{38}\text{O}_{19}$ renfermant 7 degrés d'insaturation. La comparaison de la masse de ce composé à celle de GMB10 montre une différence de 337 unités, ce qui nous permet de comprendre que toutes les huit fonctions hydroxyles du composé GMB10 ont été acétylé pour donner le composé GMB10a.

Analysis Report

Analysis Info

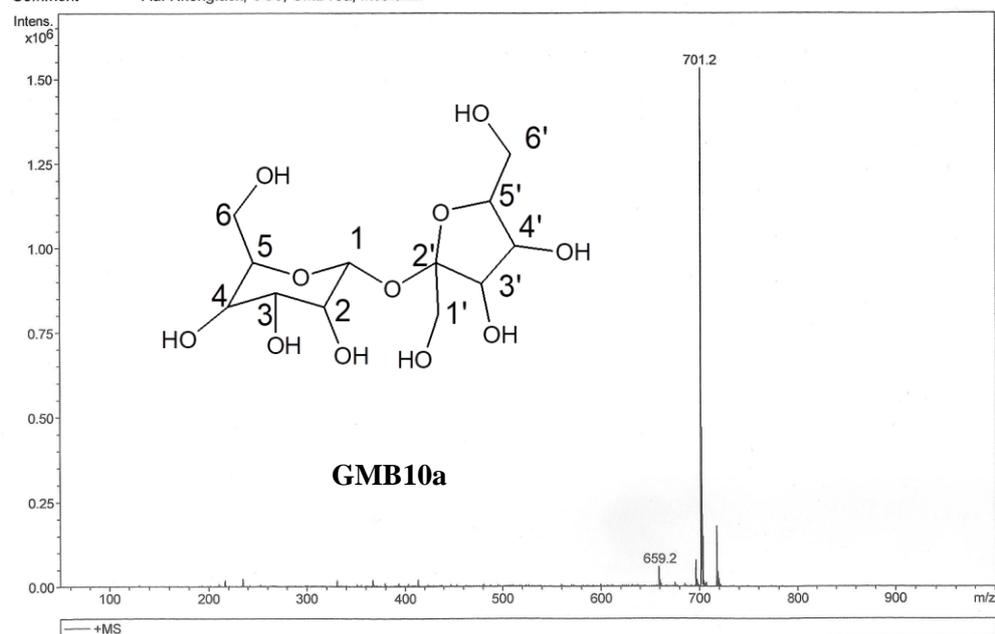
Analysis Name OC3_NkengfackAu_0613_GMB10a_01.d
 Method Tune-nan.MS
 Workgroup 3OC

Esquire 3000

Universität Bielefeld

Operator IKJS
 Acquisition Date 14.06.2018 11:40:09
 Print Date 15.06.2018 10:16:09

Comment Au. Nkengfack, OC3, GMB10a, Methanol



Acquisition Parameter

Mode NanoESI, off-line
 Ion Source Type Positive
 Ion Polarity Std/Normal
 Mass Range Mode 50 m/z
 Scan Begin 1000 m/z
 Scan End 20 Spectra
 Averages on
 Rolling, Averages 2 cts
 Tune SPS
 Target Mass 500 m/z
 Compound Stability 40 %
 Smart Parameter Setting active

Tune Instrument

Trap Drive 45.2
 Octopole RF Amplitude 120.0 Vpp
 Lens 2 -60.0 Volt
 Capillary Exit 96.0 Volt
 Skim 1 26.1 Volt
 Skim 2 6.0 Volt
 Lens 1 -5.0 Volt
 Cap Exit Offset 69.9 Volt
 Octopole 2.62 Volt
 Octopole Delta 2.40 Volt
 Dry Temp (Set) 100 °C
 Nebulizer (Set) 2.00 psi
 Dry Gas (Set) 2.00 l/min
 Accumulation Time 343 µs
 ICC Target 5000
 Charge Control on

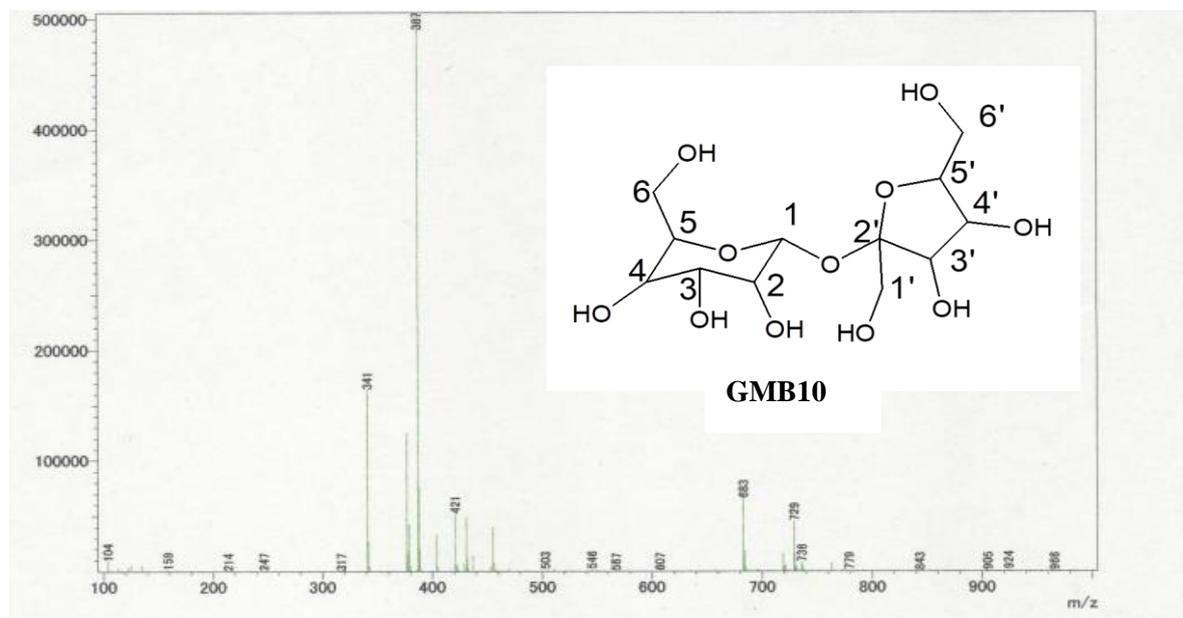


Figure 96: Spectre de masse EI comparatif de GMB10 et GMB10a

Sur le spectre de RMN ^1H (Fig. 97) de ce composé on observe un de singlets de trois protons chacun attribuable aux protons des groupements méthyle en position alpha du carbonyle d'ester à δ_{H} 2,03 ; 2,05 ; 2,09 ; 2,10 ; 2,12 ; 2,13 ; 2,14 et 2,18 et la disparition des signaux des protons des fonctions hydroxyles présent sur le spectre de RMN ^1H du composé GMB10, entre δ_{H} 5,16 et δ_{H} 5,21.

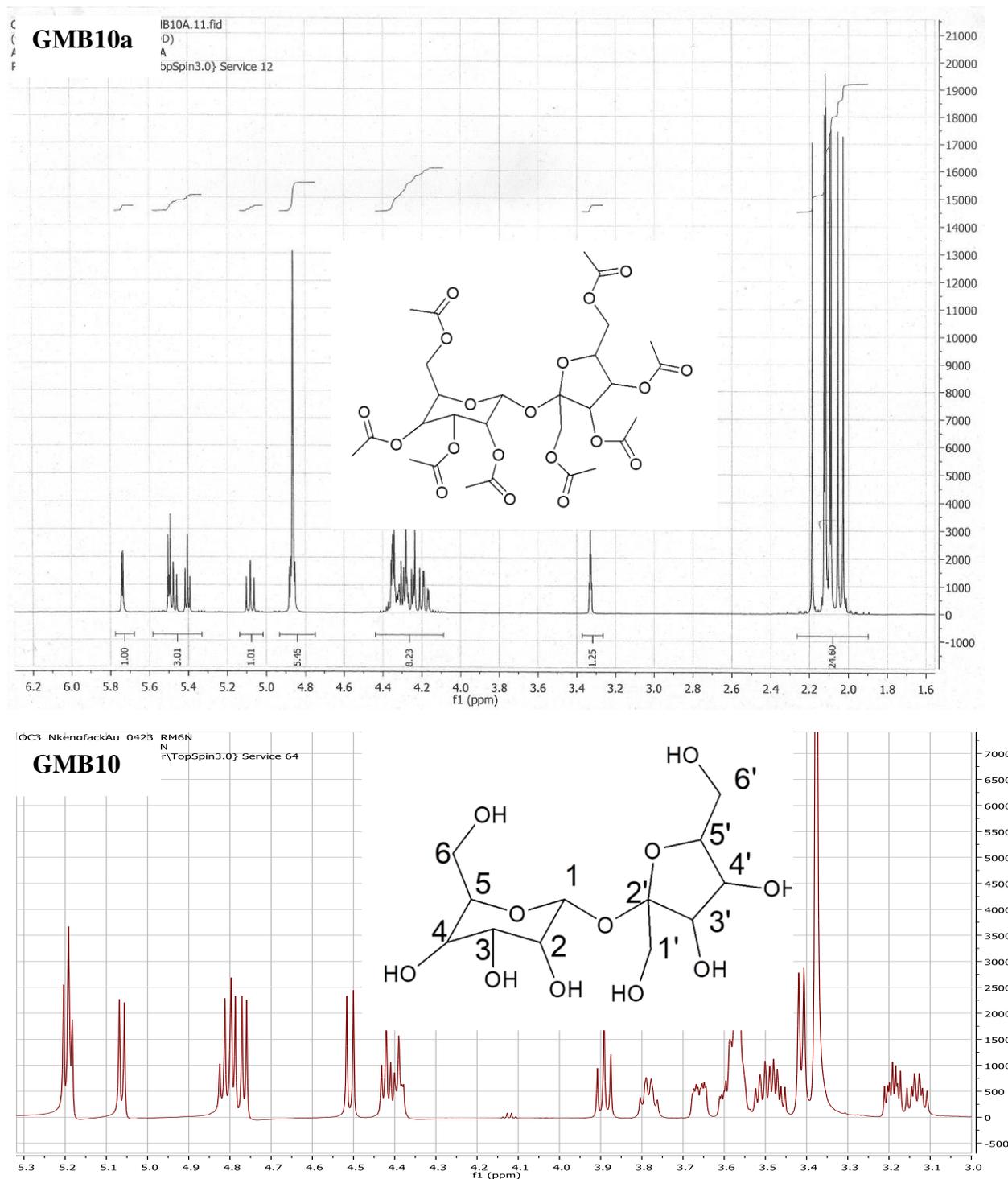


Figure 97: Spectre comparatif de RMN ^1H des composés GMB10 et GMB10a

II.A.4.2 Réaction de méthylation de la 10-hydroxycamptotecin (GMT11 213)

Traité par le diméthylsulfate en présence du carbonate de potassium à reflux dans l'acétone, la 10-hydroxycamptotecine (GMT16) qui renferme dans sa structure deux groupements hydroxyles en position 10 et 20 n'a pas conduit au dérivé diméthoxylé

correspondant, mais plutôt à un dérivé monométhoxylé, la 10-méthoxycamptotecine (GMT16a) avec un rendement de 38% (Koyama et al., 2008) **213**. Il résulterait de la méthylation de l'un des deux groupements hydroxyles en position 10. Ce dérivé méthoxylé précipite sous forme de poudre rouge dans un mélange hexane-acétate d'éthyle 25%.

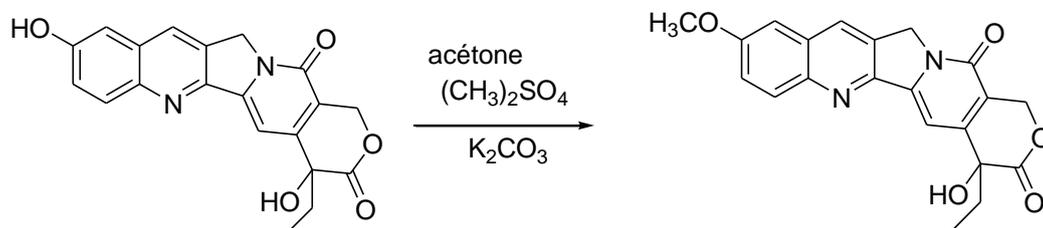
**238**

Schéma 29: Etapes de la réaction de l'acétylation de 10-hydroxycamptotecine.

Sur le spectre de RMN ^1H (Fig. 98) de GMT16a on observe d'une part, le signal d'un singulet de trois protons à δ_{H} 3,88, attribuable aux protons d'un groupement d'un méthoxyle et d'autre part la disparition du signal d'un proton hydroxyle δ_{H} 5,14.

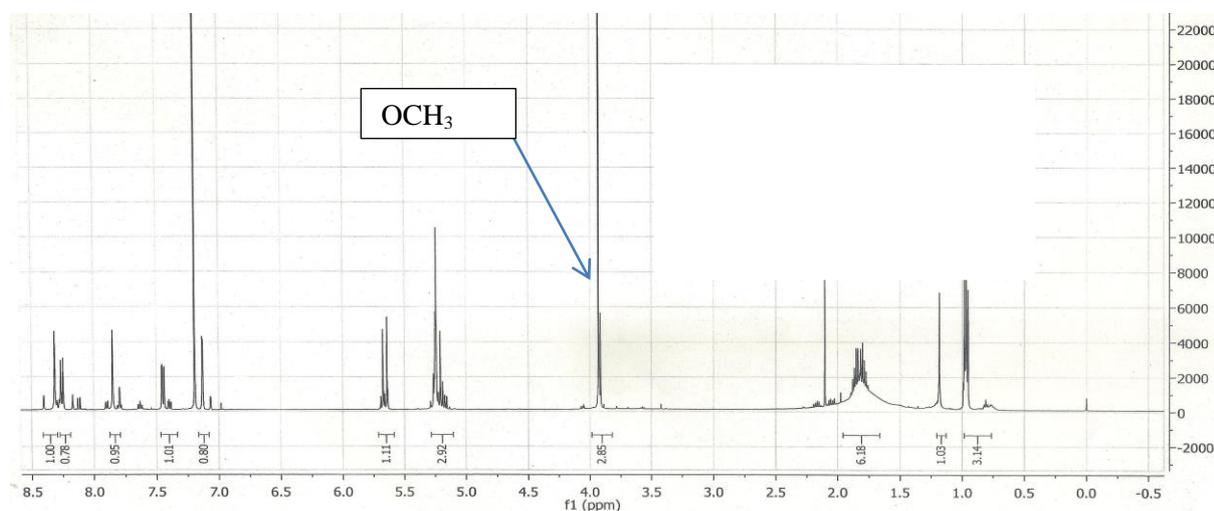


Figure 98: Spectre de RMN ^1H des composés GMB16a

II.B. Activités biologiques des extraits bruts et de quelques composés isolés des deux plantes

Compte tenu du fait que l'extrait des feuilles des plantes de la famille des Loganiaceae sont utilisés en médecine traditionnelle pour le traitement de quelques maladies infectieuses d'une part, et que des travaux chimiques effectués sur l'espèce *M. brunoniis*, ont permis l'isolement des alcaloïdes quinoléiques à activité anticancéreuse d'autre part, il nous a paru

opportun d'effectuer une évaluation des activités anticancéreuses et antimicrobiennes (antibactérienne et antifongique) des extraits bruts des feuilles, des racines et des tiges de *M. batesii* et *M. thomsonii* ainsi que quelques composés purs isolés.

II.B.1. Evaluation de l'activité cytotoxique

II.B.1.1. Principe et méthode

Dans le cadre de cette étude, pour évaluer l'activité cytotoxique de nos extraits bruts ainsi que nos composés purs, nous avons utilisé la méthode du test au bromure de 3-(4,5-diméthylthiazol-2-yl)-2,5-diphényltétrazolium (MTT). En effet, c'est le test de détection colorimétrique permettant d'évaluer la viabilité des cellules au sein d'un échantillon et de déterminer, la mortalité cellulaire induite par un composé. Son principe repose sur la réduction du sel de tétrazolium MTT de couleur jaune en un composé violet "formazan" (Angelbert F. et al 2011)

II.B.1.2. Résultats et discussion

Dans le cadre de ce travail, nous avons évalué l'effet cytotoxique de sept composés GMB14 (thomsoniine B), GMT16 (thomsoniine A ou 10-hydroxy-20-méthoxycamptotecine), GMT15 (camptotecine), GMT11 (10-hydroxycamptotecine), GMT12 (acide 2 α ,3 α ,19 α -trihydroxy-24-norurs-4(23),12-dien-28-oïque), GMT9 (acide 3 β -acetoxy-2 α ,19 α -dihydroxy-24-norurs-4(23),12-dien-28-oïque) et GMF5 (mostueatecine A) ; ainsi que les extraits au méthanol des racines (R), des tiges (T) et des feuilles (F). En effet, les composés et les extraits ont été testés à l'égard de deux lignées cellulaires cancéreuses en occurrences les cellules (KB-3-1) et (KB-V1) du col de l'utérus avec pour référence la Griseofulvin. Les résultats de ces tests sont consignés dans le tableau 35 suivant :

Tableau 35: Activité cytotoxique des extraits bruts de *M. thomsonii* (Oliv.) Benth et de quelques composés purs isolés des racines de *M. batesii* Baker et *M. thomsonii*

Extraits et composés purs	Cytotoxicité à l'égard des cellules (KB-3-1) et (KB-V1)			Observations
	Stock [µg/ml]	IC50 KB-3-1 [µg/ml]	Intervales de confiance [mg/ml] 95%	
Racines	20	>0,1	-	-
Tiges	20	>0,1	-	-
Feuilles	20	>0,1	-	-
tomsoniine A <u>215</u>	2,5	-	-	-
tomsoniine B <u>212</u>	5	0,0084	0,0067 à 0,0112	+
Camptotecine <u>214</u>	5	0,0086	0,0067 à 0,0112	+
10-hydroxycamptotecine <u>213</u>	5	0,0087	0,0067 à 0,0112	+
Acide 2 α -3 α -19 α -trihydroxy-24-norur-4(23)-dièn-28-oïque <u>225</u>	2,5	0,0088	0,0067 à 0,0112	+
Acide 3 β -acetoxy-2 α -3 α -19 α -trihydroxy-24-norur-4(23)-dièn-28-oïque <u>226</u>	2,5	0,0087	0,0067 à 0,0112	+
Mostuetecine B <u>217</u>	5	>0,01	-	-
Mostuetecine A <u>216</u>	5	>0,01	-	-

Extraits brut au MeOH des racines, des tiges et des racines de *M. thomsonii*, les échantillons sont testés à 10 µg/mL pour les produits purs et à 100 µg/mL pour l'extrait brut, (-) = échantillon non actif et (+) = échantillon actif. Nd : non déterminé, IC50 : concentration d'inhibition qui tue 50% de cellules comparé

Il ressort de ce tableau que les composés tomsonine B 212, camptotécine 214, 10-hydroxycamptotecine 213, Acide 2 α -3 α -19 α -trihydroxy-24-norur-4(23)-dièn-28-oïque 225 et Acide 3 β -acetoxy-2 α -3 α -19 α -trihydroxy-24-norur-4(23)-dièn-28-oïque 226 présentent une mortalité de 95% à la concentration de 10 µg/mL. Tandis que, testées à 100 µg/mL, les extraits bruts des racines, des tiges et des feuilles *M. thomsonii* respectivement R, T et F induisent des mortalités modérées des cellules cancéreuses.

II.B.2. Evaluation des activités antimicrobiennes

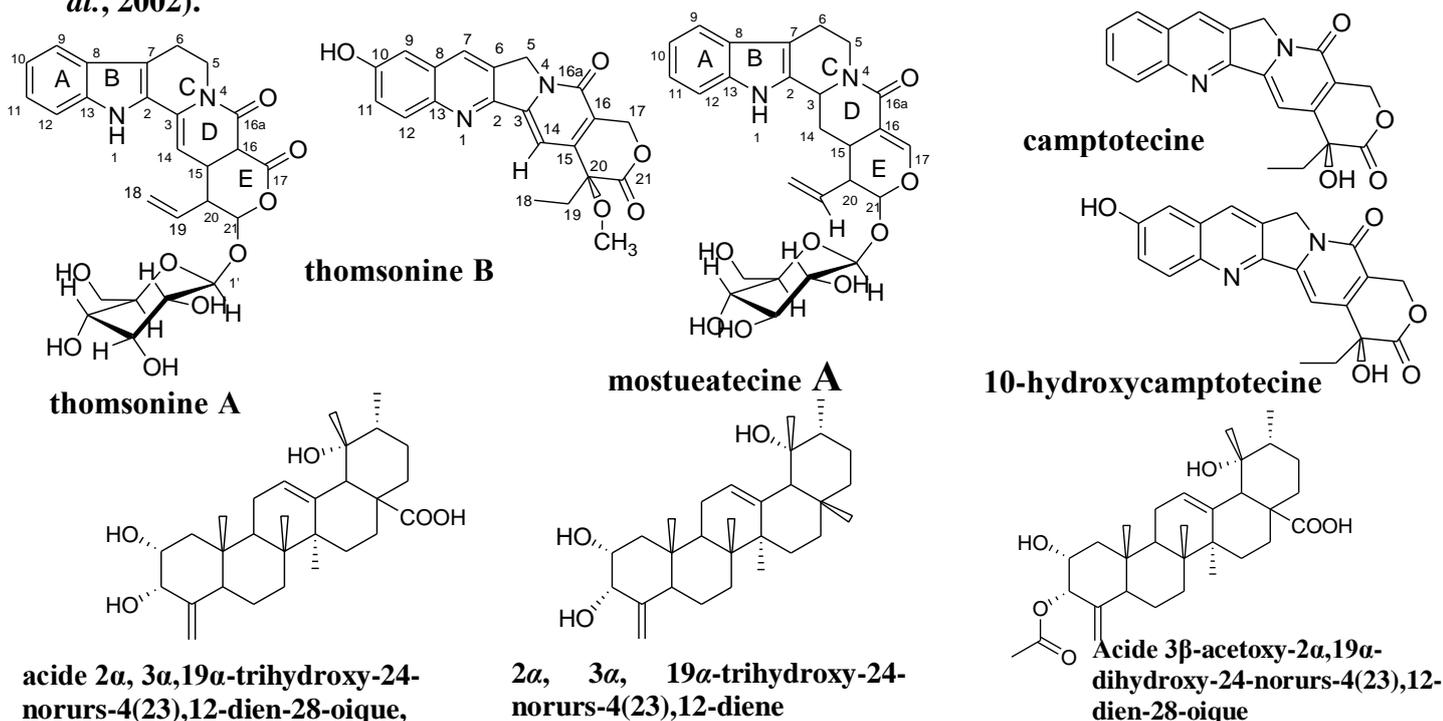
En plus de l'évaluation cytotoxique, l'activité antimicrobienne notamment l'activité antibactérienne et antifongique a été évaluée pour 8 des 288 composés isolés. La méthode mise en application dans le cadre de cette évaluation de ces activités antimicrobiennes a été celle de la diffusion sur les disques en milieu gélosé telle que décrite par Berghe et Vlietink (Berghe et Vlietink, 1991).

II.B.2.1. Principe et méthode

Le principe de la méthode utilisé est basé sur la diffusion des produits à tester de concentration bien définie, imprégnée sur les disques de papier filtre en contact avec le milieu de culture solide coulé dans les boîtes de pétri, préalablement ensemencé d'un inoculum bactérien. Après incubation, si la substance contenue sur les plaques a une activité antibactérienne vis-à-vis du germe ensemencé, une zone d'inhibition de croissance sera observée autour de ces derniers (Cos et al., 2006)

II.B.2.2 Résultats et discussion

Au cours de ce travail, nous avons alors utilisé la méthode décrite ci-dessus, pour évaluer, la sensibilité de sept souches microbiennes. En effet, nous avons utilisé comme une souche de référence *Escherichia coli* BL21 (*EC* BL21) et six souches cliniques réparties comme suit : trois Gram négatif (*Escherichia coli* (*EC*), *Pseudomonas aeruginosa* (*PA*), *Providencia stuartii* (*PS*)) un Gram positif (*Staphylococcus aureus* (*SA*)) et deux levures (*Candida krusei* (*CK*) et *Cryptococcus laurentii* (*CL*)), à l'égard de huit composés (Maskey et al., 2002).



Les résultats obtenus des tests d'activités antibactériennes et antifongiques sont consignés dans le tableau

Tableau 36 : Activités antibactériennes et antifongiques des extraits et des composés purs : (Concentrations Minimales Inhibitrices (CMI) et Concentrations Minimales microbicides (CMM) des extraits solides en mg / ml)

		Référence souche	Gram négatif			Gram positif	Levures	
			<i>EC BL21</i>	<i>EC</i>	<i>PS</i>	<i>PA</i>	<i>SA</i>	<i>CK</i>
GMB1	CMI	15,55	15,55	7,77	7,77	7,77	3,89	3,89
	CMM	ND	ND	15,55	15,55	15,55	15,55	3,89
GMB2	CMI	3,33	ND	13,33	13,33	13,33	13,33	6,66
	CMM	3,33	ND	ND	13,33	ND	13,33	6,66
GMB3	CMI	16,67	33,33	33,33	8,33	4,16	4,16	8,33
	CMM	ND	ND	ND	33,33	8,33	8,33	16,67
GMB5	CMI	0,52	16,67	16,67	16,67	4,16	0,52	16,67
	CMM	1,04	33,33	33,33	ND	16,67	1,04	16,67
(+) µg/ml	CMI	4	0,5	16	2	0,25	2	NT
	CMM	4	0,5	32	2	0,25	4	
(-)	CMI/CMM	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND

(+): positive control: gentamicin for bacteria and fluconazole for yeast

(-) negative control: DMSO 40%

ND: not determined, the concentration is higher than the highest concentration of the experiment.

NT : not tested

Tableau 37: Activités antibactériennes et antifongiques des extraits et des composés purs (Concentrations Minimales Inhibitrices (CMI) et Concentrations Minimales microbicides (CMM) des extraits liquides en ppm (parties par million))

		Référence souche	Gram négatif			Gram positif	Levures	
			<i>EC BL21</i>	<i>EC</i>	<i>PS</i>	<i>PA</i>	<i>SA</i>	<i>CK</i>
GMB4	CMI	83333	ND	41667	83333	2604	20833	20833
	CMM	83333	ND	83333	83333	10417	20833	20833
GMT1	CMI	27778	111111	27778	13849	13849	27778	27778
	CMM	111111	ND	55556	27778	27778	27778	111111
GMT2	CMI	33333	33333	33333	33333	16667	16667	16667
	CMM	33333	66667	33333	33333	16667	16667	16667
GMT3	CMI	55556	111111	55556	55556	27778	27778	55556
	CMM	55556	111111	55556	111111	111111	27778	55556

Il ressort de ces deux tableaux que, tous les 8 composés testés, ont été actifs sur six souches microbiennes avec CMI allant de 0,52 mg/mL à 33,33 mg/mL. Les plus actives sont les molécules **mostueatecine A** et **Acide 3 β -acetoxy-2 α ,19 α -dihydroxy-24-norurs-4(23),12-dien-28-oïque** avec CMI allant de 0,52 mg/mL à 16,67 mg/ml. Les antibiotiques et antifongiques de référence respectivement, la gentamicine et le fluconazole étaient respectivement allants de 0,25 à 16 μ g/mL et à 2 μ g/mL. Tous les composés ont présentés une valeur de CMI inférieure à 8 mg/mL sur au moins 2 souches démontrant que chacun d'eux a des propriétés antimicrobiennes selon Fabry et collaborateurs 1998, tandis que 4 est remarquable avec deux valeurs de CMI inférieures à 1 mg/ml sur *E. coli BL21* et *Candida krusei*.

CONCLUSION GENERALE ET PERSPECTIVES

Dans le cadre de la préparation de ma thèse de *Doctorat / Ph.D*, les investigations que nous avons menées sur deux plantes médicinales du Cameroun, à savoir *Mostuea thomsonii* (Oliv.) Benth et *Mostuea batesii* Baker, de la famille des Gelsemiaceae, ont porté sur trois aspects :

Au plan de chimique, travaillant sur les extraits au méthanol des racines, des tiges et des feuilles de *Mostuea thomsonii* (Oliv.) Benth, en utilisant les techniques de chromatographie liquides successive à pressions atmosphérique et chromatographique flash sur gel de silice en phase normale, nous avons isolés seize composés dont quatre des racines, sept des tiges et cinq des feuilles. Des mêmes organes de *Mostuea batesii* Baker, 15 composés ont été isolé (quatre issus des racines, six des tiges et quatre des feuilles). Soit un total de vingt-huit (28) composés purs distincts, car certains composés ont été isolés à la fois des deux plantes et des organes différents. Ces composés appartiennent à plusieurs classes de substances naturelles, parmi lesquelles on distingue :

➤ Six alcaloïdes, dont trois dérivés de type indolo-monoterpenique, tous nouveaux, isolés de *Mostuea batesii* Baker, auquel nous avons donné les noms triviaux de mostueatecine A **216**, mostueatecine B **217**, thomsonine A **215** et trois dérivés de type quinolo-monoterpénique, dont un nouveau, isolé des tiges de *Mostuea thomsonii* (Oliv.) Benth et trivialement nommé thomsoniine B **212** et deux autres connus à savoir la camptothecine **214** et la 10-hydroxylcamptothecine **213** isolés également des tiges de *Mostuea thomsonii* (Oliv.) Benth;

➤ Treize triterpènes pentacycliques appartenant à deux classes structurales dont :

- Sept type ursane dont un nouveau auquel nous avons attribué les nom de mostueatecine C **227** et les six autres connus ayant été identifiés à l' α -amyrine **218**, acide α -amyrin-28-oïque **221**, la 3-O- β -D-glucopyranosyl- α -amyrine **219**, la 3-O- β -D-glucopyranosyl-28-hydroxy- α -amyrine **220**, l'acide 2 α , 3 α , 19 α -trihydroxy-24-norurs-4(23), 12-dien-28-oïque **225**, l'acide 3 β -acetoxy-2 α , 19 α -dihydroxy-24-norurs-4(23), 12-dien-28-oïque **226**; et la 3 β -acetoxy-urs-12-ene-11-one **225** et
- Quatre types oleanane à savoir : l' β -amyrine **222**, l'acide β -amyrin-28-oïque **223**, la 3-O- β -D-glucopyranosyl- β -amyrine **224**,

- Un composé phénolique connu, l'acide 2,3-dihydroxy-4,5-diméthylbenzoïque **228**;
- Deux hydrates de carbone, correspondant respectivement au sucrose **232** et au myoinositol **233**, tous deux isolés à la fois des racines des deux plantes ;
- Quatre phytostérols, dont le mélange du β -sitostérol **230** et du stigmastérol **231**, ainsi que leurs glucosides (la 3-O- β -D-glucopyranosylstigmastérol **234**, la 3-O- β -D-glucopyranosyl- β -sitostérol **235**).

La détermination des structures de tous ces composés a été réalisée au moyen des méthodes modernes d'analyse spectroscopique, en particulier l'IR, la RMN 1D (RMN¹H, RMN¹³C et DEPTQGP) et 2D (COSY, HSQC et HMBC), en conjonction avec la spectrométrie de masse faisant appel non seulement à l'impact électronique et aux méthodes d'ionisation douces telle que ESI et FAB.

Sur le plan des transformations chimiques, deux composés obtenus en grande quantité, à savoir, la 10-hydroxylcamptothécine **213** d'une part et le sucrose **233** d'autre part, ont fait l'objet des transformations chimiques notamment la méthylation et l'acétylation respectivement. Ces transformations chimiques ont conduit à un dérivé méthoxylé de la 10-hydroxylcamptothécine **236** et d'un dérivé *octa*-acétylé du sucrose **237**. Ces deux dérivés entièrement décrits à partir de leurs données spectrales se sont révélés aussi être nouveaux.

Sur le plan biologique, les extraits bruts ainsi que quelques composés purs isolés, ont été évalués pour leurs activités anticancéreuses, et antimicrobiennes (antibactérienne et antifongique).

Pour ce qui est de l'évaluation de l'activité antitumorale, neuf composés à savoir : thomsonine A **215**, thomsonine B **212**, mostuétécine A **216**, mostuétécine B **217**, 10-hydroxylcamptothécine **213**, camptothécine **214**, acide 2 α , 3 α , 19 α -trihydroxy-24-norurs-4(23),12-dien-28-oïque **225**, acide 3 β -acétoxy-2 α ,19 α -dihydroxy-24-norurs-4(23),12-dien-28-oïque **226** et 2 α ,3 α ,19 α -trihydroxy-24-norurs-4(23),12-diene) **227** ont été testés à l'égard des cellules (KB-3-1) et (KB-V1) du col de l'utérus avec comme référence la Griseofulvin. Les résultats obtenus, ont montré que certains composés à l'instar de la thomsonine B **212**, la 10-hydroxylcamptothécine **213**, la camptothécine **214**, l'acide 2 α , 3 α , 19 α -trihydroxy-24-norurs-4(23),12-dien-28-oïque **225**, l'acide 3 β -acétoxy-2 α ,19 α -dihydroxy-24-norurs-4(23),12-dien-28-oïque **226** et la 2 α ,3 α ,19 α -trihydroxy-24-norurs-4(23),12-diene) **227** se sont révélés être les plus actifs vis-à-vis des cellules (KB-3-1) et (KB-V1) du col de l'utérus en inhibant à 95% la prolifération des cellules cancéreuses du col de l'utérus, avec des IC₅₀ allant de 0,0084 à 0,0088 μ g/ml. Tandis que, testées à 100 μ g/ml, les extraits bruts des racines, des tiges et des

feuilles de *M. thomsonii* ont présentés des mortalités modérées des cellules cancéreuses du col de l'utérus, avec des IC₅₀ supérieurs à 0,1 µg/ml.

S'agissant de l'évaluation de l'activité antimicrobienne, huit composés notamment : mostueatecine A **216**, thomsonine A **215**, thomsonine B **212**, 3-*O*-β-D-glucopyranosyl-28-hydroxy-α-amyrine **219**, acide 2α,3α,19α-trihydroxy-24-norurs-4(23),12-dien-28-oïque **225**, acide 3β-acetoxy-2α,19α-dihydroxy-24-norurs-4(23),12-dien-28-oïque **226** et 2α,3α,19α-trihydroxy-24-norurs-4(23),12-diene) **227** et les extraits bruts des feuilles, des tiges, et des racines des deux plantes, ont été testés à l'égard de six souches cliniques réparties en trois Gram négatif (*Escherichia coli* (EC), *Pseudomonas aeruginosa* (PA), *Providencia stuartii* (PS)) et un Gram positif (*Staphylococcus aureus* (SA)) avec comme souche de référence *Escherichia coli* BL21 (EC BL21) et deux levures (*Candida krusei* (CK) et *Cryptococcus laurentii* (CL)). Les résultats obtenus ont montré que, la mostueatecine A **216**, l'acide 2α,3α,19α-trihydroxy-24-norurs-4(23),12-dien-28-oïque **225**, l'acide 3β-acetoxy-2α,19α-dihydroxy-24-norurs-4(23), 12-dien-28-oïque **226** et la 2α, 3α, 19α-trihydroxy-24-norurs-4(23),12-diene) **227** ainsi que les extraits bruts ont présenté une activité modérée vis-à-vis d'une bactérie (*E. coli* BL21) et d'un champignon (*Candida krusei*) avec des CMI allant de 0,52 µg/ml à 16,67 µg/ml. Au regard de tous ces résultats, on pourrait conclure que, les nombreux usages en médecine traditionnelle des plantes du genre *Mostuea*, seraient dus à la présence en leur sein des alcaloïdes et de triterpènes pentacycliques doués d'activités biologiques intéressantes que nous avons décrits plus haut.

Pour la suite de nos travaux, nous envisageons de:

- Chromatografier les fractions restantes,
- Soumettre tous les autres composés isolés aux tests d'activités biologiques,
- Expliciter les mécanismes d'actions des alcaloïdes quinoléiques de *Mostuea thomsonii* (Oliv.) Benth et *Mostuea batesii* Baker par rapport à leurs activités anti-tumorales,
- Etendre nos investigations sur d'autres espèces du genre *Mostuea*, notamment *Mostuea hirsuta*, *Mostuea surinamensis* Ainsi que d'autres genres de la famille à fin de mieux comprendre la composition chimique des plantes de cette famille des Gelsemiaceae.

CHAPITRE III : PARTIE EXPERIMENTALE

Généralités

Les différentes masses utilisées ont été mesurées à l'aide d'une balance électronique de type Sartorius.

Pour les spectres IR, nous avons utilisé un spectrophotomètre à Transformée de Fourier de type FTIR-8400 Shimadzu, sur des pastilles de KBr. Les bandes d'absorption des différentes bandes sont exprimées en cm^{-1} .

Pour enregistrer les masses moléculaires des différents composés, nous avons utilisé des spectromètres de masse de type GC-17A, GC MS-QP 5050 pour les spectres FAB, ou à l'aide d'un spectromètre de type LCQ pour les spectres Electrospray équipé d'un analyseur en temps de vol (TOF).

Les expériences de résonance magnétique nucléaire du proton (RMN ^1H) et du carbone (RMN ^{13}C) ont été enregistrées sur des spectromètres de type JEOL ECX 500 et Brüker AC 500 (RMN ^1H : 300 ou 500 MHz ; RMN ^{13}C : 75 ou 125 MHz). Les composés ont été dissouts soit dans le diméthylsulfoxyde deutérié (DMSO- d_6), le chloroforme deutérié (CDCl_3), soit dans le méthanol deutérié (CD_3OD). Les déplacements chimiques sont exprimés en partie par million (δ) relatif au tétraméthylsilane (TMS) comme référence interne. Les constantes de couplage (J) sont exprimées en Hertz (Hz). Les résultats sont: signal δ (ppm), multiplicité (s = singulet, d = doublet, dd = doublet dédoublé, t = triplet, q = quartet et m = multiplet). Les expériences COSY, HSQC, HMBC, DEPTQGP ont été effectuées avec des séquences d'impulsions usuelles.

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

Les chromatographies sur colonne ont été réalisées sur des colonnes de diamètre variable en utilisant comme phase stationnaire, un gel de silice de type Merck 60 de granulométrie 70 - 230 Mesh ou 230 - 400 Mesh. Les différentes fractions recueillies ont été concentrées sur un évaporateur rotatif de type Heidolph VV 2000.

Les chromatographies sur couche mince ont été réalisées sur des plaques d'aluminium de diamètre $20 \times 20 \text{ cm}^2$ recouvertes de gel de silice d'épaisseur 0.2 mm, de type SIL G/UV₂₅₄ Merck. Les tâches sur les plaques CCM ont été révélées successivement à l'aide de la

lampe UV aux longueurs d'onde 254 et 366 nm ; des vapeurs d'iode et par la suite par pulvérisation des plaques à l'aide de l'acide sulfurique dilué puis chauffage.

II. MATERIEL VEGETAL

La plante entière (feuilles, tiges et racines) de *M. batesii* Baker (Loganiaceae), a été récoltée en Février 2014 au mont Eloudem dans les environs de la ville de Yaoundé, région de Centre Cameroun. L'identification a été faite par le botaniste Mr NANA Victor. Un échantillon a été déposé au Musée d'Histoire Naturelle sous le voucher 38660/SFR/CAM.

La plante entière (feuilles, tiges et racines) de *M. thomsonii* (Oliv.) Benth (Loganiaceae), a été récoltée en Février 2015 à Kribi, région du Sud Cameroun. Un échantillon a été déposé au Musée d'Histoire Naturelle sous le voucher 9892 /SFR/CAM.

II.1. Extraction, Fractionnement, isolement et purification des composés

II.1.1. Extraction

Les différentes parties (feuilles, tiges et racines) des deux plantes ainsi récoltées ont été ensuite découpées, séchées puis broyées, ce qui a permis d'obtenir respectivement 503 g de poudre des feuilles, 1979 g de poudre des tiges et 733 g de poudre des racines pour *M. thomsonii* (Oliv.) Benth; et 836 g de poudre des feuilles, 1048 g de poudre des racines et 2000 g des tiges pour *M. batesii* Baker. Chacune de ces poudres obtenues a été extraites par macération à température ambiante au méthanol. Les solutions résultantes obtenues après filtration ont été évaporées au moyen d'un évaporateur rotatif pour donner des extraits bruts dont les différentes masses sont données par le tableau suivant :

Tableau 38 : Récapitulatif des différents extraits obtenus

Parties de la plante	Masses (g)	Obsevation
Feuilles de <i>M. thomsonii</i> (Oliv.) Benth	90	Extrait verdâtre et huileux
Tiges de <i>M. thomsonii</i> (Oliv.) Benth	140	Extrait jaune verdâtre
Racines de <i>M. thomsonii</i> (Oliv.) Benth	46	Extrait jaunatre
Feuilles de <i>M. batesii</i> Baker	49	Extrait verdâtre et huileux
Tiges de <i>M. batesii</i> Baker	219	Extrait jaune verdâtre
Racines de <i>M. batesii</i> Baker	90	Extrait jaunatre

II.1.2 Fractionnement

De l'extrait obtenu des tiges de *M. thomsonii*, 5g ont été retenu en prélude des tests biologiques et le reste a été soumis à un dégrossissement par chromatographie flash sur gel de silice de granulométrie 60 - 230 mesh. L'élution s'est faite respectivement à l'hexane, au

mélange hexane acétate d'éthyle de polarité croissante et au mélange acétate d'éthyle méthanol de polarité croissante pour conduire à plusieurs fractions dont les quantités en grammes sont regroupées dans le tableau suivant.

Tableau 39: Chromatogramme du flash des extraits des tiges obtenus *M. thomsonii*

	Hex	Hex-AcOET 50	AcOET	MeOH
Tiges de <i>M. thomsonii</i>	11,02	43,1	31,5	9,38

De même, 5g de l'extrait obtenu des tiges *M. batesii*, ont été retenus en prélude des tests biologiques et par chromatographie flash sur gel de silice de granulométrie 60-230 mesh, nous avons fractionnés le reste. L'élution s'est faite respectivement à l'hexane, au mélange hexane acétate d'éthyle de polarité croissante et au mélange acétate d'éthyle méthanol de polarité croissante pour conduire à plusieurs fractions dont les quantités en grammes sont regroupées dans le tableau suivant.

Tableau 40: Chromatogramme du flash des extraits des tiges obtenus *M. batesii*

	Hex	Hex-AcOEt 25	Hex-AcOEt 75	AcOEt	AcOEt-MeOH	MeOH
Tiges <i>M. batesii</i>	14,6	43,5	22,3	16,4	49,5	38,6

Les autres extraits n'étant pas en grande quantité, ont été directement chromatographiés sur colonne de gel de silice.

III.3.3 Isolement et purification

III.3.3.1 Analyse des fractions issues de la chromatographie flash de l'extrait des tiges de *Mostuea thomsonii*

- **Purification de la fraction obtenue au mélange hexane-acétate d'éthyle (1:1) (43,1 g)**

Cette fraction a été chromatographiée sur colonne de granulométrie 60 - 230 mesh et éluee avec un mélange d'hexane –acétate d'éthyle de polarité croissante. 135 Fractions de 125 mL chacune ont été collectées et regroupées sous la base de leur CCM analytique comme indiqué dans le tableau ci-après.

Tableau 41: Chromatogramme fraction obtenue au mélange hexane-acétate d'éthyle (1:1) (43,1g) des tiges

Eluants	Fractions	Séries	Observations
Hex	1-10	F11	Rien
Hex-AcOEt (9 :1)	11-22	F12	Mélange de 3 composés
Hex-AcOEt (2 :1)	23-45	F13	Mélange de 4 composés
Hex-AcOEt (7 :3)	46-55	F14	Mélange de plusieurs composés accolés
Hex-AcOEt (3 :2)	56-62	F15	Mélange de composés + trainée
Hex-AcOEt (1 :1)	63-74	F16	Mélange de plusieurs composés + GMT 12
Hex-AcOEt (2 :3)	75-84	F17	Mélange de plusieurs composés + GMT 13
Hex-AcOEt (13 :7)	85-95	F18	Mélange de plusieurs composés + GMT 14 + GMT15
AcOEt pur	96-111	F19	Mélange de composés + trainée
AcOEt-MeOH (1 :1)	112-135	F20	Lavage

De la solution obtenue des fractions 63 - 74 laissées à température ambiante pendant une trentaine de minutes, précipite sous forme de cristaux blancs, le composé indexé GMT12 soluble dans le DMSO.

De la solution contenue dans les fractions 75 - 84 laissées à température ambiante pendant une heure, précipite sous forme de cristaux blancs, le composé indexé GMT13 soluble dans le DMSO.

Dans les fractions 89-95 au repos à température ambiante pendant une heure, a précipité sous forme de poudre jaune, le composé GMT 14 soluble dans le DMSO.

Des fractions 89-95 au repos à température ambiante pendant une heure, laissent précipiter le composé GMT15 tous les deux soluble dans le DMSO.

- **Purification de la fraction obtenue à l'acétate d'éthyle pur (31,5g) des tiges**

Ces 31,5 g d'extrait ont été chromatographiés sur colonne de gel de silice de granulométrie 60 - 230 mesh et élués avec le système hexane-acétate d'éthyle, puis acétate d'éthyle-méthanol, tous de polarité croissante. 50 Fractions de 150 mL ont été recueillies et regroupés suivant la CCM analytique comme le montre le tableau ci-contre.

Tableau 42: Chromatogramme de la fraction obtenue au mélange l'acétate d'éthyle (31,5 g) des tiges

Eluants	Fractions	Séries	Observations
Hex-AcOEt (4 :1)	F21	1-8	Rien
Hex-AcOEt (1 :1)	F22	9-17	Trainée
Hex-AcOEt (2 :3)	F23	18-24	Trainée + 3 composés accolés
Hex-AcOEt (3:7)	F24	25-30	Trainée + composés accolés + GMT16
Hex-AcOEt (1:3)	F25	31-36 et 37-40	Trainée + 4 composés accolés + GMT17 +GMT18
AcOEt pur	F26	41-45	Trainée
AcOEt-MeOH (1:1)	F27	46-50	Lavage (longue trainée)

Des fractions 25-30, laissées à la température ambiante pendant 30 minutes, précipitent une poudre de couleur jaunâtre. Cette poudre, après filtration a été lavée avec le solvant d'élution, par filtration sous vide pour fournir le composé GMT16 soluble dans le DMSO.

Des fractions 31-36, au repos à température ambiante pendant une heure, laisse précipité GMT17 un composé sous forme de poudre de couleur blanche soluble dans le DMSO

Les fractions 37-40, au repos à température ambiante pendant une heure, laisse précipité GMT18 un composé sous forme de poudre de couleur blanche soluble dans le DMSO

III.3.3.2 Analyse de l'extrait au méthanol des feuilles de *Mostuea thomsonii*

36 g de cet extrait ont été soumis à une chromatographie sur colonne de gel de silice et élué à base des mélanges hexane-acétate d'éthyle, puis acétate d'éthyle-méthanol, par gradient de polarité croissante. 361 Fractions de 150 mL ont été collectées à chaque fois, concentré et regroupées comme l'indique le tableau 42 ci-dessous

Tableau 43 : Chromatogramme de l'extrait au méthanol des feuilles (36 g) de *Mostuea thomsonii*

Eluants	Fractions	Séries	Observations
Hex-AcOEt (19 :1)	F28	1-15	Rien
Hex-AcOEt (9 :1)	F29	16-33	Trainée + le composé GMT1
Hex-AcOEt (17 :3)	F30	34-45	Trainée + le composé GMT2
Hex-AcOEt (4 :1)	F31	46-55	Mélange de plusieurs composés
Hex-AcOEt (3 :1)	F32	56-77	Mélange de 4 composés + trainée
Hex-AcOEt (7 :3)	F33	78-97	Mélange de 4 composés + GMT4
Hex-AcOEt (13 :7)	F34	98-125	Trainée + GMT5
Hex-AcOEt (3 :2)	F35	126-150	Mélange de plusieurs composés
Hex-AcOEt (11:9)	F36	151-174	Mélange de plusieurs composés +trainée
Hex-AcOEt (1:1)	F37	175-209	Trainée
Hex-AcOEt (9 :11)	F38	210-229	Mélange de 5 composés accolés
Hex-AcOEt (2 :3)	F39	230-255	Mélange de plusieurs composés GMT7
Hex-AcOEt (7:13)	F40	256-279	Mélange de plusieurs composés +trainée
Hex-AcOEt (3:7)	F41	280-290	Mélange de plusieurs composés
Hex-AcOEt (1:3)	F42	291-295	Mélange de plusieurs composés +trainée
AcOEt Pur	F43	296-304	Mélange de plusieurs composés +trainée
AcOEt-MeOH (19 :1)	F44	311-320	Mélange de plusieurs composés +trainée
AcOEt-MeOH (9 :1)	F45	326-334	Trainée
AcOEt-MeOH (17 :3)	F46	339-344	Mélange de plusieurs composés +trainée
AcOEt-MeOH (1 :1)	F47	345-350	Trainée
MeOH Pur	F48	351-361	Lavage (longue trainée)

De la solution obtenue des Fractions 16 - 33 laissées au repos pendant 1 heure à température ambiante, précipite sous forme poudre amorphe, le composé GMT1 soluble dans le chlorure de méthylène.

De la solution obtenue des fractions 34 - 45 laissées au repos pendant une bonne période à température ambiante, précipite sous forme poudre amorphe, le composé GMT2 soluble dans le DMSO.

De la solution obtenue des fractions 78 - 97 laissées au repos pendant 30 minutes à température ambiante, précipite sous forme poudre amorphe, le composé GMT4 soluble dans le DMSO.

De la solution obtenue des fractions 98 - 125 laissées au repos à température ambiante, précipite sous forme poudre amorphe, le composé GMT5 soluble dans le DMSO.

Après évaporation du solvant, les fractions 230 - 255 cristallisent pour donner après filtration et lavage au solvant d'éluion, le composé GMT7 soluble dans le méthanol et le DMSO.

III.3.3.2 Analyse de l'extrait au méthanol des racines de *Mostuea thomsonii*

70 g de cet extrait ont été soumis à une chromatographie sur colonne de gel de silice et élué à base des mélanges hexane-acétate d'éthyle, puis acétate d'éthyle-méthanol, par gradient de polarité croissante. 383 Fractions de 125 mL ont été collectées à chaque fois, concentré et regroupées comme l'indique le tableau 41 ci-dessous

Tableau 44: Chromatogramme de l'extrait au méthanol des racines (70 g) de *Mostuea thomsonii*

Eluants	Fractions	Séries	Observations
Hex-AcOEt (19 :1)	F49	1-20	Trainée
Hex-AcOEt (9 :1)	F50	21-33	Mélange de plusieurs composés
Hex-AcOEt (17:3)	F51	34-41	Mélange de plusieurs composés+ trainée
Hex-AcOEt (4 :1)	F52	42-61	Trainée + composés accolés + GMT8
Hex-AcOEt (3 :1)	F53	62-84	Mélange de plusieurs composés
Hex-AcOEt (7 :3)	F54	85-105	Mélange de 4 composés+ trainée
Hex-AcOEt (13 :7)	F55	106-138	Mélange de plusieurs composés
Hex-AcOEt (3 :2)	F56	139-155	Mélange de plusieurs composés+ trainée
Hex-AcOEt (11 :9)	F57	156-167	Mélange de 5 composés
Hex-AcOEt (1:1)	F58	168-187	Trainée + composés accolés + GMT9
Hex-AcOEt (9 :11)	F59	188-199	Mélange de 4 composés accolés
Hex-AcOEt (2 :3)	F60	200-227	Mélange de plusieurs composés+ trainée
Hex-AcOEt (7 :13)	F71	228-258	Trainée + composés accolés + GMT10
Hex-AcOEt (3:7)	F72	259-273	Trainée + composés accolés + GMT11
Hex-AcOEt (1:3)	F73	274-298	Mélange de plusieurs composés+ trainée
Hex-AcOEt (19 :1)	F74	299-312	Mélange de plusieurs composés+ trainée
Hex-AcOEt (1 :4)	F75	313-320	Mélange de plusieurs composés
Hex-AcOEt (3 :17)	F76	321-339	Mélange de plusieurs composés+ trainée
Hex-AcOEt (19 :1)	F77	340-350	Mélange de plusieurs composés+ trainée
AcOEt Pur	F78	351-355	Trainée
AcOEt-MeOH (19 :1)	F79	356-368	Mélange de plusieurs composés
AcOEt-MeOH (9 :1)	F80	369-373	Mélange de plusieurs composés+ trainée
AcOEt-MeOH (17 :3)	F81	374-376	Trainée
AcOEt-MeOH (1 :1)	F82	377-383	Trainée
MeOH pur	F83		Lavage (trainée)

De la solution obtenue des fractions 42 - 61 laissées au repos pendant 1 heure à température ambiante, précipite sous forme poudre amorphe, le composé GMT8 soluble dans le chlorure de méthylène.

De la solution obtenue des fractions 168 - 187 laissées au repos pendant une bonne période à température ambiante, précipite sous forme poudre amorphe, le composé soluble dans le DMSO.

De la solution obtenue des fractions 228 - 258 laissées au repos pendant 30 minutes à température ambiante, précipite sous forme poudre amorphe, le composé soluble dans le DMSO.

De la solution obtenue des fractions 98-125 laissées au repos à température ambiante, précipite sous forme poudre amorphe, le composé soluble dans le DMSO.

Après évaporation du solvant, les fractions 259-273 cristallisent pour donner après filtration et lavage au solvant d'éluion, le composé GMT11 soluble dans le méthanol et le DMSO.

III.3.3. 3 Analyse des fractions issues de la chromatographie flash de l'extrait des tiges de *Mostuea batesii*

- **Purification de la fraction obtenue au mélange Hexane-acétate d'éthyle (3:1) (43,5g) des tiges**

Cette fraction (43,5 g) a été fixée sur 60 g de silice de granulométrie 63 - 200 µm et chromatographiée sur colonne de gel de silice 60 - 230 mesh. L'éluion a été faite à l'aide du mélange hexane-acétate d'éthyle, puis acétate d'éthyle-méthanol par gradient de polarité croissante et 200 Fractions de 125 ml ont été collectées et regroupées sur la base de leur CCM comme le montre le tableau 42 suivant.

Tableau 45: Chromatogramme de la fraction de l'extrait à l'hexane – acétate d'éthyle (3 :1) des tiges de *Mostuea batesii*

Eluants	Fractions	Séries	Observations
Hex /AcOEt (19 :1)	F1	1-10	Trainée
Hex /AcOEt (9 :1)	F2	11-20	Mélange de plusieurs composés
Hex /AcOEt (17 :3)	F3	21-25	Huile jaunâtre
Hex /AcOEt (3 :1)	F4	26-40	Huile jaunâtre + trainé
Hex /AcOEt (7 :3)	F5	41-73	Pate amorphe blanche + GMB1
Hex /AcOEt (13 :7)	F6	74-95	Mélange de composés + GMB2
Hex /AcOEt (3 :2)	F7	95-100	mélange de plusieurs produits + GMB3
AcOEt Pur	F8	101-120	mélange de plusieurs produits
AcOEt/MeOH (9 :1)	F9	121-150	Lavage trainée

Après évaporation du solvant, les fractions 41 - 73 précipitent pour donner après filtration et lavage l'hexane, le composé GMB1 (17 mg) soluble dans le chlorure de méthylène.

Des fractions 74 - 95, laissées à la température ambiante pendant une heure, précipitent une poudre amorphe de couleur blanche. Cette poudre, après filtration a été lavée avec de l'hexane sous vide pour fournir le composé GMB2 (15 mg) soluble dans le DMSO.

Les fractions 101 - 120, précipitent sous forme de poudre jaunâtre un composé indexe GMB3 (12mg), soluble dans le DMSO.

- **Purification de la fraction obtenue à l'acétate d'éthyle-méthanol (9:1) (49,5 g) des tiges**

Cette fraction (49,5 g) a été fixée sur 60 g de silice de granulométrie 63-200 µm et chromatographiée sur colonne de gel de silice 60 - 230 mesh. L'élution a été faite à l'aide du mélange hexane-acétate d'éthyle, puis acétate d'éthyle-méthanol par gradient de polarité croissante et 200 Fractions de 258 ml ont été collectées et regroupées sur la base de leur CCM comme le montre le tableau 43 suivant.

Tableau 46: Chromatogramme de la fraction de l'extrait à l'hexane – acétate d'éthyle (9 :1) des tiges de *Mostuea batesii*

Eluants	Fractions	Séries	Observations
Hex /AcOEt (1 :1)	F10	1-25	Trainée
Hex /AcOEt (2 :3)	F11	26-39	Mélange de plusieurs composés
Hex /AcOEt (3 :7)	F12	40-56	Trainée + 5 composés accolés
Hex /AcOEt (1 :4)	F13	57-62	Mélange de plusieurs composés et trainée
AcOEt Pur	F14	63-68	Huile jaunâtre
AcOEt/MeOH (9 :1)	F15	69-85	Trainée et 4 composés accolés
AcOEt/MeOH (4 :1)	F16	86-92	GMB4 et trainée
AcOEt/MeOH (7 :3)	F17	93-110	Trainée + 3 composés accolés
AcOEt/MeOH (3 :2)	F18	111-125	Mélange de plusieurs composés et trainée
AcOEt/MeOH (1 :1)	F19	126-140	Trainée
AcOEt/MeOH (7 : 13)	F20	155-175	GMB9 et trainée
AcOEt/MeOH (1 :4)	F21	186-225	GMB10 + trainée+ des composés accolés
MeOH Pur	F22	226-258	Lavage

Après évaporation du solvant, les fractions 86 - 92 précipitent pour donner après filtration et lavage l'hexane, le composé GMB1 soluble dans le chlorure de méthylène.

Des fractions 155 - 175, laissées à la température ambiante pendant une heure, précipitent une poudre amorphe de couleur blanche. Cette poudre, après filtration a été lavée avec de l'hexane sous vide pour fournir le composé GMB2 soluble dans le DMSO et méthanol.

Les fractions 186 - 225, précipitent sous forme de poudre jaunâtre un composé indexe GMB3, soluble dans le méthanol.

III.3.3.4 Analyse de l'extrait au méthanol des racines de *Mostuea batesii*

75 g de cet extrait ont été soumis à une chromatographie sur colonne de gel de silice et élué à base des mélanges hexane-acétate d'éthyle, puis acétate d'éthyle-méthanol, par gradient de polarité croissante. 835 Fractions de 100 mL ont été collectées à chaque fois, concentré et regroupées comme l'indique le tableau 44 ci-dessous

Tableau 47: Chromatogramme de l'extrait au méthanol des racines de *Mostuea batesii*

Eluants	Fractions	Séries	Observations
Hexane pur	F23	1-20	Rien
Hex /AcOEt (19 :1)	F24	21-51	Huile jaunâtre
Hex /AcOEt (9 :1)	F25	52-115	Mélange de composés + β sitostérol
Hex /AcOEt (17 :3)	F26	116-143	Mélange de 4 composés
Hex /AcOEt (4 :1)	F27	144-174	Trainée
Hex /AcOEt (7 :3)	F28	175-246	Trainée+ des composés accolés
Hex /AcOEt (3 :2)	F29	247-349	Mélange de plusieurs composés + trainée
Hex /AcOEt (11 :9)	F30	350-386	Mélange de composés + trainée
Hex /AcOEt (1 :1)	F31	389-443	Trainée
Hex /AcOEt (9 :11)	F32	444-457	Trainée + GMB11
Hex /AcOEt (2 :3)	F33	458-484	Mélange de 4 composés + GMB12
Hex /AcOEt (3 :7)	F34	485-504	Mélange de 4 composés
Hex /AcOEt (1 :4)	F35	505-538	Mélange de plusieurs composés + trainée
AcOEt Pur	F36	539-569	Trainée
AcOEt/MeOH (9 :1)	F37	570-654	Trainée
AcOEt/MeOH (4 :1)	F38	655-684	Trainée
AcOEt/MeOH (7 :3)	F39	685-698	Mélange de plusieurs composés + trainée

AcOEt/MeOH (3 :2)	F40	699-717	Trainée + GMB14
AcOEt/MeOH (1 :1)	F41	718-742	Mélange de 4 composés + GMB15
AcOEt/MeOH (2 :3)	F42	743-765	Mélange de 4 composés + trainée
AcOEt/MeOH (3 :7)	F43	766-798	Mélange de 3 composés
AcOEt/MeOH (1 :4)	F44	799-810	Mélange de 4 composés accolés
MeOH	F45	811-835	Trainée

Des fractions 444 - 457 obtenues par élution au mélange hexane- acétate d'éthyle (9 :11), nous avons obtenu après évaporation du solvant 13 mg du composé GMB11 précipitant sous forme d'aiguilles jaunes et soluble dans le DMSO et le méthanol.

Des fractions 458 - 484 obtenues par élution au mélange hexane- acétate d'éthyle (3 :11), nous avons obtenu après évaporation du solvant 13 mg du composé GMB12 précipitant sous forme d'aiguilles jaunes et soluble dans le chlorure de méthylène.

Des fractions 699 – 717 obtenues par élution au mélange hexane- acétate d'éthyle (3 :2), nous avons obtenu après évaporation du solvant 13 mg du composé GMB14 précipitant sous forme d'aiguilles jaunes et soluble dans le DMSO.

Des fractions 718 - 742 obtenues par élution au mélange hexane-acétate d'éthyle (1 :1), nous avons obtenu après évaporation du solvant 13mg du composé GMB15 précipitant sous forme d'aiguilles jaunes et soluble dans le méthanol, le DMSO et l'eau.

III.3.3.5 Analyse de l'extrait au méthanol des racines de *Mostuea batesii*

46 g de cet extrait ont été fixé sur 80 g de silice et soumis à une chromatographie sur colonne de gel de silice et élué à base des mélanges hexane-acétate d'éthyle, puis acétate d'éthyle-méthanol, par gradient de polarité croissante. 355 Fractions de 100 mL ont été collectées à chaque fois, concentré et regroupées comme l'indique le tableau **47** ci-dessous.

Tableau 48: chromatogramme de l'extrait au méthanol des feuilles de *Mostuea batesii*

Eluants	Fractions	Séries	Observations
Hexane pur	F46	1-10	Rien
Hex /AcOEt (19 :1)	F47	11-30	Huile jaunâtre
Hex /AcOEt (9 :1)	F48	31-52	Mélange de composés + β sitostérol
Hex /AcOEt (17 :3)	F49	53-79	Mélange de 4 composés
Hex /AcOEt (4 :1)	F50	80-92	Trainée + GMF2
Hex /AcOEt (3 :1)	F51	93-107	Trainée+ des composés accolés
Hex /AcOEt (7 :3)	F52	108-127	Mélange de plusieurs composés + trainée
Hex /AcOEt (13 :7)	F53	128-148	Mélange de composés + trainée
Hex /AcOEt (3:2)	F54	149-173	Trainée + mélange de 4 composés
Hex /AcOEt (1 :1)	F55	174-188	Trainée
Hex /AcOEt (2 :3)	F56	189-209	Mélange de 4 composés
Hex /AcOEt (2 :3)	F57	210-233	Mélange de 4 composés + GMF3
Hex /AcOEt (3 :7)	F58	234-252	Mélange de plusieurs composés + trainée
Hex /AcOEt (1 :4)	F59	253-274	Trainée + mélange de 4 composés +GMF4
AcOEt Pur	F60	275-288	Trainée
AcOEt/MeOH (9 :1)	F61	289-300	Trainée + Mélange de 4 composés + GMF5
AcOEt/MeOH (4 :1)	F62	301-313	Trainée
AcOEt/MeOH (7 :3)	F63	314-321	Mélange de plusieurs composés + trainée
AcOEt/MeOH (3 :2)	F64	322-330	Trainée
AcOEt/MeOH (1 :1)	F65	331-338	Mélange de 4 composés
AcOEt/MeOH (3 :7)	F66	339-344	Trainée
MeOH	F67	345-355	Trainée

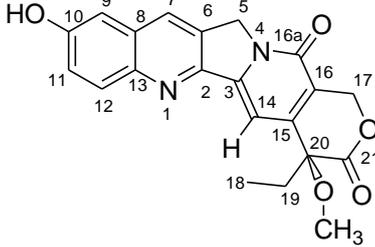
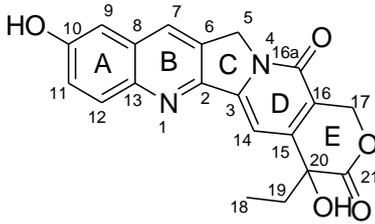
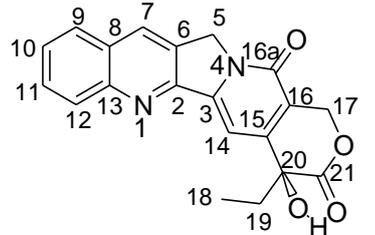
De la solution obtenue des fractions 80 - 92 laissé au repos pendant 1 heure à température ambiante, précipite sous forme poudre amorphe, le composé GMF2 soluble dans le chlorure de méthylène.

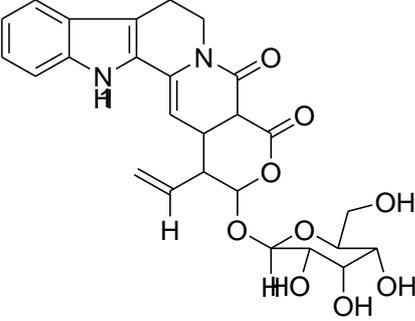
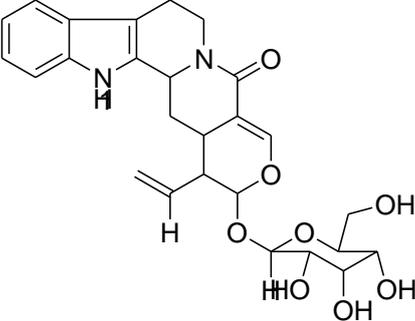
De la solution obtenue des fractions 210 - 233 laissé au repos pendant une bonne période à température ambiante, précipite sous forme poudre amorphe, le composé GMF3 soluble dans le DMSO.

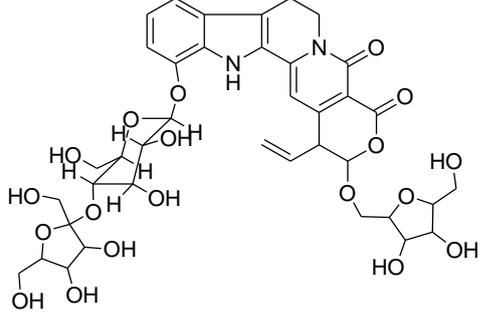
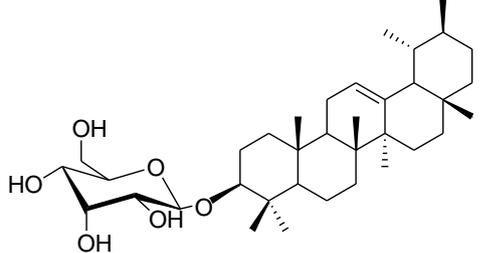
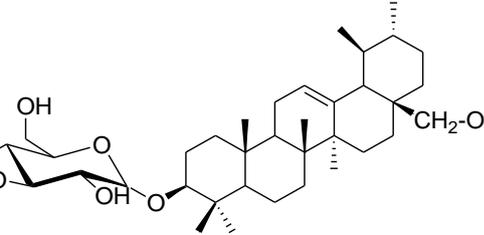
De la solution obtenue des fractions 253 - 274 laissé au repos pendant 30 minutes à température ambiante, précipite sous forme poudre amorphe, le composé GMF4 soluble dans le DMSO.

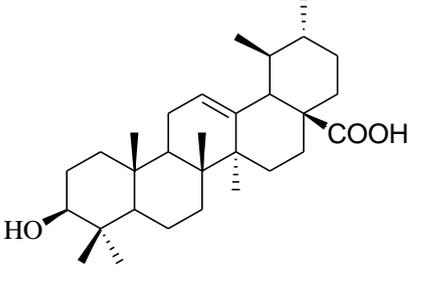
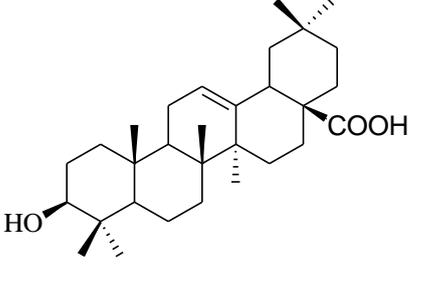
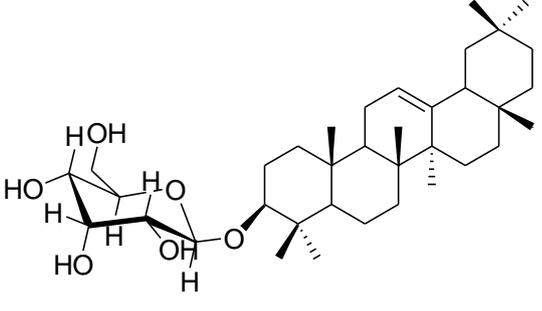
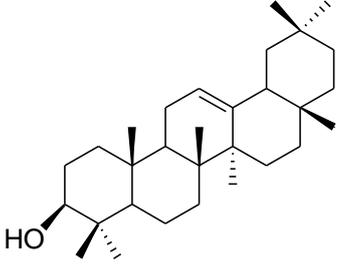
De la solution obtenue des fractions 289 - 300 laissé au repos à température ambiante, précipite sous forme poudre amorphe, le composé GMF5 soluble dans le DMSO.

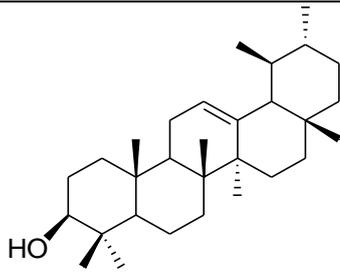
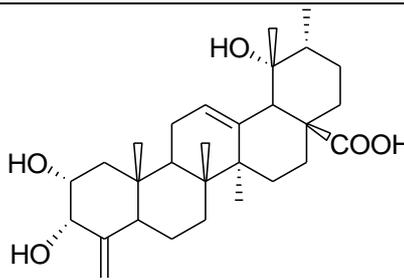
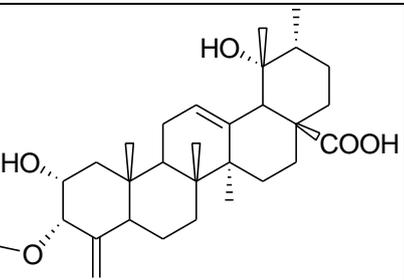
III.4. CARACTERISTIQUES PHYSICO-CHIMIQUES DES COMPOSES ISOLES

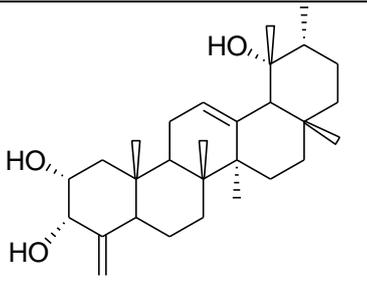
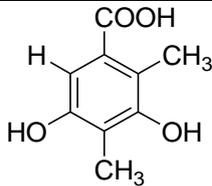
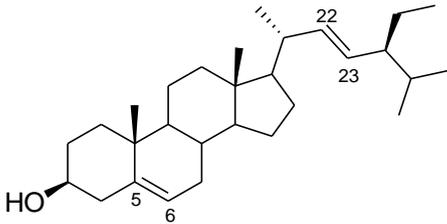
• GMT 16 : Thomsonine B		
<p>Aspect physique: poudre jaune amorphe</p> <p>Test Dragendorff et de Valser-Mayer: positif</p> <p>RMN ¹H (DMSO-6, 400 MHz) et RMN ¹³C (DEPTQGP) (DMSO-6, 100 MHz),</p> <p>IR ν_{\max} (KBr): 3093, 1682 et 1689 cm⁻¹</p> <p>SM-HR ESI m/z : [M+H]⁺ 379,3740 Calc. pour C₂₁H₁₈N₂O₅</p>		<i>M. thomsonii</i>
GMT11 : 10-hydroxy-camptothecine		
<p>Aspect physique: poudre jaune amorphe</p> <p>Test Dragendorff et de Valser-Mayer: positif</p> <p>RMN ¹H (DMSO-6, 400 MHz) et RMN ¹³C (DEPTQGP) (DMSO-6, 100 MHz),</p> <p>IR ν_{\max} (KBr): 3093, 1682 et 1689 cm⁻¹</p> <p>SM-HR ESI m/z : [M+H]⁺ 365,22172 Calc. pour C₂₀H₁₆N₂O₅</p>		<i>M. thomsonii</i>
GMT15 : Camptothecine		
<p>Aspect physique: poudre jaune amorphe</p> <p>Test Dragendorff et de Valser-Mayer: positif</p> <p>RMN ¹H (DMSO-6, 400 MHz) et RMN ¹³C (DEPTQGP) (DMSO-6, 100 MHz),</p> <p>IR ν_{\max} (KBr): 3093, 1682 et 1689 cm⁻¹</p> <p>SM-HR ESI m/z : [M+H]⁺ 349,23003 Calc. pour C₂₀H₁₆N₂O₄</p>		<i>M. batessii</i> et <i>M. thomsonii</i>

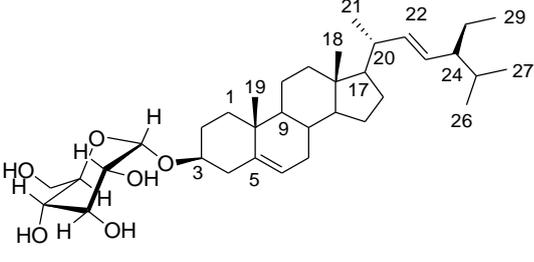
GMB 14 : Thomsoniine A		
<p>Aspect physique: poudre jaune amorphe</p> <p>Test Dragendorff et de Valsler-Mayer: positif</p> <p>RMN ¹H (DMSO-d₆, 400 MHz) et RMN ¹³C (DEPTQGP) (DMSO-d₆, 100 MHz),</p> <p>IR ν_{max} (KBr): 3336, 1739 et 1682 cm⁻¹.SM-FAB : 512</p> <p>SM-HR ESI m/z : [M+H]⁺ 512.5150. pour C₂₆H₂₈N₂O₉</p>		<i>M. batessii</i>
GMF 5 : Mostueatecine A		
<p>Aspect physique: poudre jaune-verdatre amorphe</p> <p>Test Dragendorff et de Valsler-Mayer: positif</p> <p>RMN ¹H (MeOH, 400 MHz) et RMN ¹³C (DEPTQGP) (MeOH, 100 MHz),</p> <p>IR ν_{max} (KBr): 3336, 1682 cm⁻¹..</p> <p>SM-HR ESI m/z : [M+H]⁺ à m/z 499.3425 pour C₂₆H₂₈N₂O₉</p>		<i>M. batessii</i>
GMB 11 : Mostueatecine A		
<p>Aspect physique: poudre jaune-verdatre amorphe</p> <p>Test Dragendorff et de Valsler-Mayer: positif</p> <p>RMN ¹H (DMSO-d₆, 400 MHz) et RMN ¹³C (DEPTQGP) (DMSO-d₆, 100 MHz),</p>		<i>M. batessii</i>

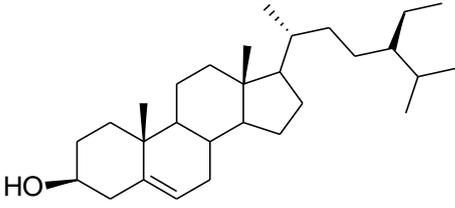
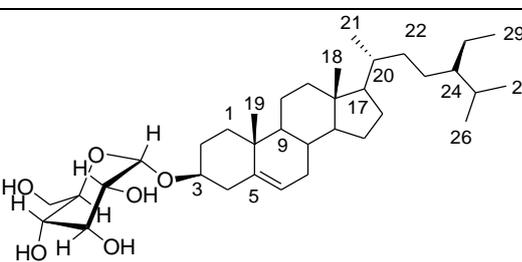
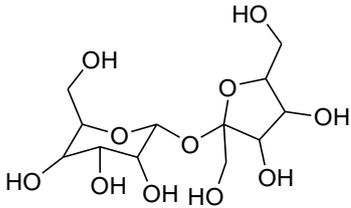
<p>IR ν_{\max} (KBr): 3336, 1739 and 1682 cm^{-1}.</p> <p>SM-HR ESI m/z : $[\text{M}+\text{H}]^+$ à m/z 834.3456 pour $\text{C}_{38}\text{H}_{46}\text{N}_2\text{O}_{19}$</p>		
GMT 17 : 3-O-β-D-glucopyranosyl-α-amyrine		
<p>Aspect physique: poudre blanche amorphe</p> <p>Lieberman-Burchard et de Mölish: positif</p> <p>RMN ^1H (DMSO-d_6, 400 MHz) et RMN ^{13}C (DEPTQGP) (DMSO-d_6, 100 MHz),</p> <p>SM-HR ESI m/z : $[\text{M}+\text{H}]^+$ à m/z 600 pour $\text{C}_{36}\text{H}_{56}\text{O}_7$</p>		<i>M. thomsonii</i>
GMT7 : 3-O-β-D-glucopyranosyl-28-hydroxy-α-amyrine.		
<p>Aspect physique: poudre blanche amorphe</p> <p>Lieberman-Burchard et de Mölish: positif</p> <p>RMN ^1H (DMSO-d_6, 400 MHz) et RMN ^{13}C (DEPTQGP) (DMSO-d_6, 100 MHz),</p> <p>SM-HR ESI m/z : $[\text{M}+\text{H}]^+$ à m/z 600 pour $\text{C}_{36}\text{H}_{56}\text{O}_7$</p>		<i>M. thomsonii</i> , Et <i>M. batessii</i>
GMB 5 acide α-amyrin-28-oïque		

<p>Aspect physique: poudre blanche amorphe</p> <p>Lieberman-Burchard: positif</p> <p>RMN ^1H (DMSO-d_6, 400 MHz) et RMN ^{13}C (DEPTQGP) (DMSO-d_6, 100 MHz),</p>	 <p>The structure shows a pentacyclic triterpene skeleton with a carboxylic acid group at C-28 and a hydroxyl group at C-3. Methyl groups are attached at C-13, C-14, C-15, and C-19.</p>	<p><i>M. batesii</i></p>
<p>GMF 2 : acide β-amyrin-28-oïque</p>		
<p>Aspect physique: poudre blanche amorphe</p> <p>Lieberman-Burchard: positif</p> <p>RMN ^1H (DMSO-d_6, 400 MHz) et RMN ^{13}C (DMSO-d_6, 100 MHz),</p>	 <p>The structure shows a pentacyclic triterpene skeleton with a carboxylic acid group at C-28 and a hydroxyl group at C-3. Methyl groups are attached at C-13, C-14, C-15, and C-19.</p>	<p><i>M. batesii</i></p>
<p>GMF 4 : 3-O-β-D-glucopyranosyl-β-amyrine</p>		
<p>Aspect physique: poudre blanche amorphe</p> <p>Lieberman-Burchard: positif</p> <p>RMN ^1H (DMSO-d_6, 400 MHz) et RMN ^{13}C (DMSO-d_6, 100 MHz),</p>	 <p>The structure shows the beta-amyrin-28-oic acid skeleton with a beta-D-glucopyranosyl group attached to the C-3 hydroxyl group via an oxygen atom.</p>	
<p>GMT8 : β-amyrine.</p>		
<p>Aspect physique: poudre blanche-jaunâtre amorphe</p> <p>Lieberman-Burchard: positif</p> <p>RMN ^1H (DMSO-d_6, 400 MHz) et RMN ^{13}C (DMSO-d_6, 100 MHz),</p>	 <p>The structure shows a pentacyclic triterpene skeleton with a hydroxyl group at C-3 and methyl groups at C-13, C-14, C-15, and C-19.</p>	<p><i>M. thomsonii</i></p>
<p>GMT8 : α-amyrine.</p>		

<p>Aspect physique: poudre blanche-jaunâtre amorphe</p> <p>Lieberman-Burchard: positif</p> <p>RMN ^1H (DMSO-d_6, 400 MHz) et RMN ^{13}C (DMSO-d_6, 100 MHz),</p>		
<p>GMT12 : acide 2α,3α,19α-trihydroxy-24-norurs-4(23),12-dien-28-oïque</p>		
<p>Aspect physique: poudre blanche amorphe</p> <p>Lieberman-Burchard et de Mölich: positif</p> <p>RMN ^1H (DMSO-d_6, 400 MHz) et RMN ^{13}C (DEPTQGP) (DMSO-d_6, 100 MHz),</p> <p>SM-HR ESI m/z : $[\text{M}+\text{H}]^+$ à m/z 471,3426 pour $\text{C}_{29}\text{H}_{44}\text{O}_5$</p>		<p><i>M. batesii</i></p> <p>et <i>M. thomsonii</i></p>
<p>GMT 5 (acide 3β-acetoxy-2α,19α-dihydroxy-24-norurs-4(23),12-dien-28-oïque</p>		
<p>Aspect physique: poudre blanche amorphe</p> <p>Lieberman-Burchard et de Mölich: positif</p> <p>RMN ^1H (DMSO-d_6, 400 MHz) et RMN ^{13}C (DEPTQGP) (DMSO-d_6, 100 MHz),</p> <p>SM-HR ESI m/z : $[\text{M}+\text{H}]^+$ à m/z 513,3426 pour $\text{C}_{29}\text{H}_{44}\text{O}_5$</p>		<p><i>M. thomsonii</i></p>
<p>GMT9 : 2α,3α,19α-trihydroxy-24-norurs-4(23),12-diene</p>		

<p>Aspect physique: poudre blanche amorphe</p> <p>Lieberman-Burchard et de Mölish: positif</p> <p>RMN ¹H (DMSO-<i>d</i>₆, 400 MHz) et RMN ¹³C (DEPTQGP) (DMSO-<i>d</i>₆, 100 MHz),</p>		<p><i>M. thomsonii</i></p>
<p>GMF6</p>		
<p><i>M. batesii</i></p>		
<p>GMB 16 : acide 2,3-dihydroxy-4,5-diméthylbenzoïque</p>		
<p>Aspect physique: poudre jaune</p> <p>chlorure ferrique: positif</p> <p>RMN ¹H (DMSO-<i>d</i>₆, 400 MHz) et RMN ¹³C (DEPTQGP) (DMSO-<i>d</i>₆, 100 MHz),</p> <p>SM- ESI : [M+H]⁺ à <i>m/z</i> 182 pour C₉H₁₀O₄</p>		<p><i>M. batesii</i></p>
<p>GMB1 : stigmastérol</p>		
<p>Aspect physique: poudre blanche</p> <p>Lieberman-Burchard: positif</p> <p>RMN ¹H (DMSO-<i>d</i>₆, 400 MHz) et RMN ¹³C (DEPTQGP) (DMSO-<i>d</i>₆, 100 MHz), voir SM-ESI-TOF <i>m/z</i> : [M+H]⁺ à <i>m/z</i> 413 pour C₂₉H₄₄O₅</p>		<p><i>M. batesii</i>,</p>
<p>GMT2 : 3-O-β-D-glucopyranoside de stigmastérol</p>		
<p>Aspect physique: poudre blanche</p> <p>Lieberman-Burchard et de Mölish: positif</p> <p>RMN ¹H (DMSO-<i>d</i>₆, 400 MHz) et RMN</p>		

^{13}C (DEPTQGP) (DMSO- d_6 , 100 MHz),		<i>M. thomsonii</i>
--	--	---------------------

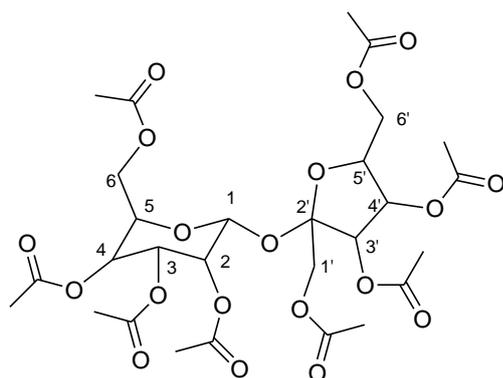
GMF3 : β-sitostérol		
Aspect physique: poudre blanchâtre Lieberman-Burchard: positif RMN ^1H (DMSO- d_6 , 400 MHz) et RMN ^{13}C (DEPTQGP) (DMSO- d_6 , 100 MHz), voir m/z 414,4 pour $\text{C}_{29}\text{H}_{50}\text{O}$		<i>M. batesii</i> ,
GMF1 (3-O-β-D-glucopyranoside de β-sitostérol)		
Aspect physique: poudre blanchâtre Lieberman-Burchard et moliche : positif RMN ^1H (DMSO- d_6 , 400 MHz) et RMN ^{13}C (DEPTQGP) (DMSO- d_6 , 100 MHz),		<i>M. batesii</i> ,
GMB 10 : sucrose		
Aspect physique: poudre blanchâtre molisch: positif RMN ^1H (DMSO- d_6 , 400 MHz) et RMN ^{13}C (DEPTQGP) (DMSO- d_6 , 100 MHz), voir tableau SM-HR- ESY $[\text{M}-\text{H}]^{+\cdot}$ à $m/z=341$ pour		<i>M. batesii</i> Et <i>M. thomsonii</i>

$C_{12}H_{21}O_{11}$		
GMB8 :		
Aspect physique: poudre blanchâtre molisch: positif RMN 1H (DMSO- d_6 , 400 MHz) et RMN ^{13}C (DEPTQGP) (DMSO- d_6 , 100 MHz), voir tableau		<i>M. batesii</i> ,

III.5 TRANSFORMATIONS CHIMIQUES

III.5.1 Réaction d'acétylation

20 moles de GMB10, sucrose ont été dissouts dans 4,5 mL de pyridine. 40 mL d'anhydride acétique a été ajouté à l'ensemble. Le tout a été laissé pendant 24 heures, sous agitation magnétique. Le milieu réactionnel a été mélangé à l'eau et au chlorure de méthylène. La phase organique a été récupérée, lavée à l'eau, séchée avec le $MgSO_4$ anhydre et concentrée à l'aide d'un évaporateur rotatif. Le résidu obtenu a été chromatographié sur colonne de gel de silice de granulométrie 70 - 230 mesh. L'élution s'est faite avec le mélange hexane-acétate d'éthyle (7 : 3), ce qui a permis d'obtenir 35 moles de dérivé Octa-O-acétylé avec un rendement de 58,32 %. Le produit obtenu se présente forme de cristaux blancs et est soluble dans le DMSO et le methanol.



GMB10a: Sucrose-2,3,4,6,1'3',4',6'Octa-O-acétate

Aspect physique : cristaux blanches

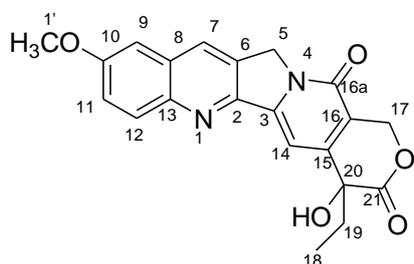
RMN 1H (400MHz, $CDCl_3$) et RMN ^{13}C (100 MHz, $CDCl_3$), voir tableau XXI.

SM-HR m/z : Calc. pour $C_{28}H_{38}O_{19}$. 678,5417

III.5.2 Réaction de méthylation

10 moles de 10-hydroxycamptotecin renferme dans sa structure deux groupements hydroxyyles en position 10 et 20 ont été dissout dans de l'acétone et traité avec du carbonate de

potassium à reflux dans un premier, puis 30 mL de diméthylsulfate a été introduit dans le milieu réactionnel. Cette réaction n'a pas conduit au diméthoxylé correspondant, mais plutôt à un dérivé monométhylé, la 10-méthoxycamptotecin avec un rendement de 39,6 % (**Koyama et al., 2008**). Il résulterait de la méthylation de l'un des deux groupements hydroxyles celui en position 10. Ce dérivé méthoxylé précipite sous forme de poudre amorphe de couleur jaune qui a été chromatographié sur colonne de gel de silice de granulométrie 70 - 230 mesh. L'élution s'est faite avec le mélange hexane-acétate d'éthyle (7 : 3), ce qui a permis d'obtenir 8 moles de dérivé 10-O-méthylé de la 10-hydroxycamptotecin (la 10-méthoxycamptotecin) avec un rendement de 58,32 %. Le produit obtenu se présente sous forme de poudre amorphe de couleur jaune et est soluble dans le DMSO.



GMB10a: 10-méthoxycamptotecin

Aspect physique : poudre amorphe de couleur jaune

RMN ¹H (400MHz, CDCl₃) et RMN ¹³C (100 MHz, CDCl₃), voir tableau.

SM-HR *m/z* : Calc. pour C₂₈H₃₈O₁₉, 378,5613

III.6 MATERIEL BIOLOGIQUE ET METHODES

III.6.1 Evaluation de l'activité antimicrobienne

- Mode opératoire

III.6.1.1. Culture des cellules

Le dépistage de l'activité cytotoxique des isolats a été fait en mettant en application la méthode de la coloration du bromure de MTT. Les cellules KB-3-1 et KB-V1 ont été cultivées comme une monocouche en DMEM (Dulbecco modifiée milieu Eagle) avec le glucose (4,5 g L⁻¹), L-glutamine, pyruvate de sodium et de rouge de phénol, additionné de 10 % (KB-3-1) et 15 % (KB-V1) sérum fœtal (SVF). 50 µg mL⁻¹ gentamicine a été ajouté pour les cellules KB-V1. Les cellules étaient maintenues à 37 °C et 5,3 % CO₂-humidifier l'air. Les cellules KB-V1 ont été sélectionnées en permanence pendant la culture avec le sulfate de vinblastine (150 nM).

III.6.1.2. Traitement des cellules

La veille de l'épreuve, les cellules (confluence de 70 %) ont été jumelées avec la solution d'Ethylène Diamide Tétracétique (EDTA) (0,05 % ; 0,02 % PBS) et placées dans des plaques de 96 puits stériles dans une densité de 10 000 des cellules dans un milieu 100 μ L par puits. La série de dilution des composés ont été préparée à partir de solutions mères dans le DMSO de concentrations de 1 mM ou 10 mM.

Les solutions mères ont été diluées avec le milieu de culture (15 % FBS [Ko-V1] ; 10 % FBS [Ko-3-1]) au moins 50 fois. Un milieu de culture a été ajouté dans les puits pour régler le volume des puits pour le facteur de dilution voulue. La dilution préparée à partir de solution-mère a été ajoutée dans les puits. Chaque concentration a été testée en six exemplaires. Série de dilution ont été préparés par pipetage liquide de puits à puits. Le contrôle contient la même concentration de DMSO comme la première dilution. Après une incubation de 72 heures à 37 °C et 5,3 % CO₂-humidifie l'air, 30 μ l d'une solution aqueuse de résazurine (175 μ M) ont été ajoutés à chaque bien. Les cellules ont été incubées dans les mêmes conditions pendant 6 h. Par la suite, nous avons mesuré la fluorescence.

III.6.1.3. Analyse des données

L'excitation a été effectuée à une longueur d'onde 530 nm, tandis que l'émission a été enregistrée à une longueur d'onde de 588 nm. Les valeurs d'IC₅₀ ont été calculées comme une courbe sigmoïde dose-réponse à l'aide de GRAPHPAD PRISM 4,03. Les valeurs de la CI₅₀ égal aux concentrations de médicament, au cours de laquelle la vitalité est 50 %.

III.6.2. EVALUATION DE L'ACTIVITE ANTIMICROBIENNE

MODE OPERATOIRE :

➤ Préparation des concentrations en antimicrobiens

- **Antibiotiques**

Un volume d'antibiotique stock a été prélevé et dilué avec du DMSO de façon à obtenir un volume de 6 ml pour une concentration de 100 ppm à partir de ceci on a fait une suite de dilution de manière à obtenir différentes concentrations à savoir 50 ppm ; 25 ppm 12,5 ppm ; 6,25 ppm.

- **Composés purs**

Les solutions des composés purs ont été préparées en dissolvant les triterpènes dans de l'isopropanol et le composé bicyclique et le flavonoïde dans 10 % de DMSO aqueux de façon à obtenir une concentration de 1500 ppm. Les autres concentrations sont obtenues en prélevant 500 μ L de la concentration précédente pour l'ajouter à 500 μ L de solvant.

➤ **Préparation des suspensions bactériennes**

Les bactéries à tester ont étéensemencées dans des tubes contenant le bouillon BHI et incubées pendant 24 heures, afin d'obtenir une culture jeune des bactéries. A partir de ces tubes, à l'aide d'une micropipette 1ml du de la culture jeune de 24 h est prélevée et mis dans 9ml d'eau physiologique stérile à 0,9 % de sel (NaCl) et les dilutions faites avec de l'eau physiologique de façon à obtenir une charge microbienne de 10^6 .

➤ **Préparation des disques**

Les disques ont été fabriqués à partir du papier Wattman numéro 4, avec un diamètre de 6mm ($0,28 \text{ cm}^2$ de surface) par l'emporte-pièce. Ensuite, ces disques ont été mis dans une boîte avec couvercle, stérilisés à l'autoclave, puis stockés à une température ambiante. Une fois refroidie les disques ont été imbibés de $30 \mu\text{l}$ des différentes concentrations en antimicrobiens puis laisser à température ambiante à l'abri de la lumière pour une bonne imprégnation des disques.

➤ **Ensemencement**

Quinze millilitres (15 ml) du bouillon cœur cervelle agar en surfusion ont été coulés dans des boîtes de Pétri. Après solidification du milieu de culture, $200 \mu\text{l}$ de la suspension bactérienne à tester (10^6 CFU.ml^{-1}) ont été étalés en surface.

➤ **Dépôt des disques**

Dans des conditions aseptiques et à l'aide d'une pince stérile, des disques de papier Wattman (3disques/boîte) préalablement imbiber de $30 \mu\text{l}$ de la solution antibactérienne ont été déposés sur l'agar. Les boites sont maintenues à 4°C pendant une heure pour que les solutions puissent diffuser (Rožman et Jeršek, 2009). Les boites ont été incubées à l'étuve à 37°C pendant 24 heures.

➤ **Lecture des résultats**

La lecture des résultats s'est faite en mesurant le diamètre des auréoles (zones d'inhibition de croissance de la souche) autour des disques de papier filtre à l'extérieur de la boîte fermée, à l'aide d'un pied à coulisse.

III.7. TESTS QUALITATIFS DES COMPOSES ISOLEES

III.7.1. TEST DE DRAGENDORFF

Ce test est caractéristique des alcaloïdes.

III.7.2. TEST DE LIEBERMANN- BURCHARD

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

Mode opératoire

- Dans un tube à essai, dissoudre une petite quantité de produit dans 50 mL de dichlorométhane
- A cette solution, ajouter 20 mL d'anhydride acétique et 1 mL d'acide sulfurique

Résultat et interprétation

La présence des triterpènes se manifeste par l'apparition d'une couleur rouge violacée

III.7.3. TEST AU CHLORURE FERRIQUE

Ce test permet de mettre en évidence les hydroxyles phénoliques

Mode opératoire

- Dissoudre le composé dans une solution méthanolique
- Ajouter quelques gouttes de chlorure ferrique.

Résultat et interprétation

La présence des hydroxyles phénoliques est caractérisée par la formation d'un complexe de type $[\text{Fe}(\text{OAr})_6]^{3-}$ de couleur bleue, rouge, violette ou verte.

III.7.4. TEST DE MOLISH

Ce test permet de mettre en évidence la présence d'un sucre dans une molécule.

Mode opératoire :

- Préparation du réactif de Molish: 50 ml de réactif se prépare en dissolvant 1 g de α - naphthol dans 50 ml d'éthanol.
- Dissoudre son produit dans un tube à essai, y ajouter 1 ml de réactif de Molish et en faisant couler lentement sur la paroi du tube 1 ml d'acide sulfurique concentré.

Résultat et interprétation

La formation d'un anneau violet marque la présence d'un sucre dans la molécule.

LISTE DES REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

A

Aniszewski, T., (2007). Alkaloid-secret of life, alkaloid chemistry biological significance, application and ecological role, Elesier, Netherland, pp 316.

Leeuwenberg, A.J.M., (1972). Loganiaceae in : Aubreville A, Leroy J-F, Flore du Gabon-19 : *Muséum National d'histoire naturelle*, Paris, France, pp 153.

B

Barrero, A.F., Alvarez- Manzaneda, R.E.J., Alvarez- Manzaneda R.R. (1989). New monocyclic triterpene from *Achillea odorata* L. *Tetrahedron Lett.* **30**: 3351-3352.

Bassène. E., (2012). Initiation à la recherche sur les substances naturelles, Extraction, Analyse et Essais Biologiques Presse Universitaire de Dakar, Dakar, Sénégal, pp 130.

Bhat, S.V., Nagasampagi, B. A., Sivakumar, M., (2005). *Chemistry of Natural Products.* Narosa, Publishing House New Delhi, India, **4**, 237.

Berghe, A., Vlietink, A.J., (1991). Screening methods for antibacterial and antiviral agent from higher plants. *Methods Plant Biochemistry* **6**: 47-68.

Brandt, V., Geerlings, A., Tits, M.; Delaude, C., van der Heijden, R., Verpoorte, R., Angenot, L., (2000). New strictosidine beta-glucosidase from *Strychnos mellodora*. *Plant Physio Biochem*, **38** (3): 187-192.

Ben-Qin, T., Wen-Jing, W., Xiao-Jun, H., Guo-Qiang, L., Lei, W., Ren-Wang J., Ting-Ting Yang, L-S., Xiao-Qi, Z., and Wen-Cai, Y. (2014). Iboga-Type Alkaloid from *Ervatamia officinalis*. *J of Nat Prod.* **77**: 1839-1846.

Brunetton J. (2009). Pharmacognosie-phytochimie, plantes médicinales. Lavoisier Tec & Doc. Edition médecinales internationales, Paris, 4^e Ed 1120 p.

Büchsbaum D. J., Miller C. R., McNally L. K., Kaliberov S. A. (2009). Cancer gene therapy dans *Principles of Cancer biotherapy*, Eds Oldham, Robert and Dillman, Robert, O; Springer Science and Business Media B. V. 2009. Dordrecht, Heidelberg London, New York. 5th Ed. pp 589-612.

C

- Cloutier, P., Toutant, J., Shkreta, L., Goekjian, S., Revil, T., Chabot, B. (2008).** Antagonistic effects of the SRp30c protein and cryptic 5' splice sites on the alternative splicing of the apoptotic regulator Bcl-x. *J. Biol. Chem.* 283(31).
- Cos, P., Vlietinck A. J., Berghe, D.V., Maes, L. (2006).** Anti-infective potential of natural products: how to develop a stronger in vitro “proof-of-concept”: *J Ethnopharmacology* **106**: 290-302.
- Connolly, T., Connolly, A.L., Porter. (1990).** Quality/value relationships for imperfect weather forecasts in a prototype multistage decision-making model *Discretionary Databases in Forecasting* **6**:1-12.
- Connolly J.M., Hill R.A., (1991).** Method in plant biochemistry, *Academic press Limited* **7**: 331-359

D

- Damstrup, L., Poulsen H.S. (1994).** Review of the curative role of radiotherapy in the treatment of non- small cell lung cancer (Review). *Lung Cancer* **11**, 153- 178.
- Dai, J-R, Hallack, Y.F, Coudellina, J.H., Boyd, M.R., (1999).** 20-O- β -Glucopyranosyl Camptothecin from *Mostuea brunonis*: A Potential Camptothecin pro-drug with Improved Solubility, *J. N. P.*, **62**, 1427-1429.
- De-Ruijter, A., (2007).** *Mostuea batesii* Baker. In Schmetze, CH gruib Fakim. Plant resources of tropical Africa, Ressources végétales de l’Afrique tropicale, Ed. Protá , Wageningen, Pays Bas., pp 300.
- Dewick, P.M. (2000);** A biosynthetic approach, edition Chichester, John Wiley Chap. **6**, 291.
- Dzoyem, J.P., Tangmouo, J.G., Lonsi, D., Etoa, F.X., Lohoue, P.J. (2007).** In vitro. Antifungal Activity of extract and plumbagin from *Diospyros crassiflora* Hiern (Ebenaceae) *Phytoter. Res.* **14**: 112.
- Dwoskin, L.P., Crooks, P.A. (2002).** A novel mechanism of action and potential use for lobeline as a treatment for psychostimulant abuse. *Biochem. Pharmacol* **63**: 89-98.

Dwoskin, L.P. David, B., Horton, K.B. Siripurapu, G. Zheng, P., Crooks, A. (2011). Novel *N*-1,2-Dihydroxypropyl analogs of lobelane inhibit vesicular monoamine transporter-2 function and methamphetamine-evoked dopamine release *J Pharmacol. Exp. Ther.* **339**, 286–297.

E

Ebajo, Jr.V. V., Shen, C.C., Ragasa, C.Y. (2015). Terpenoids and sterol from *Hoya multiflora* Blume, *J. appl. Pharm Sci* **5** (04); 033-039.

Edwin Wosu., N.L., (2012). Biosystematic studies in Loganiaceae (Serie 4): Phytomorphological characterization in relation to intraspecific delimitation among members of the tree species in the genus *Anthocleista joudsin* part of the Niger Delta tropical rain forest, *Nigeria Eur. J. Exp. Biol.*, 2012 **2(6)**: 1962-1973.

Ekon, J.P.L., Bissoue, A.N., Fomani, M., Toze, F.A.A., Kamdem, A.F.W., Sewald N, Wansi, J.D. (2015). Cytotoxic 24-nor-ursane-type triterpenoids from the twigs of *Mostuea Hirsute*. *Z. Naturforsch* **283** (31):21315-24.

F

Fabiyi, O.A., Atolani, O., Olatunji, G.A. (2012). Antioxidant and Cytotoxicity of β -amyrin fraction from *Bridalia ferruginea* Leaves, *Asian Pac. J. Trop. Biomed.* **6**: 981-984.

Favaudon, V. (2000). Régulation du cycle cellulaire et de la mort cellulaire radio-induite. *Cancer/ Radiother.* **4**: 355-368.

Flahaut, A., Zylberman, P. (2008). Des epidemies et des hommes, éd. La Martiniere, p.4,

Fong, C. R. (2005) La teoría de recursos y capacidades : fundamentos microeconómicos.

G

Globocan, (2012). Estimated age-standardized rates (World) of deaths, females, breast cancer, worldwide,

Guignard J.L, (1996). Biochimie Végétale. Masson. Paris, France, pp 255.

Guo M., Hay, B.A. (1999). Cell proliferation and apoptosis. *Curr. Opin. Cell. Biol.* **11**: 745-752.

H

Hanahan, D., Weinberg, R.A. (2000). The hallmarks of cancer. *Cell* **100**: 57-70.

Hanahan D., Weinberg, R.A. (2011). Hallmarks of cancer: the next generation. *Cell* **144**: 646- 674.

Heimberger, S.I., Scott, A.I. (1973). Biosynthesis of strychnine. *J. Chem Soc*, **6**: 217-218.

Herbert, R. (1983). Structural and biosynthetic relationships, dans *Indoles - The monoterpene indole alkaloids*, J.E. Saxton, Ed., Interscience: New York. p. 1-46.

Hernandez-Vázquez, L., Mangas, S., Palazón, J., Navarro-Ocaña, A. (2010). Valuable medicinal plants and resins: Commercial phytochemicals with bioactive properties, *Industrial Crops Prod.*, 31: 476-480.

Hesse, M. (2002). Alkaloids – Nature’s Curse or Blessing, *Verlag Helvetical Chemica Acta*, Zürich., Switzerland, and Wiley-VCH Weinheim, Germany

J

Jingyong, S., Hongxiang, L., Shengju, D., Hui, X., Fen, Z., Ke, L. (2008). Indole alkaloids from *Nauclea officinalis* with weak antimalarial activity, *J. Phytochem* **69** 1405-1410

Jonville, M.C., Kodja, H., Humeau, L., Fournel, J., Chariot, A., De Mol, P., Cao, M., Angenot, L., Frédérick, M., (2008). Evaluation of medicinal plants from Reunion Island for antimalarial and cytotoxic activity. *Planta Medi*, **74** 234-240

K

Kerharo, J., Adam, J.G. (1974). La Pharmacopée sénégalaise traditionnelle. Plantes médicinales et toxiques *J. Agric. Tradit. Bot. Appl.* **21** pp. 76-77.

Khan, M.N., Malspeis, L. (1982). Kinetics and mechanism of thiolytic cleavage of the antitumor compound 4’-(9-acridinyl)amino)methanesulfon-m-anisidide. *J. Org. Chem.* **47** (14), 2731-2740.

Kolakowska, T., Williams, A.O., Ardern, M., Reveley, M.A. (1986). Tardive dyskinesia in schizophrenics under 60 years of age *Biol. Psychiatry* 21(2). 161-169.

Koyama, K.Z., Tomoko, H., Takahiro, H., Yusuke, H., Koichiro, A.R., Idha K., Noor, C.Z., Motoo, S., Hiroshi, M. (2008). Biscarpamontamines A and B, an Aspidosperma-Iboga bisindole alkaloid and an Aspidosperma-Aspidosperma Bisindole Alkaloid, from *Tabernaemontana sphaerocarpa* *J. N. Prod.* **72**, 1686-1690.

Kuper, A., Lingard, L., Wendy, L., (2000). Critically appraising qualitative research *B.M.J.* **337**. 687-689.

L

- Laszczyk, M.N., (2006).** Pentacyclic triterpenes of the lupane, oleanane and ursane group as tools in cancer therapy. *Planta Med.* **75**, 1549-1560.
- Leeuwenberg, A. J.M., (1961).** The loganiaceae of Africa II, A revision of *Mostue Didr.* Medelingen Landbouwhoge-school Wagenigen 61-64, Wagenigen Netherlands, pp 1-30.
- Lin, L.Z., Cordell, G.A. (2000).** ¹³C-NMR assignment of camptothecine and 10-hydroxycamptothecine *J. Nat. Prod.* **53**(1), 186-189.
- Li ping T., Leeuwenberg A.J.M. (1996).** Loganiaceae, *in flora of china*; **15**, pp 320-338
- Liotta L. (1992).** La formation des métastases cancéreuses. *Pour la Science N* **174**: 30-38

M

- Mahato, S.B., Kundu, A.P. (1994).** ¹³C NMR spectra of pentacyclic triterpenoids- A compilation and some salient features. *Phytochemistry*, **37**: 1517-1575.
- Mann, J., Davidson, R.S., Hobbs, J.B., Banthorpe, D.V., Harborne, J.B. (1994).** Their chemistry and biological significance Longman Harlow *Nat. Prod.* **7** 389.
- Mariko, K., Masumi, I., Noriyuki K., Ruri, K.-H., Yakihiro, G., Hiromitsu, T. (2013).** Aspidosperma-aspidosperma-type bisindole alkaloids from *Voacanga Africana*. *Tetrahedron.* **69**. 796-801
- Maskey, K. H, Humeau, L., Fournel, J., Chariot, A., De Mol, P., Cao, M., Angenot, L., Frédéricich, M. (2002).** Evaluation of medicinal plants from Reunion Island for antimalarial and cytotoxic activity. *Tetrahedron.* **66** 696-881
- Milcent R. (2003).** Chimie des hétérocycles, avenue de Hoggar, EDP sciences, pp 856.

N

- Noaki, K., Hideki, O., Fukushi, E., Shuichi, O., Kawa, J. (2008).** Structural analysis of two trisaccharides isolated from fermented beverage of plant extract, *Open Geos* **1**. 25-30.
- Ngnokam, D., Nuzillard, J.M., Bliard, C. (2005).** Sapelenin E and F: new acyclic triterpenoids from the stem bark of *Entandrophragma cylindricum*. *J. Chem. Soc. Ethiopia* **19**: 227-231.

O

- Okoye, N. N., Lotanna, A.D., Nnaemeka, O.H. Emeka I.E., Nworu, C.E., Okoye, F. B.C. (2014).** Beta-Amyrin and alpha-amyrin acetate isolated from the stem bark of *Alstonia boonei* display profound anti-inflammatory activity, *Pharm Biol.* **52** (11): 1478-1486.
- OMS. (2002).** organisation mondiale de la santé (OMS) rapport sur la médecine traditionnelle : Besoin et potentiel, N°4,6 p.
- OMS. (2014).** Lutte contre le cancer dans le cadre d'une approche intégrée CONSEIL EXÉCUTIF Cent quarantième session.
- OMS, (2010).** Strategie pour la médecine traditionnelle, Genève, pp 201.
- OMS. (2009).** Global Tuberculosis Control: a short update to the 2009 report. Genève: p 426.
- Ogunkoya L. (1981).** Application of mass spectrometry in structural problems in triterpenes. *Phytochemistry* **20**: 121-126.

P

- Poupon M. F., Ling V. (1990).** L'évolution des tumeurs malignes. *Pour la science* N **149**: 72

R

- Rehman, S., Mir, T., Kour, A., Qazi, P.H., Sultan,P. Shawl, A.S., (2011)** "In vitro antimicrobial studies of *Nodulisporium* species: An endophytic fungus", *J. Yeast Fungal Res.* **2**(4), 53-58.

S

- Schottenfeld, D., Beebe-Dimmer, J. (2005).** Advances in Cancer epidemiology: understanding causal mechanisms and the evidence for implementing intervention. *Annu. Rev. Public Health* **26**. 37-60.
- Shu, L., Cheug, K. L., Khor, T. O., Chen, C., Kong, A.N. (2010).** Phytochemicals: cancer chemoprevention and suppression of tumor onset and metastasis. *Cancer Metastasis Rev.* **29**: 483-502.

Sobral, M., Rossi, L. (2003). *Mostuea muricata* (Gelsemiaceae), a new species from Brazil. *Novon* 13(3):325-328

Sun, Y.N., Wang, C.L., Zhang, N., Wang, Z., Liu, Z. L., Liu, J. L., (2014). Synthesis of tetrahydro- β -carboline derivatives from phthalic anhydrides and tryptamine, *Chin. Chem.Lett.* **25**. 1503–1506.

Sun, J., Lou, H., Dai, S., Xu, H., Zhao, F., Liu K. (2007). Indole alkaloids from *Nauclea officinalis* with weak antimalarial activity. *Phytochemistry* **69**, 1405-1419.

T

Tremblay S. (2007). Etude moléculaire du recrutement des gènes de résistance aux antibiotiques. Département de biochimie et microbiologie, Faculté des sciences et de génie, Université LAVAL, Québec. Mémoire présenté pour l'obtention du grade de maître en sciences.

W

Wang, M., Kikuzaki, H., Csiszar, K., Boyd, C.D., Maunakea, A., Fong, S.F., Ghai, G., Rosen, R. T., Nakatani, N., Ho, C.T. (1999). Novel trisaccharide fatty acid ester identified from the fruits of *Morinda citrifolia* (Noni). *J. Agric. Food Chem.*, **47**(12):4880.

Watson, L., Dallwitz, J., (1992). The Families of Flowering Plants, Ed. Reverté, pp 200.

ANNEXE

LISTE DES PUBLICATIONS DE LA THESE

1. **Eric Gustave Bobda Gompe.**, Blandine Marlyse Wache Ouahouo., Valerie Tedjon Sielinou., Maurice Tsaffack., Jean Fotie., Jules Clement Nguedia Assob., Hayato Ishikawa., Pierre Mkounga., Augustin Ephrem Nkengfack. (2018) Two new indolic and quinolinic alkaloids and other secondary metabolites from *Mostuea thomsonii* (Loganiaceae) *Phytochemistry Letters* **26**:154–158.

2. **Eric Gustave Bobda Gompe.**, Blandine Marlyse Wache Ouahouo., Pierre Mkounga., Merveille Tabouguia., Jules Clement Nguedia Assob., Jean Fotie., Augustin Ephrem Nkengfack. (2016) Mostueatecine A and B: Two Indole Alkaloids and Mostueatecine C, One Triterpene from *Mostuea batesii*. *Journal of Diseases and Medicinal Plants*. **2** (6): 60-66.