

REPUBLIQUE DU CAMEROUN

Paix-Travail-Patrie

UNIVERSITÉ DE YAOUNDÉ I

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



REPUBLIC OF CAMEROON

Peace-Work-Fatherland

THE UNIVERSITY OF YAOUNDE I

POST GRADUATE SCHOOL FOR
SCIENCE, TECHNOLOGY AND
GEOSCIENCE

UNITE DE RECHERCHE ET DE FORMATION DOCTORALE EN CHIMIE ET
APPLICATION

POST GRADUATE UNIT FOR CHEMISTRY AND APPLICATION

DEPARTEMENT DE CHIMIE ORGANIQUE

DEPARTMENT OF ORGANIC CHEMISTRY

**STRUCTURES ET ACTIVITÉS BIOLOGIQUES DES
CONSTITUANTS CHIMIQUES DE *TRICLISIA
GILLETII* (DE WILD) STANER (MENISPERMACEAE)
ET DE *CORDIA BATESII* WERNHAM
(BORAGINACEAE)**

THÈSE

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

Par:

TIAM Eric Robert

Matricule: 05W436
Master en Chimie Organique



Sous la direction de:

PEGNYEMB Dieudonné Emmanuel
Professeur

Année Académique 2019/2020



DÉDICACES

DÉDICACES

À

Mes enfants: **Ludivine Cienna Tiam Yommo**

Christ Joirel Tiam Tiam

Pulcherie Dora Tiam Magne

Mon épouse, **Silvie Sogadjou Mankankeu**

Ma mère, **Jacobine Dzembouong**



REMERCIEMENTS

REMERCIEMENTS

Je tiens à exprimer ma gratitude:

Au Professeur **Augustin Ephrem Nkengfack**, Chef du Département de Chimie Organique de la Faculté des Sciences de l'Université de Yaoundé I pour m'avoir accueilli au sein de ce Département.

Au Professeur **Dieudonné Emmanuel Pegnyemb** pour m'avoir accueilli au sein de son Laboratoire de Pharmacochimie des Substances Naturelles et pour m'avoir initié à la recherche puis guidé mes pas jusqu'à ces jours. J'apprécie beaucoup son charisme.

Au Professeur **Joséphine Ngo Mbing** pour sa disponibilité, son soutien, ses conseils et son encadrement en vers nous ses enfants du laboratoire.

Au Professeur **Alex de Théodore Atchadé** pour ses multiples conseils, son écoute et la confiance qu'il a portée sur moi. Son dynamisme et sa détermination m'ont beaucoup marqué.

Aux Professeurs : **Christian G. Bochet** de l'Université de Fribourg en Suisse et **Ulrich Koert** de Philipps-Universität Marburg en Allemagne pour l'enregistrement des spectres.

Au Professeur **Dominique Serge Ngono Bikobo** et le Docteur **Auguste Abouem A Zintchem** pour leur disponibilité, conseil, encadrement, soutien et surtout beaucoup de compréhension à mon égard. Sincèrement je les remercie pour le travail abattu durant cette thèse.

Je remercie sincèrement:

Le Docteur **Eutrophe Le Doux Kamto** pour son soutien, sa disponibilité et ses conseils ont été une plus value pour la réalisation de ce travail.

Monsieur **Norbert Mirabeau Mbabi Nyemeck II**, pour sa précieuse aide durant cette thèse, j'exprime ma gratitude à son égard pour le travail abattu durant ce travail, merci sincèrement mon frère.

Le Docteur **Samuel Fosso** du laboratoire de parasitologie au Centre Hospitalier Universitaire de Yaoundé pour ses critiques, ses conseils, son soutien et son encadrement.

Monsieur **Victor Nana**, Botaniste à l'Herbier National du Cameroun, pour l'identification et la récolte des plantes.

Pour leur aide précieuse tout au long de ce travail, leur conseil, leur encouragement, mais aussi leur sympathie, je tiens également à remercier les Professeurs: **Olivier Placide Noté** et **Joseph Thierry Ndongo**, les Docteurs **Gaétan Bahiya**, **Mc Jésus Kinyok**, **Angelique Nicolas Messi**, **Line Simo Made Simo**, **Berthelot Tamo Sop**, **Brice Takam**, **Albert Poupi Mbouopda**, **Jean Baptiste Takwa** et **Jeanne-Louise Nkot**.

Le Docteur **Esther Del Florence Moni Ndedi** et monsieur **Patrick Hervé Betoté Diboue** pour la réalisation des tests biologiques.

Mes camarades et cadets du Laboratoire de Pharmacochimie des Substances Naturelles pour leur bonne humeur, amitié et aide pratique : **Marius Balemaken, René Alain Fred Zoua, Lin Marcelin Ambassa Messi, Onesime Mayega, Yollande Nguimbous, Glawdys Djikam, Romain Menang** et **Beltus Fofack**.

J'exprime ma gratitude à Madame **Pulchérie Fosso** pour son encadrement, son affection et son soutien; qu'elle trouve en ce travail le fruit des efforts consenti à ma personne.

Je remercie sincèrement mes frères et sœurs de la grande famille **Dzembouong** pour le soutien qu'ils m'ont toujours accordé; qu'ils trouvent en ce travail tous les efforts consentis durant ma formation.

J'exprime ma considération à tous mes camarades de vie et ceux d'**Horizon** en particulier; que ce travail soit pour eux un exemple d'assiduité, une preuve d'engagement, de persévérance et de réussite.

Un merci particulier à tous ceux qui de près ou de loin se reconnaissent dans ce travail et dont je n'ai pas mentionné les noms ici.

SOMMAIRE	
DÉDICACES	ii
REMERCIEMENTS	iv
SOMMAIRE	vi
RÉSUMÉ	xxi
ABSTRACT	xxiii
LISTE DES ABREVIATIONS	x
LISTE DES FIGURES	xiii
LISTE DES SCHEMAS	xix
INTRODUCTION GÉNÉRALE	1
CHAPITRE I: CHAPITRE I : REVUE	3
DE LA LITTERATURE	3
CHAPITRE I: REVUE DE LA LITTERATURE	3
I.1. Importance des plantes médicinales dans la découverte de nouveaux médicaments	4
I.2. Généralités sur les plantes de la famille des Menispermaceae	4
I.2.1. Distribution géographique des Menispermaceae	4
I.2.2. Travaux phytochimiques antérieurs sur les Menispermaceae	5
I.2.3. Les différents genres de plantes de la famille des Menispermaceae	12
I.2.4. Généralités sur les plantes du genre <i>Triclisia</i>	13
I.2.5. <i>Triclisia gillettii</i> (De Wild) Staner	19
I.3. Généralités sur les plantes de la famille des Boraginaceae	24
I.3.1. Distribution géographique des Boraginaceae	24
I.3.2. Usages ethnomédicinaux des plantes de la famille des Boraginaceae	25
I.3.3. Travaux phytochimiques antérieurs sur les Boraginaceae	25
I.3.4. Les différents genres de plantes de la famille des Boraginaceae	28
I.3.5. Généralité sur le genre <i>Cordia</i>	28
I.3.6. <i>Cordia Batesii</i> wrenham.....	38
I.4- Généralités sur la Tuberculose	40
I.4.1. Epidémiologie	41
I.4.2. Physiopathologie	43
I.4.3. Diagnostic, prévention et traitement de la Tuberculose	43
I.5. Généralités sur le paludisme	48
I.5.1. Cycle de vie des parasites du paludisme	48
I.5.2. Epidémiologie	50
I.5.3. Physiopathologie du paludisme.....	52

I.5.4. Diagnostic et Traitement du paludisme.....	53
CHAPITRE II: RESULTATS ET DISCUSSION.....	58
II.1. Introduction	58
II.2. Etudes phytochimiques des feuilles de <i>Triclisia gilletii</i>, des tiges et racines de de <i>Cordia batesii</i>	58
II.2.1. Extraction et isolement des composés des feuilles de <i>Triclisia gilletii</i>	58
II.2.2. Extraction et isolement des composés des tiges et racines de <i>Cordia batesii</i>	60
II.2.3. Caractérisation chimiques des composés isolés.....	62
II.2.4. Hypothèse sur la biosynthèse de quelques composés isolés	130
II.2.5. Etude Chimiotaxonomique	132
II.3. Activités biologiques des extraits et composés isolés.....	133
II.3.1. Activité antituberculeuse des extraits et composés isolés de <i>Triclisia gilletii</i>	133
Discussion.....	135
II.3.2. Activité antiplasmodiale des extraits et composés isolés de <i>Cordia Batesii</i>	136
Discussion	138
Conclusion et perspectives.....	141
CHAPITRE III : PARTIE EXPERIMENTALE	144
III.1. Matériel végétal.....	144
III.2. Matériels et méthodes d'extraction	144
III.2.1. Matériels	144
III.2.2. Méthodes d'extraction	145
III.3. Isolement et purification des composés.....	146
III.3.1. Isolement et purification des composés des feuilles de <i>T. gilletii</i>	146
III.3.2. Isolement et purification des composés des tiges de <i>C. batesii</i>	147
III.3.3. Isolement et purification des composés des racines de <i>C. batesii</i>	147
III.4. Tests biologiques	149
III.4.1. Evaluation de l'activité antituberculeuse.....	149
III.4.2. Evaluation de l'activité antiplasmodiale.....	151
III.5. Tests de caractérisation des composés isolés	153
III.5.1. Test de Dragendorff.....	153
III.5.2. Test de Shinoda.....	153
III.5.3. Test de Neu	153
III.5.4. Test de Liebermann-Burchard	153
III.5.5. Test de Molisch.....	153
III.5.6. Test au chlorure ferrique (FeCl ₃).....	153

III.6. Caractéristiques physico-chimiques des composés isolés.....	154
REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES.....	160
ANNEXE.....	178



LISTE DES ABREVIATIONS

LISTE DES ABREVIATIONS

ACT	Combinaisons à Base d'Artémisinine
BAAR	Bactéries Acido Alcoolo-Résistants
BK	Bacille de Koch
CC	Chromatographie sur Colonne
CCM	Chromatographie sur Couche Mince
CoA	Co-enzyme A
COSY	COrrélation SpectroscopY
CPG	Chromatographie en Phase Gazeuse
CPG/SM	Chromatographie en Phase Gazeuse Couplée au Spectromètre de Masse
CQR	ChloroQuinoResistant
CYP	Cytochrome mono-oxygénase
DMSO- <i>d</i> ₆	DiMéthylSulfOxyde-hexadéteurié
ESI	Electro Spray Ionisation
HMBC	Heteronuclear Multiple Bond Correlation
HSQC	Heteronuclear Single Quantum Correlation
IR	Infrarouge
kg	kilogramme
MII	Moustiquaires Impregnées d'Insecticide
MILDA	Moustiquaires Impregnées d'Insecticide a Longue Duree d'Action
OMS	Organisation Mondiale de la Santé
Pf	Point de fusion
ppm	Partie par million
PNLP	Programme National de Lutte contre le Paludisme
Rf	Retention factor (facteur de retention)
RMN ¹³ C	Résonance Magnétique Nucléaire du carbone 13
RMN ¹ H	Résonance Magnétique Nucléaire du proton
RMN 1D	Résonance Magnétique Nucléaire à une dimension
RMN 2D	Résonance Magnétique Nucléaire à deux dimensions
TOF	Time Of Flight
TMS	Tetraméthylsilane
TDR	Test de Diagnostic Rapide
UDPG	Uridine DiphosPhoGlucose

UGT	UDPG glycosyl transferase
μL	Micro Litre
UV	UltraViolet
δ	Déplacement chimique
$^{\circ}\text{C}$	Degré celsius
<i>d</i>	doublet
<i>dd</i>	doublet dédoublé
<i>ddd</i>	doublet de doublet dédoublé
<i>m</i>	multiplet
<i>s</i>	singulet
<i>t</i>	triplet
VIH	Virus de l'Immunodéficience Humaine



LISTE DES FIGURES

LISTE DES FIGURES

Figure 1. Distribution géographique de Menispermaceae en Afrique	5
Figure 2 : Squelette de base des alcaloïdes de type benzyloquinoléine	5
Figure 3: Squelettes de base des alcaloïdes de type bisbenzyloquinoléine	7
Figure 4 : Squelette de base des alcaloïdes de type Proaporphine	9
Figure 5 : Squelette de base des alcaloïdes de type Aporphine	10
Figure 6: Répartition géographique du genre <i>Triclisia</i> au Cameroun	14
Figure 7: Photographie de quelques espèces du genre <i>Triclisia</i>	15
Figure 8: Feuilles de <i>T. gillettii</i>	20
Figure 9: Distribution géographique de Boraginaceae dans le monde	24
Figure 10. Répartition géographique de <i>Cordia</i> au Cameroun (Ritimo, 2008)	29
Figure 11: Photographie de quelques espèces du genre <i>Cordia</i> (Fu et al., 2002).....	30
Figure 12. Photographies de <i>Cordia batesii</i>	38
Figure 13: Image de <i>M. tuberculosis</i> par microscopie électronique à balayage	40
Figure 14: Taux d'incidence mondiale de la tuberculose pour 100 000 Habitants en 2017.....	42
Figure 15: Cycle de vie des parasites du paludisme	49
Figure 16: Photographie de l' <i>Anopheles gambiae</i>	50
Figure 17: Taux d'incidence mondiale du paludisme.....	51
Figure 18: Vue au microscope de trophozoïdes de <i>P. falciparum</i> par les méthodes aux frottis sanguin et de la goutte épaisse.....	54
Figure 19: protocole d'extraction et isolement des feuilles de <i>Triclisia gillettii</i>	59
Figure 20: Protocole d'extraction et isolement des tiges de <i>Cordia batesii</i>	60
Figure 21: Protocole d'extraction et isolement des racines de <i>Cordia batesii</i>	61
Figure 22: Spectre de masse LC-MS de TGF ₅	62
Figure 23: Spectre RMN- ¹ H (CDCl ₃ , 500 MHz) de TGF ₅	64
Figure 24: Spectre de RMN- ¹³ C (CDCl ₃ , 125 MHz) de TGF ₅	65
Figure 25: Spectre AP- ¹³ CDEPT-135 (CDCl ₃ , 125 MHz) de TGF ₅	63

Figure 26: Spectre HMBC de TGF ₅	66
Figure 27: Spectre COSY ¹ H- ¹ H de TGF ₅	67
Figure 28: Spectres de masse (+)-ESIMS de TGF ₄	73
Figure 29: Spectre de masse en mode (-) de TGF ₁₀	75
Figure 30: Spectre de masse en mode (+) de TGF ₁₀	76
Figure 31: Spectre IR de de TGF ₁₀	76
Figure 32a: Spectre RMN- ¹ H (500 MHz, DMSO- <i>d</i> ₆) de TGF ₁₀	77
Figure 32b: Spectre RMN- ¹ H élargi (500 MHz, DMSO- <i>d</i> ₆) de TGF ₁₀	78
Figure 33a: Spectre APT de TGF ₁₀	79
Figure 33b: Spectre APT élargi de TGF ₁₀	79
Figure 33c: Spectre APT élargi de TGF ₁₀	80
Figure 34: Spectre HSQC (DMSO- <i>d</i> ₆) de TGF ₁₀	83
Figure 35: Spectre HMBC (DMSO- <i>d</i> ₆) de TGF ₁₀	84
Figure 36: Spectre COSY ¹ H- ¹ H (500 MHz, DMSO- <i>d</i> ₆) de TGF ₁₀	85
Figure 37: Spectre NOESY ¹ H- ¹ H (500 MHz, DMSO- <i>d</i> ₆) de TGF ₁₀	85
Figure 38: Spectre de masse HRESIMS (+) de TGF ₇	89
Figure 39: Spectre RMN- ¹ H (300 MHz ; DMSO- <i>d</i> ₆) du Composé TGF ₇	90
Figure 40: Spectre de masse de CBT ₅	93
Figure 41: Spectre RMN- ¹ H (500MHz, DMSO- <i>d</i> ₆) de CBT ₅	94
Figure 42: Spectre RMN- ¹³ C (125MHz, DMSO- <i>d</i> ₆) de CBT ₅	95
Figure 43: Spectre de masse (+) - ESIMS du composé CBT ₄	97
Figure 44: Spectre LC-MS du composé CBT ₄	98
Figure 45: Spectre RMN ¹ H (500 MHz, DMSO- <i>d</i> ₆) du composé CBT ₄	99
Figure 46: Spectre RMN ¹³ C (125 MHz, DMSO- <i>d</i> ₆) du composé CBT ₄	100
Figure 47: Spectre DEPT-135 (125 MHz, DMSO- <i>d</i> ₆) du composé CBT ₄	100
Figure 48: Spectre HSQC (500 MHz, DMSO- <i>d</i> ₆) du composé CBT ₄	101
Figure 49: Spectre COSY (500 MHz, DMSO- <i>d</i> ₆) du composé CBT ₄	102

Figure 51: Spectre NOESY (500 MHz, DMSO- <i>d</i> ₆) du composé CBT ₄	103
Figure 52: Spectre de masse de CBT ₁	106
Figure 53: Spectre de masse de CBT ₃	109
Figure 54: Spectre RMN- ¹ H (500MHz, DMSO- <i>d</i> ₆) de CBT ₆	112
Figure 55: Spectre RMN ¹³ C (125MHz, DMSO- <i>d</i> ₆) de CBT ₆	112
Figure 56: Spectre GC-MS de CBR ₁	113
Figure 57: Spectre GC-MS de CBR ₁₁	114
Figure 58: Spectre GC-MS de CBR ₁₂	115
Figure 59: Spectre GC-MS de CBR ₁₃	116
Figure 60: Spectre GC-MS de CBR ₁₄	117
Figure 61: Spectre GC-MS de CBR ₁₅	118
Figure 62: Spectre GC-MS de CBR ₁₆	119
Figure 63: Spectre de masse de CBR ₂	120
Figure 64a: Spectre RMN- ¹ H (400MHz, DMSO- <i>d</i> ₆) de CBR ₂	121
Figure 64b : Spectre RMN- ¹ H (400MHz, DMSO- <i>d</i> ₆) de CBR ₂ élargi	122
Figure 65a: Spectre RMN ¹³ C (DMSO- <i>d</i> ₆ ; 100MHz) de CBR ₂	122
Figure 65b: Spectre RMN ¹³ C (DMSO- <i>d</i> ₆ ; 100MHz) de CBR ₂ élargi	123
Figure 66: Spectre DEPT-135 (100MHz, DMSO- <i>d</i> ₆) de CBR ₂	124
Figure 67: Spectre HSQC (DMSO- <i>d</i> ₆) de CBR ₂	125
Figure 68: Spectre HMBC (DMSO- <i>d</i> ₆) de CBR ₂	125
Figure 69: Pourcentage d'inhibition des feuilles de <i>C. batesii</i> et des composés isolés contre la souche <i>P. falciparum</i> Dd2.....	136
Figure 70: IC ₅₀ de l'extrait au méthanol des tiges de <i>Cordia batesii</i> sur la souche Dd2 de <i>P. falciparum</i>	137
Figure 71: Pourcentage d'inhibition des feuilles de <i>C. batesii</i> et des composés isolés sur la souche CQR de <i>P. falciparum</i> 7G8.....	138
Figure 72: Genotypage de la souche AC45 de <i>M. tuberculosis</i>	149
Figure 73: Photographie du protocole de test sur <i>M. tuberculosis</i>	151



LISTE DES TABLEAUX

LISTE DES TABLEAUX

Tableau 1 : Quelques alcaloïdes de type benzyloquinoléine isolés des plantes de la famille des Menispermaceae.	6
Tableau 2: Quelques alcaloïdes de type bisbenzyloquinoléine isolés des plantes de la famille des Menispermaceae.	7
Tableau 3: Quelques alcaloïdes de type Proaporphine isolés des plantes de la famille des Menispermaceae.....	9
Tableau 4 : Quelques alcaloïdes de type Aporphine isolés des plantes de la famille de Menispermaceae.	10
Tableau 5: Quelques alcaloïdes de type bisbenzyloquinoléine isolés du genre <i>Triclisia</i>	17
Tableau 6: Répartition géographique de <i>T. gillettii</i> au Cameroun	20
Tableau 7: Quelques alcaloïdes de type benzyloquinoléine (BIQ) isolés de <i>Triclisia gillettii</i>	22
Tableau 8: Quelques alcaloïdes de type bisbenzyloquinoléine (BBIQ) isolés de <i>Triclisia gillettii</i>	22
Tableau 9: Quelques composés phénoliques isolés des plantes de la famille des Boraginaceae.	25
Tableau 10: Quelques métabolites secondaires isolés précédemment des plantes du genre <i>Cordia</i>	32
Tableau 11: Données de RMN- ¹ H (CDCl ₃ , 500 MHz) et ¹³ C (CDCl ₃ , 125 MHz) de TGF ₅ et drypemolundein B. (CDCl ₃ , 300 et 75 MHz)	69
Tableau 12 : Données RMN- ¹ H (500 MHz, DMSO- <i>d</i> ₆) et ¹³ C (125 MHz, DMSO- <i>d</i> ₆) de	87
Tableau 13: Données de RMN- ¹ H (DMSO- <i>d</i> ₆ , 500 MHz) et ¹³ C (DMSO- <i>d</i> ₆ , 125 MHz) de.....	96
Tableau 14: Données de RMN- ¹ H (DMSO- <i>d</i> ₆ , 500 MHz) et ¹³ C (DMSO- <i>d</i> ₆ , 125 MHz) de.....	105
Tableau 15: Données de RMN- ¹ H (DMSO, 400MHz) et ¹³ C (DMSO, 100MHz) de CBR ₂	127
Tableau 16- Screening biologique effectué sur les extraits bruts.....	133
Tableau 17: Valeurs des CMI et CMB de l'extrait méthanolique et des composés isolés sur <i>Mycobacterium tuberculosis</i> (AC 45)	134
Tableau 18: Valeurs des CMI et CMB de l'extrait méthanolique de <i>C. batesii</i> sur <i>Mycobacterium tuberculosis</i> (AC 45)	135
Tableau 19: Chromatogramme de l'extrait au MeOH des racines de <i>C. batesii</i>	148



LISTE DES SCHEMAS

LISTE DES SCHEMAS

Schéma 1: Quelques corrélations NOESY caractéristiques de TGF ₅	68
Schéma 2: Quelques corrélations HMBC et NOESY du fragment isoétine.....	81
Schéma 3: Quelques corrélations HMBC et COSY du fragment apigénine.	82
Schéma 4: Corrélations HMBC du composé CBT ₄	104
Schéma 5: Corrélations HMBC de CBR ₂	126
Schéma 6: Biosynthèse de la triclisinone	130
Schéma 7: Biosynthèse de l'allantoïne	131



RÉSUME

RÉSUMÉ

Nos travaux de thèse portent sur l'extraction, l'isolement, la caractérisation et l'évaluation de l'activité antituberculeuse et antiplasmodiale des composés isolés de deux plantes médicinales Camerounaises, *Triclisia gillettii* (Menispermaceae) et *Cordia batesii* (Boraginaceae). L'usage ethnomédicinal de ces deux plantes justifie l'orientation des tests biologiques effectués. Les feuilles, tiges et racines de ces espèces récoltées à Koumoul dans la Région du Centre du Cameroun en mars 2014 ont été découpées, séchées, broyées puis extraites au MeOH.

25 composés ont été isolés grâce aux méthodes chromatographiques de ces trois parties des plantes parmi lesquels trois dérivés nouveaux (Triclisinone, batesiine et cordialinine) et un composé dont la structure a été révisée (friedelane-3,11-dione).

Les 22 autres composés déjà décrits dans la littérature et regroupés en diverses classes structurales ont également été caractérisés de ces deux plantes notamment trois flavonoïdes (myrecitine, quercétine et 3-méthoxyquercétine), quatre triterpènes (acide oléanique, cordialine A, cordialine B et cordianol A), un alcool ((+)-nonacosan-10-ol), trois alcaloïdes (allantoïne, pyrimidine-2,4(1*H*,3*H*)-dione et batesiine), trois iridoïdes (cordialinine, 5-desoxyeustomoside et eustomorusside), six acides gras (palmitate de méthyle, acide palmitique, (9*E*,12*E*)-octadeca-9,12-dienoate de méthyle, oléate de méthyl, tridecanoate de méthyl et acide (Z)-octadec-11-énoïque et trois stéroïdes (stigmastérol, sitosterol-3-O-β-D-glucopyranoside et stigmasterol-3-O-β-D-glucopyranoside). Les structures ont été établies au moyen de méthodes spectroscopiques (UV, SM, IR, RMN ¹H et ¹³C), par CCM comparative et/ou par comparaison de leurs données spectroscopique avec celles de la littérature.

En suite, les extraits des feuilles de *Triclisia gillettii*, et des feuilles de *Cordia batesii* ainsi que certains composés purs isolés, ont été évalués pour l'activité antimycobactérienne sur la souche de *Mycobacterium tuberculosis* AC45 résistant à l'isoniazide et pour l'activité antiplasmodiale sur deux souches CQR de *Plasmodium falciparum* à savoir les souches **7G8** et **Dd2** respectivement. Il résulte que la friedelane-3,11-dione et la myrecitine isolées de *Triclisia gillettii* sont des potentiels agents antituberculeux avec des CMI de 3,90 et 7,81 µg/mL respectivement. Les autres quatre composés testés ont également montré des activités antituberculeuses intéressantes avec des CMI inférieures à 64 µg/mL. De même, la batesiine a montré un bon pourcentage d'inhibition à la concentration de 100µg/mL sur la souche de *P. falciparum* 7G8 avec un pourcentage d'inhibition de 98,21%.

Mots clés: Menispermaceae; Boraginaceae; *Triclisia gillettii*; *Cordia batesii*; *Mycobacterium tuberculosis*; *Plasmodium falciparum*



ABSTRACT

ABSTRACT

This thesis aimed to isolate, characterize and evaluate the antitubercular and antiplasmodial activities compounds isolated from two Cameroonian medicinal plants, *Triclisia gilletii* (Menispermaceae) and *Cordia batesii* (Boraginaceae). The ethno medicinal use of these plants justifies the biological test orientation done and beyond the corroboration of their traditional use. The leaves and roots of these species harvested in Koumoul at Eseka in the Centre region of Cameroon in March 2014 have been cut, dried, ground and extracted with MeOH.

25 compounds were isolated thanks to the chromatographic methods of these three parts of the plants among which three new derivatives (Triclisinone, batesiin and cordialinin) and a compound whose structure has been revised (friedelane-3,11-dione).

The 22 other compounds already described in the literature and grouped into various structural classes have also been characterized by these two plants, in particular three flavonoids (myrecitin, quercetin and 3-méthoxyquercetin), four triterpenes (Oleanic acid, cordialin A, cordialin B and cordianol A), one alcohol ((+)-nonacosan-10-ol), three alkaloids (allantoin, pyrimidine-2,4(1*H*,3*H*)-dione and batesiin), three iridoids (cordialinin, 5-desoxyeustomoside and eustomorusside), six fatty acids (Palmitate of methyl, palmitic acid, (9*E*,12*E*)-octadeca-9,12-dienoate of methyl, (9*E*,12*E*)-octadeca-9,12-dienoate of methyl and oleate of methyl) and three steroids (stigmasterol, sitosterol-3-O-β-D-glucopyranoside and stigmasterol-3-O-β-D-glucopyranoside). The structures have been established by means of spectroscopic methods (UV, SM, IR, RMN 1*H* - and ¹³C), by CCM comparative and/or by comparison of their data spectroscopic with those of literature.

The crude extract of the leaves of *Triclisia gilletii*, and the stem barks of *Cordia batesii* as well as some isolated pure compounds have been evaluated thereafter for the activity antitubercular against the strain of AC45 *Mycobacterium tuberculosis* resistant to the Isoniazide and antiplasmodial activity against two CQR stumps of *Plasmodium falciparum* **7G8** and **Dd2** respectively. It results that friedelane-3,11-dione and myrecitin isolated of *Triclisia gilletii* are the potential antitubercular agents with MIC of 3.90 and 7.81 µg/mL. The other four compounds also showed the interesting activities antitubercular with MIC lower in 64 µg/mL. In the same way, Cordianol A showed a strong percentage of inhibition nearly to the concentration of 100 µg/mL on the stump of *P. falciparum* 7G8 with a percentage of inhibition of 98,21%.

key Words: Menispermaceae; Boraginaceae; *Triclisia gilletii*; *Cordia batesii*; *Mycobacterium tuberculosis*; *Plasmodium falciparum*



INTRODUCTION GÉNÉRALE

INTRODUCTION GÉNÉRALE

Le continent africain est doté d'un patrimoine regorgeant d'énormes ressources naturelles représentant thérapeutiquement une alternative aux problèmes de médicaments conventionnels dont la pénurie et le coût ne cessent de croître. Plusieurs espèces rencontrées dans la zone forestière sont utilisées depuis des siècles en médecine naturelle, tant pour prévenir que pour guérir de nombreuses maladies (**Kasonia, 1997**). Malgré les progrès de la pharmacopée traditionnelle africain, les maladies infectieuses demeurent au premier plan des pathologies les plus mortelles au monde (**OMS, 2019**).

La tuberculose est une maladie contagieuse causée par les bactéries du complexe *Mycobacterium tuberculosis*. Elle affecte généralement les poumons, mais peut aussi affecter d'autres organes. Elle se transmet par des gouttelettes de salive exhalées que diffusent dans l'air une personne malade vers une personne saine. Elle est l'une des 10 premières causes de mortalité dans le monde, (**OMS, 2009 ; Mathys, 2010**). En 2018 selon l'OMS, plus de 10 millions de personnes ont contracté cette maladie et 1,7 million en sont mortes. Malgré la légère diminution du taux de prévalence de cette maladie, elle demeure un véritable problème de santé publique. L'antibiothérapie reste le moyen recommandé pour guérir de cette maladie (**Mathys, 2010**). Malgré cet arsenal thérapeutique, la tuberculose demeure au premier rang des maladies infectieuses à cause des effets secondaires des médicaments et de la vulnérabilité des patients VIH positifs (**Mathys, 2010**), il est donc urgent, de rechercher de nouvelles stratégies thérapeutiques antituberculeuses moins toxiques mais du moins plus efficace pour éradiquer cette maladie.

Comme la tuberculose, le paludisme est la première endémie parasitaire mondiale c'est une pathologie causée par un hématozoaire du *plasmodium* et transmis à l'Homme par l'anophèle femelle. Le paludisme reste le principal problème de santé publique et de mortalité sous les tropiques malgré les progrès réalisés dans le diagnostic, le traitement et la prévention (**OMS, 2018**). Chaque année, environ 500 millions cas de paludisme et plus de 2,7 millions de décès connexes sont signalés dans le monde. Le continent Africain représentant un peu plus de 90%. La majorité étant des enfants de moins de cinq ans et des femmes enceintes (**Abdullah et al., 2001 ; Green wood et al., 2005**). La chimiothérapie à base des molécules de synthèse reste la principale stratégie de contrôle du paludisme mais est devenue moins efficace en raison de la résistance généralisée aux médicaments, du coût élevé et de la pénurie de médicaments pour son traitement. Par conséquent, il est nécessaire de découvrir de nouveaux agents antipaludiques plus efficaces, dotés de modes d'action différents. Les plantes sont des sources potentielles importantes de principaux composés bioactifs dans le développement de

médicaments en raison de leur utilisation réussie dans le traitement de diverses maladies depuis la nuit des temps.

C'est dans cette optique que les laboratoires du Département de Chimie Organique de l'Université de Yaoundé I se sont donnés pour objectif depuis plusieurs années, la recherche, l'isolement et la caractérisation des principes actifs responsables de propriétés pharmacologiques des plantes médicinales. Le problème de l'isolement et d'identification du principe actif responsable de ces activités se posant, une étude phytochimique plus efficace s'avère nécessaire.

Dans ce travail qui s'inscrit dans ce cadre, deux plantes médicinales Camerounaises donc *Triclisia gillettii* (De Wild) Staner et *Cordia Batesii* Wernham dont nous dénombrons une revue phytochimique et ethnomédicinale importantes sur les espèces de ces genres ont été choisis. Il a été démontré que les plantes de la famille des Menispermaceae du genre *Triclisia* sont très riches en alcaloïdes de type bisbenzylisoquinoléine (BBIQ) (**Schiff, 1983; Murebwayire et al., 2006, 2009; Uche et al., 2017**).

À notre connaissance, les études publiées jusqu'à nos jours sur les plantes du genre *Triclisia* ne mentionnent pas de dérivés flavonoïdiques ni d'activités antituberculeuse. Nous dénombrons aussi très peu d'études antiplasmodiales de ces genres dans la littérature. Toutefois, aucune étude jusqu'à nos jours sur l'espèce *Cordia batesii* n'a été faite.

Ce travail a été motivé par le fait que les espèces étudiées sont utilisées dans la pharmacopée traditionnelle dans le traitement de plusieurs pathologies telles que le paludisme, l'anémie; pour *Triclisia gillettii*, il s'agit d'enrichir son pool de métabolites secondaires. L'espèce *Cordia batesii* n'a pas encore fait l'objet d'aucune étude phytochimique.

- Peut-on justifier l'utilisation des plantes des genres *Triclisia* et *Cordia* en médecine alternative dans le traitement de la tuberculose et du paludisme ?
- Peut-on isoler des composés ayant des propriétés antimycobactériennes et antiplasmodiales des espèces des genres *Triclisia* et *Cordia* ?

Cette étude vise principalement l'identification, l'isolement et la caractérisation des composés possédant un potentiel antituberculeux et antiplasmodial issus de *Triclisia gillettii* (Menispermaceae) et de *Cordia batesii* (Boraginaceae). Plus spécifiquement, Il s'agira:

D'identifier, extraire, isoler, purifier et caractériser avec exactitude des métabolites secondaires puis déterminer leurs activité antimycobactérienne et antiplasmodiale.

Ce document s'articulera autour de la revue de la littérature, la présentation et la discussion des résultats obtenus, la présentation des techniques de laboratoires employées et enfin la bibliographie consultée.



**CHAPITRE I: REVUE DE LA
LITTERATURE**

CHAPITRE I: REVUE DE LA LITTERATURE

I.1. Importance des plantes médicinales dans la découverte de nouveaux médicaments

La majeure partie des populations de pays pauvres où en voie de développement font recours à la pharmacopée traditionnelle pour leurs besoins en soins de santé primaire et se nourrir. La quinine qui est l'un des meilleurs antipaludéens a été isolée pour la première fois en 1820 de *Cinchona ledgeriana* (Rubiaceae) (Nkunya, 1992). La chloroquine, amodiaquine, primaquine et mefloquine sont également des antipaludéens semisynthétisés à base de la quinine, de même l'artémisinine provient d'une plante chinoise *Artemisia annua* (Asteraceae) (Nkunya, 1992). La pervenche de Madagascar ou *Catharanthus roseus* est source de médicament anticancerigènes (Lévesque et Lafont, 2000). Selon Moreau en 2006, ces métabolites secondaires issus des plantes médicinales causent moins de désordres et sont beaucoup plus assimilables par l'organisme que les substances d'origines synthétiques.

I.2. Généralités sur les plantes de la famille des Menispermaceae

La famille des Menispermaceae a été décrite par Antoine Laurent de Jussieu en 1789. Elle regorge plus de 512 espèces regroupées en 71 genres (Kessler, 1993; Barbosa-Filho *et al.*, 2000). et est composée de lianes ligneuses ou herbacées, d'arbrisseaux dressés ou sarmenteux. Le tronc des tiges principales des plantes de cette famille est parfois muni de racines adventives, à système racinaire souterrain, robuste et bien développé. Les feuilles sont alternées, simples et entières, quelque fois lobées ou peltées. Ce sont le plus souvent des arbustes de répartition et d'abondance très variables et cantonnées dans le domaine forestier (Troupin, 1962).

Les fleurs, petites et vertes ou peu colorées sont rarement solitaires. Elles sont souvent groupées soit en grandes inflorescences, soit en glomérules denses. Elles sont unisexuées, bâties sur le type trois ou deux (Fournet, 1979).

I.2.1. Distribution géographique des Menispermaceae

La famille des Menispermaceae présente une large répartition mondiale (Fig 1), car on la trouve sur tous les continents et principalement dans les régions tropicales, mais aussi dans les régions subtropicales et plus rarement dans les régions tempérées (Nguyen, 2007).

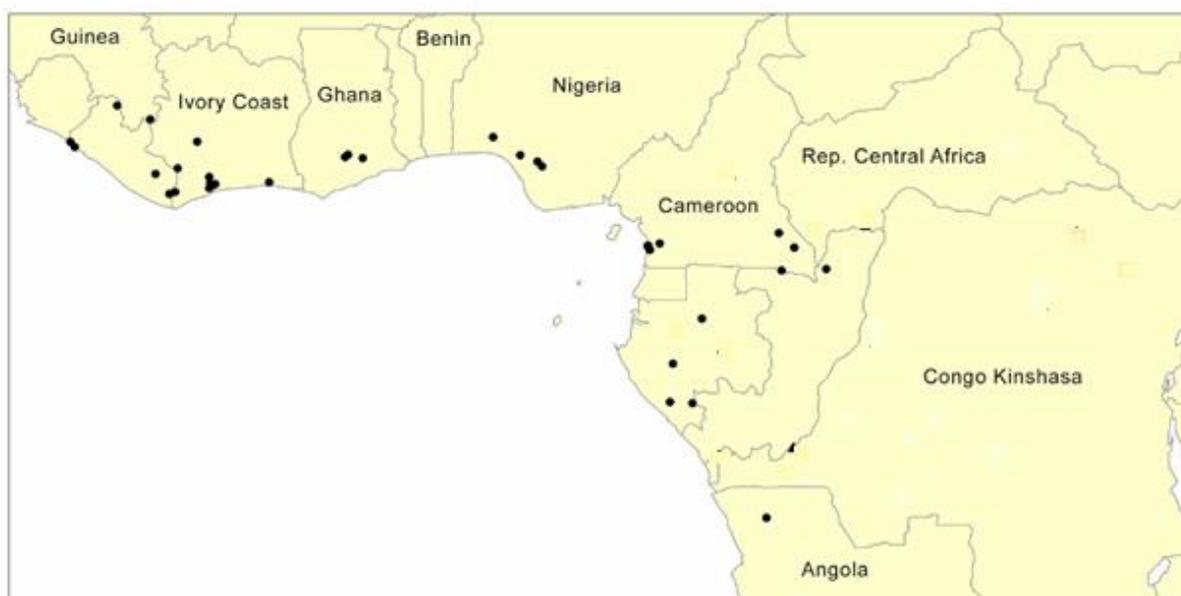


Figure 1. Distribution géographique de Menispermaceae en Afrique (Nguyen, 2007).

I.2.2. Travaux phytochimiques antérieurs sur les Menispermaceae

Les études phytochimiques antérieures effectuées sur cette famille ont conduit à l'isolement et à la caractérisation de nombreux métabolites secondaires appartenant principalement à la classe des alcaloïdes. Il s'agit notamment de benzyloquinoline (BIQ) (Tab 1), bisbenzyloquinoline (BBIQ) (Tab 2), proaporphine (Tab 3), et aporphine (Tab 4), (**Spiff et al., 1981 ; Schiff, 1983 ; Barbosa-Filho et al., 2000**).

I.2.2.1. Les alcaloïdes de type benzyloquinoléine

Les alcaloïdes de ce sous-type (Fig 2) représentent environ 4% des alcaloïdes jusqu'ici isolés de la famille Menispermaceae. Ce sont les alcaloïdes ayant un squelette tétracyclique et un système tricyclique comme origine biosynthétique (**Beecher et al., 1984**). Ces types d'alcaloïdes ont été isolés dans les genres *Cissampelos* et *Stephania* (Tab 1) (**Khosa et al., 1987**).

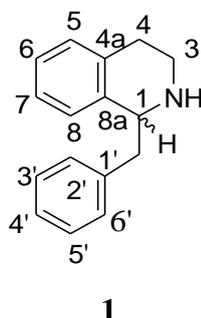
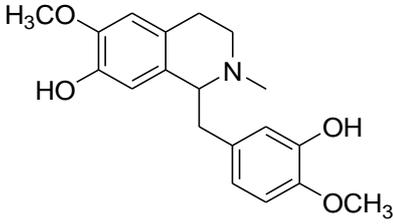
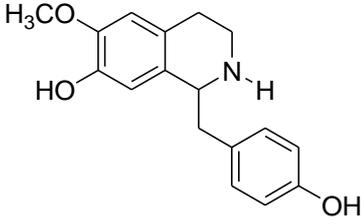
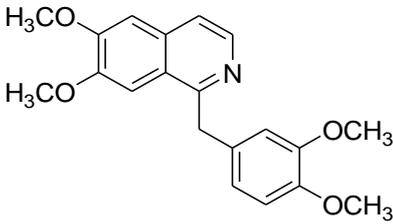


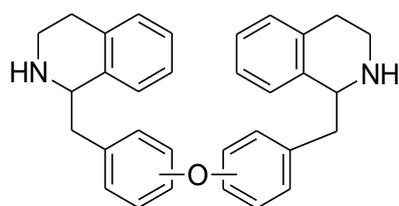
Figure 2 : Squelette de type benzyloquinoléine

Tableau 1 : Quelques alcaloïdes de type benzyloquinoléine isolés des plantes de la famille des Menispermaceae.

Essences	Structures	Noms	Références
<i>Cissampelos mucronata</i> et <i>Cissampelos hirta</i>	 <p style="text-align: center;">2</p>	Réticuline	Khosa et al., 1987
	 <p style="text-align: center;">3</p>	L'isococlaurine	
<i>Stephania gracilentia</i>	 <p style="text-align: center;">4</p>	Papavérine	

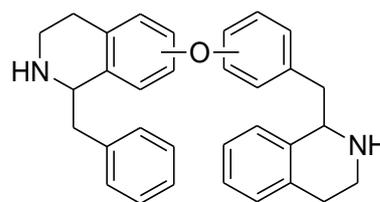
I.2.2.2. Les alcaloïdes de type bisbenzyloquinoléine

Ce type d'alcaloïdes (Fig 3) représente 40% des alcaloïdes jusqu'ici isolés de la famille des Menispermaceae (Tab 2). Cette classe d'alcaloïdes est divisée en de nombreux sous-types selon le nombre de liaisons entre les deux monomères, le type de liaison(s) et leur position relative par rapport à chaque autre. Ces alcaloïdes sont appelés bisbenzyloquinoléines car ils sont faits de deux résidus benzyloquinoléine connectés entre eux par un, deux, ou trois ponts éthers ou par des liaisons carbone-carbone. D'autres différences peuvent être la nature des substituants oxygénés (OH, OMe, OCH₂O), ou la nature de la substitution des deux atomes d'azote (NH, NMe, ⁺NMe₂, NO), le degré d'insaturation de noyau B et la stéréochimie des deux centres asymétriques (1 et 1'), (**Barbosa-Filho et al., 2000**).



« Tête-tête ou Queue-queue »

5



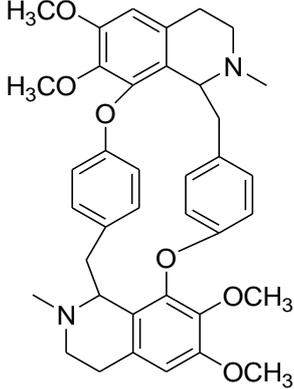
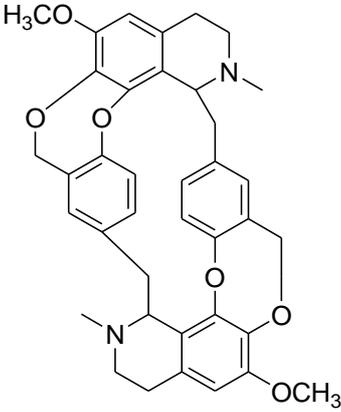
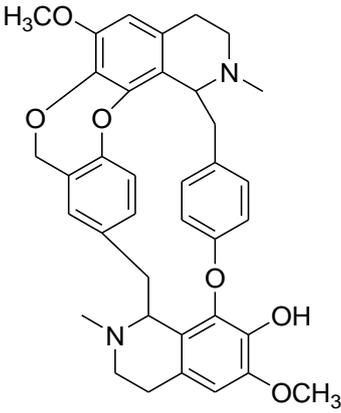
« Tête-queue ou Queue-tête »

6

Figure 3: Squelettes de base des alcaloïdes de type bisbenzylisoquinoléine

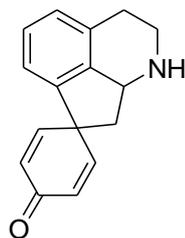
Tableau 2: Quelques alcaloïdes de type bisbenzylisoquinoléine isolés des plantes de la famille des Menispermaceae.

Essences	Structures	Noms	Références
<i>Cissampelos hirta</i>	<p>7</p>	12- <i>O</i> -methylcurine	Kashiwaba <i>et al.</i> , 1997
<i>Cissampelos mucronata</i>	<p>8</p>	Isochondrodendrine	
		Cyleanine	

<p><i>Cissampelos mucronata</i></p>	 <p style="text-align: center;">9</p>		
<p><i>Artizoma miersiana</i></p>	 <p style="text-align: center;">10</p>	<p style="text-align: center;">Cissacapine</p>	<p style="text-align: center;">Kashiwaba et al., 1997</p>
	 <p style="text-align: center;">11</p>	<p style="text-align: center;">Insulanoline</p>	

I.2.2.3. Les alcaloïdes de type Proaporphine

Les alcaloïdes de la proaporphine (Fig 4) représentent 2% du total des alcaloïdes isolés à ce jour des Menispermaceae (Tab 3) (**Barbosa-Filho et al., 2000**).

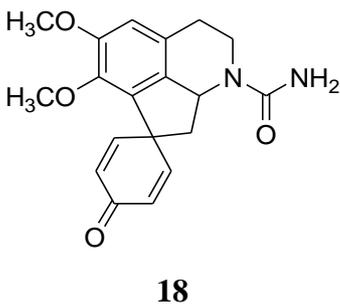


12

Figure 4 : Squelette de base des alcaloïdes de type Proaporphine

Tableau 3: Quelques alcaloïdes de type Proaporphine isolés des plantes de la famille des Menispermaceae.

Essence	Structures	Noms	Référence
<i>Stephania gracilenta</i>	<p> 13: $R_1 = R_2 = H$ 14: $R_1 = H ; R_2 = CH_3$ 15: $R_1 = CH_3 ; R_2 = CH_3$ </p>	Crotsparine Glaziovine pronuciferine	Bamrung, 1992
<i>Stephania venosa</i>	<p> 16: $R = OCH_3$ 17: $R = H$ </p>	(-)- <i>O</i> -methylstephevinosine (-) stephevinosine	

<p><i>Stephania venosa</i></p>	 <p style="text-align: center;">18</p>	<p>(+)-<i>N</i>-carboxamodostephavine</p>	<p>Bamrung, 1992</p>
--------------------------------	--------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------	-------------------------------------------	-----------------------------

I.2.2.4. Les alcaloïdes de type Aporphine

C'est la deuxième classe (Fig 5) d'abondance (20%) d'alcaloïdes jusqu'ici isolée de la famille des Menispermaceae (Tab 4). Le genre *Stephania* est le plus riche en ce type d'alcaloïdes, suivi du genre *coccole* (Barbosa-Filho *et al.*, 2000).

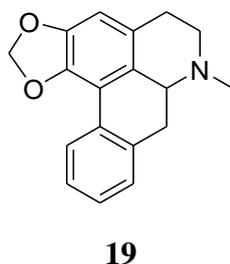
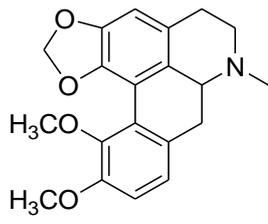
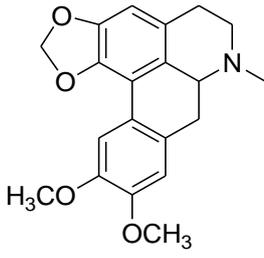
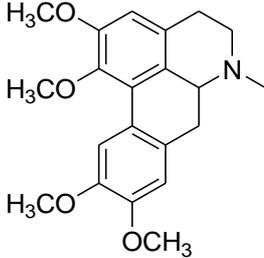
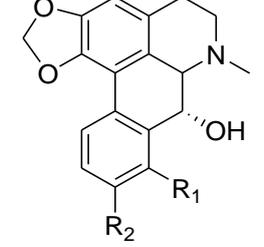
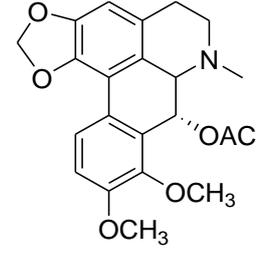
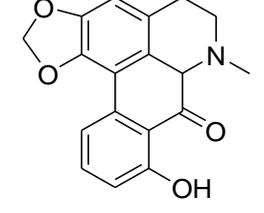
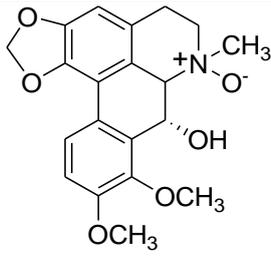
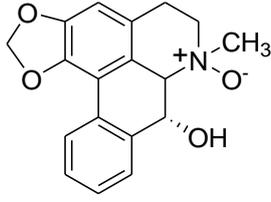
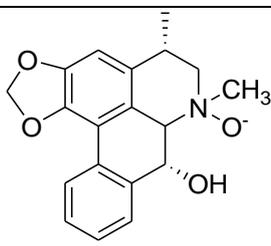
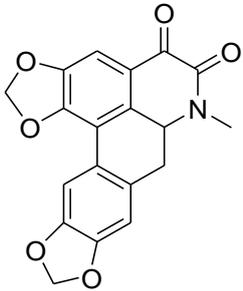


Figure 5 : Squelette de base des alcaloïdes de type Aporphine

Tableau 4 : Quelques alcaloïdes de type Aporphine isolés des plantes de la famille de Menispermaceae.

Essence	Structures	Noms	Référence
<p><i>Stephania dinklagei</i></p>	 <p style="text-align: center;">20</p>	<p>Bulbocapnine</p>	<p>Ahmad <i>et al.</i>, 1992</p>

<p><i>Cissampelos pariera</i> et <i>Cissampelos mucronata</i></p>	 <p style="text-align: center;">21</p>	<p>Dicentrine</p>	<p>Camacho et al., 2000 ; Brown et al., 1962</p>
<p><i>Antizoma miersiana</i></p>	 <p style="text-align: center;">22</p>	<p>lauroschtzine</p>	<p>Barbosa-Filho et al., 2000</p>
<p><i>Stephania venosa</i></p>	 <p>23: R₁ = OCH₃ ; R₂ = H 24: R₁ = OCH₃ ; R₂ = OCH₃</p>	<p>ayuthianine sukhodianine</p>	<p>Bamrung, 1992</p>
<p><i>Stephania venosa</i></p>	 <p style="text-align: center;">25</p>	<p>(-)-<i>O</i>-acetylsukhodianine</p>	<p>Bamrung, 1992</p>
	 <p style="text-align: center;">26</p>	<p>Oxostephanosine</p>	

<i>Stephania venosa</i>	 <p style="text-align: center;">27</p>	Sukhodianine-β-N-oxide	Bamrung, 1992
	 <p style="text-align: center;">28</p>	Ushinsunine-β-N-oxide	
	 <p style="text-align: center;">29</p>	(-)-stephadiolamine-β-N-oxide	
<i>Stephania tetrandra</i>	 <p style="text-align: center;">30</p>	Stephadionine	Duan et al., 1992

I.2.3. Les différents genres de plantes de la famille des Menispermaceae

On denombre un peu plus de 70 genres dans cette famille, dont les plus courants dans la sous région africaine sont: *Epinetrum*, petite liane rampante assez fréquemment en zone forestière dégradée; *Cissampelos*, petite liane à feuilles peltées; *Rhigiocarya* et *Sphenocentrum*, arbrisseau de la forêt dense humide; *Stephania*, très abondant dans toutes les forêts sempervirentes d'Afrique équatoriale; *Tiliacor*; *Dioscoreophyllu*; *Kolobopetalum* et *Triclisia* qui est le plus étudié de la famille et qui nous interesse dans cette investigation (Troupin, 1962).

I.2.4. Généralités sur les plantes du genre *Triclisia*

I.2.4.1. Aperçu botanique des plantes du genre *Triclisia*

Le genre *Triclisia* comprend 20 espèces réparties dans le monde et un peu plus de 12 espèces en Afrique tropicale parmi lesquelles *Triclisia gillettii* (**Troupin et al., 1956**). Le genre *Triclisia* abondant au Cameroun dans quatre régions (Fig 6) se présente généralement sous forme de lianes volubiles, de feuilles simples à pétiole géciculé, épaissies à la base et au sommet ainsi qu'un limbe entier, lancéolé, elliptique et largement ovale. Les inflorescences femelles sont en panicules très petites et multiflores. Les fleurs femelles ont des sépales (9-18) et sont toutes densément pileuses à l'extérieur. Les pétales (présents ou absents) sont réduits et très petits, les glabres sont subcharnus; les étamines présentent des anthères introrses à thèques obliques et à connectif prolongé. Les inflorescences mâles sont semblables à celles des fleurs. Les fleurs mâles présentent des sépales semblables à ceux des fleurs femelles. Les pétales (présents ou absents) sont réduits et les carpelles (6-40) pubescents, sont rétrécis en un style cylindrique. Les drupes obovales-aplaties, stipitées comportent un exocarpe velutineux ou glabre à l'extérieur; un mésocarpe charnu-pulpeux et un endocarpe rugueux et fibreux-poilu à l'extérieur. Les graines ovales-subréniformes ou en forme de fer à cheval présentent des cotylédons inégaux, l'un très petit et l'autre bien développé, épais et charnu (**Troupin, 1962**). La figure 7 ci-dessous met en exergue quelques espèces du genre *Triclisia*.

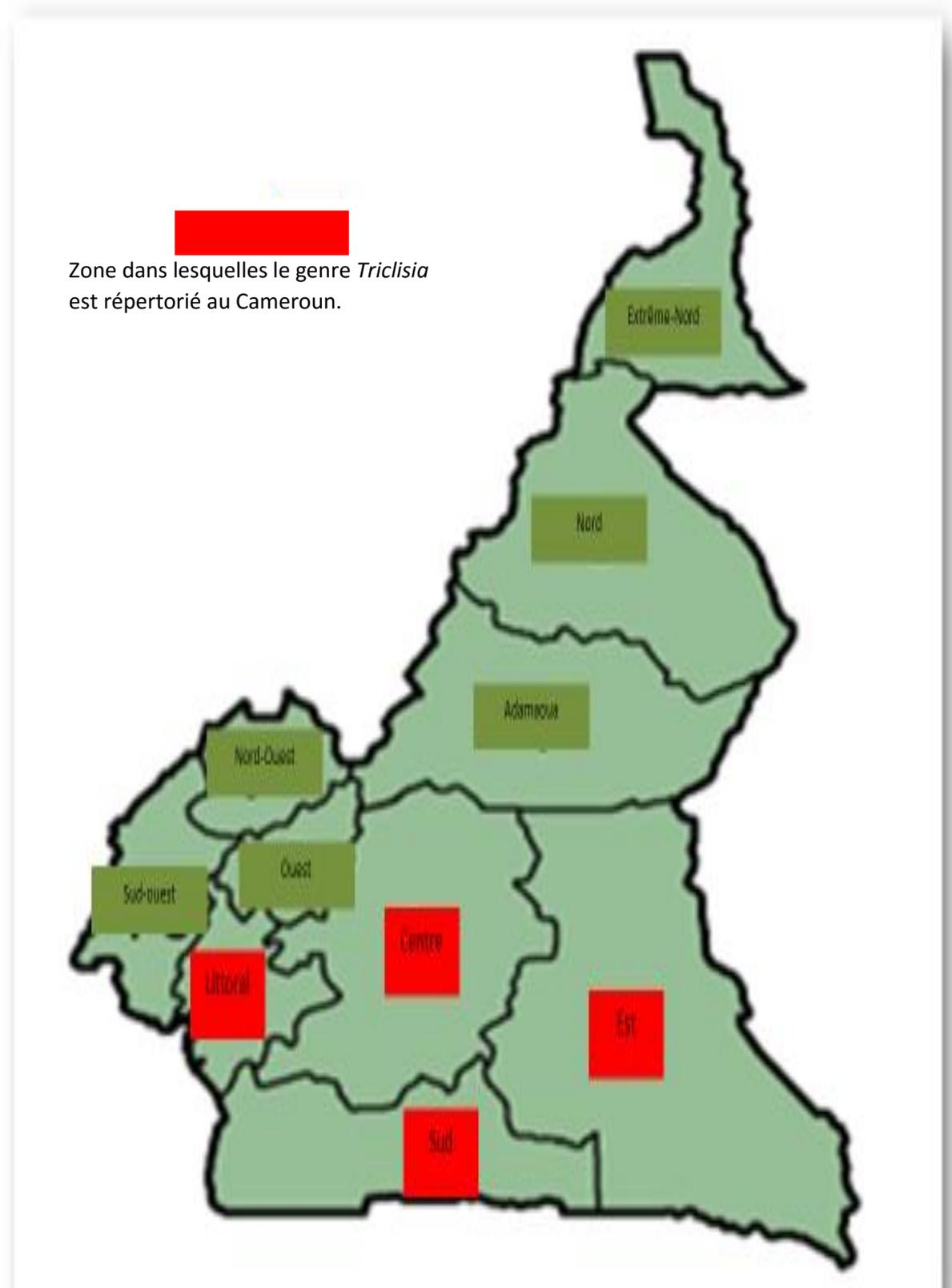


Figure 6: Répartition géographique du genre *Triclisia* au Cameroun



T. subcordata (Feuilles)



T. dictyophylla (Feuilles)



T. gillettii (Fruits)



T. gillettii (Feuille)



T. sacleuxii (Feuilles)

Figure 7: Photographie de quelques espèces du genre *Triclisia* (Burkill, 1997)

I.2.4.2. Usage ethnomédicinal des espèces du genre *Triclisia*

Les plantes appartenant à ce genre possèdent des valeurs thérapeutiques potentielles qui ont été utilisées depuis des temps très anciens pour soigner divers maux et maladies infectieuses (**Bouquet, 1969; Disengomoka et al., 1983**). Les extraits de racines de *T. subcordata* sont utilisés pour le traitement des infections urinogénitales aiguës et infertilité (**Abo et al., 2011**). *T. saclexii* est utilisé dans le traitement des problèmes rénaux, des maux de gorge, de la schistosomiase, des vers intestinaux et des maladies vénériennes en mastiquant des racines dont on avale le jus ; les copeaux d'écorce que l'on passe sur des scarifications topiques servent à traiter les morsures de serpent. Les écorces de racines de *T. macrocarpa* après décoction se boivent pour le traitement du paludisme

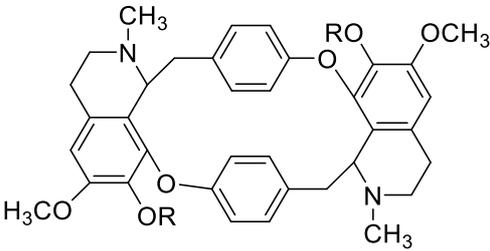
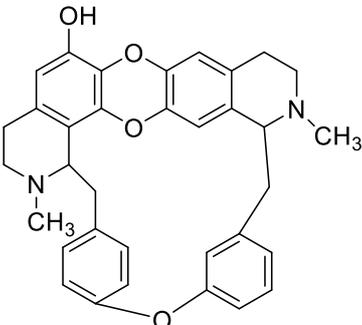
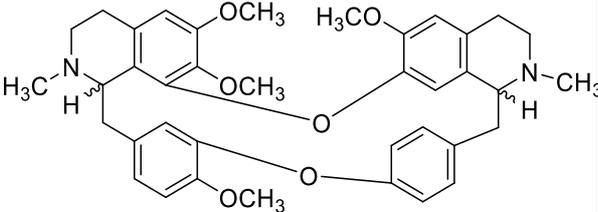
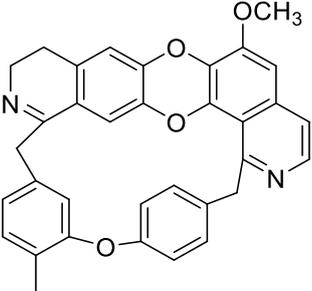
I.2.4.3. Travaux pharmacologiques antérieurs des espèces du genre *Triclisia*

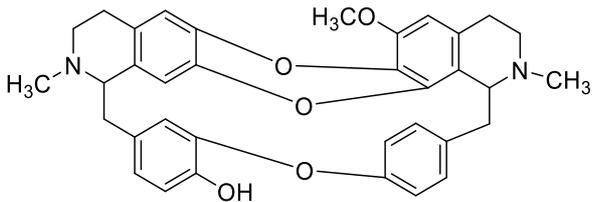
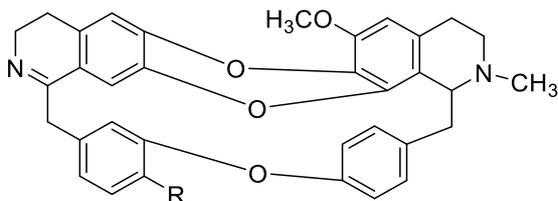
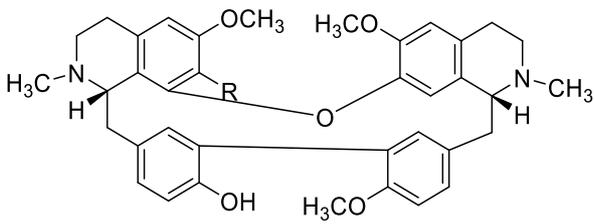
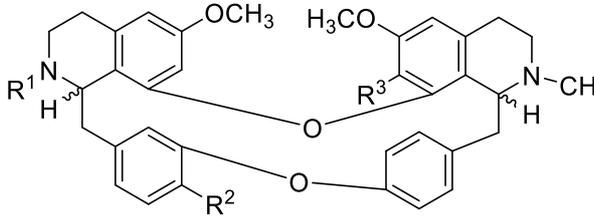
T. subcordata présente une activité cytotoxique contre les cellules cancéreuses de l'ovaire ainsi qu'une activité anti-ovarienne du cancer. Elle présente également une activité antibactérienne contre les isolats cliniques et dactylographiés obtenus chez les patients atteints de MST et de méningite (**Abo et al., 2011**). *T. saclexii* présente des activités antibactériennes contre les bactéries Gram-positives et Gram-négatives et une activité cytotoxique contre l'adénocarcinome et l'hépatocarcinome humains. *Triclisia patens* Oliv. est utilisée en Côte d'Ivoire dans le traitement des œdèmes, des anémies, des douleurs articulaires, des crises d'épilepsie, des chancres syphilitiques et de la lèpre. De plus elle calmerait la toux et aurait des propriétés sédatives sur le cœur. La plante est très amère (**Troupin, 1962**). Les *Triclisia* sont connues comme possédant des activités antiplasmodiales (**Kikueta et al., 2013**).

I.2.4.4. Travaux phytochimiques antérieurs sur les plantes du genre *Triclisia*

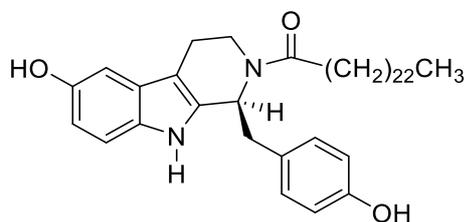
L'étude phytochimique des espèces du genre *Triclisia* a permis d'isoler plusieurs métabolites secondaires dont les majoritaires sont les alcaloïdes de type bisbenzylisoquinoléine (BBIQ) (Tab 5) (**Schiff, 1983; Murebwayire et al., 2006, 2009; Uche et al., 2017**), des alcaloïdes morphinaniques (**Spiff et al., 1981**) et d'autres alcaloïdes amides (**Murebwayire et al., 2006; Samita et al., 2017**).

Tableau 5: Quelques alcaloïdes de type bisbenzylisoquinoléine isolés du genre *Triclisia*

Essences	Structures	Noms	Références
<i>T. subcordata</i>	 <p>32: R = CH₃</p> <p>33: R = H</p>	Cycléanine	Kew., B 1975
	 <p>34</p>	Tricordatine	Tackie et al., 1973
<i>T. saclouxii</i>	 <p>35</p>	Phaeanthine	Murebway ire et al., 2008
	 <p>36</p>	Gasabiimine	

	 <p style="text-align: center;">37</p>	<i>N</i> -méthylapateline	
<i>T. sacleuxii</i>	 <p>38: R = OCH₃ 39: R = OH</p>	1,2-Dehydrotelobine 1,2-Dehydroapateline	Murebway <i>ire et al.,</i> 2008
	 <p>40: R = OCH₃ 41: R = OH</p>	Funiferine (<i>S,R</i>) Tiliageine (<i>S,R</i>)	
<i>T. patens</i>	 <p>42: R¹ = H R² = OH R³ = OH 43: R¹ = CH₃ R² = OH R³ = OCH₃ 44: R¹ = CH₃ R² = OH R³ = OH</p>	Daphnoline <i>R,S</i> Oxyacanthine <i>R,S</i> Aromoline (<i>R,S</i>)	Camacho <i>et al., 2002</i>

En dehors des alcaloïdes dont les classes ont été définies on note la présence d'un autre alcaloïde n'appartenant à aucune de ces classes. Ce composé a été isolé de l'espèce *T. sacleuxii* et identifié au nom de Sacleuximine A (**Samita et al., 2016**).



45

I.2.5. *Triclisia gillettii* (De Wild) Staner

I.2.5.1. Introduction

Parmi les espèces appartenant au genre *Triclisia*, *Triclisia gillettii* (De Wild) Staner a retenu particulièrement notre attention pour une investigation plus poussée. Son utilisation en médecine traditionnelle et les criblages biologique et chimique effectués auparavant ont guidé ce choix. En médecine traditionnelle dans certaines régions, cette plante est utilisée dans le traitement de plusieurs affections telles que: le paludisme, les maladies vénériennes, les crises d'épilepsie, l'œdème, l'anémie, la diarrhée, les problèmes d'estomac, la lèpre, les problèmes de santé mentale, la dysenterie, les maladies par voies respiratoires et les toux convulsive (**Bouquet 1969; Kokwaro 1993; Burkill 1997; Neuwinger 1998; Mesia et al., 2008**).

Sa classification botanique est la suivante:

Super division: spermatophytes (Plantes à graine)

Division: Angiospermes (Magnoliophyta: Plantes à fleurs)

Classe: Dicotylédones (Magnoliopsida)

Ordre: Ranunculales

Familles: Menispermaceae

Genre: *Triclisia*

Espèce: *Triclisia gillettii* (De Wild) Staner

I.2.5.2. Localisation de *Triclisia gillettii*

T. gillettii (Fig 8) est une espèce qu'on retrouve en Afrique dans les pays tels que le Libéria, le Ghana, la Côte d'Ivoire, le Nigeria, le Cameroun, la République Centrafricaine, la République Démocratique du Congo, le Congo Brazzaville, l'Angola et l'île de Bioko (**Bouquet 1969**).

D'après les informations recueillies à l'Herbier National du Cameroun (HNC), nous pouvons ainsi indiquer quelques zones où se trouve cette plante au Cameroun comme indiqué dans le tableau 6 ci-dessous:

Tableau 6: Répartition géographique de *T. gillettii* au Cameroun

Essence	Régions	Localités	N° Echantillon (HNC)
<i>T. gillettii</i>	Sud-ouest	Ekondo Titi, Mudemba	64296
	Sud	Kribi	
	Est	Yokadouma,	



Figure 8: Feuilles de *T. gillettii* (Photographie Tiam, 2014)

I.2.5.3. Aperçu botanique

Certains auteurs à l'instar de **Staner (1983)** font de *T. gillettii* un synonyme de *T. dictyophylla*. *T. gillettii* est une plante grimpante robuste, atteignant 10 cm de diamètre, de la forêt ombrophile dense des basses terres, qui s'étend du Libéria à l'Angola, il se trouve sous

forme de lianes ayant 10 cm de diamètre à la base, s'élevant à 5 m de hauteur avec une section cylindrique. Ses fleurs mâles sont de couleur jaune ayant 3 sépales et 6 étamines brunes, allant jusqu'à 2 m de hauteur au-dessus du sol. Les lianes ont de fortes tiges volubiles marron gris ayant plusieurs mètres dans de petits troncs, branchages et pétioles vert pâle brunâtre et au limbe fin, pubescent, coriace de couleur vert vif et brillant ainsi que des nervures jaune-brun pâle (Troupin *et al.*, 1951, 1962).

I.2.5.4. Usages ethnomédicinaux

Dans certaines régions, la plante est utilisée dans le traitement de plusieurs affections telles que: le paludisme, les maladies vénériennes, les crises d'épilepsie, l'œdème, l'anémie, la diarrhée, les problèmes d'estomac, la lèpre, les problèmes de santé mentale, la dysenterie, les maladies voies respiratoires et les toux convulsives (Bouquet, 1969; Kokwaro, 1993; Burkill, 1997; Neuwinger, 1998; Mesia *et al.*, 2008). Les écorces de *T. gillettii* sont utilisées en médecine traditionnelle après décoction ou macération pour le traitement du paludisme (Kikueta *et al.*, 2013). On passe de la pulpe ou du jus de racine de *T. dictyophylla* sur des scarifications pour traiter les douleurs articulaires, les crises d'épilepsie, les œdèmes, les maladies vénériennes et l'anémie ; son jus de feuilles soulage la toux tandis que la décoction d'écorces ou de racines sert en lotion pour calmer les palpitations. Dans plusieurs régions d'Afrique centrale, la racine mais surtout l'écorce de racine est un ingrédient de poisons de flèche (Burkill, 1997).

I.2.5.5. Travaux pharmacologiques antérieurs

L'écorce des tiges de *T. gillettii* est active sur la souche ghanéenne CQS de *Plasmodium falciparum* avec des valeurs de CI_{50} allant de 0,5 à 3,0 $\mu\text{g/mL}$ (Mesia *et al.*, 2008). Les feuilles, les tiges de cette plante présentent une activité prononcée contre la souche CQS de *Plasmodium falciparum* avec des $CI_{50} < 0,02 \mu\text{g/mL}$, et contre à la souche K1 de *Plasmodium falciparum* résistante à la pyriméthamine avec une $CI_{50} < 0,25 \mu\text{g/mL}$ (Kikueta *et al.*, 2013). L'extrait aqueux de la racine de *T. dictyophylla* présente une propriété hématique et une activité antiplaquettaire. Il présente également des activités anticoagulantes et antimicrobiennes (ou antifongiques) (Anslem *et al.*, 2013)

I.2.5.6. Travaux phytochimiques antérieures de *Trichlisia gillettii*.

Les études menées sur *T. gillettii* révèlent la présence de BIQ (Tab 7) et BBIQ (Tab 8) (Tackie *et al.*, 1973; Dwuma-Badu *et al.*, 1975; Owusu *et al.*, 1981).

Tableau 7: Quelques alcaloïdes de type benzylisoquinoléine (BIQ) isolés de *Triclisia gillettii*.

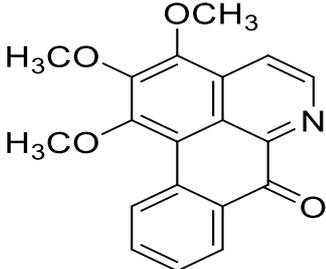
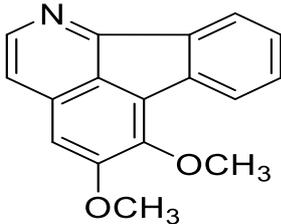
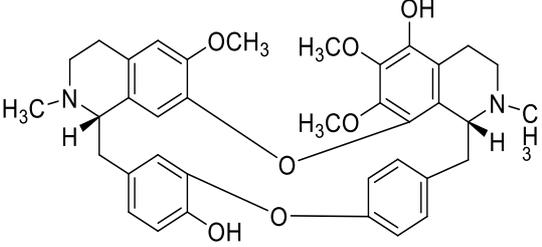
Essences	Structures	Noms	Références
<i>T. gillettii</i>	 <p style="text-align: center;">46</p>	<i>O</i> -méthylmoschatoline	Owusu <i>et al.</i> , 1981
	 <p style="text-align: center;">47</p>	Triclisine	Castagne, 1933

Tableau 8: Quelques alcaloïdes de type bisbenzylisoquinoléine (BBIQ) isolés de *Triclisia gillettii*.

Essences	Structures	Noms	Références
<i>T. gillettii</i>	 <p style="text-align: center;">48</p>	Thalisopidine (<i>S,S</i>)	Camacho <i>et al.</i> , 2002

	<p style="text-align: center;">49</p>	Obamegine <i>R,S</i>	
	<p>50: $R^1 = OH$ $R^2 = OCH_3$ 51: $R^1 = OCH_3$ $R^2 = OH$</p>	Fangchinoline <i>S,S</i> Berbamine <i>R,S</i>	Camacho et al., 2002
<i>T. gillettii</i>	<p style="text-align: center;">52</p>	Trigillettine	Tackie et al., 1973
	<p style="text-align: center;">53</p>	Cocsuline	Owusu et al., 1981

I.3. Généralités sur les plantes de la famille des Boraginaceae

Les Boraginaceae compte environ 100 genres pour 2000 espèces regroupant des arbustes, des arbres, des plantes herbacées et des lianes (Evans, 2009). Les feuilles sont généralement entières, simples, alternes, rarement opposées et possèdent des poils rigides; les cellules des feuilles possèdent souvent des cristaux d'oxalate de calcium. Les fleurs, qui sont le plus souvent hermaphrodites, ont un calice à lobes imbriqués et une corolle tubuleuse campanulée, divisée en cinq lobes parfois relativement réduits, et souvent munie d'écailles ou de poils au centre (Bremer *et al.*, 2003). Les plantes appartenant à cette famille sont rencontrées dans les régions tropicales, subtropicales et tempérées des cinq continents du globe terrestre. Elles sont principalement utilisées en guise de bois de chauffage ainsi que pour des propriétés médicinales. C'est le cas de la bourrache (*Borago officinalis*), la grande consoude (*Symphytum officinale*), la pulmonaire (*Pulmonaria officinalis*), la vipérine (*Echium vulgare*). Cette famille contient également des plantes tinctoriales (*Alkanna tinctoria*) (SNHF, 1999).

I.3.1. Distribution géographique des Boraginaceae

La famille des Boraginaceae sont largement répartis dans le monde (Fig 9). Ils couvrent l'ensemble de l'Amérique du Sud, l'Asie, l'Australie, la Nouvelle-Zélande, l'Afrique du Nord, l'Afrique orientale, Madagascar, la province du Cap et l'ouest de l'Amérique du Sud (Al-Shehbaz, 1991; Okusa, 2012).

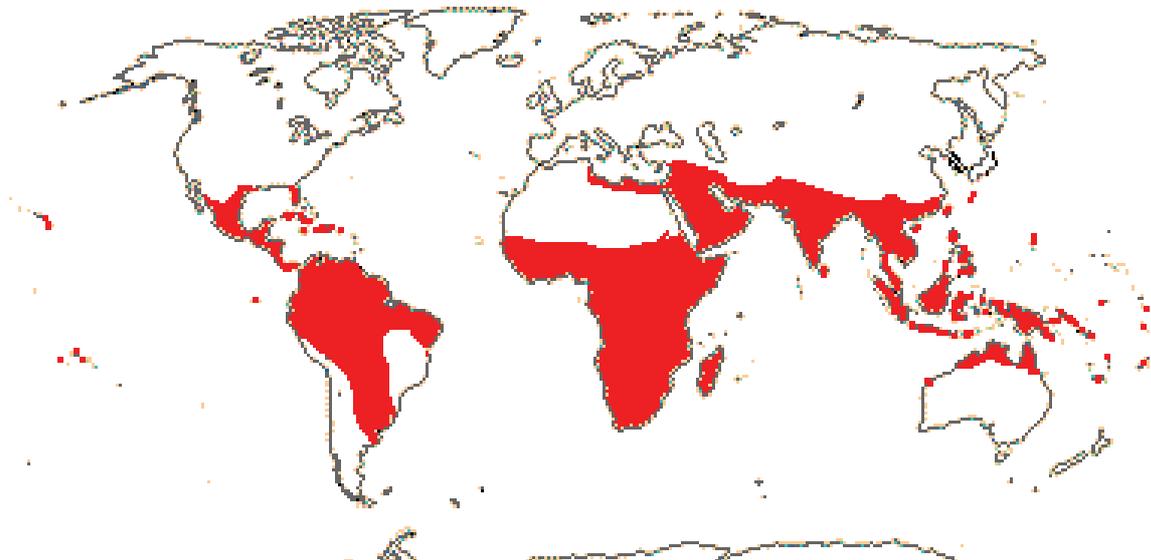


Figure 9: Distribution géographique de Boraginaceae dans le monde (Al-Shehbaz, 1991 ; Thorne, 1992; Okusa, 2012).

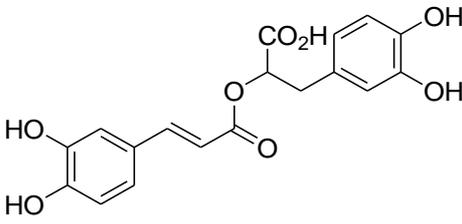
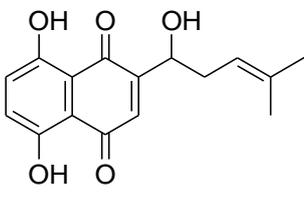
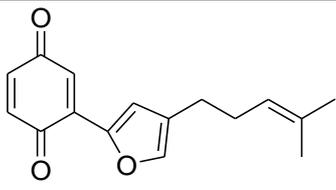
I.3.2. Usages ethnomédicinaux des plantes de la famille des Boraginaceae

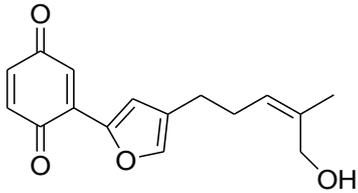
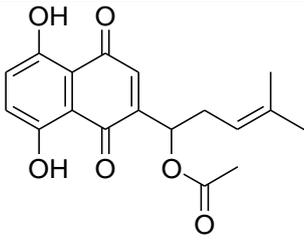
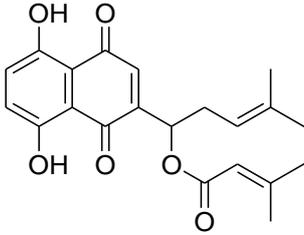
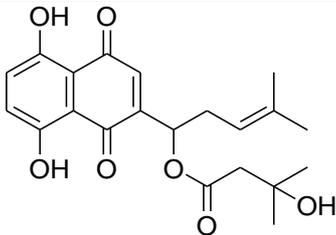
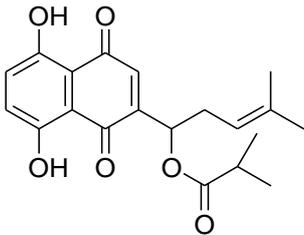
Les essences de la famille des Boraginaceae possèdent d'énormes propriétés biologiques dans la médecine traditionnelle. En Iran, *Echium amoenum* Fisch. est une plante médicinale très populaire utilisée comme remède tonique, tranquillisant, diaphorétique, contre la toux, pour le mal de gorge et la pneumonie (Hooper *et al.*, 1937). *Heliotropium indicum* est une plante usuellement employée dans la pharmacopée africaine pour le traitement de la diarrhée et des maladies cardiovasculaires en particulier l'hypertension, il présente également des propriété antihypertensive chez le lapin (Ouga *et al.*, 2010).

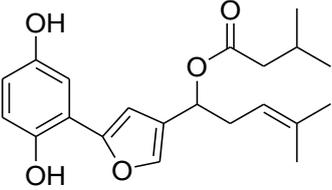
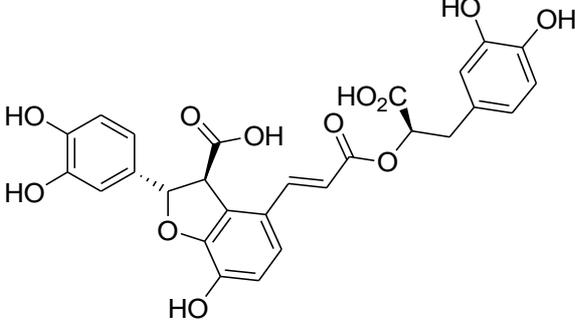
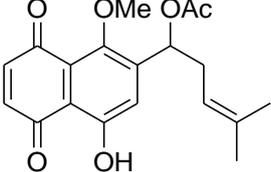
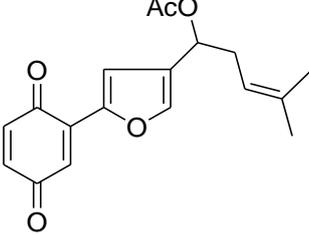
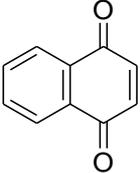
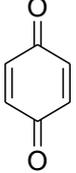
I.3.3. Travaux phytochimiques antérieurs sur les Boraginaceae

Les travaux phytochimiques antérieurs effectués sur cette famille ont conduit à l'isolement et à la caractérisation de nombreux métabolites secondaires appartenant principalement aux dérivés phénoliques (Tab 9).

Tableau 9: Quelques composés phénoliques isolés des plantes de la famille des Boraginaceae.

Essences	Structures	Noms	Références
<i>Echium amoenum</i>	 54	l'acide rosmarinique	Misawa, 1997 ; Yamamoto <i>et al.</i> , 2000
<i>Lithospermum erythrorhizon</i>	 55	shikonine	Hiroshi <i>et al.</i> , 1998
	 56	echinofurane B	

	 <p style="text-align: center;">57</p>	hydroxyechinofuran B	Hiroshi et al., 1998
	 <p style="text-align: center;">58</p>	acetylshikonine	
<i>Lithospermum erythrorhizon</i>	 <p style="text-align: center;">59</p>	β,β -dimethylacrylshikonine	
	 <p style="text-align: center;">60</p>	β -hydroxyisovalerylshikonine	Ji Young et al., 2012
	 <p style="text-align: center;">61</p>	Isobutylshikonine	

	 <p style="text-align: center;">62</p>	Shikonofurane C	Ji Young et al., 2012
<i>Lithospermum erythrorhizon</i>	 <p style="text-align: center;">63</p>	Acide Lithospermique	Yamamoto et al., 2000
<i>Echium lycopsis</i>	 <p style="text-align: center;">64</p>	Echinone	Tabata et al., 1982
	 <p style="text-align: center;">65</p>	chinofurane	
	 <p style="text-align: center;">66</p>	α-Naphthoquinone	
	 <p style="text-align: center;">67</p>	β-Benzoquinone	

I.3.4. Les différents genres de plantes de la famille des Boraginaceae

La famille des Boraginaceae comprend environ 110 genres et 1595 espèces dans le monde (**Angiosperm phylogeny, 2014**). Les genres courants de cette famille sont: *Heliotropium*, *Tournefortia*, *Varronie*, *Ehretia*, *Erythrorhizon*, *Anchusa*, *Lothospermum*, *Alkana*, *Brunera*, *Anchusa*, *Echium*, *Borroga* et *Cordia* (**Candolle, 1845**). De tous ces genres, *Cordia* qui fait l'objet de notre étude est le plus important dans la famille des Boraginaceae. Certaines espèces de ce genre présentent des caractéristiques distinctes qui interdisent une quelconque confusion avec d'autres genre à l'instar du genre *Heliotropium* qui se caractérise par un style terminal et des fruits secs se divisant en quatre ou deux méricarpes alors que le genre *Tournefortia* se caractérise par un style terminal et des fruit drupaux qui ne se divisent jamais en méricarpes et enfin le genre *Ehretia* qui se caractérise par les arbustes et le style terminal bifide (**Candolle, 1845**).

I.3.5. Généralités sur le genre *Cordia*

I.2.5.1. Aperçu botanique du genre *Cordia*

Le genre *Cordia* abondant au Cameroun dans deux régions (Fig 10) est le plus important de la famille des Boraginaceae, il contient à lui seul environ 350 espèces et s'étend dans les régions tropicales et subtropicales des deux hémisphères, principalement en Amérique du Nord et du Sud ; il est peu représenté en Asie et en Amérique du Nord où l'on dénombre environ une quarantaine d'espèces. *Cordia* comprend principalement des arbres à feuilles persistantes, des arbres pubescents et des arbustes à latex (**Thirupathi et al., 2008**). *Cordia* se caractérise par des branches qui sont souvent scorpioides avec des styles terminaux, deux fois bifide formant quatre lobes stigmatiques et des fruits drupaceux. L'espèce *C. Guanacaste* qui sont répandue dans la plupart des pays d'Amérique centrale couvrent les sites les plus secs à l'exception de *C. alliodora* qui se trouve sur la pente humide de l'Atlantique. *C. gerascmnthas* s'étendent vers le nord jusqu'au Mexique, tandis que *C. inermis* et *C. pringlei* s'étendent vers le Sud jusqu'au Nord de l'Amérique. La plupart des espèces sont également présentes sur plusieurs îles des caraïbes. La figure 11 ci-dessous met en exergue quelques espèces du genre *Cordia*.

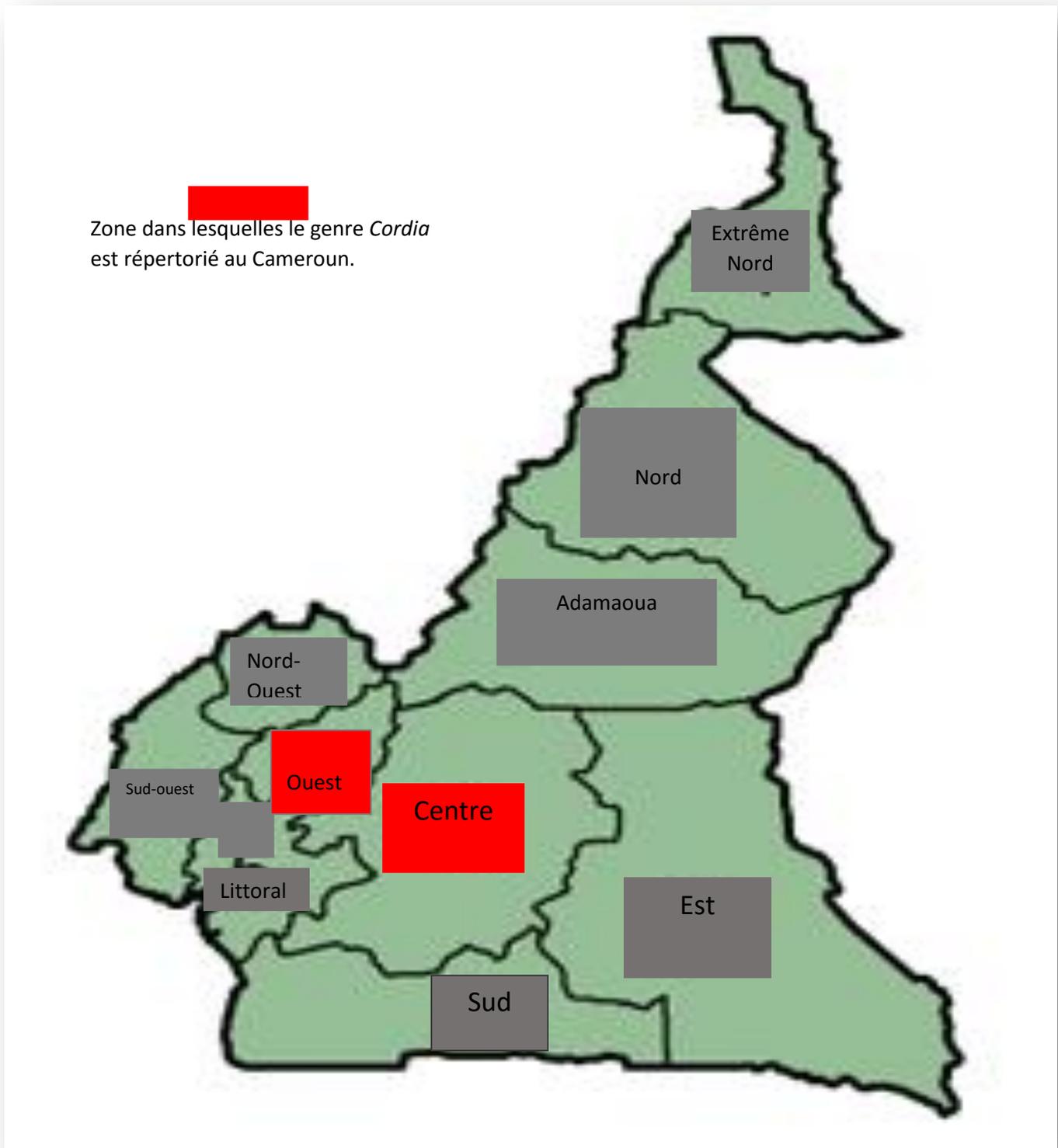


Figure 10. Répartition géographique de *Cordia* au Cameroun (Ritimo, 2008)



C. sebestena (Feuilles)



C. collococca (Feuilles)



C. subcordata (Feuilles; fruits)



C. Africana (Feuilles)



C. alliodora (Feuilles)



C. dichotoma (Feuilles, fruits)



C. myxa (Feuilles, fruits)



C. sinensis (Feuilles, fruits)

Figure 11: Photographie de quelques espèces du genre *Cordia* (Fu et al., 2002)

I.3.5.2. Usages ethnomédicinaux de *Cordia*.

Les espèces du genre *Cordia* possèdent une vaste gamme d'activités en médecine traditionnelle (**Gentry, 1979**). Les fruits, les feuilles, les écorces, les tiges, les graines et les racines de la plupart des plantes du genre *Cordia* sont utilisées depuis fort longtemps en médecine traditionnelle, à l'instar de *C. dichotoma*, *C. myxa*, *C. obliqua*, *C. verbenacea*, *C. martinicensis*, *C. salicifolia*, *C. spinescens*, *C. latifolia*, *C. ulmifolia*. Ils sont utilisés pour lutter contre les douleurs, utilisées comme cicatrisant, astringent, anti-inflammatoire, anti-helminthique, antipaludique, diurétique, fébrifuge et coupe-faim (**Thirupathi et al., 2008**). Leur effet a été confirmé dans le traitement de plusieurs affections. *Cordia gilletti* est une plante traditionnelle utilisée dans l'ouest de la République Démocratique du Congo pour traiter diverses pathologies. Les écorces des racines sont traditionnellement utilisées pour traiter les maladies cutanées, les plaies, le paludisme et les maladies diarrhéiques (décoction) dans la région du Bas-Congo, la décoction des feuilles est par contre utilisée comme fébrifuge et antipaludique dans la même région (**Kambu, 1990**). S'agissant de *C. africana*, les études ont montré que cette plante est utilisée pour traiter les plaies, les fractures et pour éliminer la fatigue. *C. milleni* est utilisée en médecine traditionnelle pour le traitement des vers intestinaux, l'asthme, la toux et les démangeaisons (**Neuwinger, 2000**). Les feuilles de *C. sinensis* sont utilisées dans le traitement de la fièvre, la conjonctivite et présentent une activité anti-tumorale et anti-malarique (**Wassel et al., 1987**).

L'espèce *C. monoica*, qui calme les douleurs abdominales, arrête les vomissements, est utilisée dans le traitement de la fièvre (**Neuwinger, 2000**). On également *C. myxa* qui intervient dans le traitement de la trypanosomiase et pour soigner les plaies (**Kerharo, 1973**).

L'espèce *C. goefzei* possède un tronc avec des propriétés antifongiques (**Marston et al., 1988**), de plus elle est utilisée pour soigner les abcès et la malaria (**Neuwinger, 2000**). *Cordia obliqua*, s'utilise dans le traitement des maladies pulmonaires, antitussif, pour traiter les infections urinaires, et la lèpre à l'état brut, ils contiennent une gomme qui peut être utilisée dans la gonorrhée, les graines sont utilisées comme agent anti-inflammatoire, les fruits sont également utiles pour le traitement de la toux, des maladies de la poitrine et de la fièvre chronique et sont encore utilisés comme agents émoullients dans le sud de l'Iran, ils contiennent des gommes et mucilages naturels. Ils diminuent la soif et l'échaudage de l'urine, enlèvent la douleur des articulations et la brûlure de la gorge et sont également efficaces dans le traitement des maladies de l'estomac et de la gorge.

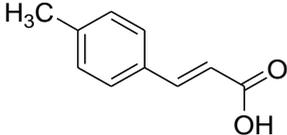
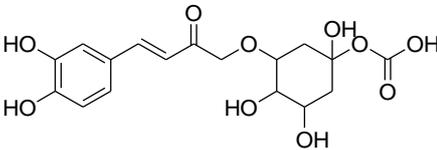
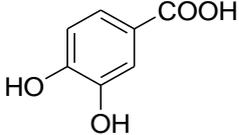
I.3.5.3. Usages industriels de *Cordia*.

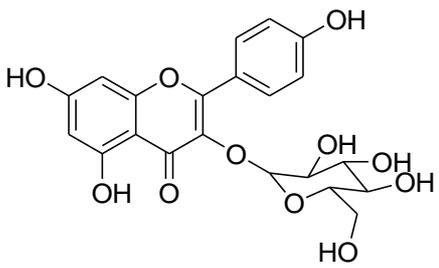
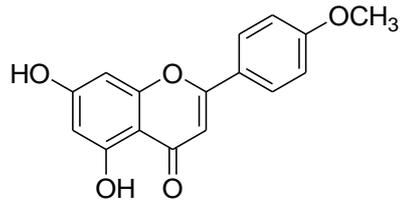
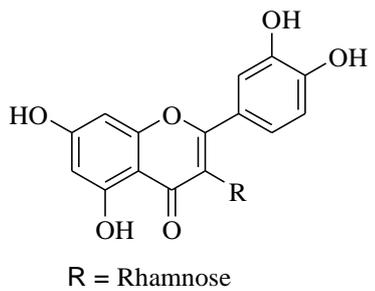
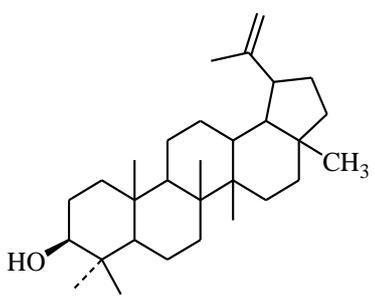
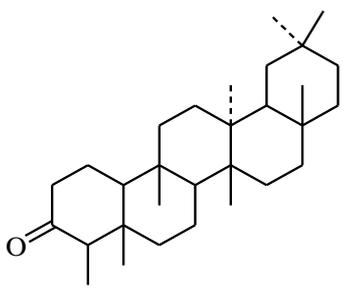
Les polysaccharides isolés de *Cordia abyssinica* (Boraginaceae) ont été utilisés pour développer de nouvelles méthodes de synthèse industrielle de nouveaux hydrocolloïdes et émulseurs naturels (Jgdish *et al.*, 1978; Chauhan *et al.*, 1978). *Cordia verbenacea* est l'un des ingrédients des produits Acheflan fabriquée par les laboratoires brésiliens (JoãoB, 2005). Les polysaccharides isolés de *C. abyssinica* sont été utilisés dans le développement de nouvelles méthodes de synthèses industrielles, de nouveaux hydrocolloïdes et émulseurs naturels (Jgdish *et al.*, 1978; Chauhan *et al.*, 1978).

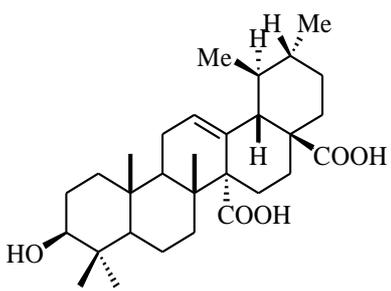
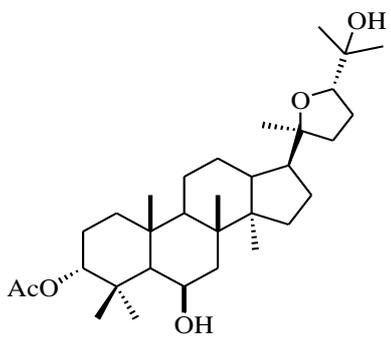
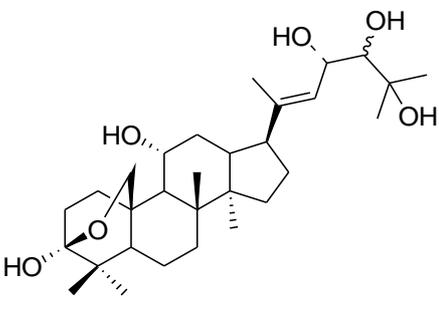
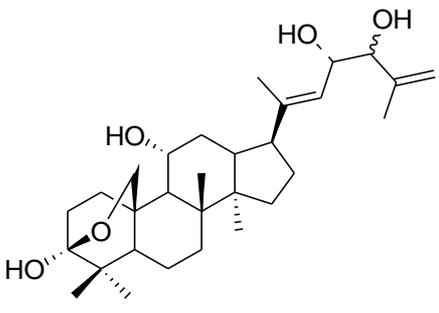
I.3.5.4. Travaux phytochimiques antérieurs sur les plantes du genre *Cordia*.

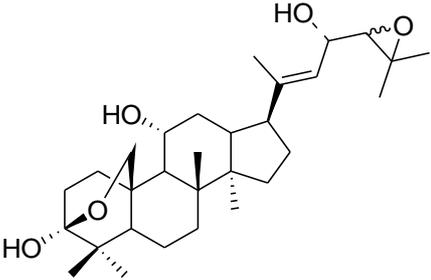
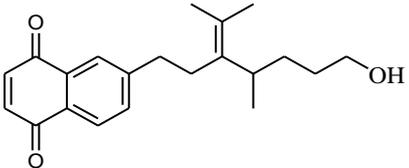
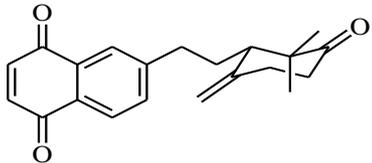
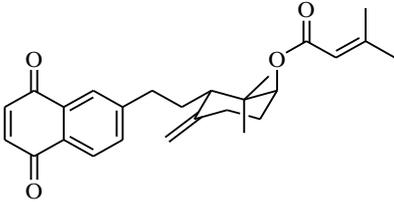
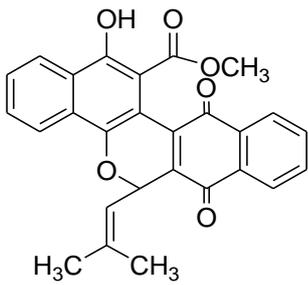
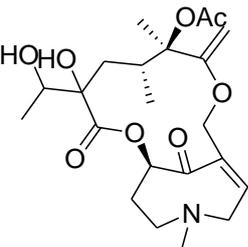
Les études phytochimiques antérieures sur les espèces du genre *Cordia* ont conduit à l'isolement et la caractérisation des composés appartenant à plusieurs classes de métabolites secondaires à savoir; les composés phénoliques, les triterpènes, les quinones, les alcaloïdes, les lignanes et les acides gras (Tab 10).

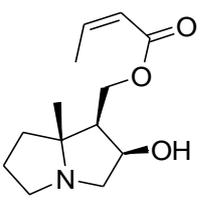
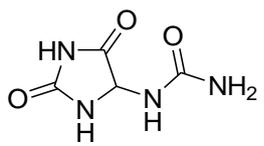
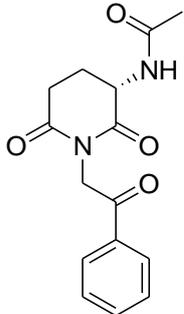
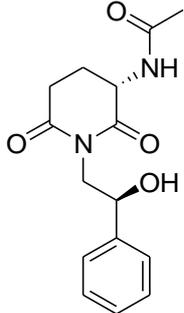
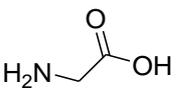
Tableau 10: Quelques métabolites secondaires isolés précédemment des plantes du genre *Cordia*.

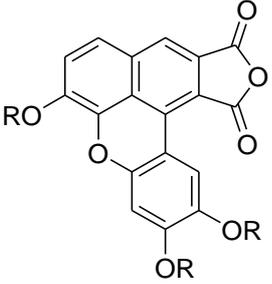
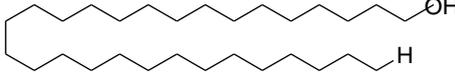
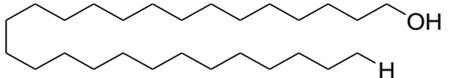
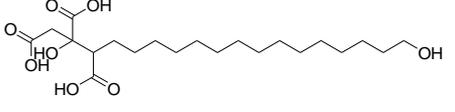
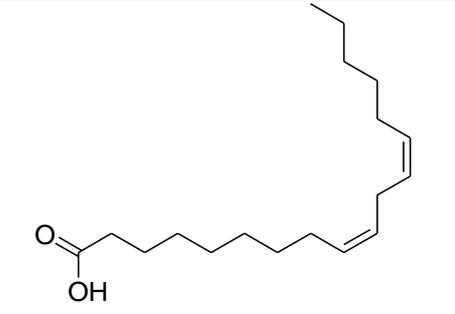
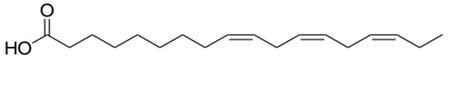
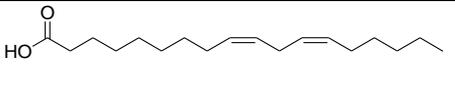
Essences	Structures	Noms	Références
<i>C. dichotoma</i>	 68	Acide (<i>trans</i>) cafféique	Jamkhande <i>et al.</i> , 2013
	 69	Acide chlorogénique	
<i>C. sinensis</i>	 70	Acide Protocatechuique	Al- Musayeib <i>et al.</i> , 2011

<i>C. sinensis</i>	 <p style="text-align: center;">71</p>	quercetin-3- <i>O</i> - β -D-glucopyranoside	Al-Musayeib et al., 2011
<i>C. exaltata</i>	 <p style="text-align: center;">72</p>	5,8-dihydroxy-7,4'-dimethoxyflavone	Bezerra et al., 2013
<i>C. dentata</i>	 <p style="text-align: center;">73 R = Rhamnose</p>	Rutine	Thirupathi et al., 2008
<i>C. gillettii</i>	 <p style="text-align: center;">74</p>	Lupéol	Okusa et al., 2007
	 <p style="text-align: center;">75</p>	Friedelin	

<p><i>C. piauhiensis</i></p>	 <p style="text-align: center;">76</p>	<p>Acide quinovique</p>	<p>Paiva et al., 2005</p>
<p><i>C. spinescens</i></p>	 <p style="text-align: center;">77</p>	<p>3α-acetoxy-6β,25-dihydroxy-20(S),24(S)-époxydammarane</p>	<p>Nakamura et al., 1997</p>
<p><i>C. multispicata</i></p>	 <p style="text-align: center;">78</p>	<p>Cordianol A</p>	<p>Kuroyanagi et al., 2003</p>
	 <p style="text-align: center;">79</p>	<p>Cordianol B</p>	

<i>C. multispicata</i>	 <p style="text-align: center;">80</p>	Cordianol D	Kuroyanagi et al., 2003
<i>C. curassavica</i>	 <p style="text-align: center;">81</p>	Cordiaquinone A	Thirupathi et al., 2008
<i>C. linnaei</i>	 <p style="text-align: center;">82</p>	Cordiaquinone K	Ioset et al., 1998
	 <p style="text-align: center;">83</p>	Cordiaquinone H	
<i>C. globosa</i>	 <p style="text-align: center;">84</p>	Naphthoquinone	Thirupathi et al., 2008
<i>C. sinensis</i>	 <p style="text-align: center;">85</p>	Floridanine	Okusa et al., 2012

<i>C. myxa</i>	 <p style="text-align: center;">86</p>	Macrophylline	Okusa et al., 2012
<i>C. dichotoma</i>	 <p style="text-align: center;">87</p>	Allantoine	Jamkhande et al., 2013
<i>C. globifera</i>	 <p style="text-align: center;">88</p>	Cordiaramide A	Parks et al., 2010
	 <p style="text-align: center;">89</p>	Cordiaramide B	
<i>C. obliqua</i>	 <p style="text-align: center;">90</p>	Glycine	Gupta et al., 2017

<i>C. rufescens</i>	 <p>91: R = H 92: R = Ac</p>	Rufescidride Rufescidride triacetate	Souza da Silva et al., 2004
<i>C. dichotoma</i>	 <p>93</p>	Hentricontanol	Jamkhande et al., 2013
	 <p>94</p>	Octasanol	
<i>C. obliqua</i>	 <p>95</p>	Acide agaricique	Gupta et al., 2017
	 <p>96</p>	Acide 9,12-octadécatriénoïque	
<i>C. myxa</i>	 <p>97</p>	Acide linoléniq	Wassel et al., 1987 ; Miralles et al., 1989
	 <p>98</p>	Acide linoléique	

I.3.6. *Cordia Batesii* wrenham

I.3.6.1. Introduction

Parmi les espèces appartenant au genre *Cordia*, *Cordia Batesii* Wernham a retenu particulièrement notre attention pour une investigation première. Au vu de la grande utilisation en médecine traditionnelle et les criblages biologique des espèces du genre *Cordia*

Sa classification botanique est la suivante:

Règne: Plantae

Embranchement: spermatophytes (Plantes à graine)

Sous embranchement: Angiospermes (Magnoliophyta: Plantes à fleurs)

Classe: Dicotylédones (Magnoliopsida)

Ordre: Lamiales

Familles: Boraginaceae

Genre: *Cordia*

Espèce: *Cordia batesii* Wernham

I.2.6.2. Localisation de *Cordia Batesii*

Selon la base des données IFN (Inventaire Forestier National) du Ministère de l'Environnement et des Forêts du Cameroun (MINEF), l'espèce *Cordia batesii* (Fig 12) a une distribution géographique restreinte au Cameroun. On retrouve cette espèce dans les régions du Centre et de l'Ouest (Fig 10).



Figure 12. Photographies de *Cordia batesii* (Photographie Tiam, 2014).

I.3.6.3. Aperçu botanique

Cordia batesii est un arbuste de 2 à 10 m de haut. A l'état jeune, c'est un rameaux courtement pubescent-ferrugineux, puis devient glabre à l'état adulte. Son tronc possède des écorces striées longitudinalement (**Wernham, 1916**). Ils possèdent des feuilles alternes ou sub-opposées; les rétrécie de ces dernières leurs servant de support (pétiole) ont 4 à 13 mm de long. Ce sont des feuilles pubescentes à poils fauves et rarement glabre. Il porte des fleurs jaunes, articulés sur le pédicelle de 0,5 à 2 mm de long. Son drupe est une obovoïde à subglobuleuse surmontée par la base persistante du style et entourée à la base par le calice persistant. La pulpe contient une gomme qui est utilisée comme succédané de la colle (**Wild, 1920**).

I.3.6.4. Phytoconstituents antérieurement isolés de *Cordia Batesii*.

Bien que nous dénombrons une revue phytochimique énorme sur les espèces du genre *Cordia*, aucune étude n'a encore été menée sur l'espèce *Cordia batesii* à notre connaissance.

I.4- Généralités sur la Tuberculose

La tuberculose est une maladie infectieuse causée par les bactéries du Complexe *Mycobacterium tuberculosis* (CMTB) (Mathys, 2010). Elle atteint principalement les poumons et se propage par des gouttelettes exhalées qui diffusent dans l'air d'une personne malade à une personne saine ou d'aérosols formées au cours des manipulations des échantillons infectés (Mathys, 2010). Les bacilles inhalés suffisent pour établir l'infection qui se traduit par des signes divers, telles qu'une toux, expectoration accompagnée de douleur thoracique et/ou de dyspnée, une hémoptysie et une fièvre nocturne en moyenne à 38°C (Jimenez *et al.*, 2003). Le malade est aussi inquiété par des sueurs nocturnes profuses, un amaigrissement continu, une asthénie et les examens radiologiques montrant une nécrose des tissus pulmonaires ou autres organes infectés (Mathys, 2010). Cette infection aux causes diverses, peut également affecter la volaille, les bovins, les ovins et les animaux domestiques selon le type de mycobactéries du complexe *Mycobacterium tuberculosis* (Jimenez *et al.*, 2003; Mostowy et Behr, 2005).

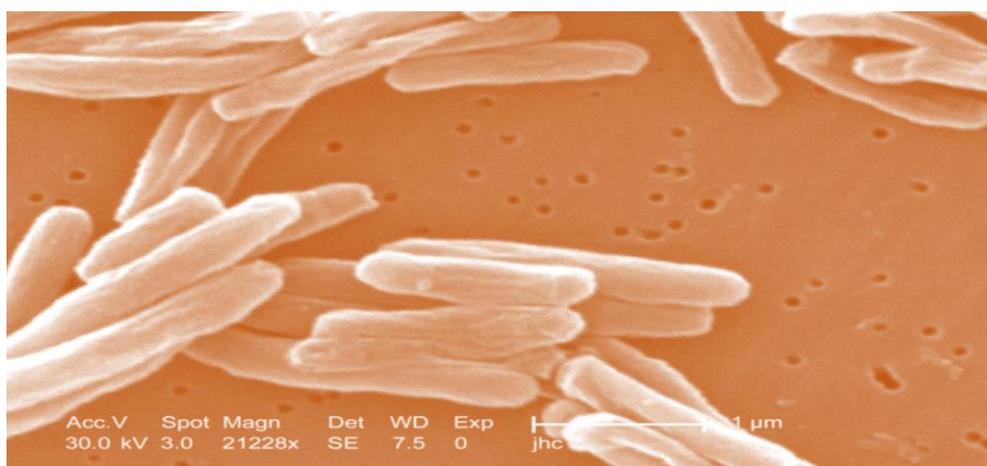


Figure 13: Image de *M. tuberculosis* par microscopie électronique à balayage (21228x) (Harshey et Ramakrishnan, 1977).

La Figure 13 ci-dessus de *M. tuberculosis* en microscopie électronique à balayage (21228x) montre que les bacilles tuberculeux se présentent sous forme de fins bâtonnets, de 2 à 4 μm de long et 0,3 à 0,5 μm de large, d'où le nom de « bacille ». Ils sont rectilignes ou légèrement incurvés, non sporulants et dépourvus de capsule (Harshey et Ramakrishnan, 1977). Ils se multiplient très lentement et leur temps de génération est environ de 20 heures (Mathys, 2010) en aérobiose à 36°C. Les colonies apparaissent en quinze jours ou trois semaines et sont caractéristiques, rugueuses et verruqueuses, de couleur beige (Mathys, 2010).

La tuberculose humaine est principalement causée par *Mycobacterium tuberculosis* (MTB), également appelé BK pour « Bacille de Koch » (Jimenez *et al.*, 2003). Toutefois dans certains cas, d'autres mycobactéries, peuvent également infecter l'Homme :

- *Mycobacterium africanum* : agent responsable le plus souvent de la tuberculose en Afrique de l'ouest (Bonard *et al.*, 2000) ;
- *Mycobacterium bovis* : agent responsable de la tuberculose chez les bovins et parfois chez l'homme (O'Reilly et Daborn, 1995) ;
- *Mycobacterium canetti* : agent responsable de tuberculose humaine (en particulier à Djibouti) (Van Soolingen *et al.*, 1997 ; Koeck *et al.*, 2005). L'homologie entre leur ADN est très élevée (>99,9%) et leur transmissibilité par voie aérienne, fait d'elle une maladie à caractère endémique (Garnier *et al.*, 2003 ; Smith *et al.*, 2009).

Une transmission indirecte est également possible lors de la consommation par l'homme de certains animaux tels que les rongeurs, les chèvres et les mammifères marins infectés par *Mycobacterium microti*, *Mycobacterium caprae* et *Mycobacterium pinnipedii* qui sont responsables de la tuberculose chez ces derniers (Prodinger *et al.*, 2002).

I.4.1. Epidémiologie

La tuberculose est une maladie bacillaire endémique qui touche plusieurs pays dans le monde, en général ceux du tiers monde (OMS, 2019) et particulièrement les pays d'Asie et ceux dont le système d'urbanisation est rudimentaire.

I.4.1.1. Epidémiologie dans le monde

L'Organisation des Nations Unies (ONU) a adopté en 2015 les objectifs de développement durable (ODD) pour 2030. Une des cibles des ODD consiste à mettre un terme à l'épidémie mondiale de tuberculose. La Stratégie OMS pour mettre fin à la tuberculose en 2035, approuvée par l'Assemblée mondiale de la Santé appelle à réduire de 90 % le nombre de décès par tuberculose et de 80 % le taux d'incidence de la maladie par rapport à 2015, (OMS, 2018). On estimait à 10 millions le nombre de nouveaux cas de tuberculose en 2018 dans le monde avec 1,5 million de décès (OMS, 2019). Cela représente une augmentation par rapport aux 8,6 millions de cas en 2015, il est à noter que cette augmentation était déjà observée dans les années antérieures, de 9,24 millions en 2006 à 9,27 millions de cas en 2007. Selon l'OMS 2018, le nombre de décès dus à la tuberculose chez les personnes séronégatives pour le VIH a chuté de 29% passant de 1,8 million en 2000 à 1,3 million en 2017. Elle est fréquente chez les utilisateurs de drogues par voie intraveineuse et porteurs du VIH, son incidence pouvant

atteindre alors près de 10 % (Selwyn *et al.*, 1989). La figure 14 ci-après montre que la majorité des cas de tuberculose en 2017 ont été enregistrés en Asie du Sud-Est soit 44 % de cas, suivie de l'Afrique 25 % et du Pacifique Ouest (18 %).

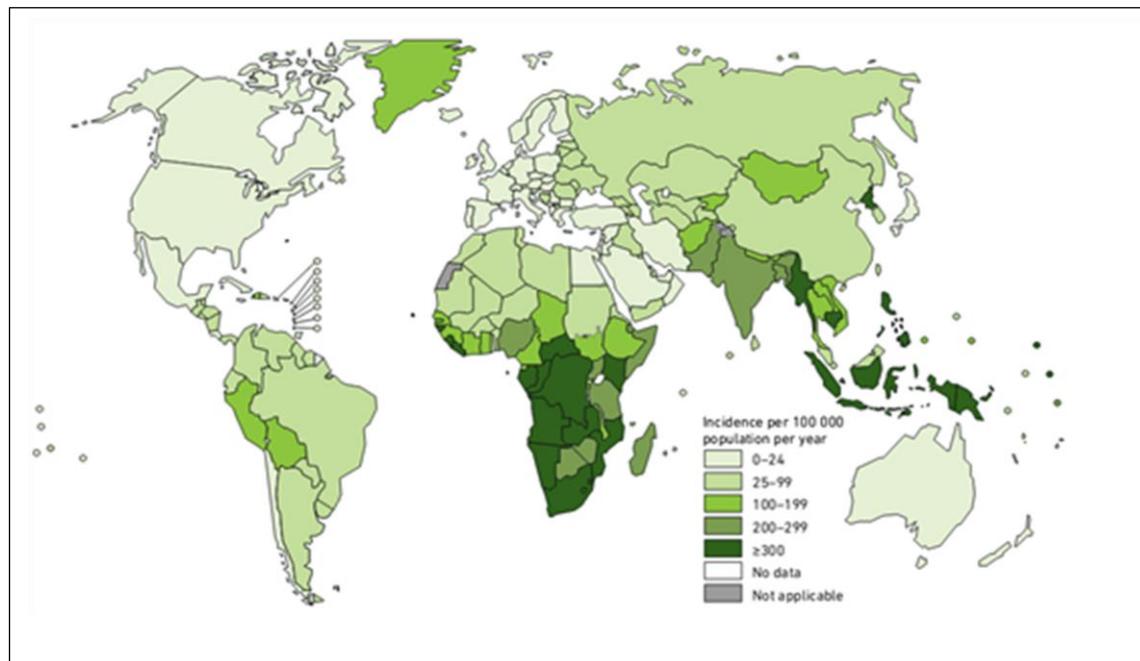


Figure 14: Taux d'incidence mondiale de la tuberculose pour 100 000 Habitants en 2017 (OMS, 2018).

I.4.1.2. Epidémiologie En Afrique

Selon l'OMS, l'incidence de la tuberculose en Afrique est estimée à 2 590 000 de cas dont 980 000 sont de sexe féminin et 1 620 000 de sexe masculin. 1 303 975 cas ont été enregistrés en 2016 et le nombre de décès observé est estimé à 737 000 cas (OMS, 2018).

I.4.1.3. Epidémiologie au Cameroun

Au Cameroun, la maladie a doublé entre 2002 (année où le Programme National de Lutte contre la Tuberculose « PNLT » a atteint une couverture nationale) et 2006, pour se stabiliser ensuite autour de 25.000 cas par an (Assam, 2012). Cette augmentation a entraîné une croissance du taux d'incidence de 77/100 000 en 2000 contre 91/100 000 en 2004 sur les 18 millions d'habitants (Assam, 2012). Selon le dernier rapport du Programme National de Lutte contre la Tuberculose de 2019, il a été enregistré 23 741 cas de tuberculeux dont les ¼ sont enregistrés dans la Région du Littoral et l'OMS a estimé que le taux de co-infection au VIH au Cameroun est situé entre 20 et 49 % (OMS, 2018 ; PNLT, 2019).

I.4.2. Physiopathologie

I.4.2.1. Pathologie

La pathologie que développe les patients infectés par les bactéries du complexe MTB se caractérise par deux types de tuberculose. En fonction de l'organe cible où ces bactéries prolifèrent, nous distinguons les tuberculoses pulmonaires et extra-pulmonaires (**Corbett *et al.*, 1999**).

I.4.2.2. Tuberculose pulmonaire

La Tuberculose pulmonaire résulte du transport des bacilles tuberculeux dans tout l'organisme en passant par le système lymphatique et sanguin pour y créer de nouveaux foyers infectieux (**Hopewell et Jasmer, 2005**). Les bacilles peuvent infecter différents organes du corps tels que les os, les reins, les ganglions, les méninges, l'intestin, la peau. Lorsque la TB est extra-pulmonaire, les symptômes peuvent varier en fonction de la région corporelle atteinte et la radiographie pulmonaire réalisée habituellement suite à la détection d'une réaction intradermique positive en utilisant les protéines atténuées du pathogène (**Golden et Vikram, 2005**).

I.4.2.3. Tuberculose extra-pulmonaire

Les enfants en bas âge développent plus fréquemment des formes extra-pulmonaires de tuberculose. Ces dernières sont difficiles à diagnostiquer (**Marais *et al.*, 2004 ; Feja et Saiman, 2005**). Nous pouvons citer par exemple la lymphadénite tuberculeuse, la tuberculose pleurale, la tuberculose génito-urinaire, la tuberculose osseuse, la méningite tuberculeuse et la tuberculose miliaire (**Gopi, 2007**).

I.4.3. Diagnostic, prévention et traitement de la Tuberculose

I.4.3.1. Examen microscopique

Dans la démarche diagnostique de la tuberculose pulmonaire associée à des signes clinico-radiologiques, voire histologiques, l'examen direct renseigne sur le caractère bacillifère et donc contagieux du patient, permettant ainsi de conforter voire d'imposer l'isolement respiratoire du patient et de dépister les éventuels contacts. Cette étape clé repose le plus souvent sur une coloration fluorescente à l'Auramine, plus sensible que celle de Ziehl Neelsen (coloration de référence) (**Steingart *et al.*, 2006**). Les BAAR apparaissent sous forme de bacilles verts fluorescents sur fond rouge pour les frottis colorés à l'Auramine et rosés sur fond bleu après coloration de Ziehl Neelsen. Le résultat microscopique est un résultat quantitatif

dénombrant le nombre de BAAR par frottis ou par champ selon la standardisation du center for disease control and prévention (CDC).

I.4.3.2. Culture en milieu solide ou liquide

Bien que la croissance des mycobactéries du complexe *M. tuberculosis* soit très lente, le diagnostic de tuberculose et la culture demeurent indissociables. Associée à une étape préalable de décontamination–fluidification pour les prélèvements provenant de cavités ouvertes, la culture reste la méthode la plus sensible. Elle permet également d’isoler la souche, support technique nécessaire à l’identification d’espèce et aux tests de sensibilité aux antituberculeux. La méthode la plus performante associe culture en milieu solide et liquide. Le seuil de détection est de 10 à 102 bacilles/mL d’échantillon biologique. Le délai de culture est fonction de la charge bactérienne et peut être corrélé aux résultats de l’examen direct. Les cultures en milieu solide se positivent en 2 à 6 semaines. La plupart des milieux liquides sont couplés à une détection automatique de la croissance (**Parrish et Carroll, 2011**).

I.4.3.3. La radiographie

La radiographie pulmonaire permet d’établir un bilan initial des lésions thoraciques de forme, de siège et de taille variable. L’aspect des lésions est sans rapport avec l’intensité de la maladie. La spécificité de la radiographie pour la tuberculose pulmonaire varie beaucoup selon différentes études (27 à 81 %). Il existe quatre types de lésions : le nodule, le tuberculome, l’infiltrat et la caverne. L’infiltrat se traduit comme des lésions débutantes de l’infection. Il se manifeste comme une partie peu opaque, hétérogène et étendue de l’imagerie radiographique. Le nodule est un granulome de taille variable, isolé ou groupé. Le tuberculome est un nodule isolé pseudo-tumoral. La caverne est une région vide due à une perte de substance au sein d’un infiltrat à paroi épaisse. Dans sa forme pulmonaire, la TB se manifeste par la présence d’infiltrats et de nodules principalement localisés aux sommets des poumons et parfois associés à des cavernes.

I.4.3.4. Mesure de prévention de la tuberculose

Le vaccin antituberculeux préparé à partir du Bacille de Calmette et Guérin (BCG) a été mis au point entre les années 1908 et 1921 à l’Institut Pasteur de Lille. Il est encore actuellement le seul vaccin antituberculeux disponible contre la TB humaine dans le monde (**Locht, 2008**). Le vaccin BCG est constitué de bacilles tuberculeux bovins atténués obtenus par 230 transferts successifs de la bactérie pathogène sur un milieu de culture à base de

pommes de terre glycélinées, mélangé avec de la bile. Son injection se fait par voie intradermique. C'est un vaccin stimulant une réaction immunitaire à médiation cellulaire et humorale du sujet ne provoquant pas de pathologie (Ait-Khaled *et al.*, 1999). Le vaccin BCG confère une protection chez les enfants contre les formes graves de TB (extra pulmonaire ou méningée) mais est moins efficace pour les formes pulmonaires qui sont les plus fréquentes (Colditz *et al.*, 1994). Le vaccin n'empêche pas la survenue d'une primo-infection tuberculeuse ou la réactivation d'une TB pulmonaire latente (OMS, 2004).

I.4.3.5. Traitement aux antituberculeux

Les antibiotiques représentent le moyen le plus efficace contre les infections bactériennes. Ils ont une activité sélective et spécifique liée à un mécanisme d'action précis permettant leur utilisation dans le traitement de certaines infections, à l'instar de la tuberculose (Faure, 2009).

Cependant, traiter la tuberculose repose essentiellement sur la chimiothérapie à base d'antibiotiques. Elles diminuent rapidement la contagiosité; c'est donc l'un des moyens les plus efficaces pour prévenir la dissémination des bacilles tuberculeux. Une chimiothérapie correcte consiste en une association appropriée de médicaments, la prescription de ces médicaments à des doses adéquates et leur prise régulière par le patient (Adams, 2012).

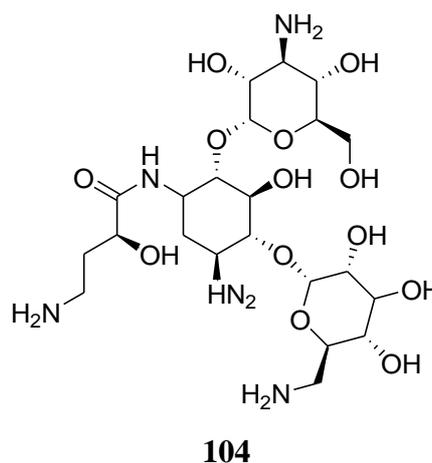
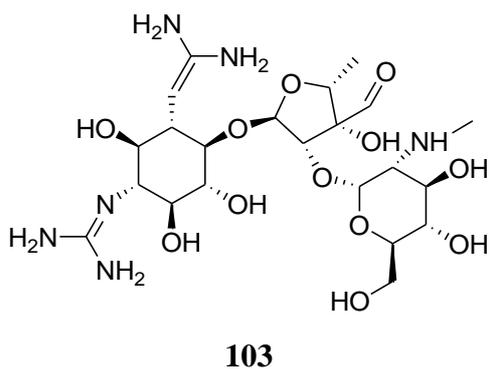
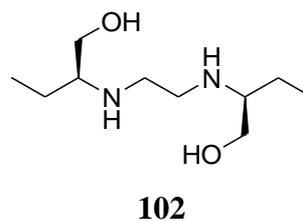
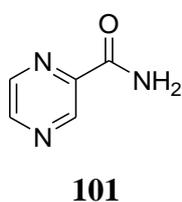
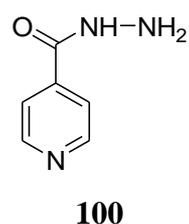
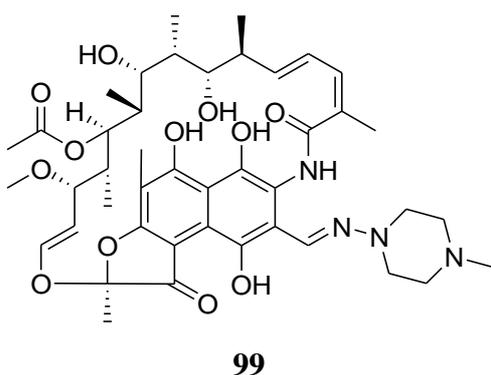
L'Isoniazide (INH, acide isonicotinique hydrazide) est un antituberculeux de synthèse dont l'activité a été démontrée en 1952. Bien que sa structure soit relativement simple, son mécanisme d'action est assez complexe (Vilcheze et Jacobs, 2007). Les études ont montré qu'il exerce son activité en inhibant la synthèse des acides mycoliques de la paroi des mycobactéries. Cette inhibition entraîne une accumulation d'acide gras à longues chaînes dans le milieu lors d'un traitement. Ces résultats ont permis d'établir l'hypothèse que la cible de l'INH pourrait être impliquée dans l'élongation des acides mycoliques (Mathys, 2010).

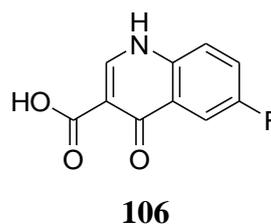
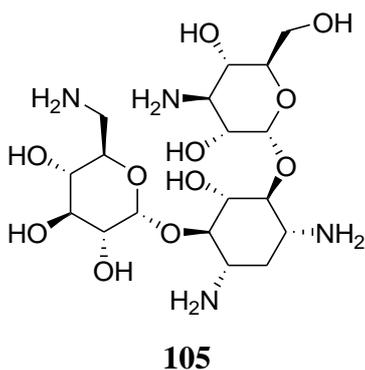
La rifampicine (RMP) est un dérivé de la rifamycine possédant une forte activité bactéricide. Il est active à la fois sur les bacilles tuberculeux en croissance et ceux semi-dormants (non-divisants). Son mécanisme d'action a été démontré chez *E. coli*, *M. tuberculosis* et *M. smegmatis* (Levin et Hatfull, 1993); il a pour cible l'ARN polymérase ADN-dépendante, un oligomère constitué de 4 sous-unités ($\alpha 2\beta\beta'$) dont l'association avec la sous-unité sigma sur une région promotrice permet d'initier la transcription d'un gène. La fixation de la RMP sur la sous-unité β de l'ARN polymérase a pour effet de bloquer l'expression génique.

En bref, les principaux antituberculeux de référence utilisés pour traiter la tuberculose sont dits antituberculeux de première ligne, notamment:

- La Rifampicine[®] (RMP) **99**; l'Isoniazide[®] (INH) **100**; la Pyrazinamide[®] (PZA) **101**; l'Ethambutol[®] (EMB) **102** et la Streptomycine[®] (SM) **103**. Il existe d'autres antituberculeux dits de deuxième ligne, dans lesquels l'on trouve:

- L'Amikacine[®] (AC) **104**; la Kanamycine[®] (KM) **105** et les Fluoroquinolones[®] (FQ) **106**.





I.4.3.6. La résistance bactérienne aux antituberculeux

La résistance de *M. tuberculosis* aux antituberculeux est observée lorsque sa concentration minimale inhibitrice (CMI) est supérieure à la concentration sanguine maximale d'antituberculeux obtenue lors d'un traitement (**Philippon, 2001**). On distingue de ce fait, deux types de résistance développées par des souches de mycobactéries, l'une qui est naturelle et l'autre acquise, car due à l'emploi massif et incontrôlé d'antituberculeux.

La résistance naturelle encore appelée résistance intrinsèque est observée lorsque des souches d'une même espèce sont résistantes aux antibiotiques. Cette résistance est stable, transmise à la descendance (elle a pour support génétique le chromosome bactérien) mais elle n'est pas ou peu transmissible sur un mode horizontal (d'une bactérie à l'autre au sein d'une même espèce ou entre espèces différentes) (**Lozniewski et al., 2010**).

La résistance acquise viendrait du fait que, contrairement aux autres bactéries pathogènes qui acquièrent leur résistance aux antibiotiques par transfert horizontal de plasmides ou transposons portant des gènes de résistance, l'acquisition de résistance chez *M. tuberculosis* provient presque toujours, d'altérations spontanées de gènes chromosomiques spécifiques sous la forme de mutations ponctuelles non-synonymes, de délétions ou insertions (**Davies, 1998**).

C'est dans l'optique d'éradiquer la tuberculose, que l'OMS préconise la recherche de médicaments candidats principalement issus de la pharmacopée traditionnelle et ne possédant pas de toxicité ou très peu toxique par rapport aux thérapies actuelles. En Afrique, où la médecine traditionnelle est parfois la seule source de soins abordable et accessible, surtout pour les patients pauvres (**A Boire et al., 2013**).

I.5. Généralités sur le paludisme

Le paludisme est une pathologie causée par un hématozoaire du *plasmodium* et transmis à l'Homme par l'anophèle. Le paludisme reste le principal problème de santé publique et de mortalité sous les tropiques malgré les progrès réalisés dans les efforts de diagnostic, de traitement et de prévention (OMS, 2019). Chaque année, environ 500 millions de cas de paludisme et plus de 2,7 millions décès connexes sont signalés dans le monde. La majorité des personnes touchées sont des jeunes enfants de moins de cinq ans avec une mortalité de 67 % (272 mille) en 2018 et des femmes enceintes avec 11 millions exposées à une infection palustre en 2018 (OMS, 2019). Il présente également un risque pour les voyageurs et les immigrants, les cas importés augmentant dans les zones non endémiques (OMS, 2019). *P. falciparum* est le parasite du paludisme le plus prévalent dans la région Afrique; il est en effet à l'origine de 99,7 % des cas de paludisme estimés en 2018, tout comme dans les régions Asie du Sud-Est (50 %), Méditerranée orientale (71 %) et Pacifique occidental avec 65 % (OMS, 2019).

I.5.1. Cycle de vie des parasites du paludisme

Le cycle de vie des parasites du paludisme se déroule en deux phases: la phase asexuée (schizogonie) chez l'hôte vertébré; et la phase sexuelle (sporogonie) chez le moustique (Richard, 1985). Les sporozites se développent dans les glandes salivaires du moustique femelle *Anopheles* et sont injectés dans l'hôte humain lorsque l'insecte pique pour un repas de sang. Ils voyagent dans le sang vers le foie, envahissent le parenchyme (hépatocytes), se différencient et subissent une division (le cycle exo-érythrocytaire) formant des schizontes (Richard, 1985). Les schizontes des tissus matures libèrent des milliers de mérozoïtes après 5 à 15 jours, selon l'espèce. Les mérozoïtes envahissent les érythrocytes où ils apparaissent initialement sous forme d'anneau suivi par le stade de croissance des trophozoïtes qui se transforme en stade de schizonte asexué en division (Rang et al., 1999). Le trophozoïte se divise (schizogonie) et les ravissements érythrocytaires libèrent davantage de mérozoïtes qui envahissent d'autres érythrocytes. La rupture périodique des érythrocytes infectés entraîne un paroxysme régulier de fièvre après la fin de chaque cycle schizogonique (cycle asexué). La durée du cycle asexué dépend des espèces parasitaires: 36-48, 72, 48 h pour *P. falciparum*, *P. malariae*, *P. vivax* et *P. ovale*, respectivement (Richard, 1985). À un certain moment au cours du stade érythrocytaire, il y a développement de gamétocytes mâles et femelles au lieu de mérozoïtes. Lorsque le stade sexuel du parasite est absorbé dans un repas de sang par les

moustiques, la fécondation se produit et le cycle de vie est terminé. (Figure 15) (http://www.suds-en-ligne.3.fr/paludisme/systemes/images/figure1_anophele.gif).

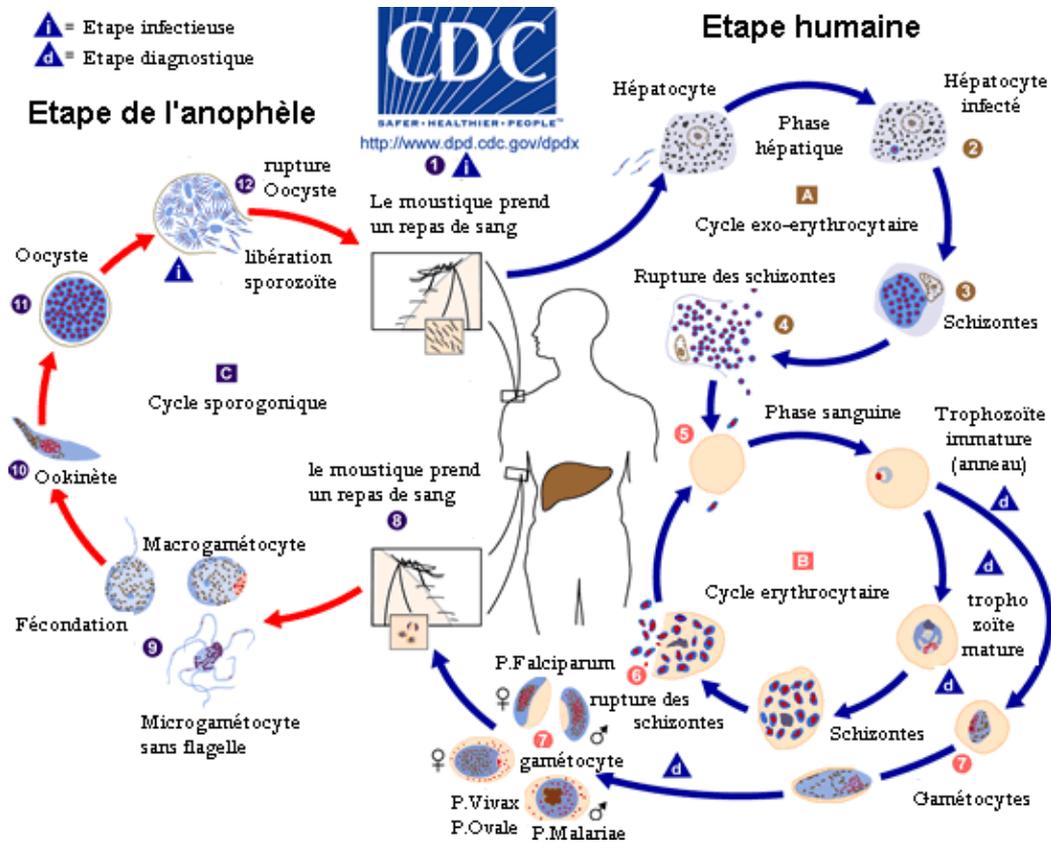


Figure 15: Cycle de vie des parasites du paludisme

Il existe environ 3 200 espèces et sous-espèces de moustiques appartenant à 42 genres, tous appartenant à la famille des culicidés (Clements, 1992). Seules 80 espèces de moustiques anophèles sont d'importants vecteurs du paludisme (Richard, 1985). Le principal vecteur du paludisme est *Anopheles gambiae* (Figure 17) (<http://sentv.info/images/moustique.jpg>). Les moustiques *anophèles* se distinguent des autres espèces par leur posture unique au repos. La trompe et le corps sont inclinés à un angle par rapport à la surface (Richard, 1985). Les moustiques *anophèles* femelles sucent le sang des vertébrés pour extraire la protéine nécessaire au développement des œufs (Richard, 1985).



Figure 16: Photographie de l'*Anopheles gambiae*

I.5.2. Épidémiologie

Le paludisme est une endémie parasitaire majeure qui touche plusieurs pays dans le monde, en général ceux du tiers monde (OMS, 2019) et particulièrement les pays d'Afrique, ceux d'Asie et ceux dont le système d'urbanisation est rudimentaire. Il sévit dans toute la ceinture de pauvreté du globe et demeure redoutable en zone tropicale et subtropicale où sévit *P. falciparum*.

I.5.2.1 Épidémiologie dans le monde

Le paludisme est la maladie parasitaire la plus fréquente dans le monde. On estime à 228 millions de cas de paludisme dans le monde en 2018 contre 251 millions en 2010 et 231 millions en 2017 (OMS, 2019). La plupart des cas (213 millions ou 93 %) ont été enregistrés en 2018 en Afrique, loin devant les pays d'Asie du Sud-Est (3,4 %) et les pays de la Méditerranée orientale avec 2,1 % (OMS, 2019). L'incidence du paludisme a reculé entre 2010 et 2018, passant de 71 cas pour 1 000 habitants exposés au risque de paludisme à 57 pour 1 000. Néanmoins, cette baisse a considérablement ralenti entre 2014 et 2018, l'incidence ayant diminué à 57 pour 1 000 en 2014 pour rester à un niveau similaire jusqu'en 2018. Selon l'OMS en 2019, les pays d'Asie du Sud-Est ont enregistré une baisse de 70 % du taux de paludisme partant de 17 cas pour 1 000 habitants exposés au risque de paludisme en 2010 à 5 pour 1 000 en 2018 (OMS, 2019). Le nombre de décès dus au paludisme a été estimé à 405 mille en 2018, contre 416 mille en 2017 et 585 mille en 2010. Les enfants de moins de 5 ans sont les plus vulnérables face au paludisme. En 2018, ils ont représenté 67 % (272 mille)

des décès associés au paludisme dans le monde. À elle seule, l'Afrique a enregistré 94 % des décès liés au paludisme dans le monde en 2018. Pourtant, elle a aussi représenté 85 % des 180 mille décès en moins dus à la maladie par rapport à 2010.

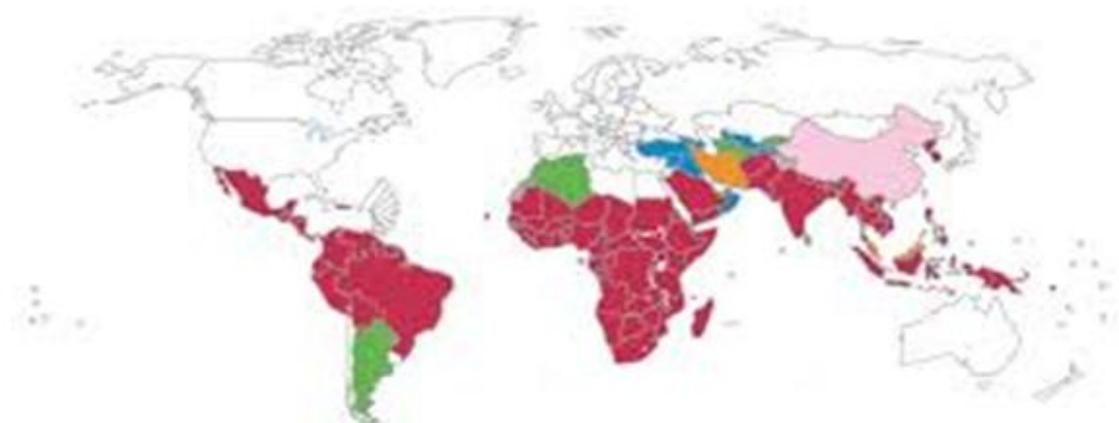


Figure 17: Taux d'incidence mondiale du paludisme

I.5.2.2. Epidémiologie En Afrique

Selon l'OMS, l'incidence du paludisme en Afrique est estimée à près de 213 millions soit 93% du taux mondiale avec 85 % de décès dus à cette maladie en 2018 (OMS, 2019). Le Nigéria a représenté à lui seul près de 24 % de ces décès, suivi par la République démocratique du Congo (11 %), la République-Unie de Tanzanie (5 %), ainsi que l'Angola, le Mozambique et le Niger avec 4 % chacun (OMS, 2019). Par rapport à 2010, la mortalité liée au paludisme n'a diminué en 2018 que dans les régions Africaine comme en Asie du Sud-Est. On a observé la baisse la plus prononcée du nombre de décès dus au paludisme, en valeur absolue en Afrique en 2018, qui est passée de 533 mille décès en 2010 à 380 mille.

I.5.2.3. Epidémiologie au Cameroun

Selon les données du PNLN, cette pathologie est responsable de 25 à 30% des consultations médicales, de 49% des hospitalisations soit plus de 2 millions de cas de maladie et de 24 % du total des décès dans les centres de santé soit environ 3200 décès en 2018 contre 2600 en 2016. La région de l'Extreme-Nord est la plus touchée par la pathologie avec 25,3 décès pour 100 mille habitants et la région du Littoral la moins touchée avec 5 décès pour 100

mille habitant (PNLP, 2019). Le Cameroun a mis en œuvre la chimioprévention du paludisme saisonnier (CPS) en 2018. Le taux de couverture a atteint environ 30 %, voire moins (OMS, 2019) au Cameroun car depuis 2011, il est préconisé entre autres la gratuité et la promotion de l'utilisation des Moustiquaires Impregnées d'Insecticide à Longue Durée d'Action (MILDA) qui est passé de 1,7% en 2004 à 36,4% en 2018 (PNLP, 2019).

I.5.3. Physiopathologie du paludisme

I.5.3.1. Paludisme simple

La période d'incubation de la maladie est en moyenne de 10 à 15 jours et varie selon le mode de contamination. Après la pénétration des sporozoïtes (forme infectante du *Plasmodium*) dans l'organisme humain, ils s'installent dans le foie, envahissent les globules rouges entraînant ainsi leur destruction massive. Cette destruction s'accompagne d'une libération de substances pyrogènes. Par la suite il va se produire un éclatement synchrone des rosaces contenues dans les globules rouges. En absence de traitement ce phénomène se répète toutes les 48 heures (fièvre tierce) pour le *Plasmodium : falciparum, ovale* et *vivax*, ou toutes les 72 heures (fièvre quarte) pour *Plasmodium malariae*. La libération du pigment malarique (substance pyrogène issue de la dégradation de l'hémoglobine en hémozoïne) dans la circulation sanguine est responsable de la fièvre. La destruction des globules rouges entraîne l'anémie et la libération de l'hémoglobine transformée en bilirubine libre par le foie va faire apparaître le subictère (Traoré, 2014).

I.5.3.2. Le paludisme grave et compliqué

Les manifestations de l'infection vont de la maladie totalement asymptomatique à la maladie grave mortelle et plusieurs facteurs influencent la gravité de l'affection, notamment:

- **Cytokines:** L'une des cytokines produites par l'individu en réaction à l'infection palustre est le Tumor Necrosis Factor (TNF). En cas de paludisme grave, surtout dans les cas mortels, on constate une circulation d'importantes quantités de TNF, responsables de nombreux symptômes signes et complications caractéristiques de l'accès fébrile grave, ce sont: Coma, Hypoglycémie, Acidose, Anémie, Syndrome de détresse respiratoire (Traoré, 2014).

- **Sequestration:** En cas de paludisme à *P. falciparum*, une caractéristique pathologique fréquente est la séquestration des globules rouges contenant des parasites en voie de maturation (schizontes ; trophozoïtes âgés) au plus profond des capillaires et des veinules. Ce phénomène

se présente dans de nombreux organes et tissus différents : Le cerveau , les poumons, le cœur, la moelle épinière les intestins et le placenta. Il semble que le mécanisme par lequel la séquestration provoque l'accès grave ne soit pas essentiellement mécanique, car si cela était le cas, des lésions neurologiques persistantes devraient se manifester. On peut donc penser que les parasites séquestrés, connus pour être métaboliquement actifs, consomment des substances vitales telles que le glucose et l'oxygène, qui ne sont alors plus disponibles pour les cellules hôtes, notamment du cerveau. Les parasites peuvent également produire des déchets, tels que du lactate ou des radicaux libres toxiques qui endommagent directement les tissus locaux hôtes. Une autre théorie est que la séquestration favorise la concentration des schizontes dans les tissus vitaux. La rupture de ces schizontes pourrait alors stimuler la diffusion locale de grandes quantités de cytokines, Ce qui pourrait avoir une incidence considérable si le taux de cytokines dans la circulation générale n'est pas particulièrement élevé. Le paludisme grave est toujours mortel en l'absence de traitement. En cas de traitement précoce et correct, la guérison est rapide et sans séquelles le plus souvent. (Traoré, 2014).

- **Pression intracrânienne élevée:** Les enfants atteints du paludisme cérébral manifestent généralement une pression élevée du liquide céphalorachidien aux orifices, ce qui indique une augmentation de la pression au niveau du cerveau et de la colonne vertébrale. Cette pression est parfois due à un accroissement du volume des hématies séquestrées dans le cerveau ou à une dilatation des vaisseaux dans le cerveau en réaction aux cytokines générés localement. Elle peut toutefois intervenir dans la pathogénie ou l'évolution de la maladie, d'une manière que l'on comprend encore mal (Traoré, 2014).

I.5.4. Diagnostic et Traitement du paludisme

I.5.4.1. Diagnostic du paludisme

Un diagnostic complet du paludisme est notifié selon trois points : la présence des parasites, l'espèce incriminée et la parasitémie qui correspond au pourcentage d'hématies parasitées. Deux techniques de diagnostic rapide, l'analyse du frottis sanguin ou de la goutte épaisse (Thellier, 2002), se base sur la technique développée par Riekmann (Riekmann, 1978). Le frottis sanguin s'effectue avec une lame, un microscope et un colorant MGG (May-Grünwald, Giemsa). Cette technique peu onéreuse permet de distinguer l'espèce et de définir une parasitémie précise en 1 heure.

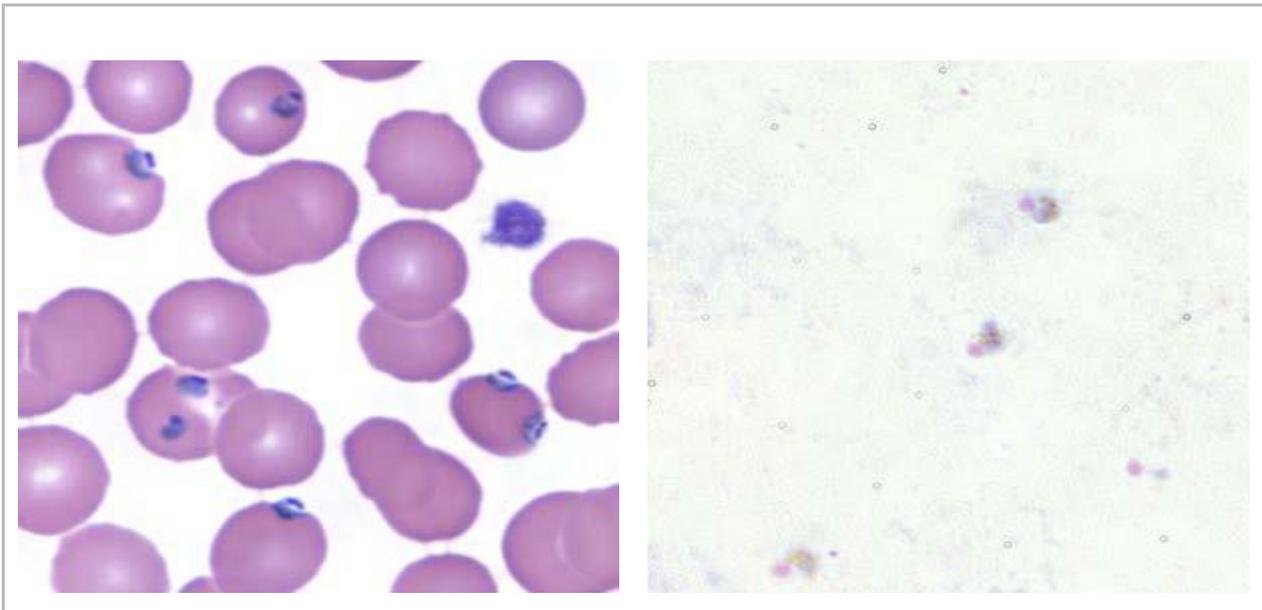


Figure 18: Vue au microscope de trophozoïdes de *P. falciparum* par les méthodes aux frottis sanguin et de la goutte épaisse (CDC, 2018)

La méthode d'analyse de la goutte épaisse requiert le même matériel, mais avec 1 à 2 heures de plus et un microscopiste expérimenté. Elle présente l'avantage d'être 10 fois plus sensible au détriment d'une estimation moins précise de la parasitémie (Delaunay *et al.*, 2008).

L'OMS recommande pour un diagnostic rapide et une prise en charge rapide, la TDR (Test de Dépistage Rapide). En 2018, 412 millions de TDR ont été vendus dans le monde. En 2018, 259 millions de TDR ont été distribués par les PNLP. La plupart de ces TDR (64 %) étaient des tests livrés en Afrique subsaharienne et pouvant uniquement détecter le parasite *P. falciparum* (OMS, 2019).

I.5.4.2. Traitement aux antipaludéens

La lutte antipaludique a été définie comme l'ensemble des mesures destinées à supprimer, ou tout au moins à réduire la morbidité et la mortalité liées au paludisme (OMS, 2019). Elle comporte des actions préventives et des actions curatives.

I.5.4.2.1. Actions préventives

Ce sont des mesures qui protègent contre l'infection et visent le vecteur de la maladie, à savoir le moustique. Elles peuvent être des mesures de protection personnelle (individuelles ou familiales): vêtements de protection, insectifuges, moustiquaires ou des mesures de protection de la collectivité ou de la population: utilisation d'insecticides ou gestion environnementale en vue de limiter la transmission. En outre il y a aussi des moyens de prévention médicamenteuse

tels que la chimioprophylaxie chez la femme enceinte (sulfadoxine pyriméthamine); le traitement préventif intermittent chez les nourrissons (sulfadoxine pyriméthamine) et la chimioprévention du paludisme saisonnal chez les enfants de 6 mois à 5 ans est gratuit au Cameroun (PNLP). En Afrique, pour protéger les femmes vivant dans des zones de transmission modérée à élevée, l'OMS recommande le traitement préventif intermittent pendant la grossesse (TPIp) par sulfadoxine-pyriméthamine (SP) (OMS, 2019)

I.5.4.2.2. Actions curatives ou traitement curatif

Les molécules utilisés dans le traitement curatif sont entre -autres:

- Anti paludiques naturels ou d'hémi-synthèse

Nous avons l'artémisinine (107) ou quinghaosu et dérivés, la quinine (108) (Farnsworth *et al.*, 1985): Elle agit principalement sur les trophozoites matures de l'hématozoaire et n'empêche ni la séquestration ni le développement ultérieur des stades annulaires circulants de *P. falciparum*. Ses dérivés sont l'Artéméther (109), Artésunate (110), et arteether (111) (Peters, 1987; Dhingira *et al.*, 2000). L'artémisinine (*Artemisia annua*) est utilisée en Chine depuis plus d'un millénaire pour le traitement des états fébriles. C'est un puissant schizonticide sanguin à action rapide qui est actif contre toutes les espèces de *Plasmodium* vis-à-vis des hématozoaires asexués, elle est dotée d'un spectre d'activité d'une étendue inhabituelle (OMS, 2011).

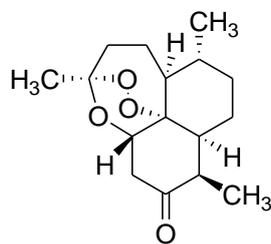
- Antipaludiques de synthèse

Nous avons les Amino-4-quinoleines tels que la chloroquine (112) (Foley et Tilley, 1997). et l'amodiaquine (113) (Rang *et al.*, 1999).

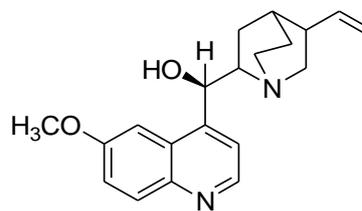
La chloroquine: Une résistance très répandue la rend désormais pratiquement inutilisable contre les infestations à *P. falciparum* dans la plupart des régions du monde, mais elle reste néanmoins extrêmement efficace contre les infestations à *P. vivax*, *P. ovale* et *P. malariae* (Eholie *et al.*, 2008). L'amodiaquine: Son mode d'action est analogue à celui de la chloroquine (perturbation de la détoxification de l'hème par le parasite). Elle est efficace contre certaines souches de *P. falciparum* chloroquino-résistantes (Eholie *et al.*, 2008).

Amino-8-quinoleines: la primaquine (114). Est un gamétocide, Schizonticide sur les formes intra hépatiques et érythrocytaires (Eholie *et al.*, 2008).

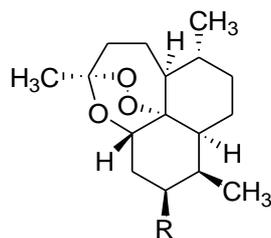
Amino-alcools: Schizonticides sur les formes érythrocytaires de *Plasmodium falciparum*, *P. vivax*, *P. malariae* et *P. ovale*. Les molécules sont l'halofantrine (**115**) et la Méfloquine (**116**) (Wongsrichnalai *et al.*, 2002).



107



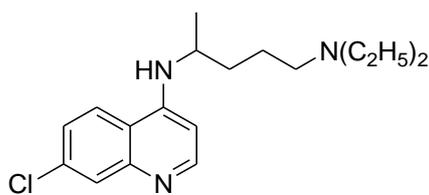
108



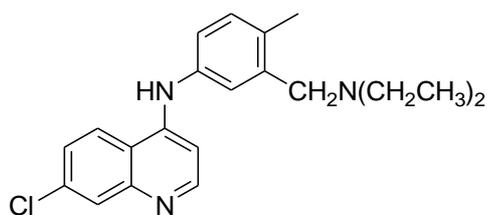
109: R = CO(CH₂)₂CO₂Na

110: R = CH₂CH₃

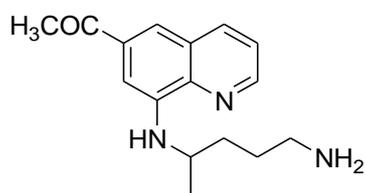
111: R = OCH₃



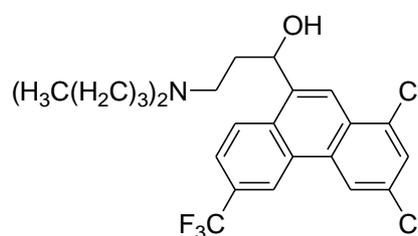
112



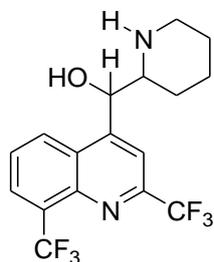
113



114



115



116



CHAPITRE II : RÉSULTATS ET DISCUSSION

CHAPITRE II: RESULTATS ET DISCUSSION

II.1. Introduction

Les Feuilles et tiges de *Triclisia gilletii* (De Wild) Staner ainsi que les Feuilles, les tiges et les racines de *Cordia batesii* Wernham (Boraginaceae) ont été récoltées au mois de mars 2014 à Koumoul par Eseka, localité située dans la région du centre Cameroun. Les espèces ont été découpées, séchées pendant plusieurs jours, broyées et les poudres obtenues ont été extrait au méthanol par macération et au moyen du Sonicateur.

Les chromatographies successives des extraits des feuilles de *Triclisia gilletii*, des tiges et racines de *Cordia batesii* ont conduit à l'isolement de vingt-neuf métabolites secondaires dont vingt-cinq ont été caractérisés. Soit dix métabolites secondaires issus de *Triclisia gilletii* et quinze de *Cordia batesii*.

Les structures de ces composés ont été établies au moyen de méthodes spectroscopiques usuelles (UV, SM, IR, RMN ^1H - et ^{13}C), par comparaison de leurs données spectroscopiques avec celles de la littérature.

II.2. Etudes phytochimiques des feuilles de *Triclisia gilletii*, des tiges et racines de *Cordia batesii*

II.2.1. Extraction et isolement des composés des feuilles de *Triclisia gilletii*

De l'extraction méthanolique au sonicateur et par macération des feuilles de *Triclisia gilletii*, nous avons obtenu 12 g d'extrait qui a subi une purification suivant le protocole de la figure 19.

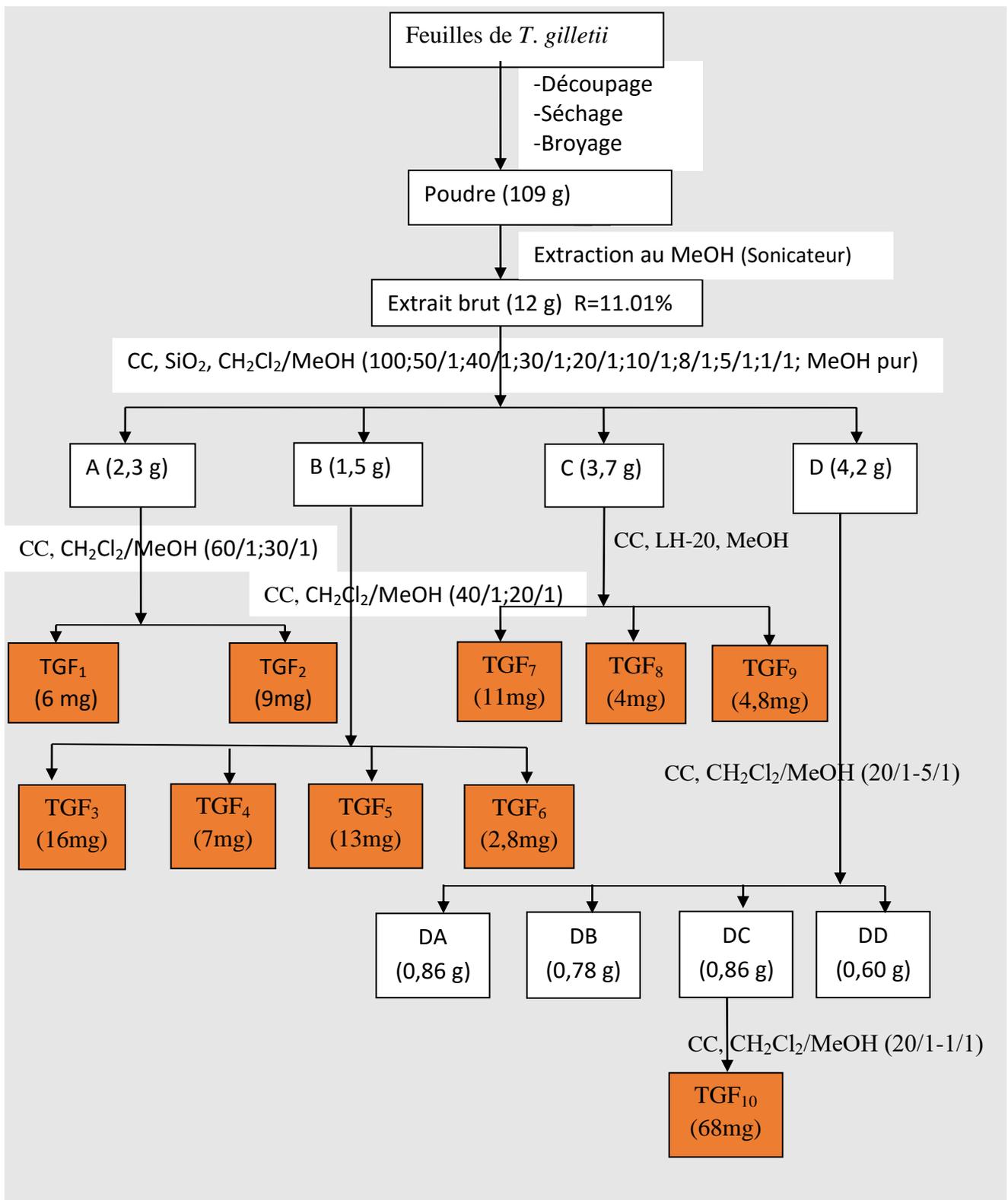


Figure 19: protocole d'extraction et d'isolement des composés des feuilles de *Triclisia gilletii*.

II.2.2. Extraction et isolement des composés des tiges et racines de *Cordia batesii*

Nous avons utilisé le sonicateur puis la macération avec le méthanol comme solvant pour l'extraction des tiges et racines de *Cordia batesii*. L'extrait obtenu des tiges (53 g) a subi les chromatographies répétitives suivant le protocole present à la figure 20.

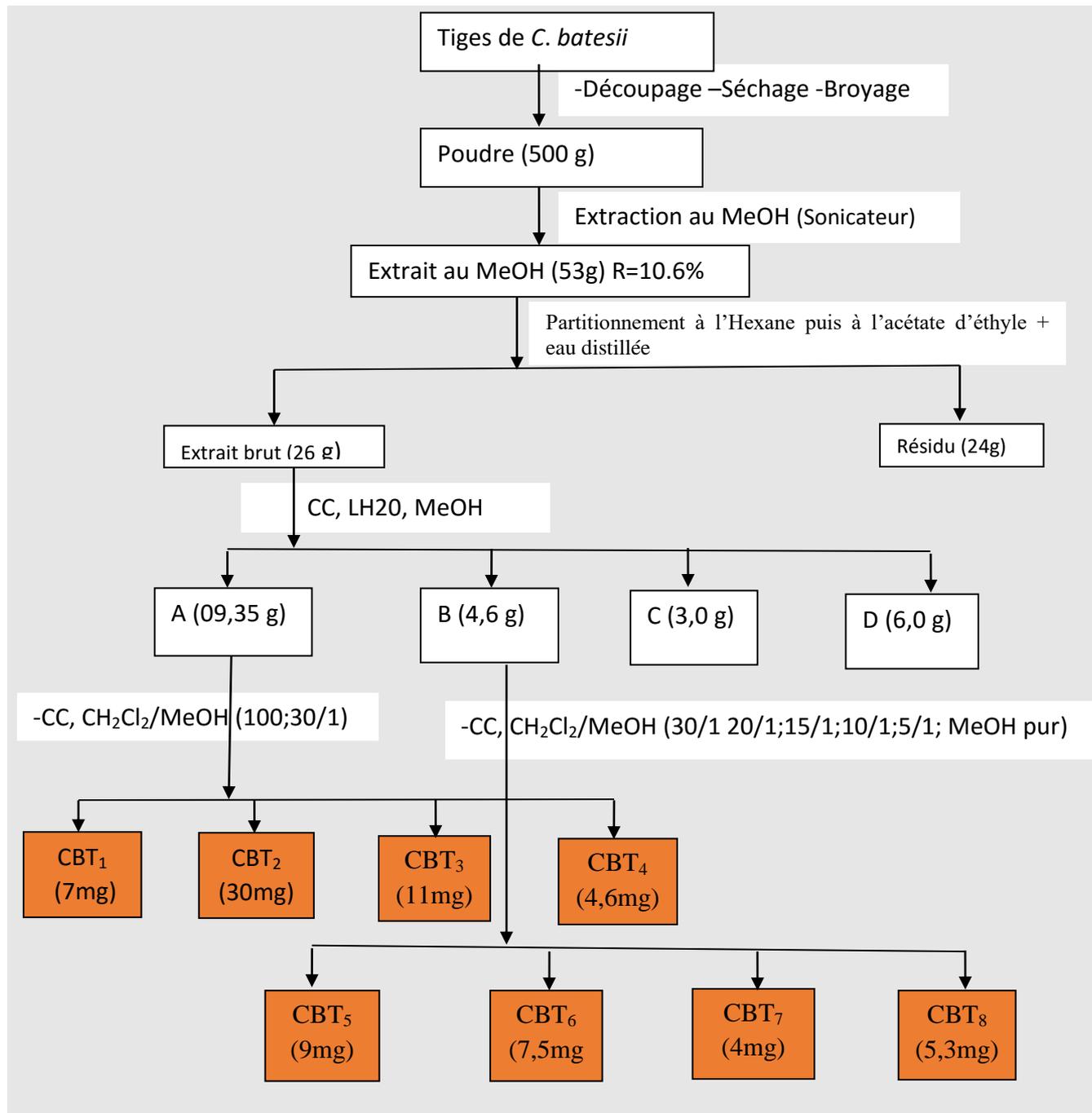


Figure 20: Protocole d'extraction et d'isolement des composés des tiges de *Cordia batesii*.

De 1 kg de poudre des racines macérés au méthanol, 30 g d'extrait obtenu ont été chromatographiés suivant le protocole de la figure 21.

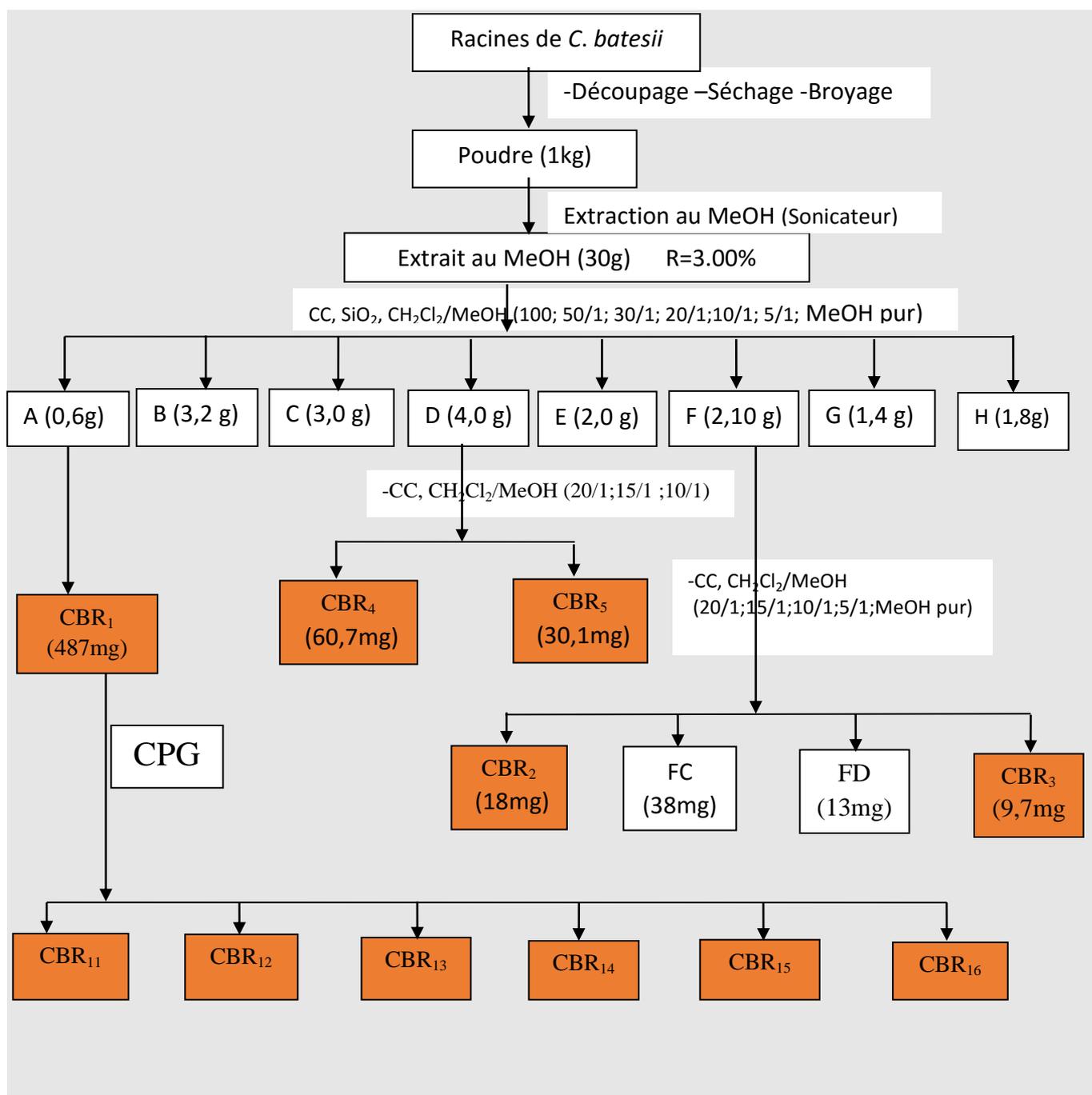


Figure 21: Protocole d'extraction et d'isolement des des composés des racines de *Cordia batesii*.

II.2.3. Caractérisation chimique des composés isolés

II.2.3.1. Caractérisation chimique de TGF₅

Le composé **TGF₅** a été isolé sous forme de poudre blanche dans un mélange de solvant CH₂Cl₂/MeOH. Il fond entre 281–283 °C. Le test de Liebermann-Burchard donne une coloration violette, ce qui nous suggère que **TGF₅** est un triterpène pentacyclique. Sur son spectre de masse LC-MS, on observe le pic de l'ion moléculaire [M + H]⁺ à m/z 441 (Fig 22). De ce spectre LC-MS, nous avons déduit une formule moléculaire C₃₀H₄₈O₂ renfermant sept degrés d'insaturations compatible avec cette masse.

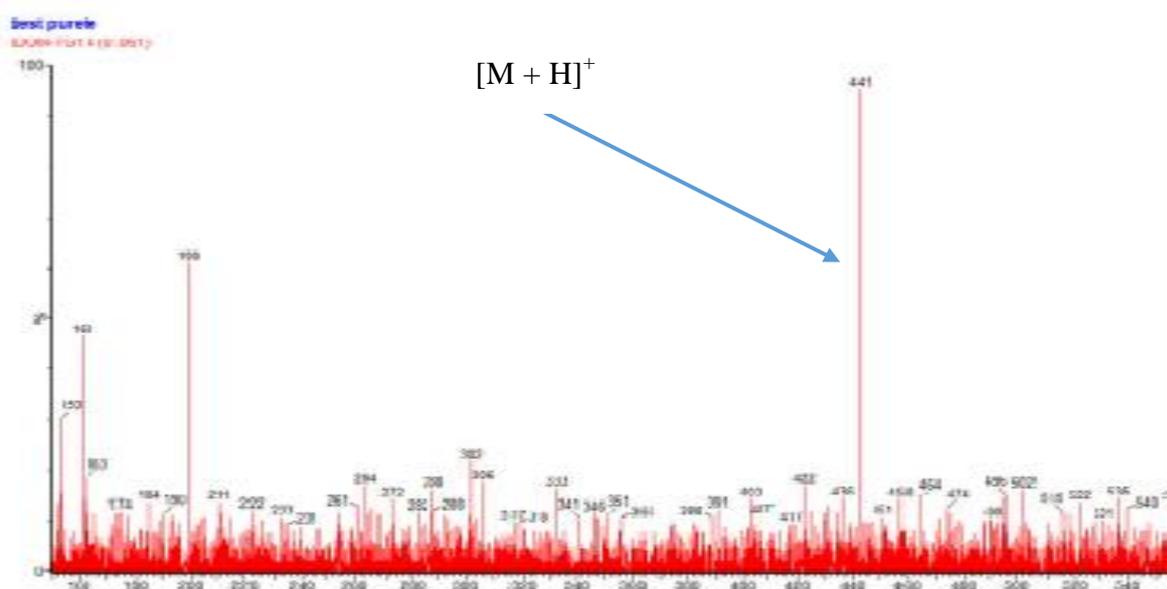
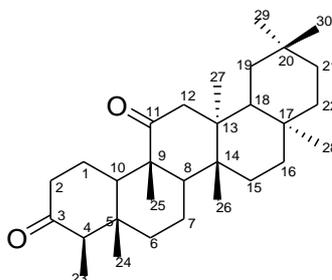


Figure 22: Spectre de masse LC-MS de TGF₅

Son spectre IR montre des bandes d'absorption à 1718 et 1705 cm⁻¹, suggérant ainsi la présence de deux groupes carbonyles dans sa structure. L'analyse de tous les spectres RMN 1D et 2D de TGF₅ nous a permis de lui attribuer la structure **117**.



117

Sur son spectre RMN-¹H (Fig. 23), on observe la présence de:

- Sept singulets intenses de trois protons chacun entre 0,77 et 1,18 ppm attribuables à sept groupements méthyles angulaires.
- Deux autres signaux caractéristiques à δ_H 0,88 (3 H, d, $J = 6.4$ Hz, H-23) attribué au proton d'un méthyle du squelette d'un friedelane ainsi qu'un quadruplet à δ_H 2.12 attribuable au proton H-4 couplant avec le méthyle à δ_H 0,88 (Wandji *et al.*, 2000).

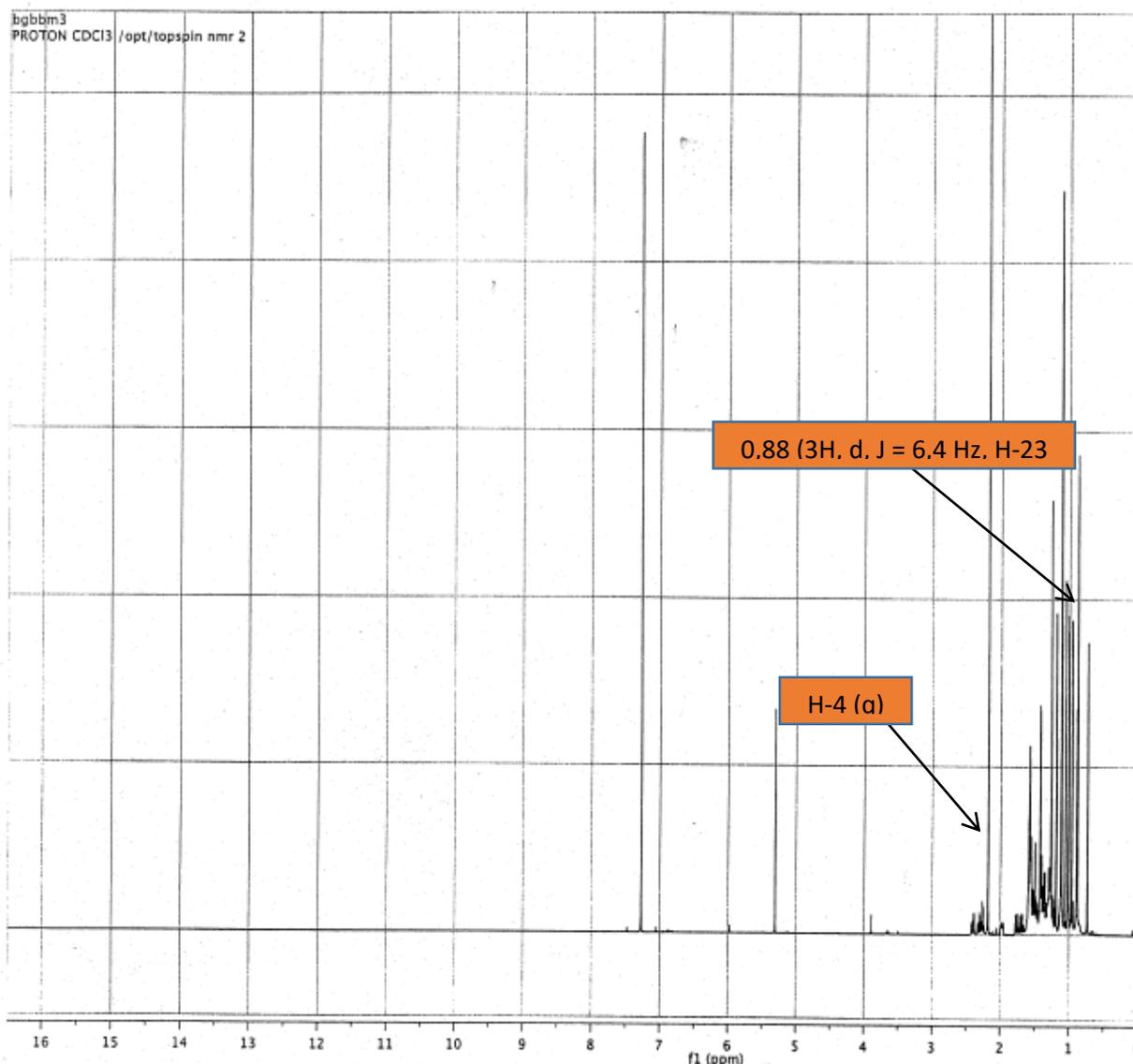


Figure 23: Spectre RMN-¹H (CDCl₃, 500 MHz) de TGF₅

Son spectre RMN-¹³C (Fig. 24) révèle 30 signaux de carbone parmi lesquels, les deux carbonyles de cétone dans le squelette de TGF₅ à δ_C 207.8 (C-3) et 213.8 (C-11) (Wandji *et*

al., 2000). Les signaux des atomes de carbone des sept méthyles à δ_C 31.6 (C-30), 35.0 (C-29), 31.3 (C-28), 18.6 (C-27), 20.3 (C-26), 18.1 (C-25), et 6.8 (C-23).

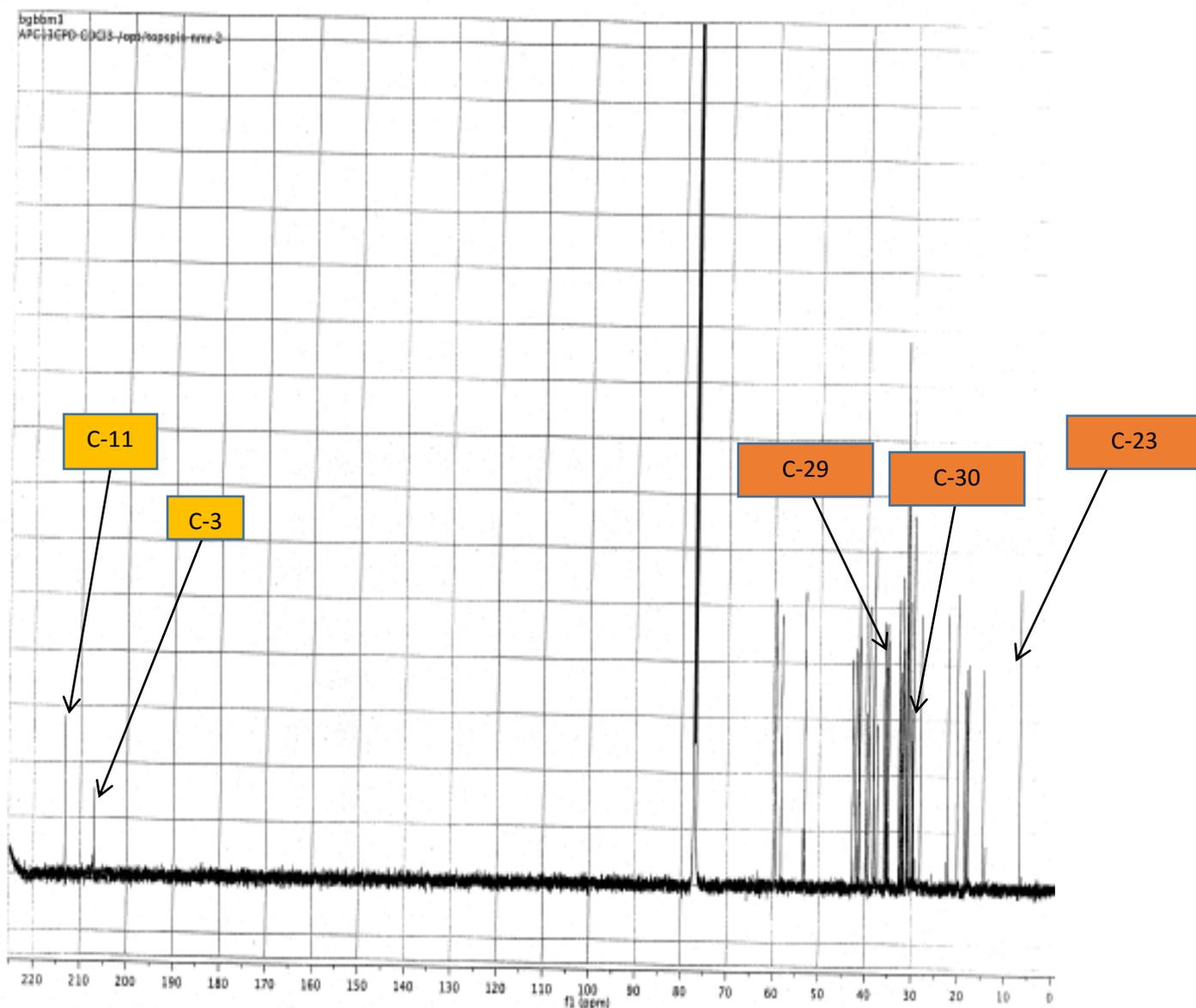


Figure 24: Spectre de RMN- ^{13}C (CDCl_3 , 125 MHz) de TGF_5

Son spectre AP- ^{13}C DEPT-135 (Fig. 25) révèle 28 signaux. Nous notons l'absence des deux carbonyles de cétone à δ_C 207.8 (C-3) et 213.8 (C-11).

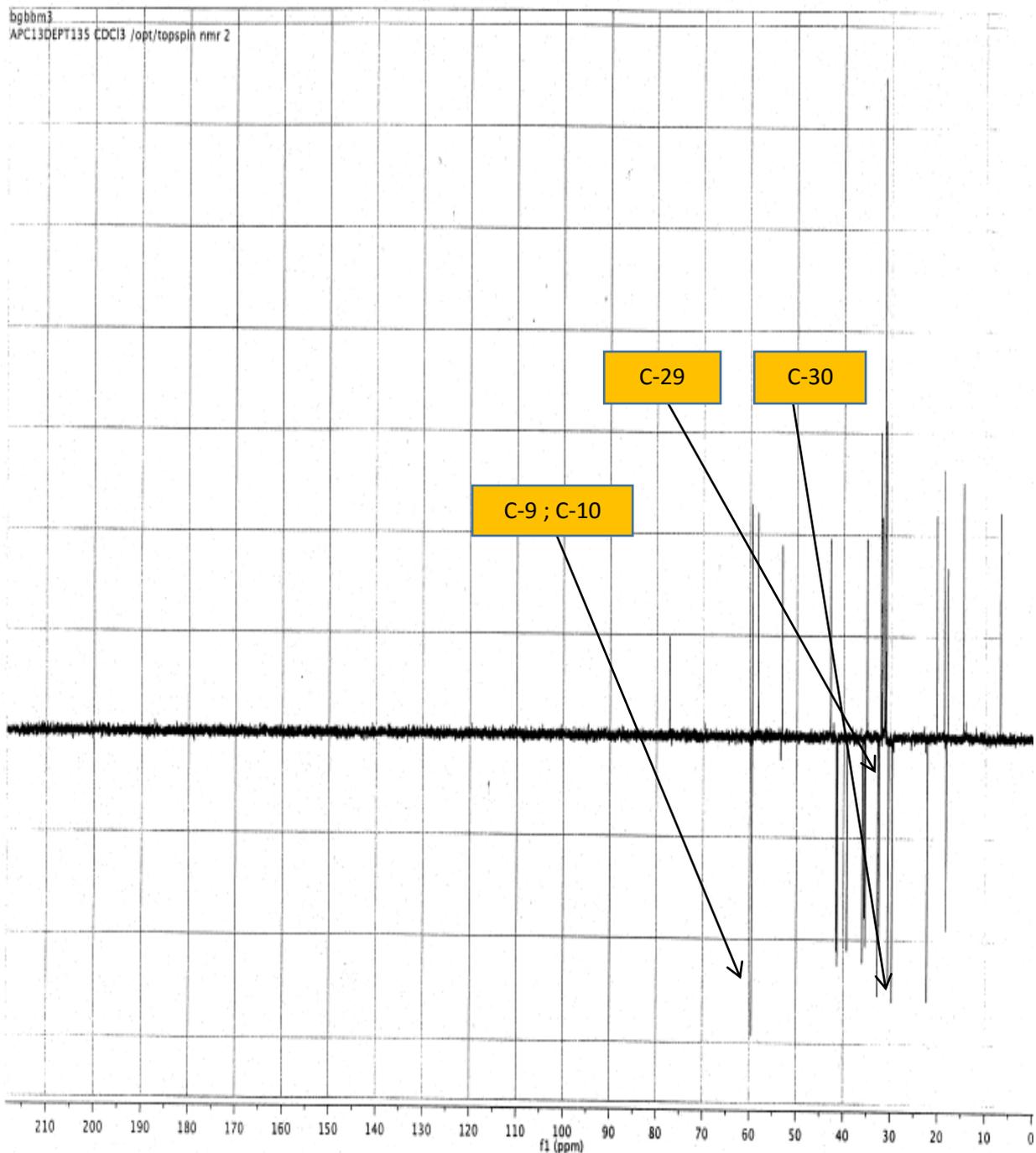


Figure 25: Spectre AP- ^{13}C DEPT-135 (CDCl_3 , 125 MHz) de TGF_5

Son spectre HMBC (Fig. 26) permet d'établir des corrélations entre H-2 (δ_{H} , 2,21) et C-3 (δ_{C} 207.8), H-12 (δ_{H} , 2,23) et C-11 (δ_{C} 213.8), puis H-23 (δ_{H} , 0,88) avec C-11 (δ_{C} , 213.8).

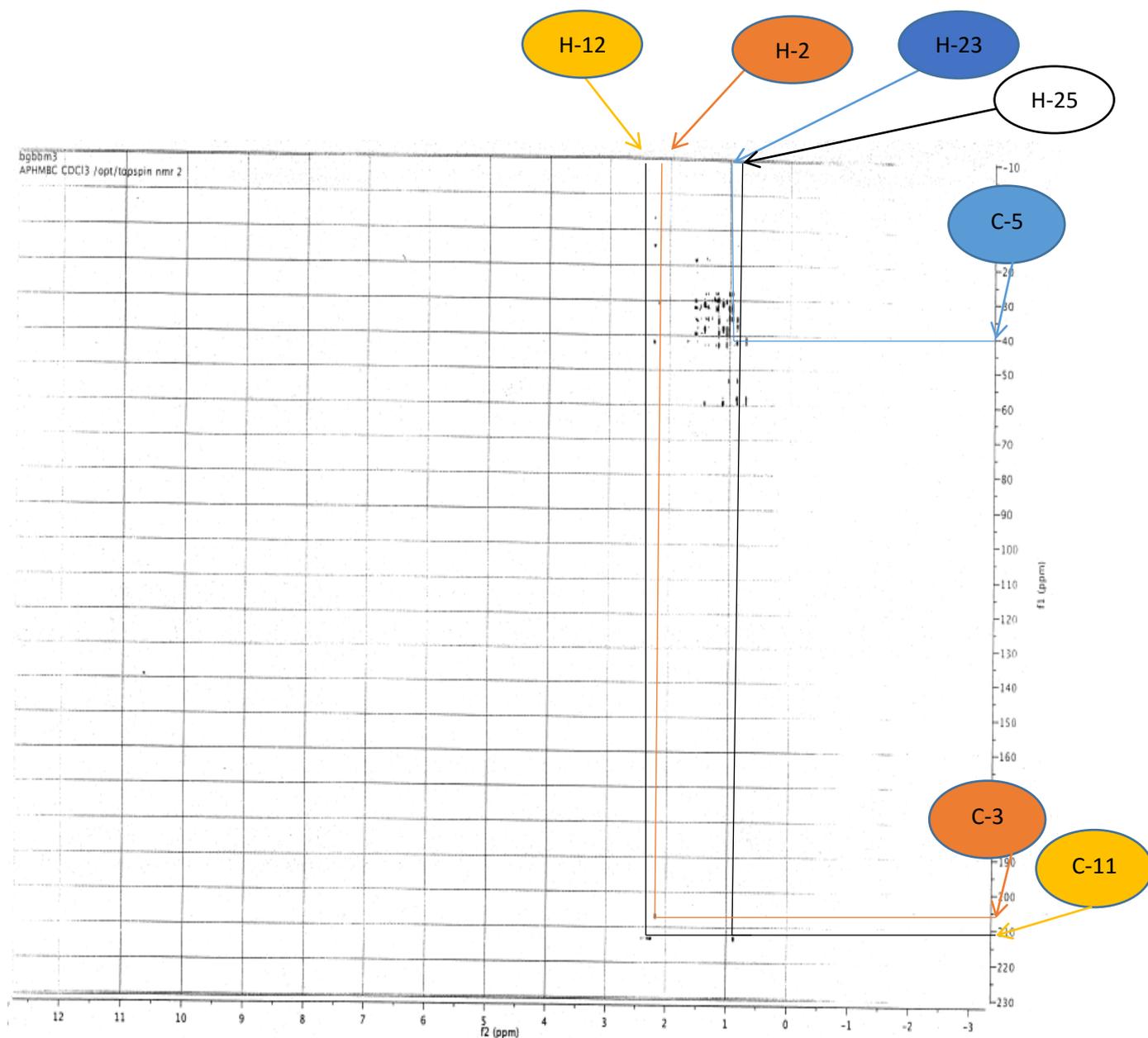


Figure 26: Spectre HMBC de TGF₅

Son spectre COSY (Fig. 27) nous permet d'observer les couplages entre les protons H-1 et H-2.

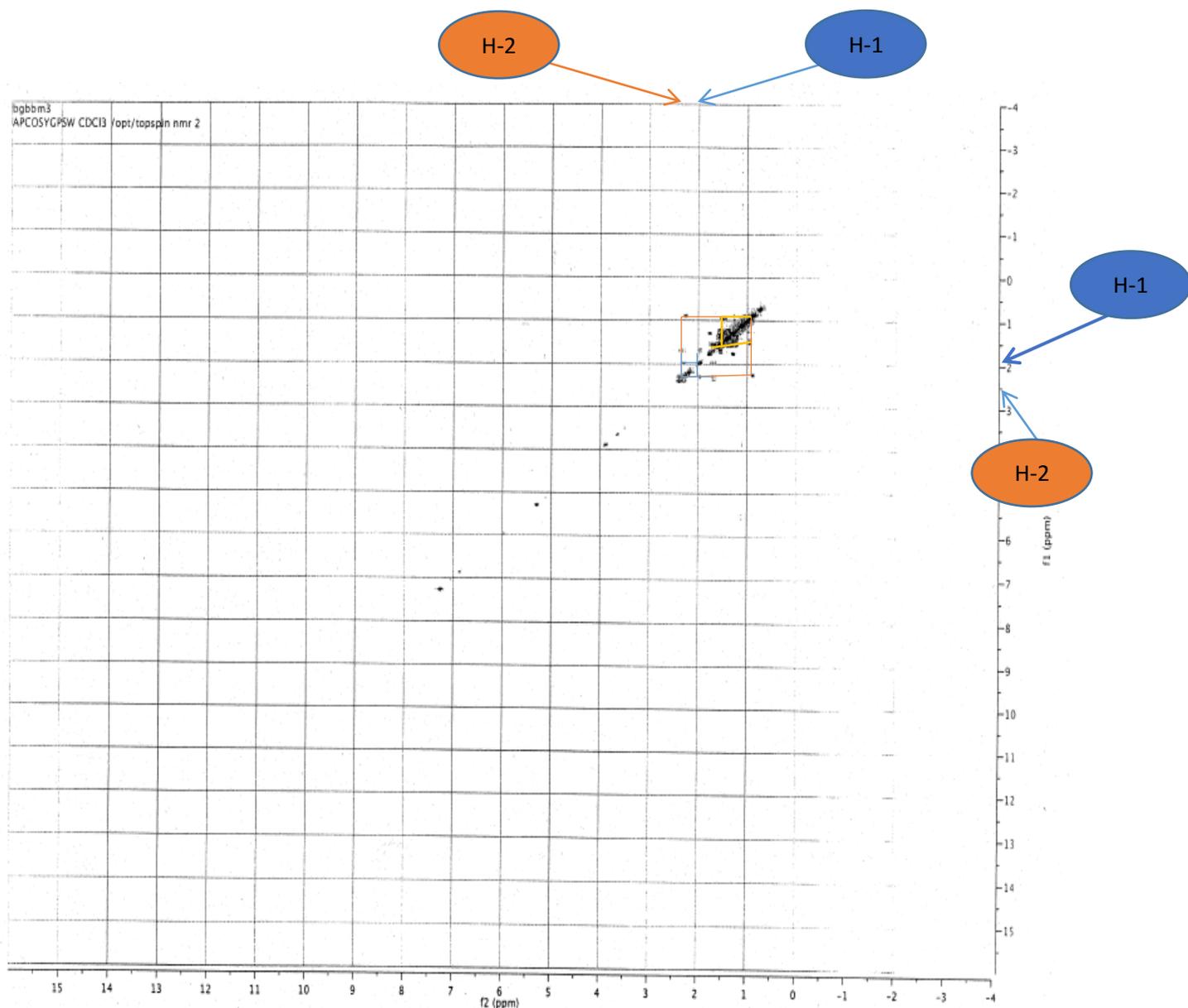


Figure 27: Spectre COSY ^1H - ^1H de TGF₅

L'analyse de tous ces spectres 1D et 2D nous a permis de caractériser le composé TGF₅ à la friedelane-3,11-dione ou drypemolundéin B isolé précédemment des tiges de *Drypetes molunduana* par Wandji *et al.*, en 2000. L'absence de certains détails dans le spectre RMN-¹³C lors de la caractérisation de cette structure nous a permis de la réviser.

Dans cette étude, les données de RMN-¹³C du composé rapportée par Wandji *et al.*, (2000) ont été comparées à celles rapportées pour le composé TGF₅. Comme le montre le tableau 12, il y a un décalage important entre les valeurs de RMN-¹³C de la drypemolundéin B, avec des écarts de 4,1 ppm pour le carbone méthine (C-9) et de 6,5 ppm pour le carbone méthine le plus proche (C-10). Par conséquent, les valeurs publiées pour la drypemolundéin B ne pourraient

être exactes. Même si l'écart de 3 ppm entre les composés analysés dans le même solvant est considéré comme acceptable (Garson *et al.*, 2017), une réévaluation des valeurs de décalage du spectre RMN-¹³C a suggéré que les signaux à 31,7 et 34,2 ppm, précédemment attribués à C- 29 et C-30, respectivement, sont plutôt associés à C-30 et C-29 (Chiozem *et al.*, 2009; Sun *et al.*, 2009; Sousa *et al.*, 2012). De plus, de cette étude, les couplages NOESY (Sch. 1) corroboreraient ces attributions de déplacements chimiques révisées dans le composé TGF₅, par exemple des couplages clés de NOESY ont été observées entre H-27 (δ_H 1,02 ppm) et le méthine (H-8) à δ_H 1,41 et non 2,38, comme indiqué précédemment dans les travaux de Wandji et collaborateur. Cependant, aucune corrélation n'a été observée avec H-24, H-25 et H-26, également de H-28 et H-30. Par conséquent, il a été supposé que les anneaux D et E du composé TGF₅ adoptaient une conformation bateau-bateau en raison de l'absence de corrélation entre H-28 et H-30, confirmant ainsi la différence entre la stéréochimie de C-17 et d'autres analogues. (Chiozem *et al.*, 2009; Sun *et al.*, 2009; Sousa *et al.*, 2012). Ces données supplémentaires n'ont jamais été rapportées dans la littérature. Les assignations de ce composé ont été partiellement révisées (tableau 12).

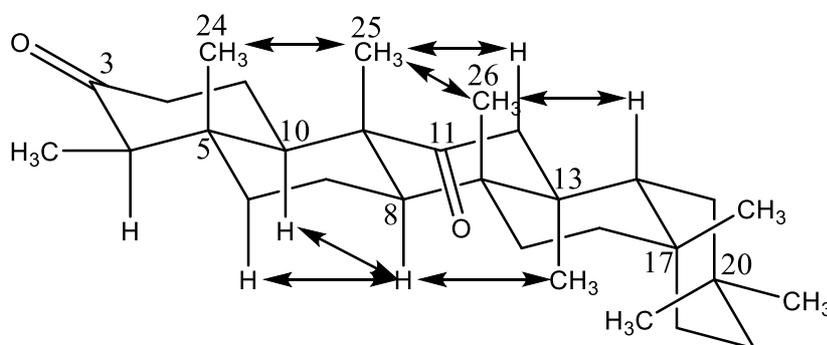


Schéma 1: Quelques corrélations caractéristiques NOESY de TGF₅

Tableau 11: Données de RMN-¹H (CDCl₃, 500 MHz) et ¹³C (CDCl₃, 125 MHz) de TGF₅ et drypemolundein B. (CDCl₃, 300 et 75 MHz)

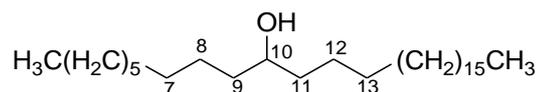
Position	TGF ₅		drypemolundein B	
	δ _C	δ _H (m, J Hz)	δ _C	δ _H (m, J Hz)
1	22.4 t	1.99; 1.71 (m)	22.2 t	-
2	41.5 t	2.21 (- ^b)	40.8 t	-
3	207.8 s		212.1 s	
4	57.9 d	2.12 (m)	57.9 d	-
5	41.9 s		42.2 s	
6	37.6 t	1.70 (m); 1.30 (- ^b)	41.0 t	-
7	18.3 t	1.56 (m)	18.4 t	-
8	52.8 d	1.41 (m) (^c)	53.0 d	2.38 (m)
9	59.6 s (^c)		55.5 s	
10	59.6 d (^c)	1.40 (- ^b)	53.1 d	-
11	213.8 s		214.2 s	
12	41.6 t	2.23; 2.15 (m)	51.2 t	2.62; 2.01 (m, 11.4)
13	38.3 s (^c)	-	44.0 s	-
14	39.5 s (^c)	-	43.8 s	-
15	31.2 t	1.30; 1.00 (m)	31.6 t	-
16	36.1 t	0.99 (-b)	36.1 t	
17	29.9 s	-	29.6 s	-
18	42.1 d	1.60 (-b)	36.4 d	-
19	38.4 t	1.80; 1.31 (m)	35.4 t	-
20	28.4 s	-	28.3 s	-
21	32.8 t	0.99 (-b)	33.0 t	-
22	39.3 t	-	38.9 t	-
23	6.8 q	0.88 (d, 6.4)	6.8 q	0.86 (d, 3.1)
24	14.8 q	0.77 (s)	14.5 q	0.73 (s)
25	18.1 q	0.87 (s)	18.1 q	0.90 (s)
26	20.3 q	1.01 (s)	19.0 q	0.88 (s)
27	18.6 q	1.02 (s)	19.8 q	1.39 (s) (^d)
28	31.3 q	1.18 (s)	31.8 q	0.91 (s)
29	35.0 q (^c)	0.96 (s)	31.7 q	1.04 (s) (^d)
30	31.6 q (^c)	1.00 (s)	34.2 q	0.91s)

^{a)} Déplacements chimiques confirmés par DEPT-135, HSQC, HMBC, COSY et NOESY

^{b)} Signaux se chevauchant, ^{c)} Déplacements différents de ceux de Wandji et al. (2000), ^{d)} Valeurs de déplacements chimiques incompatibles portés par le même atome de carbone (CH₃-29).

II.2.3.2. Identification de TGF₁

Le composé TGF₁ a été isolé sous forme de poudre blanche soluble dans le mélange CH₂Cl₂/MeOH (60/1-40/1). Sa température de fusion est comprise entre 81-81,5 °C (Guatam *et al.*, 2005; Aarnoud *et al.*, 2007) Sur Son spectre de masse HRESIMS en mode positif on observe le pic de l'ion pseudo moléculaire [M+H]⁺ *m/z* 425,4576, suggérant ainsi la formule moléculaire C₂₉H₆₀O. L'analyse de tous les spectres RMN 1D et 2D nous a permis d'attribuer à ce composé la structure **118**.



En effet, l'examen de son spectre RMN-¹H révèle:

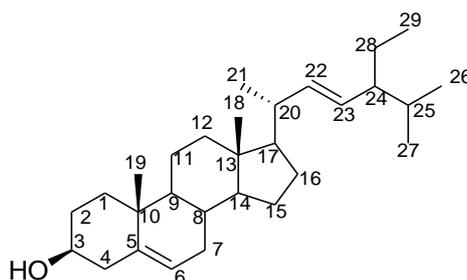
Les signaux de six familles de proton à δ_H 0.87 (m, H-1), δ_H 1.59 (m, H-2), δ_H 3.54 (m, H-10) proton lié à un hétéroatome, δ_H 1.40 (m, H-11), δ_H 0.88 (m, H-29) et δ_H 1.24 (m) qui intègre pour 48 protons.

On observe également dans son spectre RMN-¹³C, le signal des méthyles à δ_C 14.1 (C-1), et méthine portant le groupe hydroxyle à δ_C 72.0 (C-10) ainsi que les autres signaux des méthylènes à δ_C 22.7 (C-2), δ_C 29.4 (C-3), δ_C 32.0 (C-4), δ_C 25.6 (C-8), δ_C 38.0 (C-11) et δ_C 29.7 intégrant pour 22 méthylènes.

L'analyse de tous ces spectres montre que le composé **118** est le (+)-nonacosan-10-ol isolé précédemment de *Cocculus hirsutus*, *Araucacia araucana*, *Agathis robusta*, *Wollemia nobilis* et *Podocarpus neriifolius* (Ahmad *et al.*, 1987c; Guatam *et al.*, 2005; Dragota et Riederer, 2008).

II.2.3.3. Identification de TGF₂

Le composé TGF₂ a été isolé sous forme de poudre blanche soluble dans le mélange CH₂Cl₂/MeOH (30/1). Sa température de fusion est comprise entre 164-168 °C (Budavari, 1996).) Sur Son spectre de masse ESIMS en mode positif on observe le pic de l'ion *pseudo* moléculaire [M+H]⁺ *m/z* 413,3, compatible avec la formule moléculaire C₂₉H₄₈O. Son spectre IR montre à 3420 cm⁻¹ et 1654 cm⁻¹ les bandes d'absorption de (OH) et C=C. L'analyse de tous les spectres RMN 1D et 2D nous a permis d'attribuer à ce composé la structure **119**.



119

Son spectre RMN-¹H révèle:

Les signaux de onze familles de proton dont δ_H 0.67 (s, 3H, H-29), 0.69 (s, 3H, H-18) et 0.82 (d, 3H, 27), 0.85 (d, 3H, H-26), 0.93 (d, 3H, H-21) et 1.00 (s, 3H, H-19).

Un signal à δ_H 3.52 (m, 1H) attribué à C-3 proton typique des stérols hydroxylés (Morale *et al.*, 2003; Forgo et Köver, 2004).

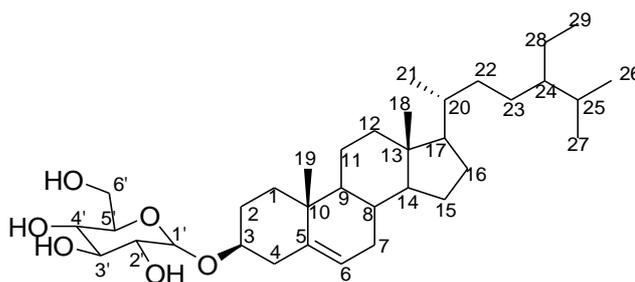
Un autre signal à δ_H 5.37 (br, d, 1H) attribué à la double liaison éthylénique. Deux multiplets à δ_H 5.04-5.14 (2H) suggérant la présence de deux autres protons éthyléniques.

Son spectre RMN-¹³C révèle 29 signaux de carbones dont les quatre carbones éthylénique à δ_C 121.8 (C-6), 129.5 (C-23), 138.4 (C-22) et 140.7 (C-5). Les carbones des Six méthyles à δ_C 12.3 (C-29), 12.1 (C-18), 19.1 (C-27), 21.3 (C-26), et 21.4 (C-21). Trois carbones quaternaires à δ_C 140.7, 36.6 et 42.3, et enfin le signal du carbone C-3 à δ_C 72.0.

L'analyse de tous ces spectres montre que le composé **119** est le stigmastérol préalablement isolé de *Clerodendrum fragrans* (Toshihiro *et al.*, 1988), de *Prunella vulgaris* (Kojima *et ai.*, 1990)

II.2.3.4. Identification de TGF₃

Le composé TGF₃ a été isolé sous forme de poudre blanche soluble dans le DMSO et dans le système CH₂Cl₂/MeOH (30/1). Le spectre de masse HRESIMS présente le pic de l'ion *pseudo*-moléculaire à m/z 599.4282 [M+Na]⁺ correspondant à la formule moléculaire C₃₅H₆₀O₆. Son spectre IR montre la présence d'un hydroxyle (3432 cm⁻¹) et d'une liaison C–O (1100 cm⁻¹), d'une double liaison C=C (1628 cm⁻¹) et des groupements CH₂ et CH₃ (2930, 2864, 1465, 1375 cm⁻¹). L'analyse de tous les spectres RMN 1D et 2D nous a permis d'attribuer à ce composé la structure **120**.



120

En effet, l'examen minutieux de son spectre RMN-¹H révèle la présence de trois signaux méthyles apparaissant sous forme de doublets à δ_H 0.76, 0.88 et 0.89, deux signaux de méthyle singulet résonant à δ_H 0.62 et 0.94, et le signal d'un méthyle terminal δ_H 0.81 apparaissant sous forme de triplet, un méthine portant un atome d'oxygène à δ_H 3.56 (*m*) attribué à C-3 proton oxygéné typique des stérols, un proton oléfinique δ_H 5.27 (*m*) attribué à la double liaison oléfinique. Un proton anomérique H-1' d'une unité glycosidique apparaissant sous forme de doublet à δ_H 4.24 (d, J = 7,6 Hz).

La comparaison des valeurs des déplacements chimiques des ¹H et ¹³C du composé **120** avec celles de la littérature nous a permis d'identifier ce composé à la 3-*O*- β -D-glucopyranosylsistostérol, préalablement isolé de *Millettia versicolor* (Rubinstein *et al.*, 1976 ; Fotsing *et al.*, 2011).

II.2.3.5. Identification de TGF₄

Le composé **TGF₄** a été isolé sous forme de poudre blanche soluble dans le DMSO et dans le mélange CH₂Cl₂/MeOH (30/1). Son spectre de masse ESIMS en mode positif (Fig. 28) montre le pic de l'ion pseudo moléculaire [M+Na]⁺ à *m/z* 597.5 suggérant ainsi une formule moléculaire de C₃₅H₅₈O₆. Son spectre IR montre à 3420 cm⁻¹ et 1654 cm⁻¹ les bandes d'absorption de (OH) et C=C et d'une liaison C–O (1055 cm⁻¹).

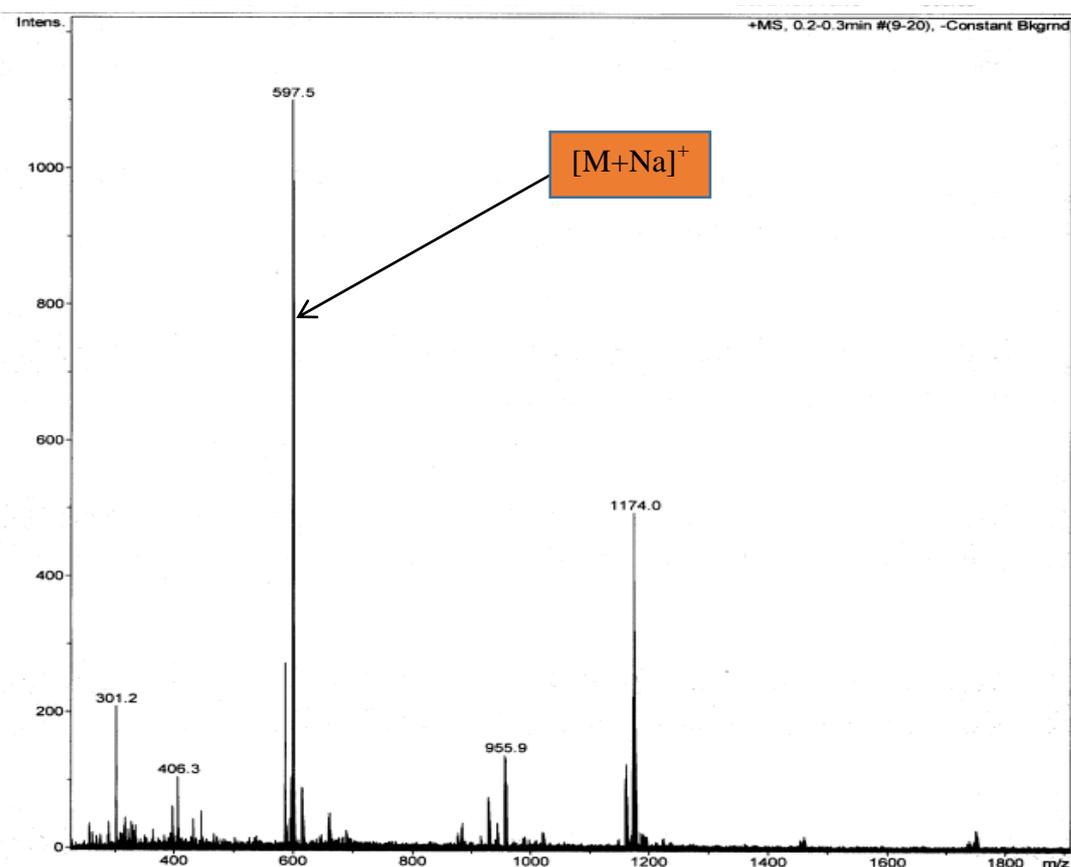
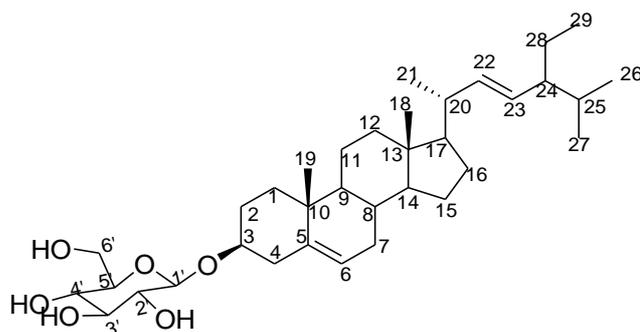


Figure 28: Spectre de masse (+)-ESIMS de TGF₄

L'analyse de tous les spectres RMN 1D et 2D a permis d'attribuer à ce composé la structure **121**.



121

En effet, l'examen minutieux de son spectre RMN- ^1H nous révèle que ce composé est semblable au composé TGF₂ à la seule différence du signal du groupe hydroxyle (OH) à δ_{H} 3.52 (m, 1H) attribuable au carbone caractéristique C-3 qui ici résonne à 3.57 (m, 1H) lie plutôt à l'unité glycosidique son proton anomérique H-1' apparaissant sous forme de doublet à δ_{H} 4.18.

La comparaison des valeurs des déplacements chimiques des ^1H et ^{13}C du composé TGF₄ avec celles de la littérature nous a permis de l'identifier à la 3-O- β -D-glucopyranosylstigmastérol (**121**), isolé préalablement de *Campylospermum densiflorum* (Aizawan *et al.*, 1979 ; Ngono *et al.*, 2014).

II.2.3.6. Caractérisation chimique de TGF₁₀

Le composé TGF₁₀ a été isolé sous forme de poudre jaune amorphe soluble dans le mélange CH₂Cl₂/MeOH. Il répond positivement au test de Neu caractéristique des biflavonoïdes et donne une coloration bleue avec une solution éthanoïque de FeCl₃ indiquant sa nature phénolique. Son point de fusion est compris entre 289 à 291 °C. Sa formule moléculaire C₃₁H₂₀O₁₁ renfermant vingt-deux insaturations, compatible avec la masse à m/z 567,2 est déduit de son spectre de masse ESI-MS en mode négatif [M-H]⁻ (Fig. 29). Cette masse est confirmée dans son spectre de masse ESI-MS en mode positif [M + H]⁺ à m/z 569,3 (Fig. 30). Son spectre IR (Fig. 31) montre des bandes d'absorption à 3100, 1653, 1601, 1164 et 1028 cm⁻¹, caractéristique des groupes hydroxyle, carbonyle conjugué, cycle aromatique, vibrations d'étirement des éthers C–O–C et des alcools C–O–H, respectivement.

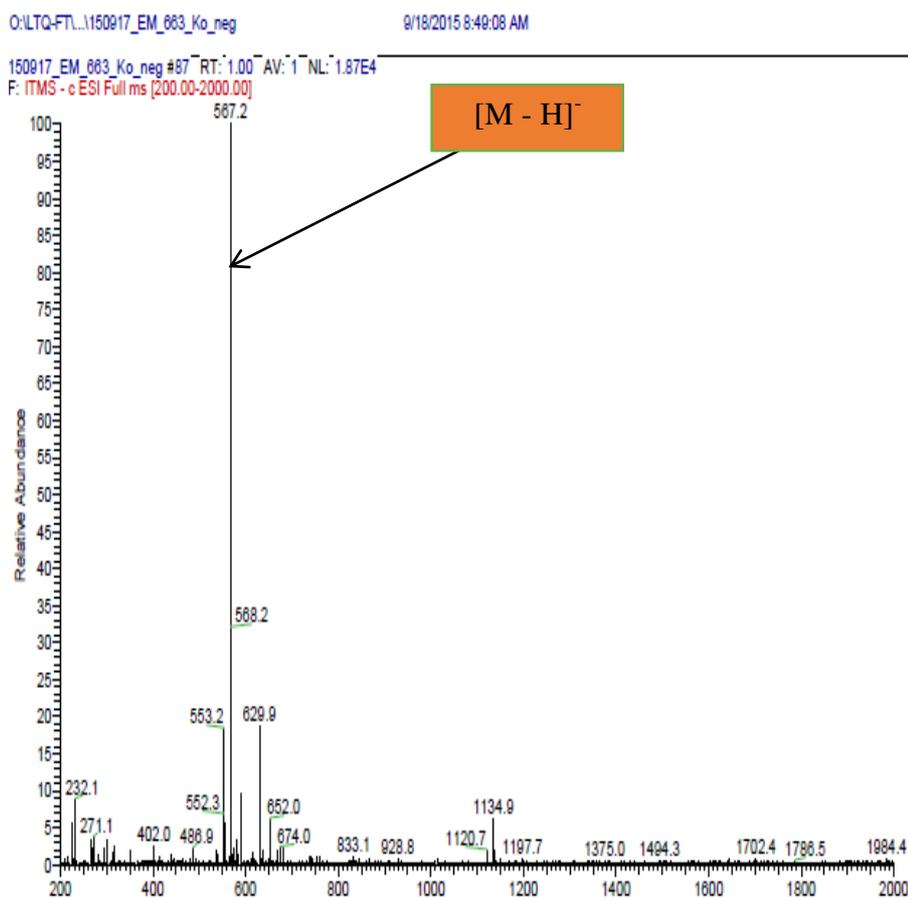


Figure 29: Spectre de masse ESI en mode (-) de TGF₁₀

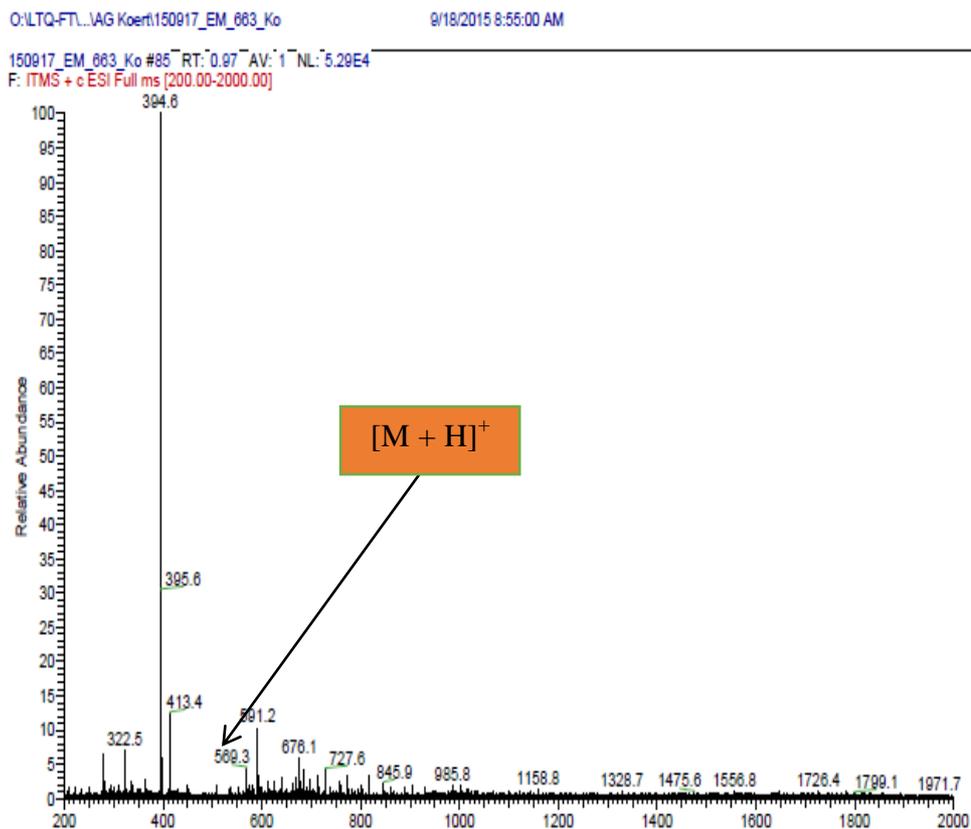


Figure 30: Spectre de masse ESI en mode (+) de TGF₁₀

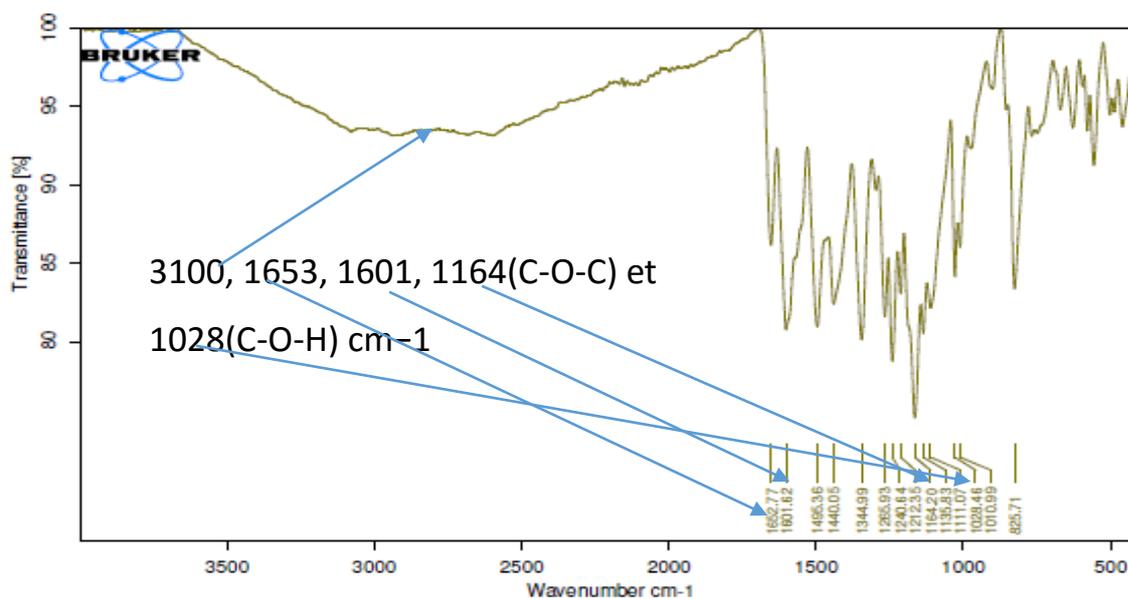


Figure 31: Spectre IR de TGF₁₀

Son spectre RMN-¹H (Fig. 32a) présente deux signaux de protons aromatiques présentant un système AB à δ_H 6.16 (d, $J = 2.0$ Hz, H-6) et 6.48 (d, $J = 2.0$ Hz, H-8), ainsi que deux singulets signaux de protons aromatiques (Configuration typique d'un benzène 1,2,4,5-

tétrasubstitué) à δ_H 6,82 (s, H-3') et δ_H à 7,79 (s, H-6'). Un proton de type flavone a été observé à δ_H 7.14 (s, H-3) pour cette sous-structure, suggérant la présence d'une unité isoétine dans ce composé. En outre, un système AA'BB' est perceptible sur la base de signaux à δ_H 7,96 (d, $J = 8,6$ Hz, H-2''/6'') et 6,90 (d, $J = 8,6$ Hz, H-3'''/5'''); un autre système AB a été déduit des signaux de protons aromatiques à δ_H 6,33 (d, $J = 2,0$ Hz, H-6'') et à δ_H 6,52 (d, $J = 2,0$ Hz, H-8') lorsqu'un proton de flavone supplémentaire à δ_H 6,87 (s, H-3) a été observé (Figure 33b). Nous avons également noté la présence du signal d'un méthoxyle à δ_H 3,78 (3H, s, OCH₃).

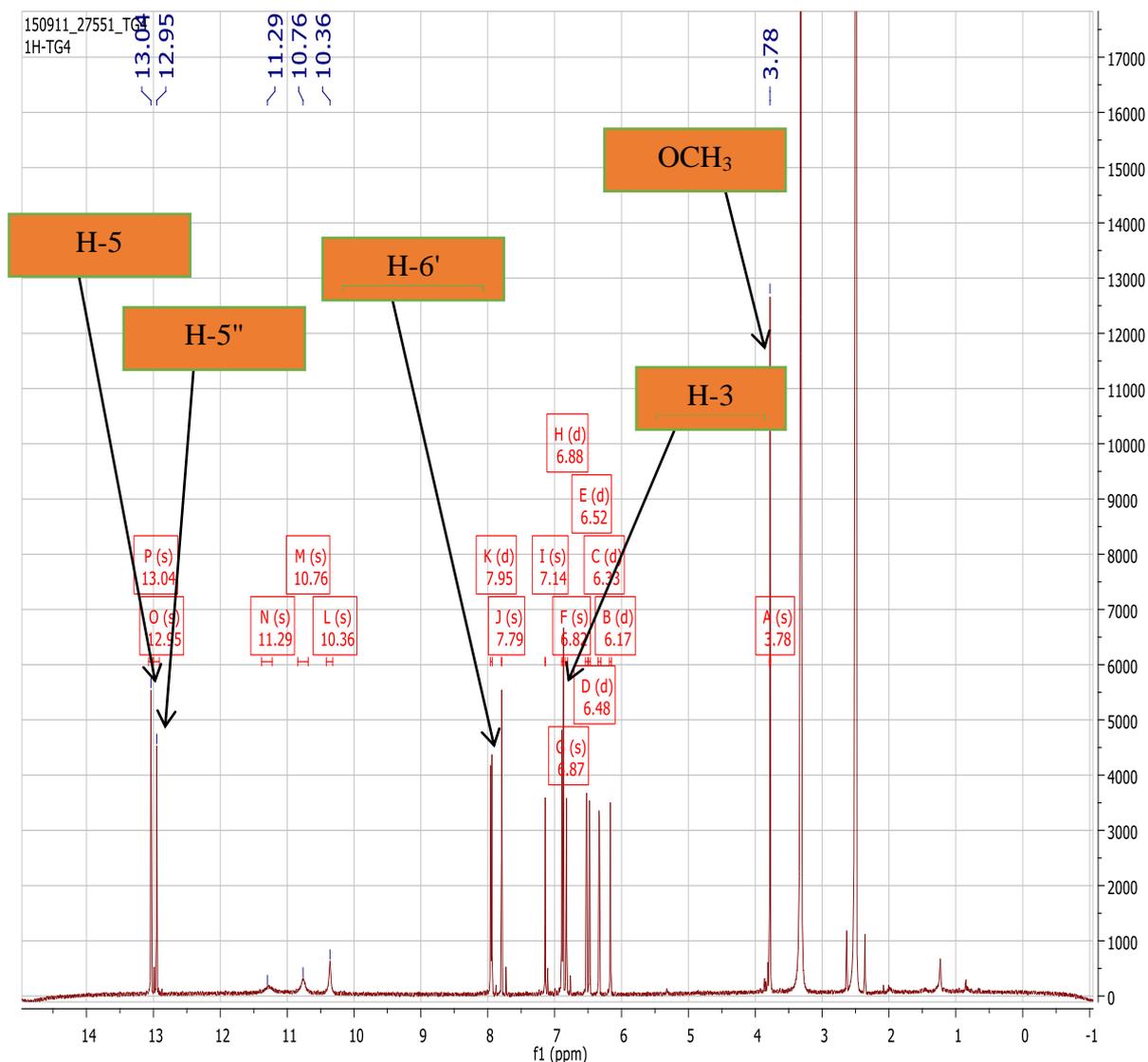


Figure 32a: Spectre RMN-¹H (500 MHz, DMSO-*d*₆) de TGF₁₀

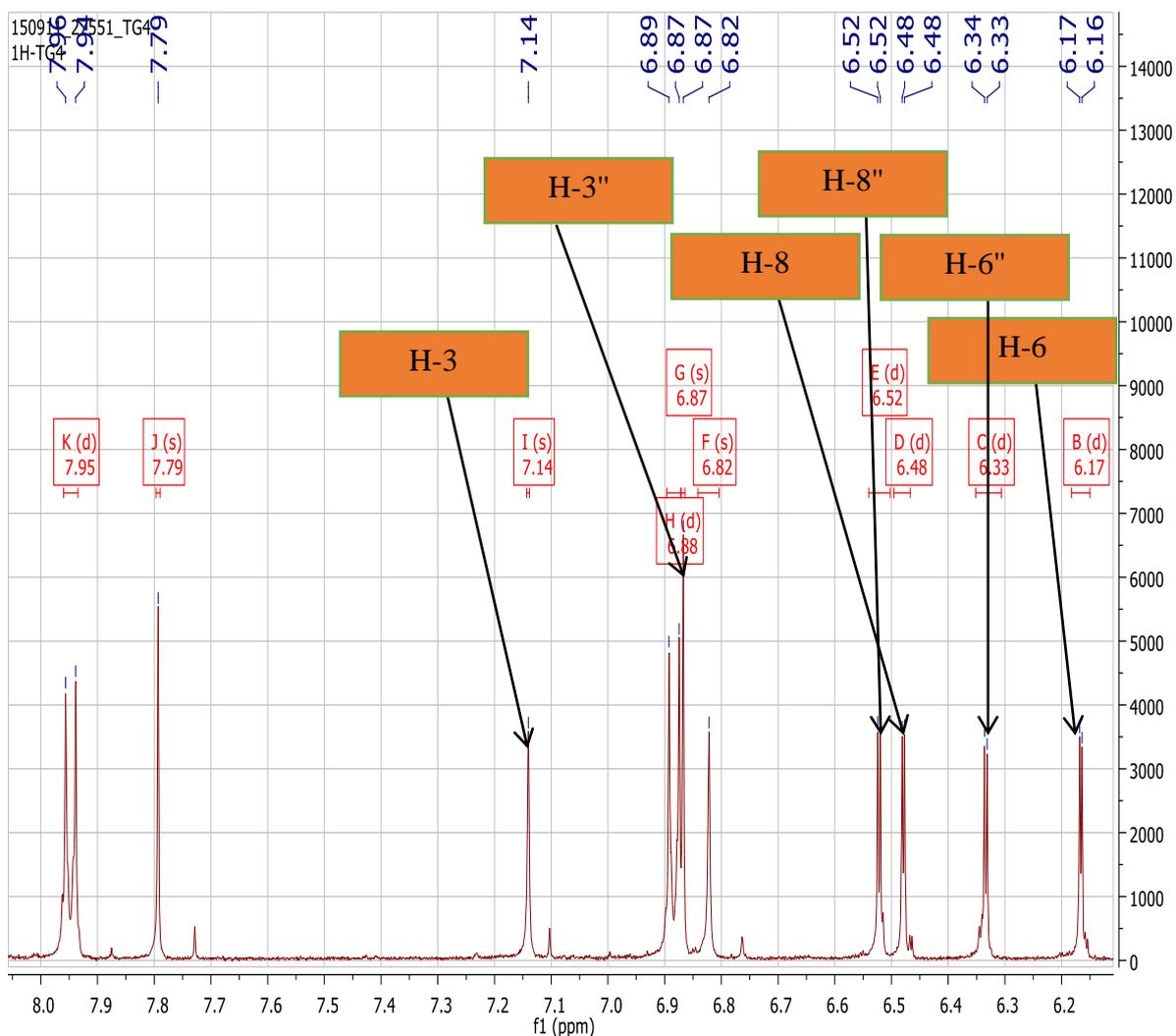


Figure 32b: Spectre RMN-¹H élargi (500 MHz, DMSO-*d*₆) de TGF₁₀

Les spectres APT (Fig. 33a), (Fig. 33b) et (Fig. 33c) présentent 29 signaux, composés d'un méthoxyle à δ_C 56,6, dix méthines incluant deux signaux de carbone à δ_C 103.3 et 108.0, dix huit atomes de carbone quaternaires comprenant deux groupes carbonyle à δ_C 182.2 et 182.1.

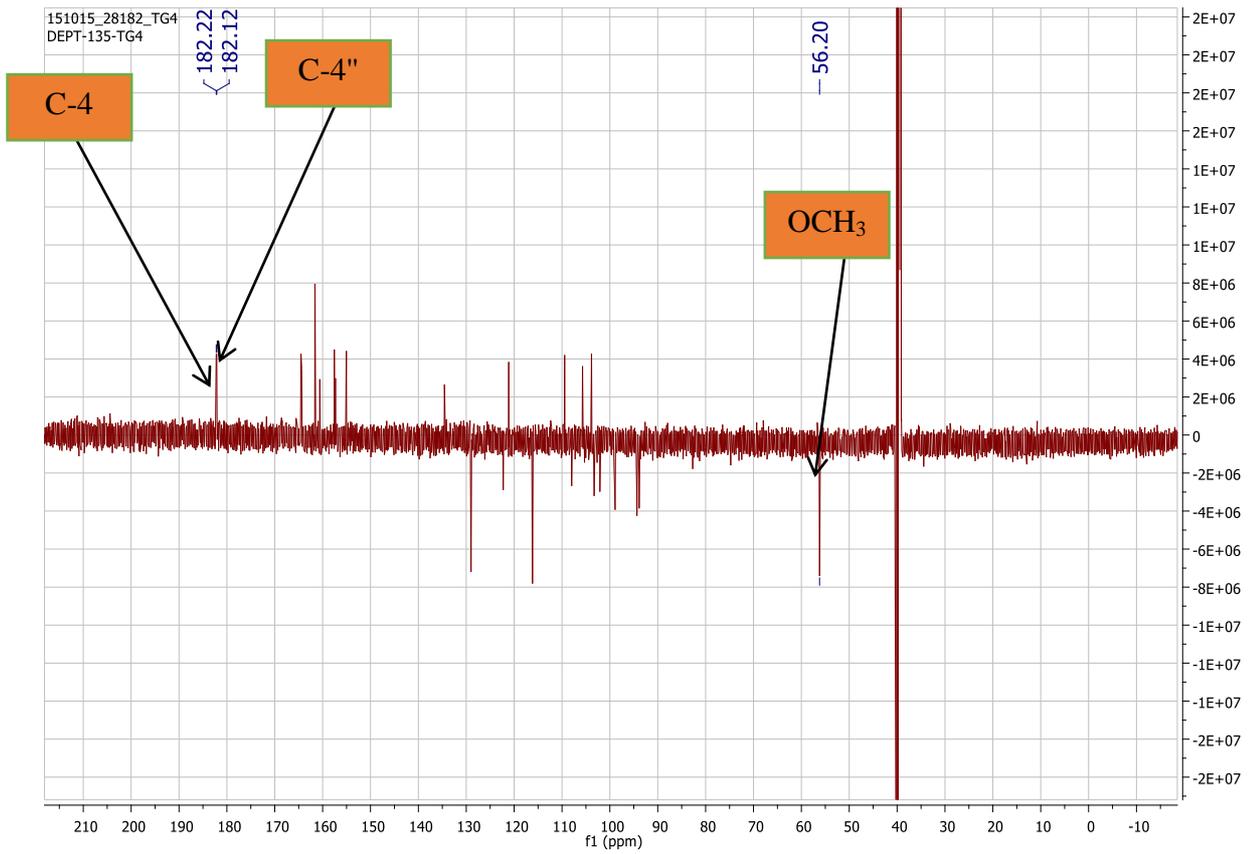


Figure 33a: Spectre APT de TGF₁₀

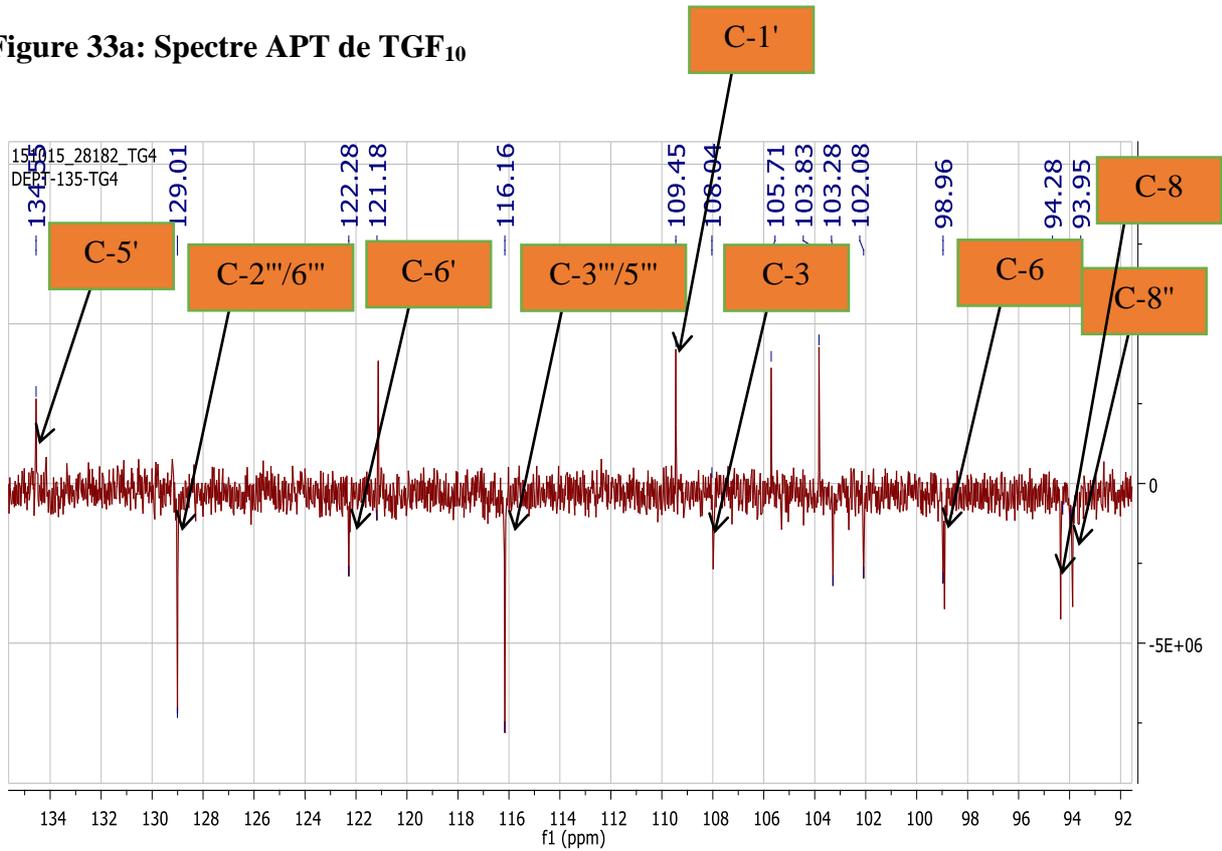


Figure 33b: Spectre APT élargi de TGF₁₀

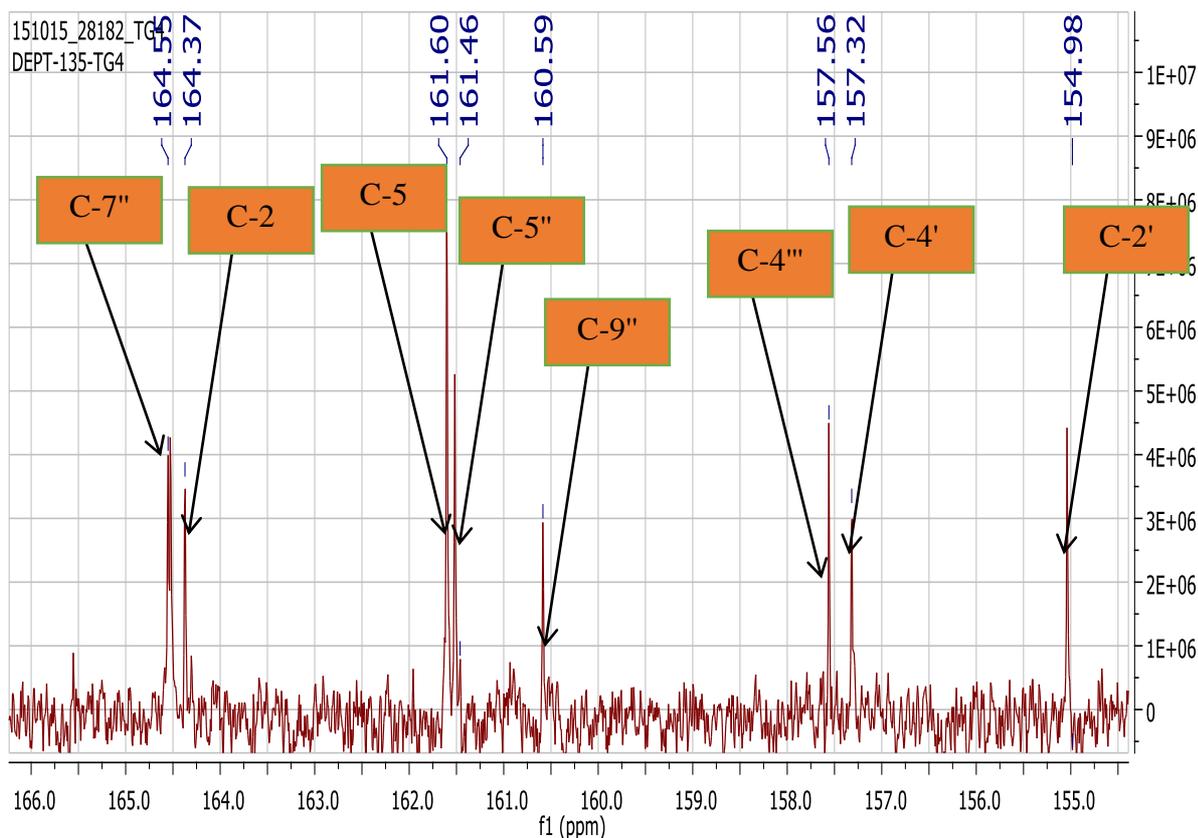
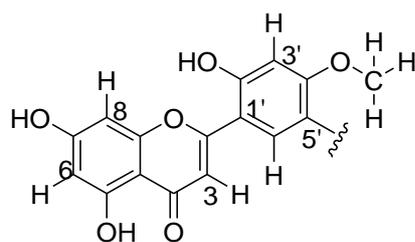


Figure 33c: Spectre APT élargi de TGF₁₀

Le spectre HMBC (Fig. 35) présente des corrélations entre le proton H-3' (δ_H , 6,82) et les atomes de carbone C-1' (δ_C 109.5), C-2' (δ_C 155.0), C-4' (δ_C 157.3) et C-5' (δ_C 133,4); une autre corrélation remarquable a été observée entre le groupe méthoxy δ_H 3,78 (s, OCH₃-4') et le carbone ascendant à δ_H 157,3 (C-4') (Sch. 2). Sinon, en se référant à la position du groupe méthoxyle, l'analyse du spectre NOESY (Fig. 37) indique une corrélation entre ce groupe et le proton à δ_H 6,82 (s, H-3') (Sch. 2), soulignant une relation étroite entre ce cycle B et celui d'Ochnaflavone. (Okigawa *et al.*, 1973); de plus, le noyau B du composé TGF₁₀ porte un groupe hydroxyle supplémentaire qui induit le déplacement vers les champs forts des carbone à δ_C 102.1 (C-3') et δ_C 109.5 (C-1'). De plus, les corrélations HMBC entre H-3 (δ_H 7.14) et les atomes de carbone C-1' (δ_C 109.5) et C-2 (δ_C 164.4) sont en accord avec la présence d'un groupement apigénine substitué avec un cycle benzène-triol, à savoir l'isoétine **122**.



122

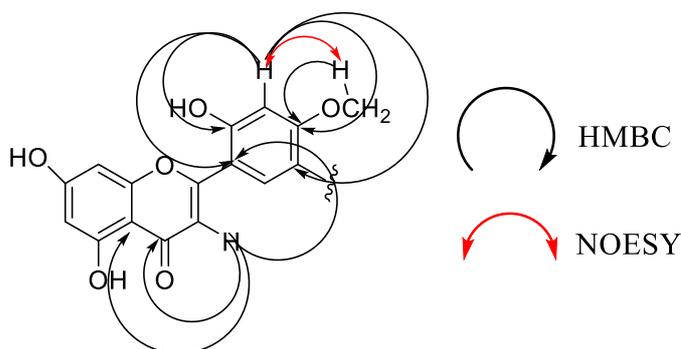
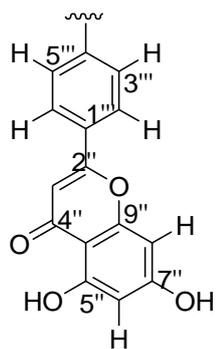


Schéma 2: Quelques corrélations HMBC et NOESY du fragment isoétine

L'autre unité partielle de **TGF**₁₀ a été déterminée en utilisant le spectre HMBC (Fig. 35); L'analyse complémentaire permet d'établir des corrélations entre: le singulet à 6,79 ppm (H-6') et les carbones C-5', C-4' et C-2; entre (H-3) à 7,14 ppm et les carbones C-1' et C-2; entre le proton (H-3') à 6,82 ppm et les carbones C-1', C-2', C-4' et C-5', justifiant ainsi la liaison C-2-C-1'); des corrélations supplémentaires entre le proton (H-2''') à 7,96 ppm et les carbones C-1''', C-4''' et C-2'', puis entre le proton (H-3'') à 6,87 ppm et les carbones C-2'', C-1'', C-10'' et C-2'', justifiant ainsi la liaison C-2''-C-1'') (Sch. 3). Les deux unités flavonoïdes pourraient donc être connectées après analyse du spectre NOESY (Fig. 37). Les pics croisés observés entre H-3'' (δ_H , 6.90) et OCH₃ (δ_H , 3.78) ont déjà été mentionnés et H-6' (δ_H , 7,79) et H-5'' (δ_H , 6,95) ont permis de localiser la liaison interflavonoïdique C-5'-O-C4'', liaison entre les unités d'isoétine **122** et d'apigénine **123**, respectivement. Le spectre HSQC (Fig. 34) a permis d'identifier les différentes corrélations protons-carbones ¹J.



123

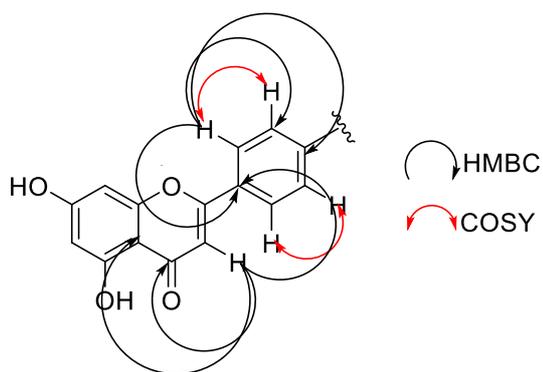


Schéma 3: Quelques corrélations HMBC et COSY du fragment apigénine.

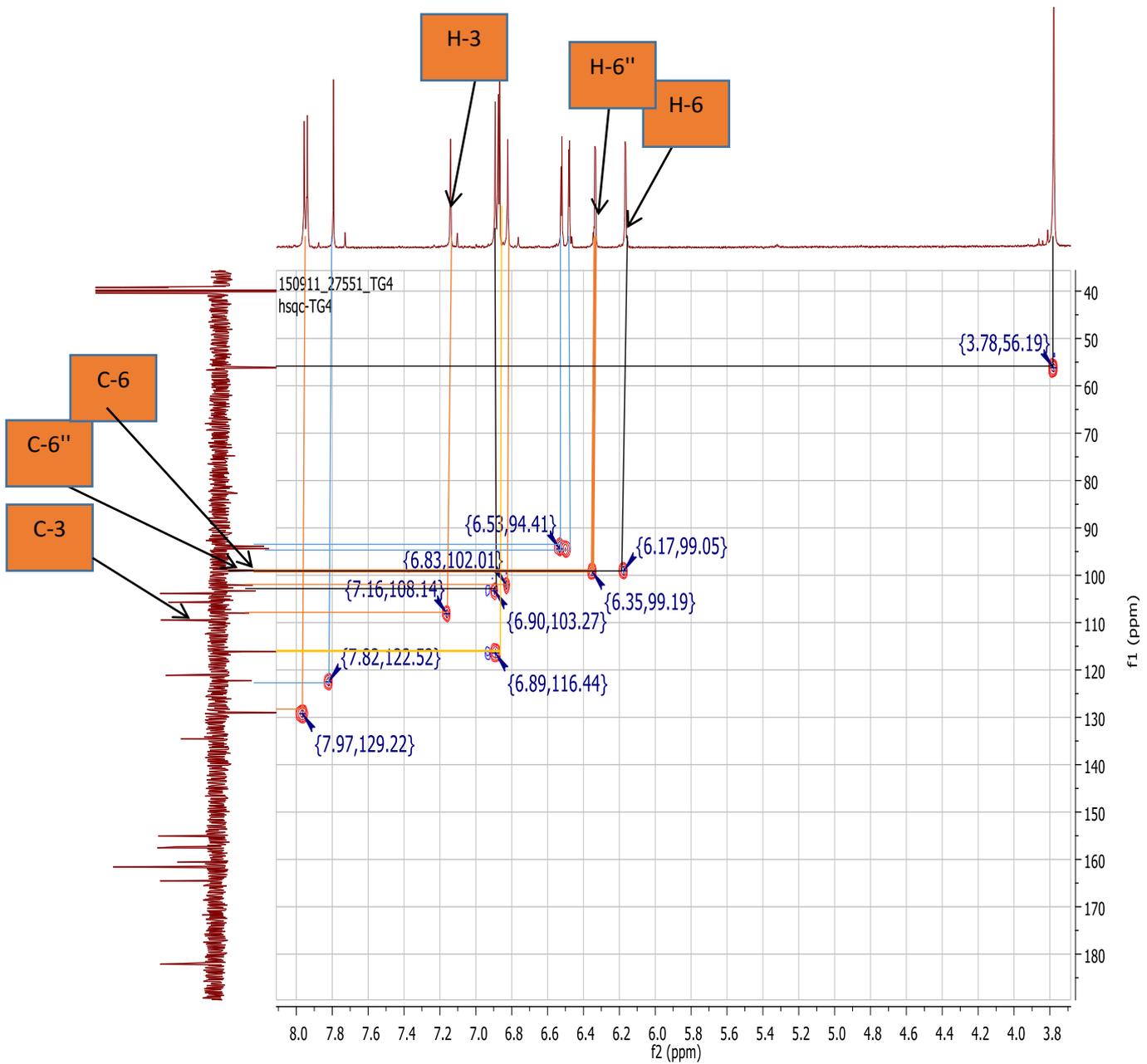


Figure 34: Spectre HSQC (DMSO- d_6) de TGF₁₀

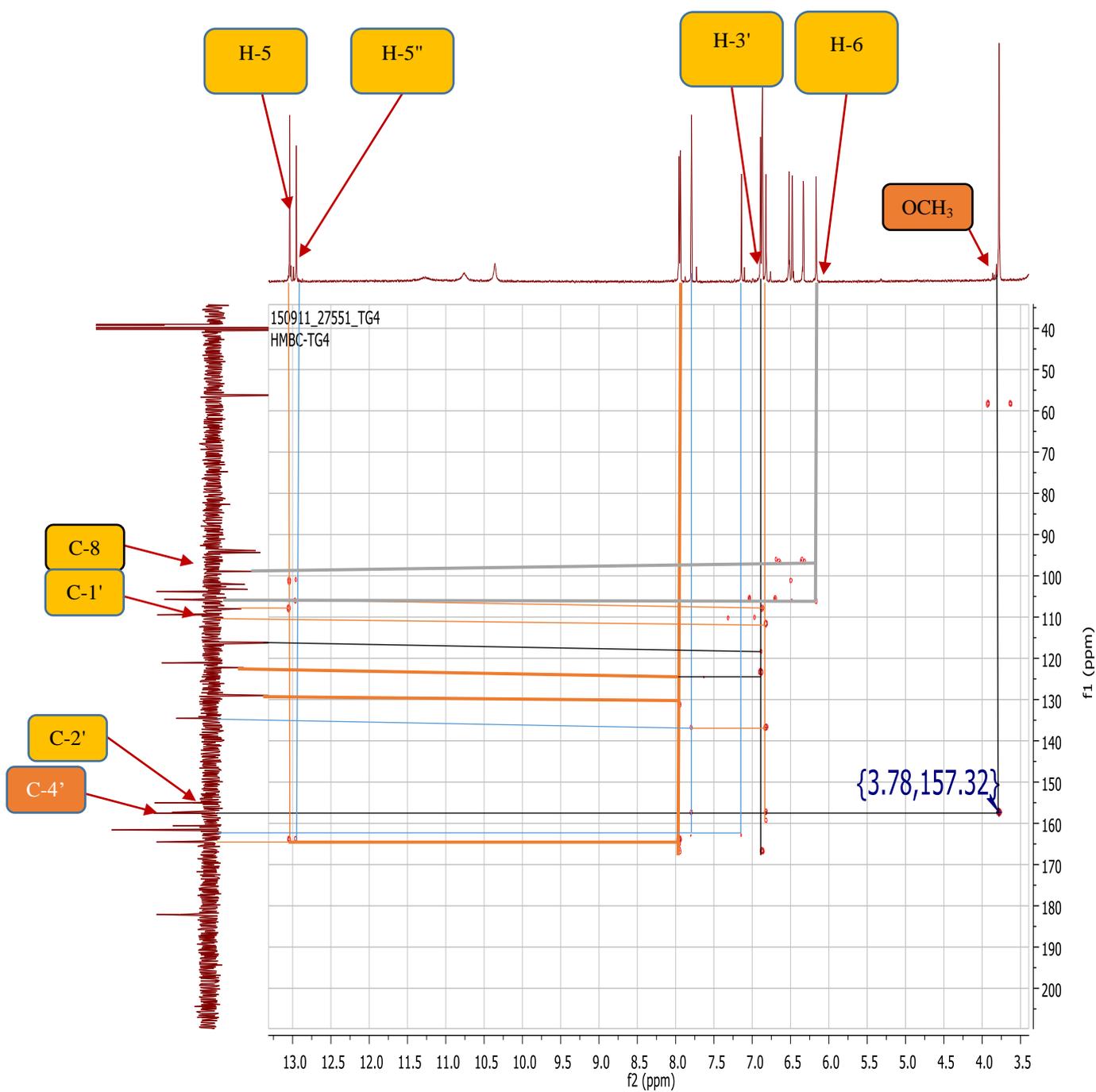


Figure 35: Spectre HMBC (DMSO-*d*₆) de TGF₁₀

Son spectre COSY (Fig. 36) présente les couplages du système AA'BB' entre le proton H-2'''-H-3''' et H-5'''-H-6'''

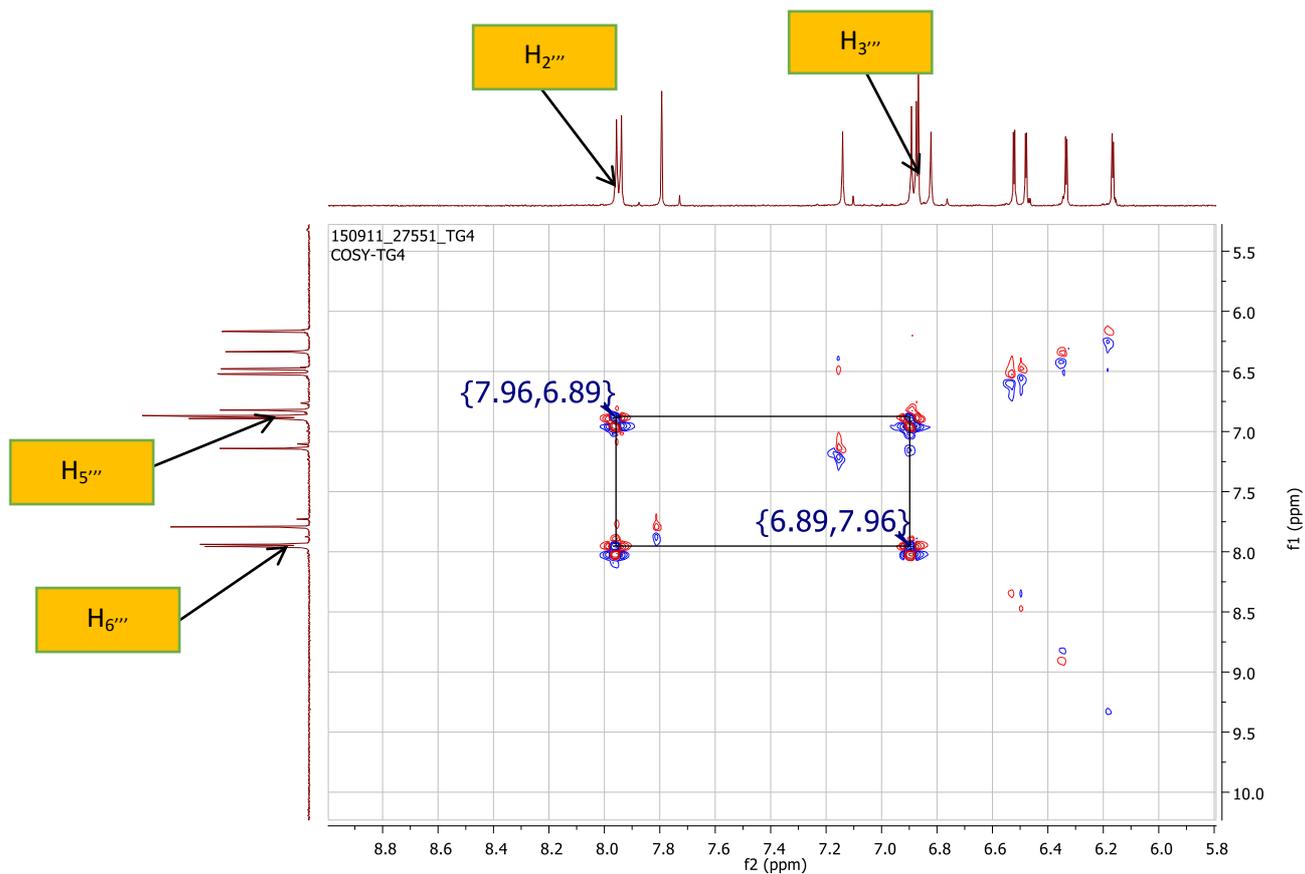


Figure 36: Spectre COSY ^1H - ^1H (500 MHz, DMSO- d_6) de TGF₁₀

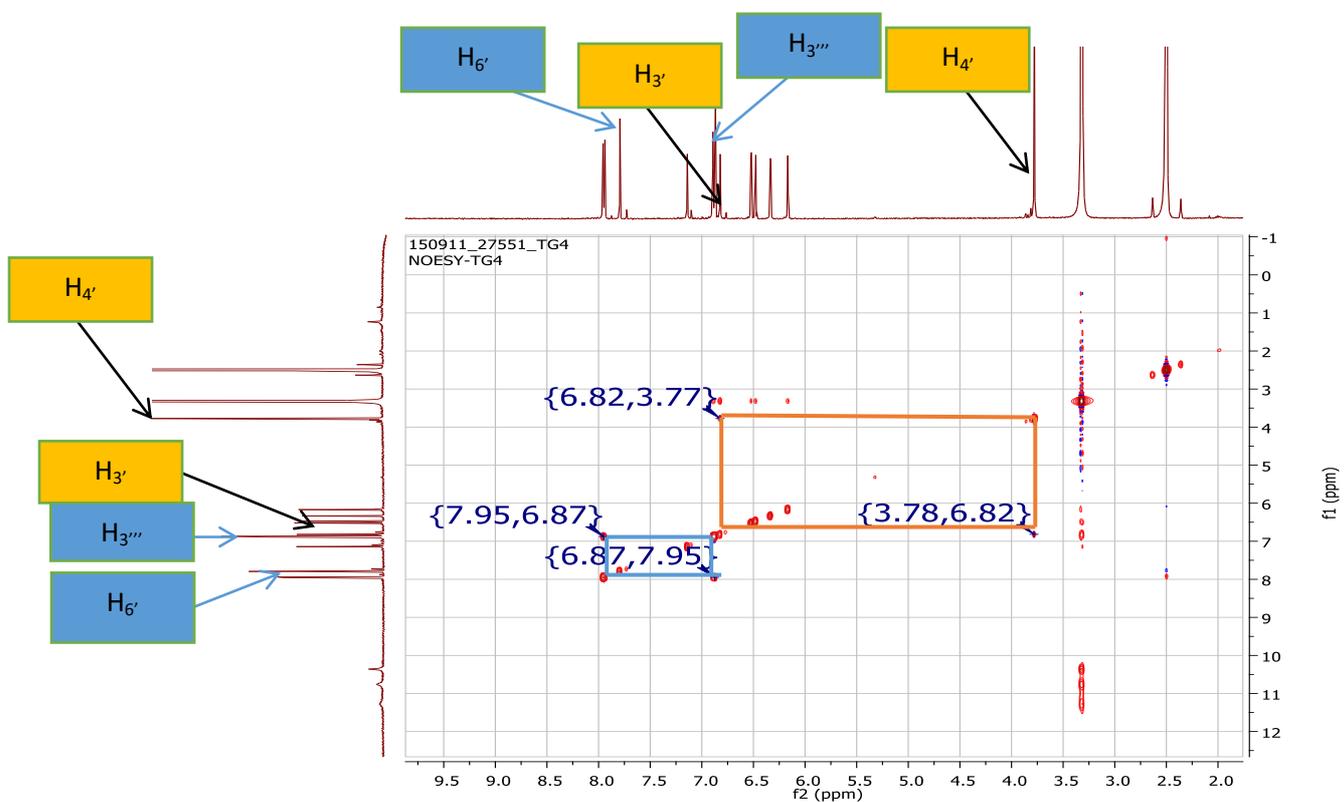
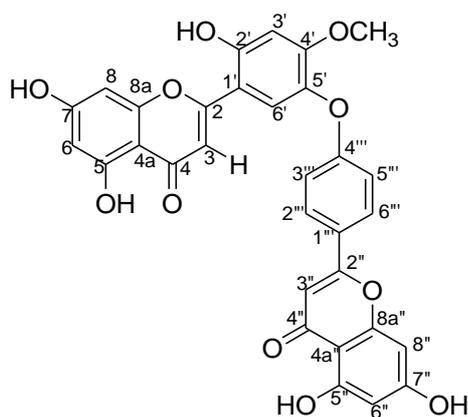


Figure 37: Spectre NOESY ^1H - ^1H (500 MHz, DMSO- d_6) de TGF₁₀

Des données supplémentaires provenant du spectre IR à 1028 et 1010 cm^{-1} ont également confirmé la présence d'une liaison C-O-C dans cette molécule. En conséquence, il a été conclu que la structure de TGF₁₀ est la 2'-hydroxy-4'-méthoxyochnaflavone **124**, nouveau composé naturel trivialement appelé triclisinone (**Tiam *et al.*, 2019**). Les assignations des données RMN-¹H et RMN-¹³C du composé **124** sont consignées dans le tableau 12.



124

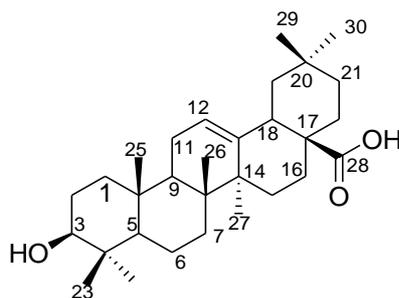
Tableau 12 : Données RMN-¹H (500 MHz, DMSO-*d*₆) et ¹³C (125 MHz, DMSO-*d*₆) de TGF₁₀

Position	δ _C	δ _H (m, J Hz)
1	/	/
2	164.4 s	/
3	108.0 d	7.14 (s)
4	182.2 s	/
5	161.6 s	/
5-OH	/	13.04 (s)
6	98.9 d	6.16 (d, 2.0)
7	164.5 s	/
8	94.4 d	6.48 (d, 2.0)
9	160.6 s	/
10	104.7 s	/
1'	109.5 s	/
2'	155.0 s	/
3'	102.1 d	6.82 (s)
4'	157.3s	/
5'	133.4 s	/
6'	122.3 d	7.79 (s)
1''	/	/
2''	164.4 s	/
3''	103.3 d	6.87 (s)
4''	182.1 s	/
5''	161.5 s	/
5''-OH	/	12.95 (s)
6''	99.0 d	6.33 (d, 2.0)
7''	164.6 s	/
8''	93.9 d	6.53 (d, 2.0)
9''	160.6 s	/
10''	103.5 s	/
1'''	122.6 s	/
2'''/6'''	129.0 d	7.68 (d, J = 9.0)
3'''/5'''	116.2 d	6.95 (d, J = 9.0)
4'''	157.6 s	/
4'-OCH ₃	56.2 q	3.78 (s)

^{a)} Déplacements chimiques confirmés par APT, HSQC, HMBC, COSY et NOESY

II.2.3.7. Identification de TGF₆

TGF₆ a été isolé sous forme de solide blanc dans le mélange CH₂Cl₂/MeOH. Sur son spectre de masse HRESI-MS en mode positif, on observe le pic de l'ion moléculaire [M+H]⁺ à *m/z* 457.3743, suggérant ainsi une formule moléculaire C₃₀H₄₈O₃ renfermant sept degrés d'insaturations. Son spectre IR montre des bandes d'absorption à 3510, 1715 et 1654 cm⁻¹ caractéristique des vibrations d'acides carboxyliques (OH, O-C=O) et oléfinique C=C dans sa structure. L'interprétation des spectres de RMN-¹H, ¹³C, HSQC et HMBC nous a permis de lui attribuer la structure **125**.



125

En effet, l'examen minutieux de son spectre RMN-¹H révèle la présence sept signaux méthyles apparaissant sous forme de singulets entre δ_H 0.61 et 1.10.

Un doublet dedoublé à δ_H 3.18 attribué à un proton situé au pied d'un hydroxyle en position 3.

Un proton oléfinique δ_H 5.14 (1H, t, H-12) attribué au proton H-12 des oléan-12-ènes (**Furuya et al., 1987**).

Un proton à δ_H 2.23 (1H, dd, H-18) d'un oléan-12-ène (**Furuya et al., 1987**).

Ces informations sont confirmées par le spectre de RMN-¹³C avec les signaux de carbones à δ_C 121.7 et 145.0 attribués à C-12 et C-13 des oléan-12-ènes (**Mahato et Kundu 1994**). Un signal du carbonyle d'un acide à δ_C 181.2 suggérant la présence d'un groupement carboyle dans la la molécule de TGF₆

La comparaison des valeurs des déplacements chimiques des ¹H et ¹³C du composé **125** avec celles de la littérature nous a permis d'identifier ce composé à l'acide Oléanique isolé préalablement *Cordia trichotoma* (**Menezes et al., 2001 ; Dini et al., 2001**), de *Byrsonima crassa* (**Higuchi et al., 2008**)

II.2.3.8. Identification de TGF₇

Le composé TGF₇ se présente sous forme de poudre jaune amorphe soluble dans le mélange CH₂Cl₂/MeOH. Il donne une coloration rouge au test de Shinoda caractéristique des flavonoïdes. Sur son spectre de masse HRESIMS en mode positif (Fig. 38) on observe le pic de l'ion *pseudo* moléculaire [M+H]⁺ *m/z* 319.0441 suggérant ainsi la formule moléculaire C₁₅H₁₀O₈ renfermant onze degrés d'insaturations. Son spectre IR présente les bandes d'absorption à 3400 cm⁻¹ (hydroxyle), 1630 cm⁻¹ caractéristique des carbonyles conjugués et chélatés, 1558 ; 1600 et 1028 cm⁻¹ caractéristiques des noyaux benzéniques et des vibrations C-O-H.

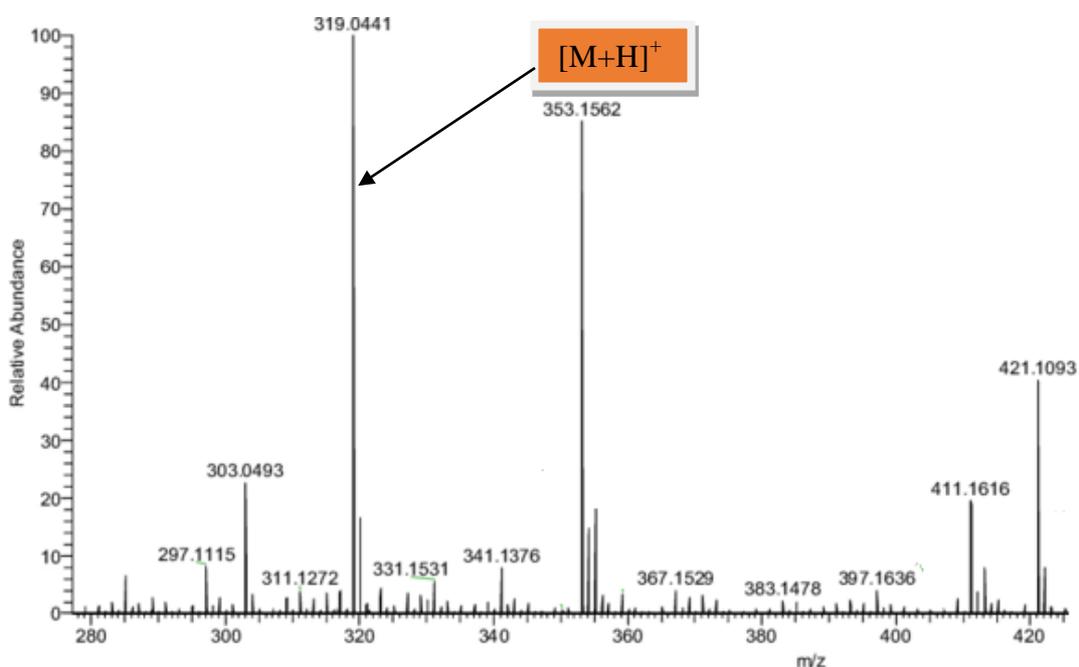
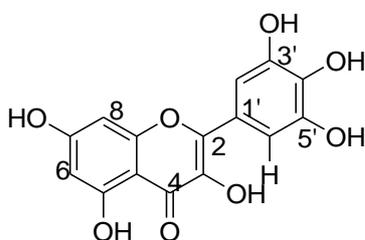


Figure 38: Spectre de masse HRESIMS (+) de TGF₇

L'analyse des spectres de RMN-¹H, ¹³C, HSQC et HMBC nous a permis d'attribuer à TGF₇ la structure **126**.



126

Son spectre RMN-¹H (Fig. 39) présentent six protons hydroxyles dont les signaux apparaissent sous forme de singulets avec un signal intense du noyau aromatique B intégrant

pour deux protons, c'est-à-dire qu'ils sont symétrique respectivement à δ_H 9.48 (H-3' et H-5'), à δ_H 8.73 (H-4'), à δ_H 10.18 (H-7), à δ_H 10.68 (H-3) et à δ_H 13.43 (H-5). Deux signaux symétriques sur le noyau aromatique C apparaissent sous forme de doublet respectivement à δ_H 6.08 (H-2' et H-6'). Deux signaux métha l'un de l'autre à δ_H 5.94 (1H, d, J= 2,1Hz, H-6) et à δ_H 6,02 (1H, d, J= 2,1Hz, H-8)

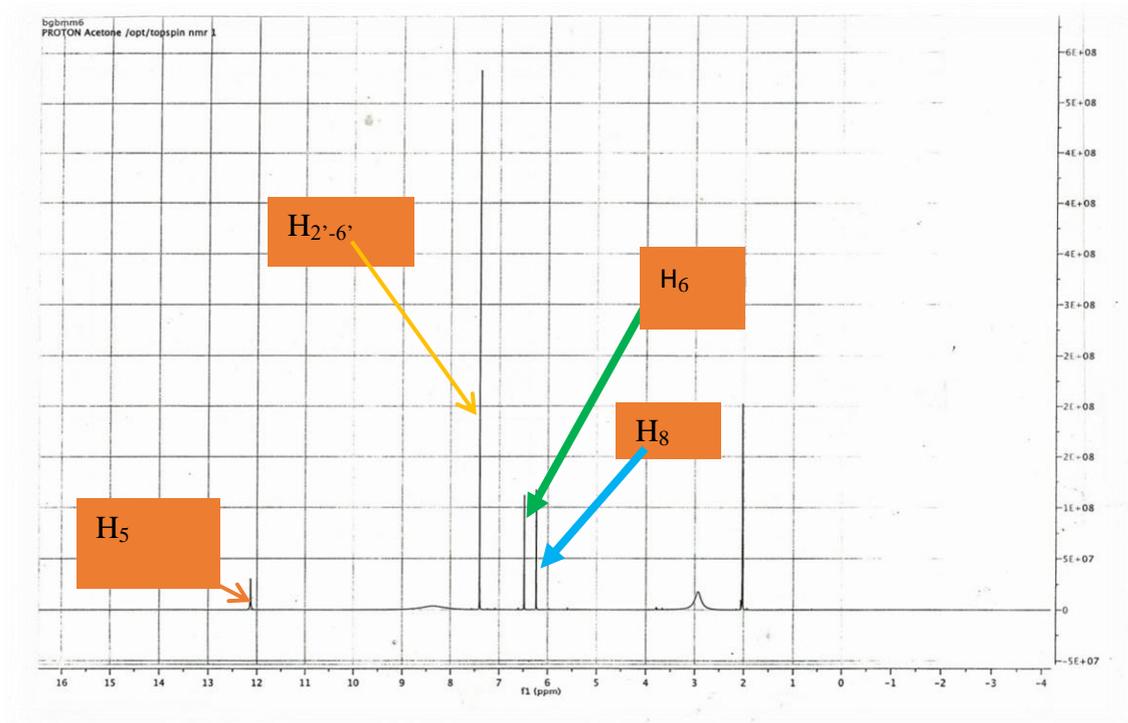
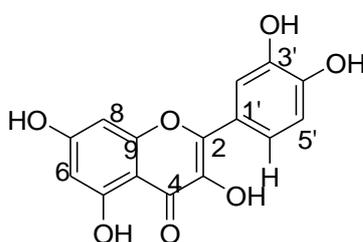


Figure 39: Spectre RMN-¹H (300 MHz ; DMSO-*d*₆) du Compose TGF₇

Son spectre RMN ¹³C présente 15 signaux de carbone dont douze carbones aromatiques huit quaternaires qui apparaissent à δ_C 166.4 (C-7); δ_C 161.8 (C-5); δ_C 158.8 (C-9); δ_C 104.5 (C-10) correspondant au cycle A et sur le cycle C, nous avons deux carbones symétrique respectivement à δ_C 107.9 (C-6' et (C-2')) et δ_C 146.1 (C-3') et (C-5'), nous avons également des carbones à δ_C 121.8 (C-1'); δ_C 135.2 (C-4') correspondant aussi au cycle A. La comparaison des valeurs des déplacements chimiques des ¹H et ¹³C du composé TGF₇ avec celles de la littérature nous a permis de l'identifier à la myrecetine isolé préalablement de *Myrtus communis* (Hinou *et al.*, 1988).

II.2.3.9. Identification de TGF₈

Le composé TGF₈ se présente sous forme de poudre jaune amorphe soluble dans le mélange CH₂Cl₂/MeOH. Il répond positivement au test de Shinoda caractéristique des flavonoïdes. Sur son spectre de masse HRESIMS en mode positif on observe le pic de l'ion *pseudo* moléculaire [M+H]⁺ à *m/z* 303.0134 suggérant ainsi la formule moléculaire C₁₅H₁₀O₇ renfermant onze degrés d'insaturations. Son spectre IR présente les bandes d'absorption à 3400 cm⁻¹ (hydroxyle), 1630 cm⁻¹ caractéristique des carbonyles conjugués et chélaté, 1558; 1600 et 1028 cm⁻¹ caractéristiques des noyaux benzéniques et des vibrations C-O-H. L'analyse des spectres de RMN-¹H, ¹³C, HSQC et HMBC nous a permis d'attribuer à TGF₈ la structure **127**.



127

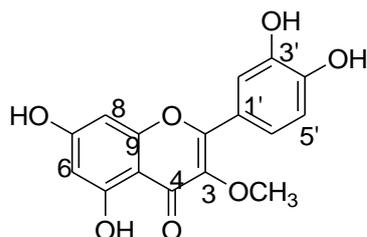
Ce composé est similaire à la myrecétine. Son spectre RMN-¹H présentent un noyau benzénique 1',3',4'-trisubstitué à δ_H 7.72 (d; J = 2,1 Hz; H-2'); δ_H 6.92 (d; J = 8 Hz, H-5') et δ_H 7.51 (dd; J = 2,1 , 8 Hz; H-6').

Deux signaux *métha* couplés d'un système AB à δ_H 6.10 (d; J = 2,0 Hz; H-6) et 6.42 (d; J = 2,0 Hz; H-8).

Les sous structures obtenues à bases des spectres RMN-¹³C, COSY, HSQC et HMBC, corroborent à celles de la Quercétine isolé préalablement d'*Asperula arvensis* (Guvenalp et Demirezer 2005)

II.2.3.10. Identification de TGF₉

Le composé TGF₉ se présente sous forme d'une poudre jaune amorphe soluble dans le méthanol et répond positivement au test de Shinoda en donnant une coloration rouge caractéristique des flavonoïdes. Sur son spectre de masse HRESIMS en mode positif on observe le pic de l'ion *pseudo* moléculaire $[M+H]^+$ à m/z 317.05321. Suggérant ainsi la formule moléculaire C₁₆H₁₂O₇ renfermant onze degrés d'insaturations. L'analyse des spectres de RMN-¹H, ¹³C, HSQC et HMBC nous a permis d'attribuer à TGF₉ la structure **128**.



128

Ce composé est similaire à la Quercétine.

Son spectre RMN-¹H présentent un noyau benzénique 1',3',4'-trisubstitué à δ_H 7.68 (d; J = 2,1 Hz; H-2') ; δ_H 6.96 (d; J = 8 Hz, H-5') et δ_H 7.48 (dd; J = 2,1 , 8 Hz; H-6'). Un proton méthoxylé à δ_H 3.79 (3H, OCH₃) au lieu de δ_H 10.68 (1H, C-3) comme dans la quercétine.

Deux signaux *métha* couplés d'un système AB à δ_H 6.14 (d; J = 2,0 Hz; H-6) et 6.48 (d; J = 2,0 Hz; H-8).

La comparaison des valeurs des déplacements chimiques des ¹H et ¹³C du composé TGF₉ avec celles de la littérature nous a permis de l'identifier à la 3-méthoxyquercétine isolé préalablement de *Polygonum hydropiper* (Peng *et al.*, 2003).

II.2.3.11. Identification de CBT₅

CBT₅ a été isolé sous forme d'un solide blanc soluble dans le système CH₂Cl₂/MeOH (20/1). Son point de fusion se situe entre 220-222 °C. Sur son spectre de masse ESI-MS en mode positif (Fig. 40) on observe le pic de l'adduit moléculaire [M + Na]⁺ à *m/z* 180,9 suggérant ainsi après élimination du sodium, la formule moléculaire C₄H₆O₃N₄ renfermant quatre degré d'insaturations. Son spectre IR montre des bandes d'absorptions à 3435, 3341, 3060, 1385 cm⁻¹ caractéristiques des groupes NH₂ d'amide primaire ; NH d'amide secondaire; C-N d'amide primaire ; et 1715 cm⁻¹ (C=O) caractéristique des cycles à cinq des lactames (Silverstein et Webster 1998).

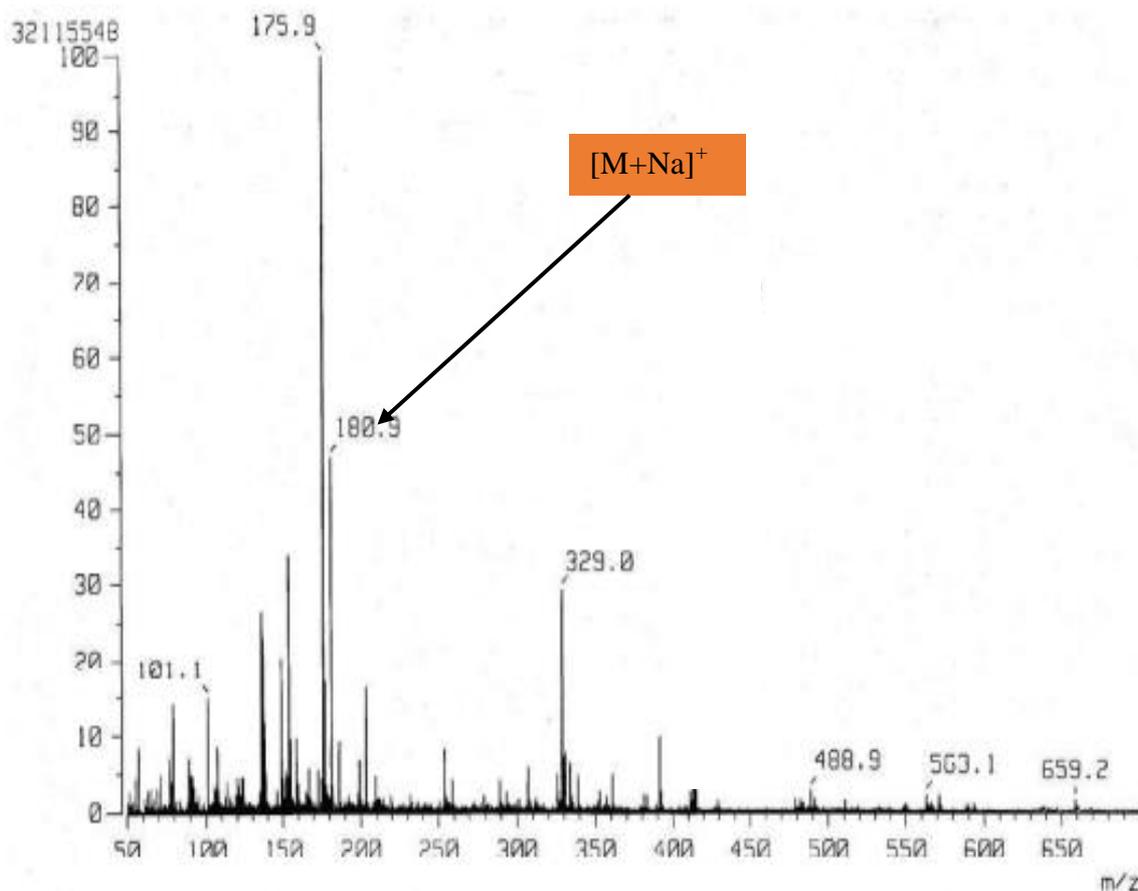
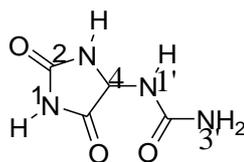


Figure 40: Spectre de masse de CBT₅

L'analyse des spectres de RMN-¹H, ¹³C, HSQC et HMBC nous a permis d'attribuer à CBT₅ la structure **87**.



87

En effet, Le spectre RMN-¹H (Fig. 41) de CBT₅ révèle des signaux à δ_H 3.36 (1H, *s*, H-4), 5,25 (1H, *dd*, H-1'), 5,80 (2H, *s*, H-3'), 6,89 (1H, *d*, H-3) et 8,06 (1H, *s*, H-1). Le second pic est attribuable à un groupe méthine lié à des sites attracteurs, tandis que les quatre autres pics correspondent à des protons liés aux hétéroatomes.

Les spectres RMN ¹³C (Fig. 42) révèlent la présence bien résolue de quatre atomes de carbone, dont trois qui apparaissent respectivement à δ_C 156,7 (C-2'), 157.3 (C-2) et 173,6 (C-5) attribuables à des carbonyles et un signal de méthine à δ_C 62.4 (C-4).

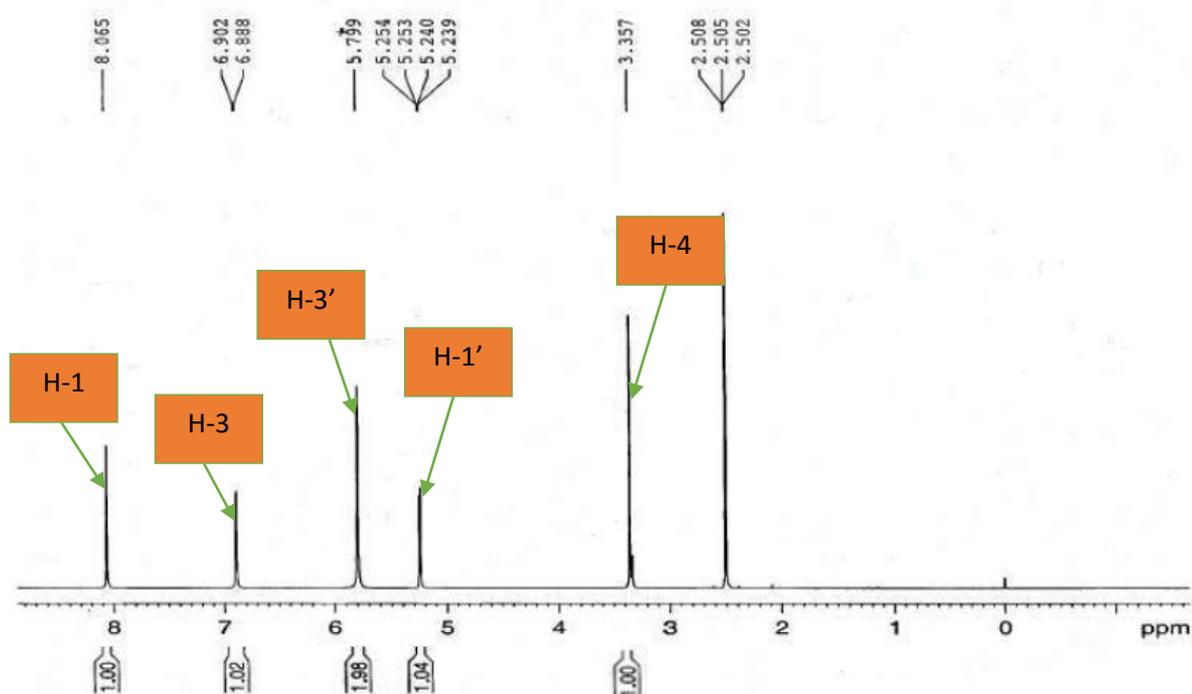


Figure 41: Spectre RMN-¹H (500MHz, DMSO-*d*₆) de CBT₅

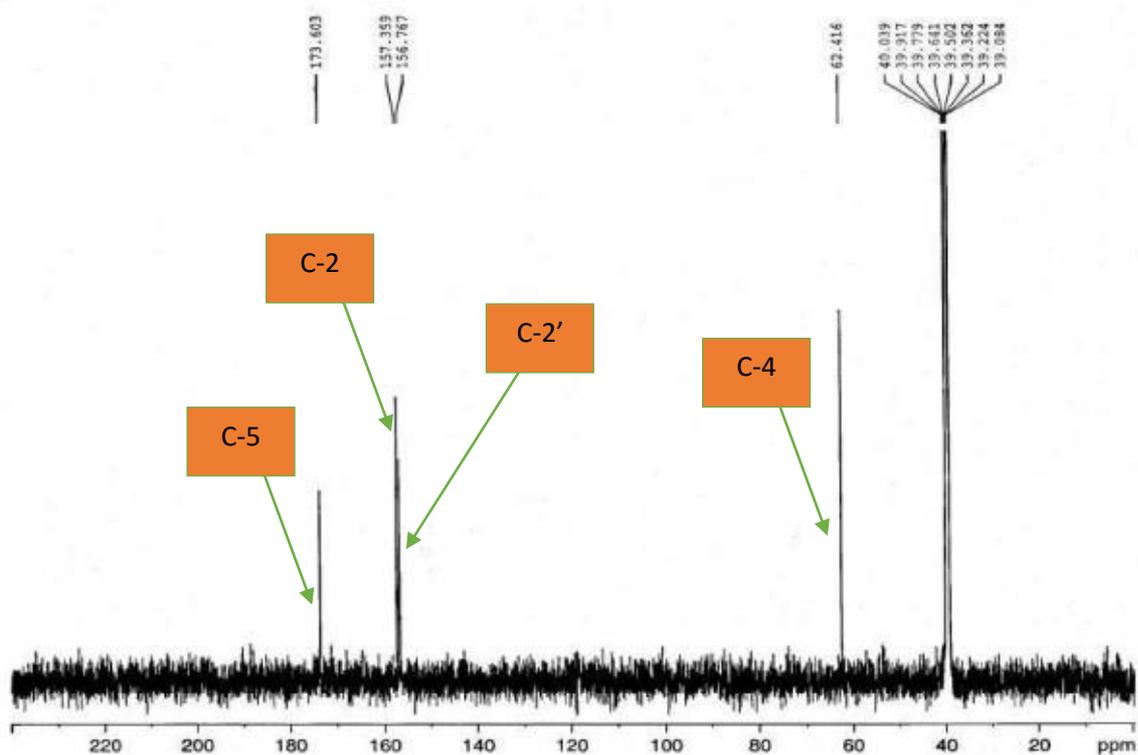


Figure 42: Spectre RMN-¹³C (125MHz, DMSO-*d*6) de CBT₅

Les sous structures obtenues à bases des spectres RMN 1D et 2D corroborent celles de l'Allantoïne (**87**) isolé par Butler en (1961) et récemment de la plante *Moringa stenopelata* par Yadessa en 2017 (Tab. 13). Il est connue pour ses propriétés anti-inflammatoires, anti-asthmatiques et cicatrisantes (**Barbakadze et al., 2009 ; Lee et al., 2010**).

Tableau 13: Données de RMN-¹H (DMSO-*d*₆, 500 MHz) et ¹³C (DMSO-*d*₆, 125 MHz) de CBT₅ et l'allantoïne

Position	CBT ₅		Allantoïne (Yadessa, 2017)	
	δ_H	δ_C	δ_H	δ_C
1	8,06	/	10,70	/
2	/	157,4	/	157,9
3	6,89	/	8,10	/
4	3,36	62,4	5,21	62,8
5	/	173,6	/	174,00
1'	5,25	/	6,97	/
2'	/	156,8	/	157,3
3'	5,80	/	5,85	/

^{a)} Déplacements chimiques confirmés par DEPT-135, HSQC, HMBC, COSY et NOESY

II.2.3.12. Détermination structurale de CBT₄

Le composé CBT₄ a été isolé sous forme d'un solide blanc soluble dans le mélange CH₂Cl₂/MeOH (20/1). Il répond positivement au test de Dragendorff caractéristique des alcaloïdes. Sur son spectre de masse ESI-MS (Fig 43) en mode positif on observe le pic de l'adduit moléculaire [M + H]⁺ m/z 257,4, confirmé par le pic de l'ion pseudo moléculaire [M + Na]⁺ m/z 279,1603 observé dans son spectre haute résolution LC-MS (Fig 44) compatible avec la formule moléculaire C₇H₈N₆O₅Na renfermant sept insaturations. Son spectre IR montre des bandes d'absorptions à 3125, 3060, 1810, 1740, 1680, 1560 cm⁻¹ caractéristiques des groupes NH; N; C-N; C=O.

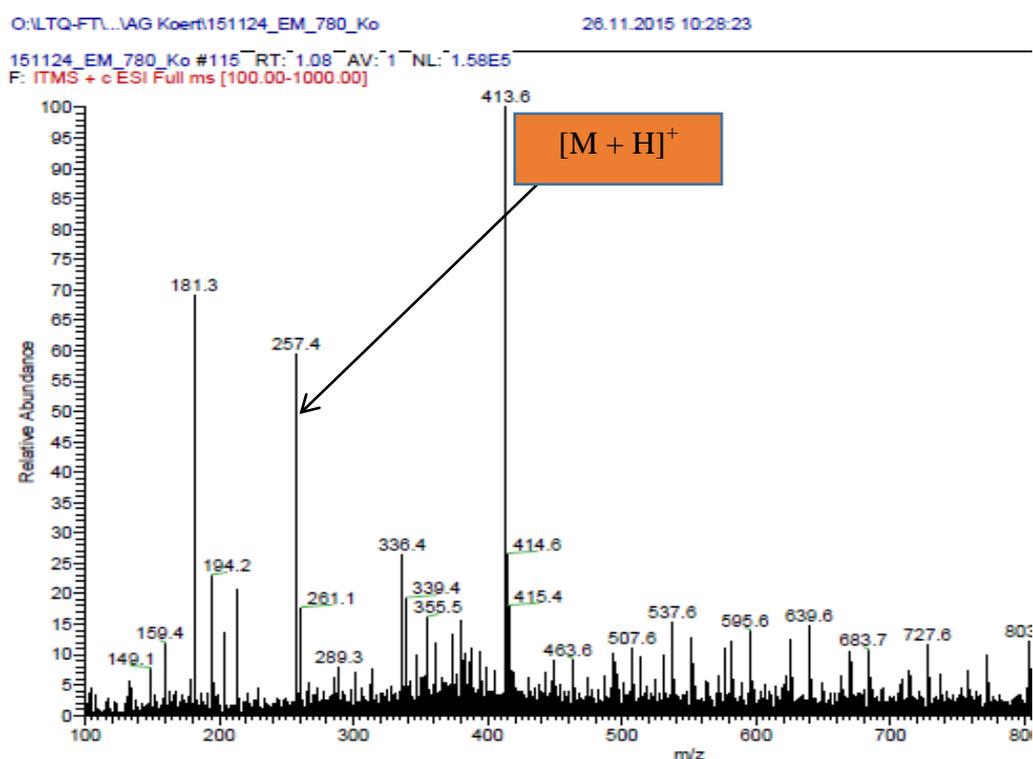


Figure 43: Spectre de masse (+) - ESIMS du composé CBT₄

Des données supplémentaires du spectre de masse ont montré d'autres pics à m/z 159,4 ([M + H]⁺) et 181,3 ([M + Na]⁺), une autre donnée supplémentaire de ce spectre de masse est observé à m/z 413,6 caractéristiques du composé plus allantoïne (87). Ces faits pourraient suggérer à ce stade que le composé CBT₄ apparait comme un dérivé de l'allantoïne (87) qui est un marqueur taxonomique des plantes du genre *Cordia*. CBT₄ serait symétrique car possédant 7 carbones alors que l'Allantoïne n'en possède que 4.

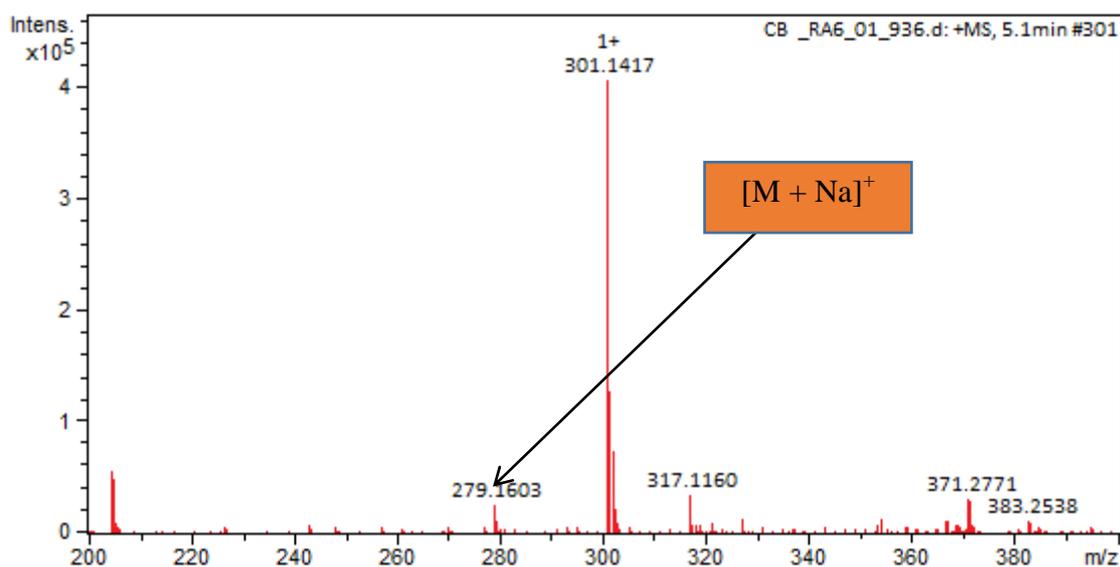


Figure 44: Spectre LC-MS du composé CBT₄

Le spectre RMN-¹H (Fig 45) de CBT₄ révèle des pics très importants à δ_H 6.88 (d, $J = 2.0$ Hz, H-6), δ_H 5,23 (d, $J = 2.0$ Hz, H-4) et à δ_H 8.04 (s, H-1) ppm.

Son spectre RMN-¹³C (Fig 46) présente quatre signaux distincts à δ_C 62,4 (C-4/4'), 157,4 (C-2/2'), 173,6 (C-5/5') et 156,8 (C-7). Alors que le composé CBT₄ possède sept atomes de carbone, la présence de quatre signaux peut supposer l'apparition d'une symétrie dans sa structure. Le spectre DEPT-135 (Fig 47) a révélé le signal d'un méthine à δ_C 62,4 (C-4/4')

Ces observations ont été confirmées par son spectre HSQC (Fig 48) qui n'indique qu'une corrélation entre le proton à δ_H 5,23 (H-4/4') et le carbone à δ_C 62,4 ppm.

Par conséquent, les autres protons présentés par le spectre RMN-¹H peuvent être attribués à des protons liés à des hétéroatomes.

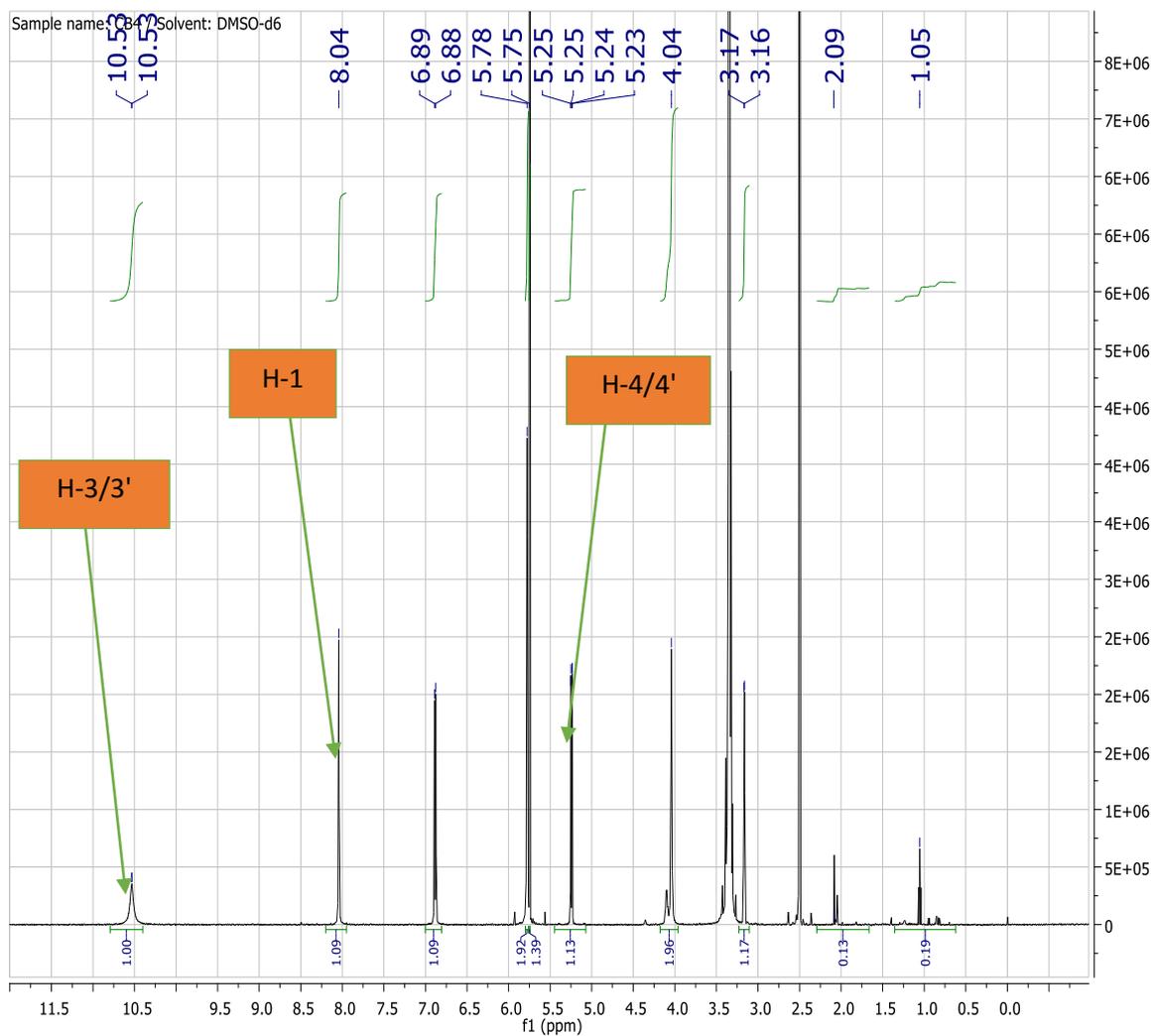


Figure 45: Spectre RMN ^1H (500 MHz, DMSO- d_6) du composé CBT $_4$

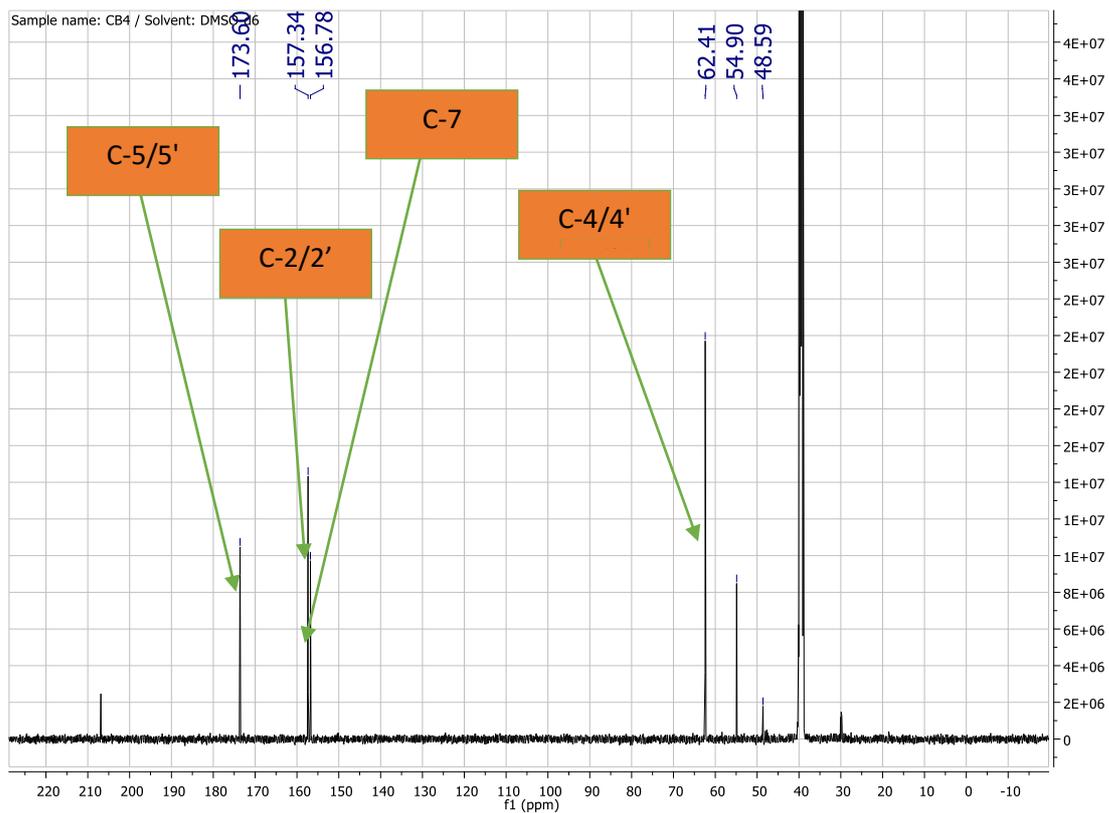


Figure 46: Spectre RMN ^{13}C (125 MHz, DMSO- d_6) du composé CBT $_4$

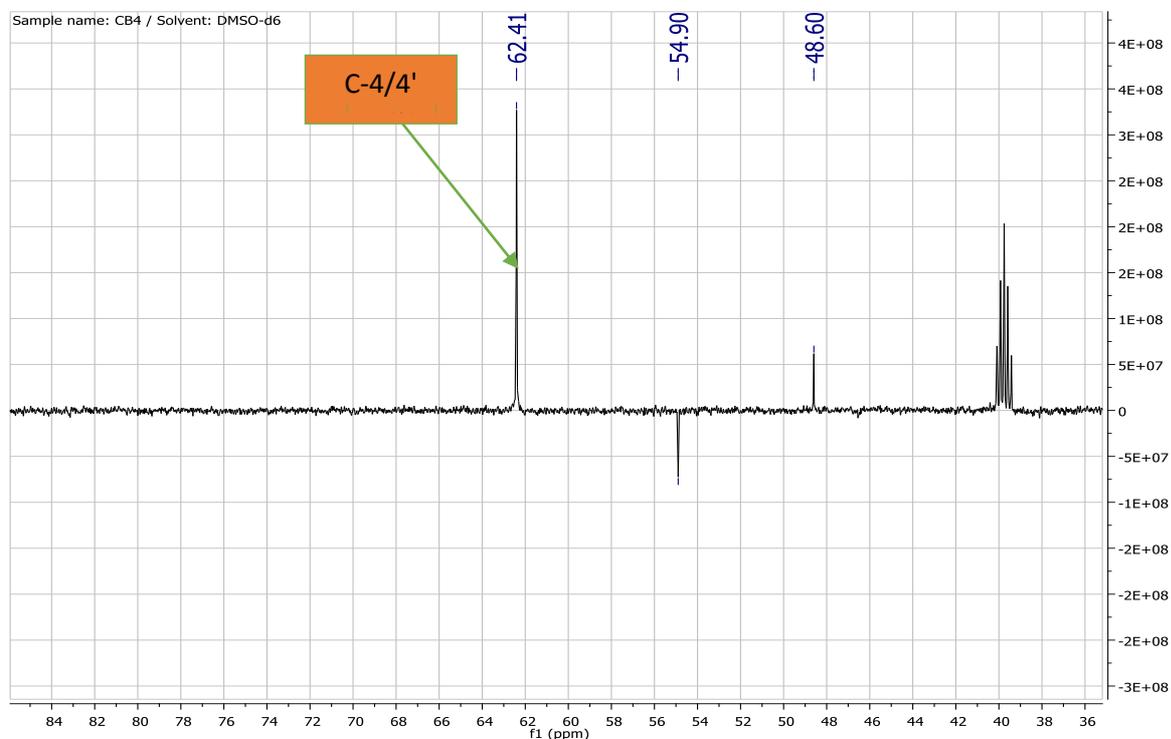


Figure 47: Spectre DEPT-135 (125 MHz, DMSO- d_6) du composé CBT $_4$

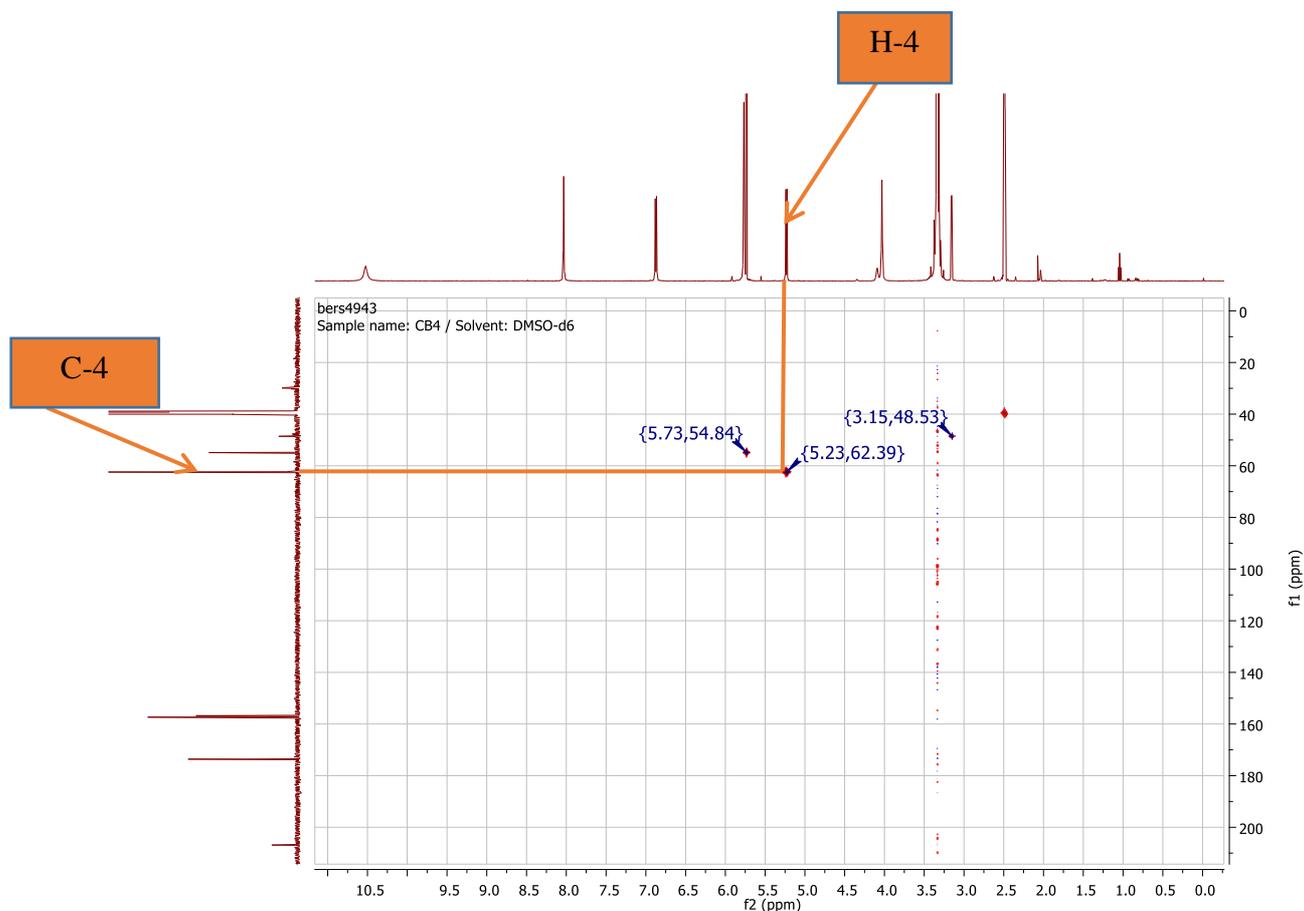


Figure 48: Spectre HSQC (500 MHz, DMSO-*d*₆) du composé CBT₄

Le spectre COSY (Fig 49) du composé CBT₄ révèle des corrélations entre les protons à δ_{H} 6.88 (H-6/6') et δ_{H} 5,23 (H-4/4'), les protons à δ_{H} 8.04 (H-3/3') et δ_{H} 5,23 (H-4/4').

Le spectre HMBC (Fig 50) présente des corrélations remarquables entre les protons à δ_{H} 5,23 (H-4) et les atomes de carbone à δ_{C} 156,8 (C-7) et 173,6 (C-5/5'), entre les protons à δ_{H} 6,88 (H-6) et les atomes de carbone à δ_{C} 156,8 (C-7), δ_{C} 173,6 (C-5/5') et 62,4 (C-4/4'), entre les protons à δ_{H} 8,04 (H-3/3') et les atomes de carbone à δ_{C} 157,3 (C-2/2'), δ_{C} 173,6 (C-5/5') et 62,4 (C-4/4') (Sch. 4).

Le spectre NOESY (Fig 51) du composé CBT₄ quasi similaire au spectre COSY, révèle des corrélations entre les protons à δ_{H} 6.88 (H-6/6') et δ_{H} 5,23 (H-4/4'), les protons à δ_{H} 8.04 (H-1/1') et δ_{H} 5,23 (H-4/4'). L'absence d'une corrélation NOESY entre les protons à δ_{H} 8.04 (H-1/1') et à δ_{H} 6.88 (H-6/6') confirme que ces deux atomes ne sont pas rapprochés dans l'espace c'est qui justifierait une probable libre rotation autour du carbone asymétrique C-4.

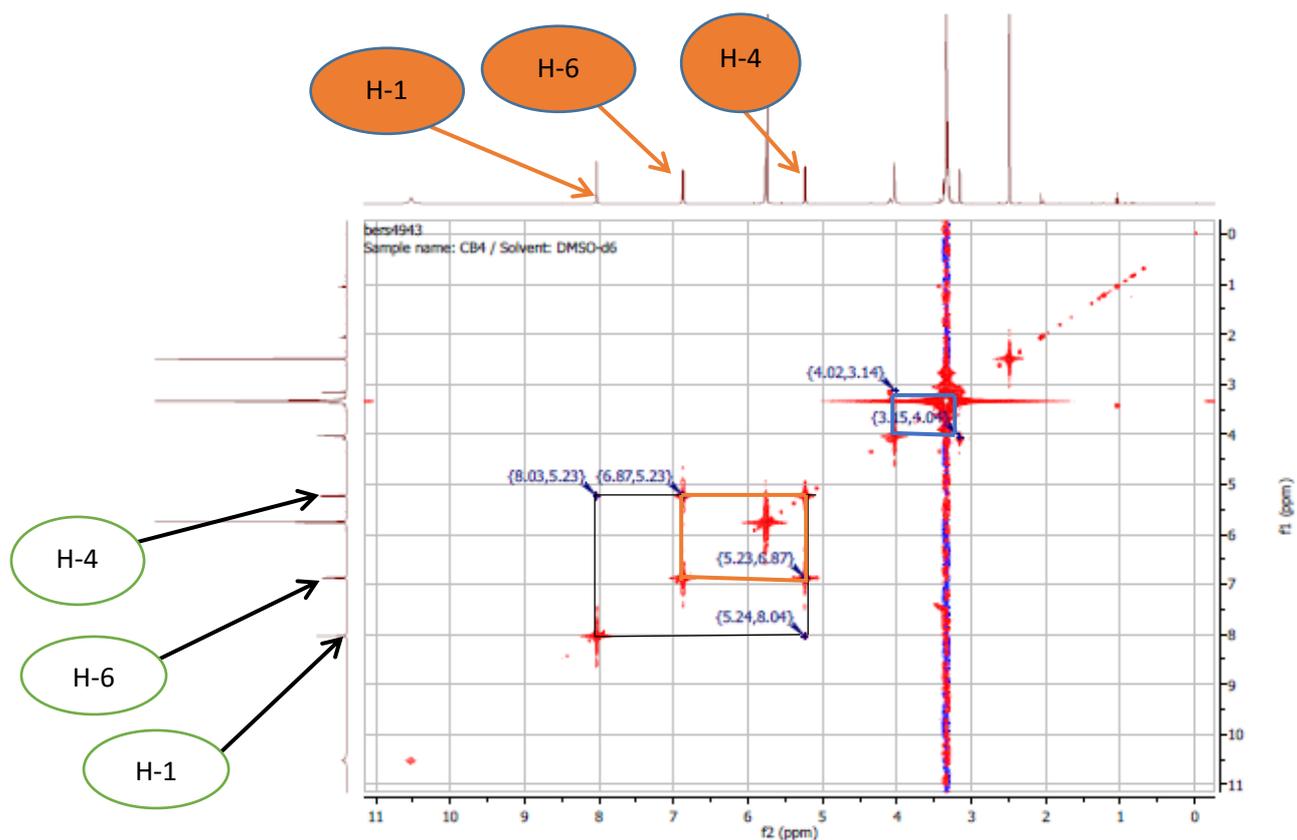


Figure 49: Spectre COSY (500 MHz, DMSO- d_6) du composé CBT₄

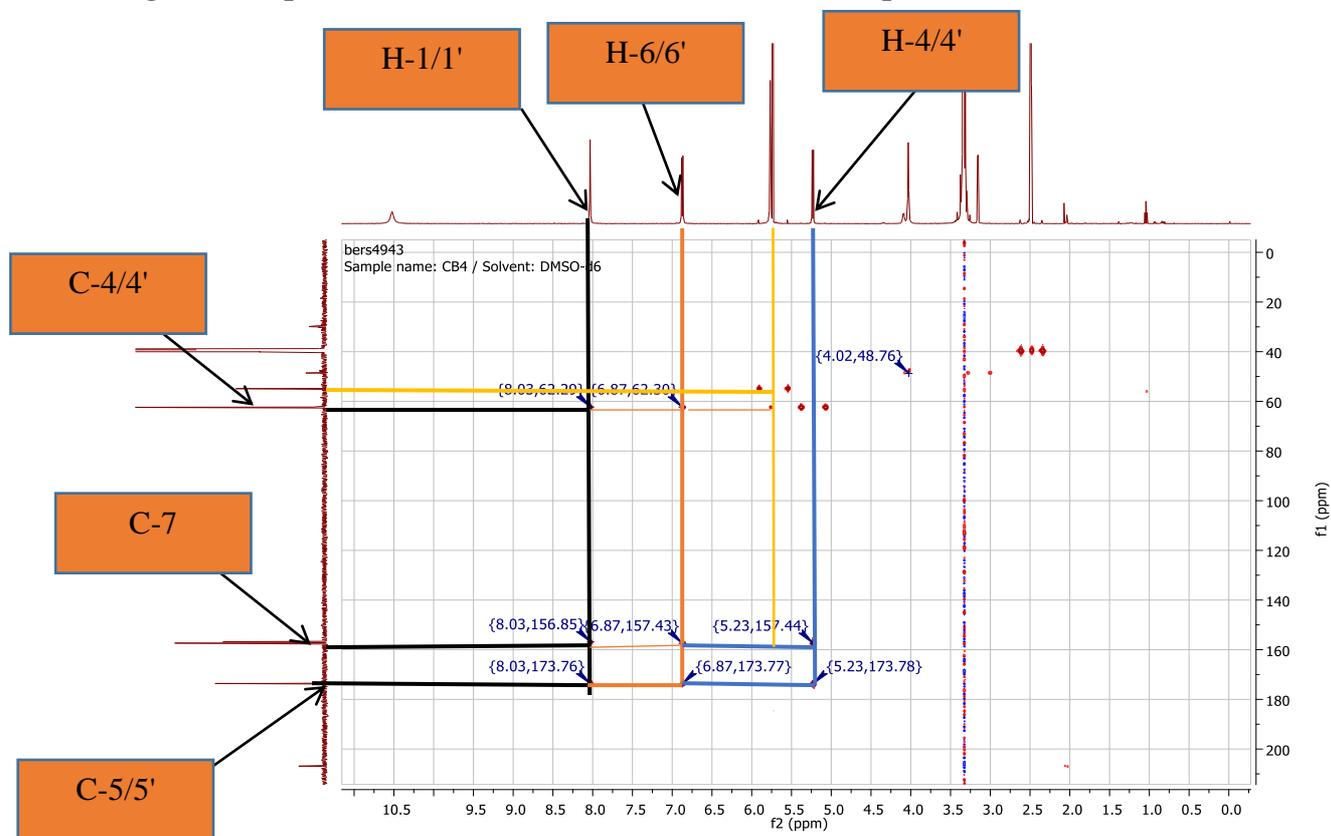


Figure 50: Spectre HMBC (500 MHz, DMSO- d_6) du composé CBT₄

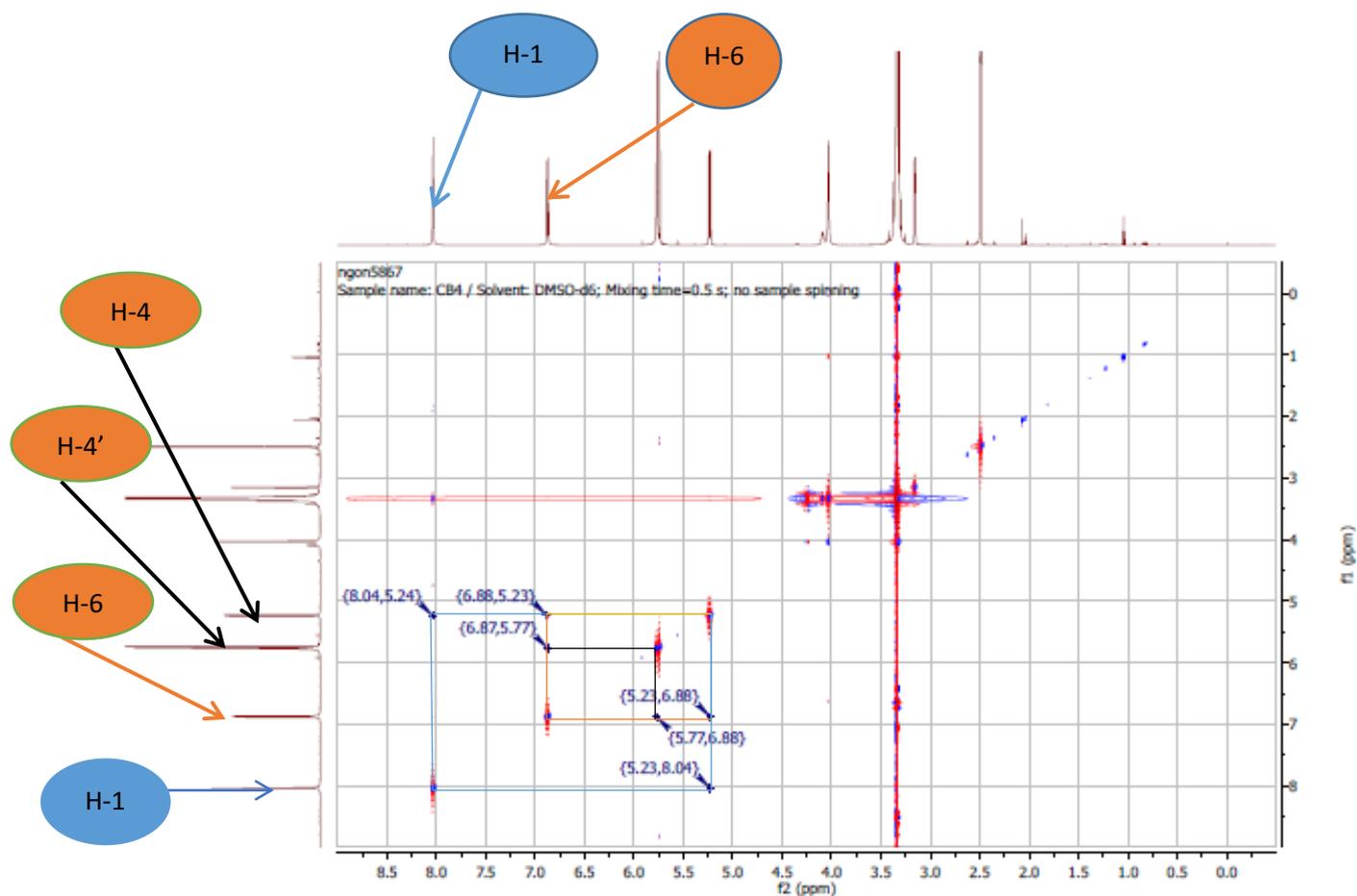
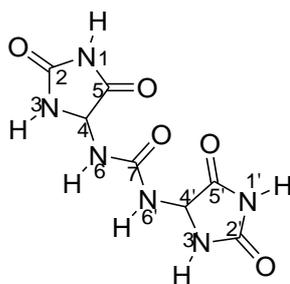


Figure 51: Spectre NOESY (500 MHz, DMSO- d_6) du composé CBT₄

Une analyse approfondie de tous les spectres 1D et 2D et une comparaison des données spectrales avec celles de la littérature ont révélé que le composé CBT₄ est décrit pour la première fois comme un nouveau dérivé de l'allantoïne (**87**); il a été identifié comme étant le 1,3-bis(2,5-dioximidazolidin-4-yl)urea, trivialement nommé batesiine **129**. Le tableau 14 recapitule les données RMN¹H- et RMN-¹³C du composé **129**.



129

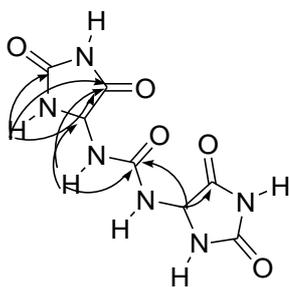


Schéma 4: Corrélations HMBC du composé CBT₄

Tableau 14: Données de RMN-¹H (DMSO-*d*₆, 500 MHz) et ¹³C (DMSO-*d*₆, 125 MHz) de CBT₄ et l'allantoïne

Position	allantoïne		CBT ₄	
	δ_C	δ_H	δ_C	δ_H
1	-	8,06	-	10,52 (1H, s)
2	156,7	-	157.4	-
3	-	10,50	-	08,04 (1H, s)
4	173,4	-	62.4	5,23 (1H, s)
5	62,3	5,30	173.6	-
6	-	6,80	-	6,88 (1H, s)
7	157,4	-	156,8	-
1'	-	-	-	10,52 (1H, s)
2'	-	-	157.4	-
3'	-	-	-	08,04 (1H, s)
4'	-	-	62,4	5,23 (1H, s)
5'	-	-	173,6	-
6'	-	-	-	6,88 (1H, s)

^{a)} Déplacements chimiques confirmés par DEPT-135, HSQC, HMBC, COSY et NOESY

II.2.3.13. Identification de CBT₁

Le composé CBT₁ a été isolé sous forme de solide blanc soluble dans le méthanol et dans le système CH₂Cl₂/MeOH. Sur son spectre de masse ESI-MS (Fig 52) en mode positif on observe le pic de l'ion *pseudo* moléculaire [M+H]⁺ à *m/z* 487,0, compatible avec la formule moléculaire C₃₀H₄₆O₅ renfermant sept degré d'insaturations. Son spectre IR montre des bandes d'absorption à 3402, 2961, 1659, 1680, 1378 et 1065 cm⁻¹ caractéristique des vibrations OH, C-H, C=C, C=O des étones, C-O-C, et C-O-H.

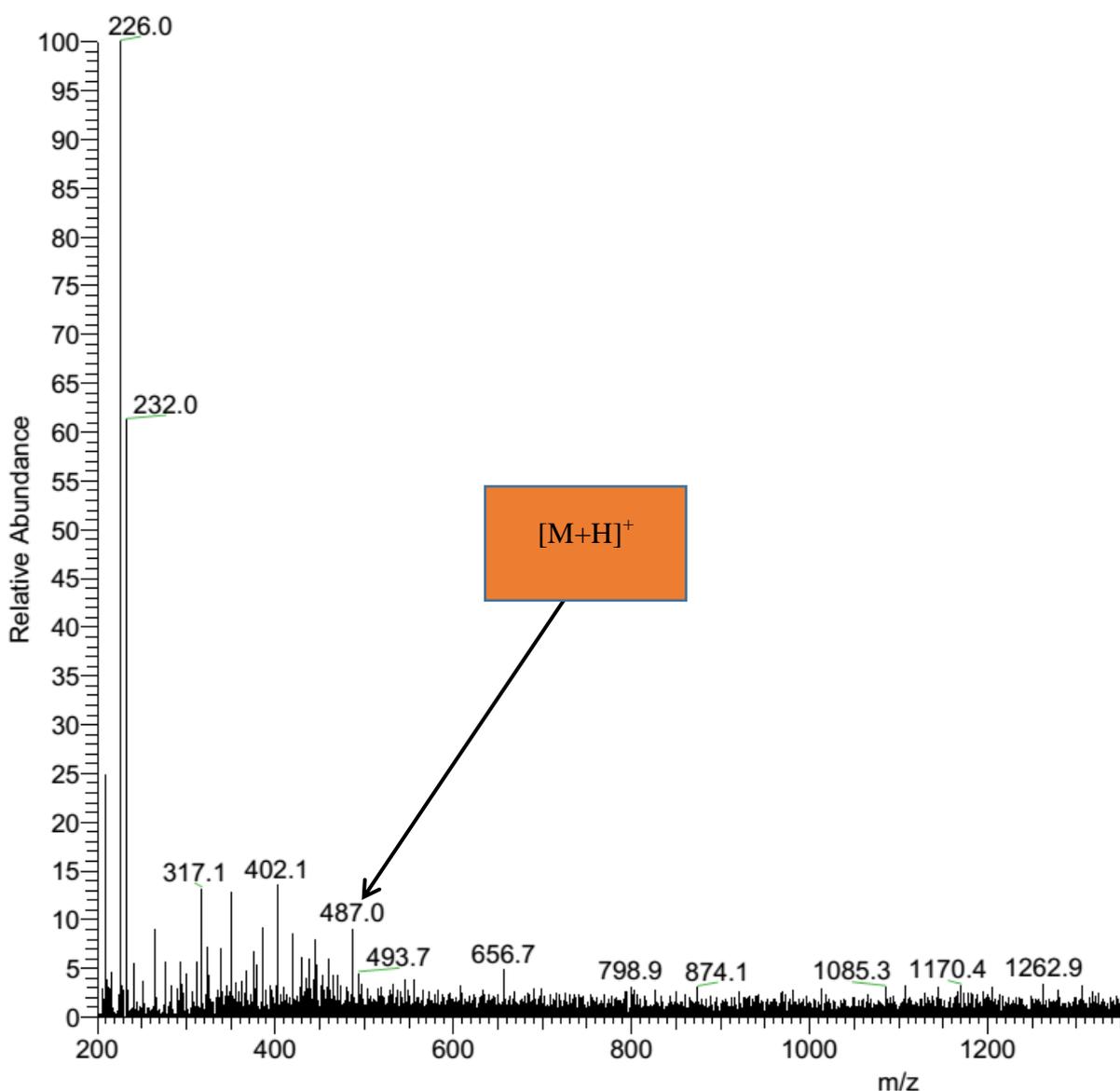
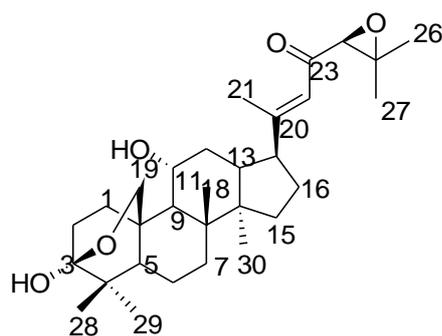


Figure 52: Spectre de masse de CBT₁

L'interprétation des spectres de RMN-¹H, ¹³C, HSQC et HMBC nous a permis d'attribuer à CBT₁ la structure **130**.



130

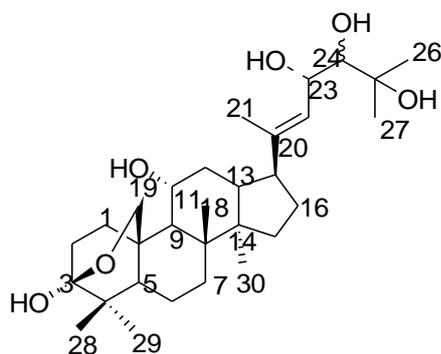
En effet, l'examen minutieux de son spectre RMN-¹H révèle les signaux de sept familles de proton caractéristiques des groupes méthyle à δ_H 0.89 (3H, s, Me-30), 0.95 (3H, s, Me-18), 1.02 (3H, s, Me-28), 1.01 (3H, s, Me-29), 1.40 (3H, s, Me-26), 1.29 (3H, s, Me-27), 2.10 (3H, s, Me-21), un signal à δ_H 3.60 (m, 1H) attribué à C-11 proton typique de cordialine, un autre signal à δ_H 6.26 (br, s, 1H) attribué à la double liaison éthylénique (C-20 et C-22). Un triplet à δ_H 3.13 (1H) attribuable à H-1.

Son spectre RMN-¹³C révèle 30 signaux de carbones donc les deux carbones éthylénique à δ_C 164.8 (C-20), 120.5 (C-22). Les carbones des sept méthyles à δ_C 18.6 (C-29), 15.2 (C-18), 23.4 (C-27), 26.3 (C-26), et 13.5 (C-21), 16,7 (C-30), 26,3 (C-28). Les quatre carbones hydroxylés à δ_C 98.8 (C-3), 70.6 (C-11), 78.3 (C-24) et 72,7 (C-25). Le signal du carbonyle à δ_C 195.8 (C-23).

L'analyse de tous ces spectres montre que le composé **130** est la cordialine A isolé précédemment des feuilles de *Cordia verbenacea* (Velde et al., 1982).

II.2.3.14. Caractérisation chimique de CBT₂

Le composé **CBT₂** a été isolé sous forme de solide blanc soluble dans le méthanol et dans le système CH₂Cl₂/MeOH. Sur son spectre de masse ESI-MS en mode positif on observe le pic de l'ion pseudo moléculaire [M+H]⁺ à *m/z* 507,3 compatible avec la formule moléculaire C₃₀H₅₀O₆ renfermant six degré d'insaturations. Son spectre IR montre des bandes d'absorption à 3400, 2958, 1660, 1378 et 1065 cm⁻¹ caractéristique des vibrations OH, C-H, C=C, C-O-C, et C-O-H. L'interprétation des spectres de RMN-¹H, ¹³C, HSQC et HMBC nous a permis d'attribuer à **CBT₂** la structure **131** presque identique à la cordialin A.



131

En effet, l'examen minutieux de son spectre RMN-¹H révèle les signaux de sept familles de proton caractéristiques des groupes méthyle à δ_H 0.91 (3H, s, Me-30), 0.96 (3H, s, Me-18), 1.00 (3H, s, Me-28), 1.01 (3H, s, Me-29), 1.24 (3H, s, Me-26), 1.20 (3H, s, Me-27) et 1.66 (3H, s, Me-21). Un signal à δ_H 3.54 (1H, dt, $J = 6.0, 12.5$ Hz, H-11) attribué à C-11 proton typique de cordialins. Un autre signal à δ_H 5.42 (1H, d, $J = 9.0$ Hz, H-22) attribué à la double liaison éthylénique (C-20 et C-22), deux autres proton à δ_H 4.66 (1H, dd, $J = 9.0, 3.0$ Hz, H-23) et 3.15 (1H, d, $J = 3.0$ Hz, H-24).

Son spectre RMN-¹³C révèle 30 signaux de carbones donc les deux carbones éthylénique à δ_C 140.8 (C-20), 127.5 (C-22). Les carbones des sept méthyles à δ_C 19.6 (C-29), 16.2 (C-18), 26.9 (C-27), 26.3 (C-26), et 14.2 (C-21), 15,7 (C-30), 26,5 (C-28). Les six carbones hydroxylés à δ_C 99.6 (C-3), 71.6 (C-11), 80.3 (C-24), 74,7 (C-25), 68.6 (C-19) et 68.3 (C-23). L'analyse de tous ces spectres montre que le composé **131** est la Cordianol A isolé précédemment des feuilles de *Cordia multispicata* (Kuroyanagi et al., 2001).

II.2.3.15. Identification de CBT₃

CBT₃ a été isolé sous forme de solide blanc soluble dans le méthanol et dans le système CH₂Cl₂/MeOH. Sur son spectre de masse ESI-MS en mode positif (Fig 53) on observe le pic de l'ion *pseudo* moléculaire [M+H]⁺ à m/z 490,7 suggérant ainsi une formule moléculaire C₃₀H₅₀O₅ renfermant six degré d'insaturations. Son spectre IR montre des bandes d'absorption à 3345 et 1630 cm⁻¹ caractéristique des vibrations OH et C=C.

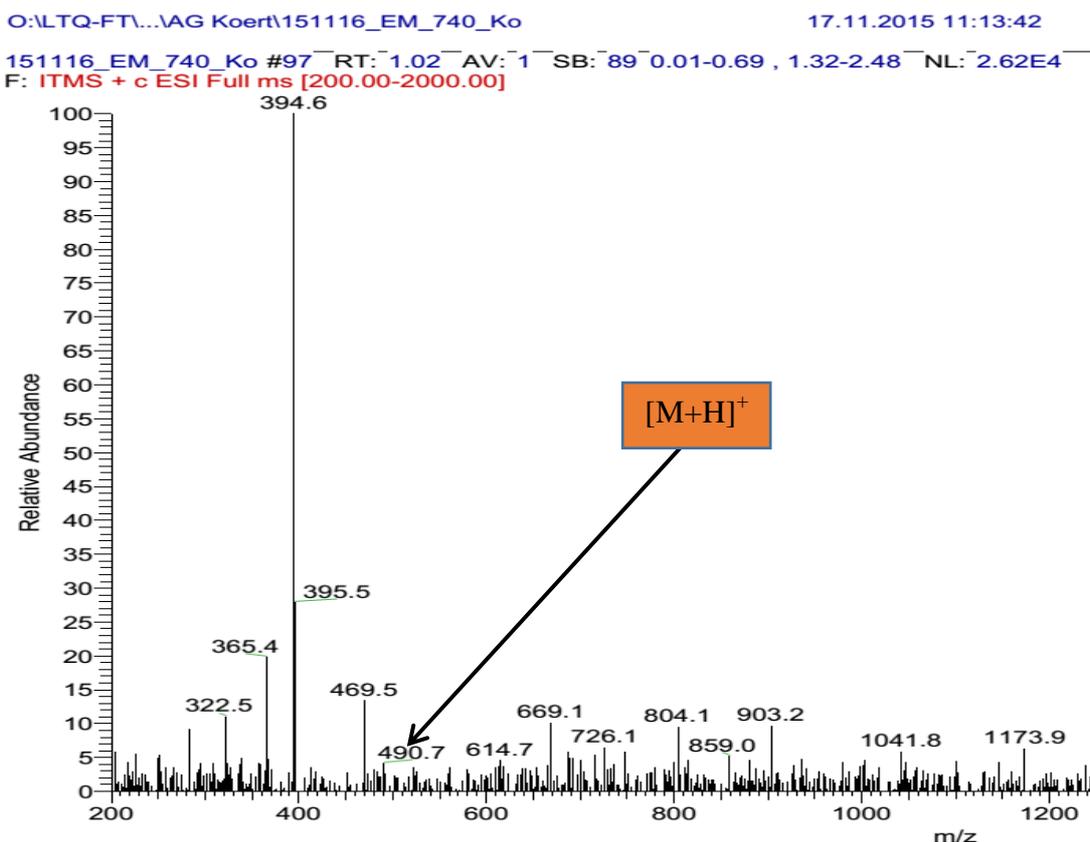
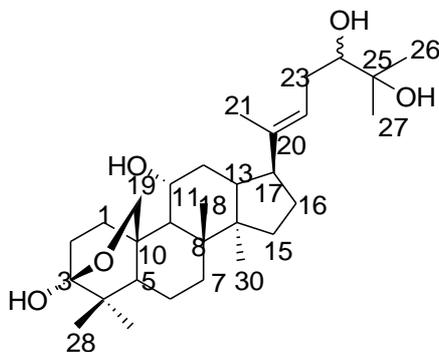


Figure 53: Spectre de masse de CBT₃

L'interprétation des spectres de RMN-¹H, ¹³C, HSQC et HMBC nous a permis d'attribuer à CBT₃ la structure **132**.



132

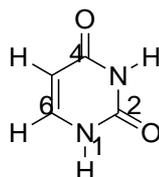
En effet, l'examen minutieux de son spectre RMN-¹H révèle les signaux de sept familles de protons caractéristiques des groupes méthyle à δ_H 0.89 (3H, s, Me-30), 0.93 (3H, s, Me-18), 1.02 (3H, s, Me-28), 1.02 (3H, s, Me-29), 1.18 (3H, s, Me-26), 1.20 (3H, s, Me-27), 1.58 (3H, s, Me-21), Un signal à δ_H 3.57 (m, 1H) attribué à C-11 proton typique des cordialines. Un autre signal à δ_H 5.26 (br, t, 1H) attribué à la double liaison éthylénique (C-20 et C-22). Deux triplets à δ_H 3.18-3.39 (2H) attribuables à H-1 et H-24.

Son spectre RMN-¹³C révèle 30 signaux de carbones dont les deux carbones éthylénique à δ_C 137.8 (C-20), 121.5 (C-22). Les carbones des sept méthyles à δ_C 18.6 (C-29), 15.2 (C-18), 23.4 (C-27), 26.3 (C-26), et 13.5 (C-21), 16,7 (C-30), 26,3 (C-28). Les quatre carbones hydroxylés à δ_C 98.8 (C-3), 70.6 (C-11), 78.3 (C-24) et 72,7 (C-25).

L'analyse de tous ces spectres montre que le composé **132** est la Cordialine B isolé précédemment des feuilles de *Cordia verbenacea* (Velde et al., 1982).

II.2.3.16. Identification de CBT₆

Le composé **CBT₆** a été isolé sous forme de cristaux blancs solubles dans le méthanol et dans le système CH₂Cl₂/MeOH (20/1). Il fond à 334-335°C. Sur son spectre de masse HRESIMS en mode positif on observe le pic de l'ion *pseudo* moléculaire [M+H]⁺ à *m/z* 113,0896, suggérant ainsi une formule moléculaire C₄H₄O₂N₂ renfermant quatre insaturations. L'analyse des spectres de RMN 1D et 2D nous a permis d'attribuer à **CBT₆** la structure **133**.



133

Son spectre RMN-¹H (Fig. 54) révèle quatre signaux de protons à δ_H 11.00 (1H, s, H-3), 7.40 (1H, d, H-1), 5.46 (1H, d, H-6), 5.75 (1H, s, H-5). L'ensemble de ces valeurs comparées à celles de la littérature suggère la présence d'un squelette de base azoté de type pyrimidine.

Son spectre RMN-¹³C (Fig. 55) présente quatre familles de carbone dont deux méthines oléfiniques à δ_C 100.6 (C-5) et 142.6 (C-6), deux carbones quaternaires à δ_C 151.9 (C-2) et 164.7 (C-4) ppm caractéristiques des carbonyles d'amides.

L'analyse de tous ces spectres montre que le composé **133** est la Pyrimidine-2,4(1H,3H)-dione

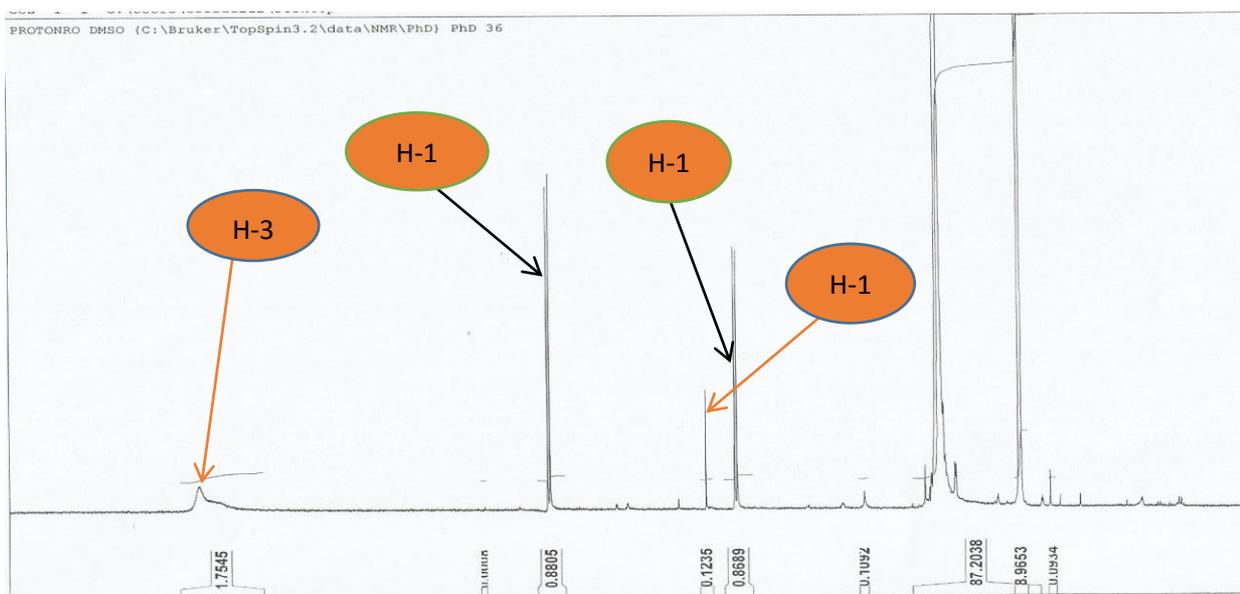


Figure 54: Spectre RMN- ^1H (500MHz, DMSO- d_6) de CBT $_6$

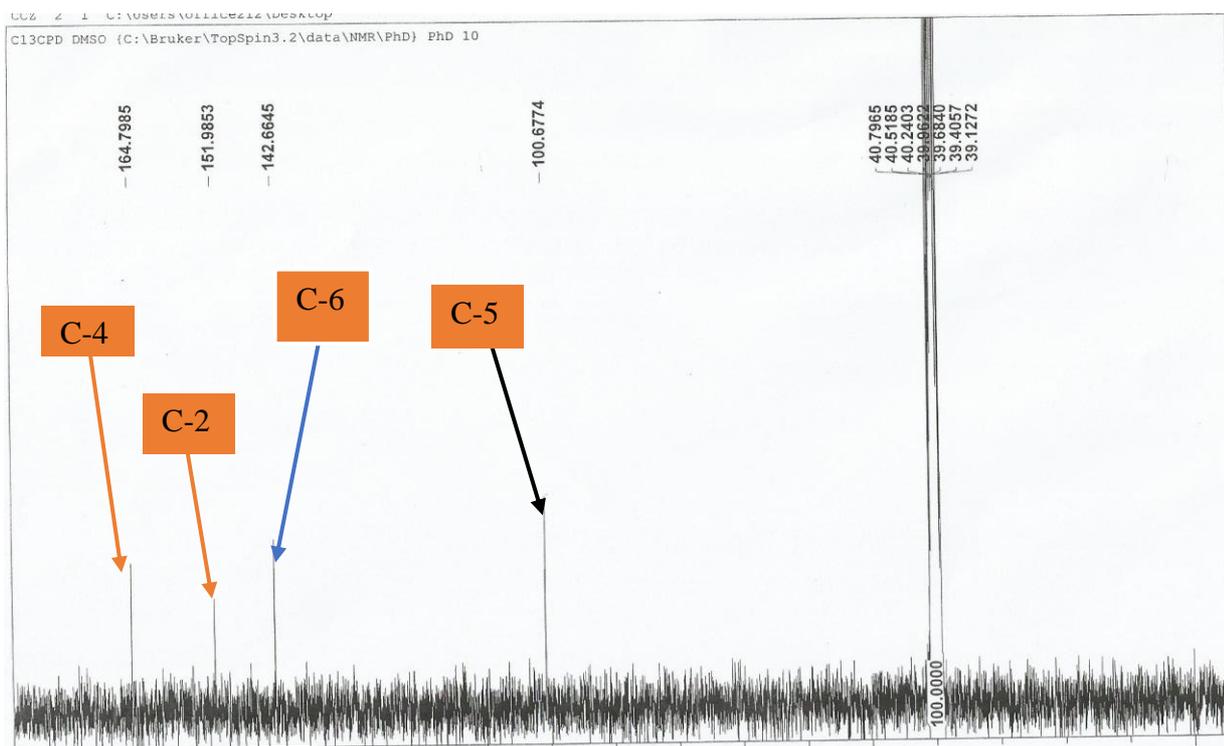


Figure 55: Spectre RMN ^{13}C (125MHz, DMSO- d_6) de CBT $_6$.

II.2.3.17. Identification de CBR₁

CBR₁ a cristallisé dans le CH₂Cl₂ et soluble dans l'hexane. Sur son spectre de masse GC-MS (Fig 56) on observe entre 9.10 et 10 minutes de temps de retentions, les pics de six composés naturels.

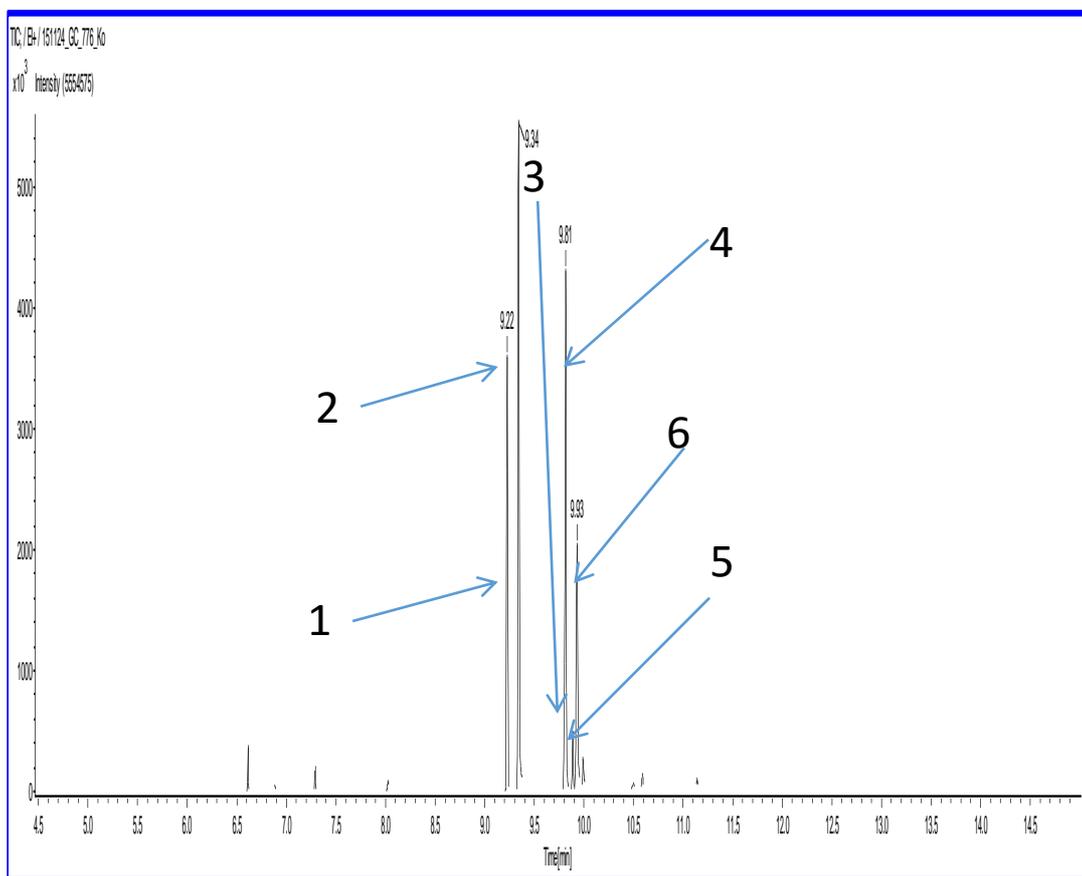


Figure 56: Spectre GC-MS de CBR₁

Par comparaison aux données de la littérature, les six composés ont été identifiés ainsi qu'il suit:

II.2.3.17.1. Identification de CBR₁₁

Le spectre de masse GC-MS (Fig 57) de CBR₁₁ présente le pic de l'ion moléculaire [M]⁺ à m/z 270, suggérant ainsi une formule moléculaire C₁₇H₃₄O₂ renfermant une insaturation.

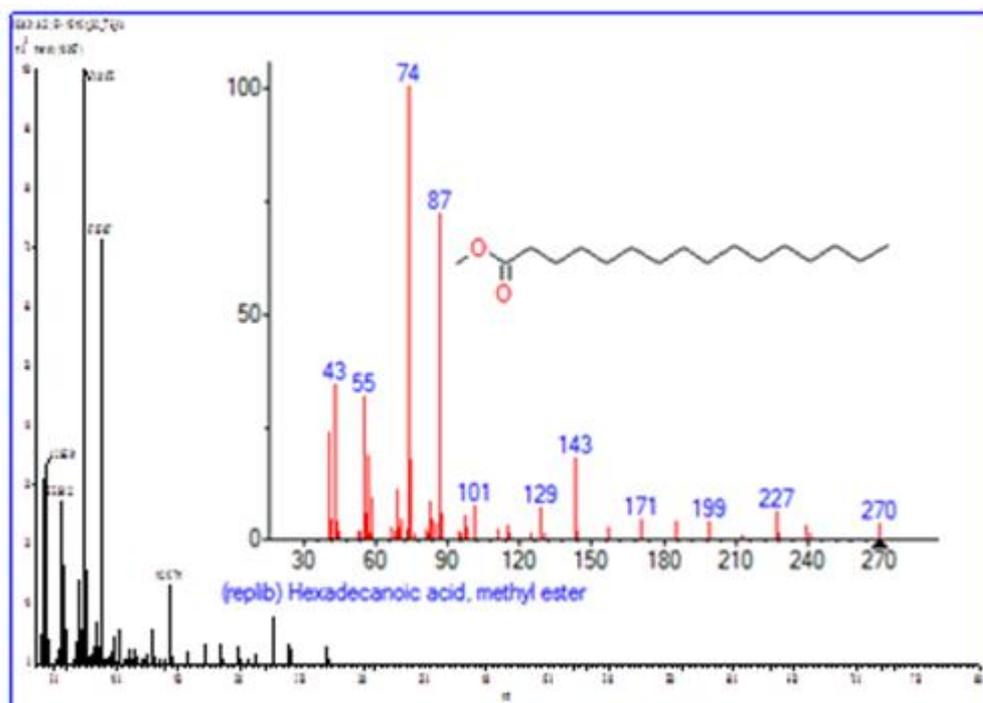
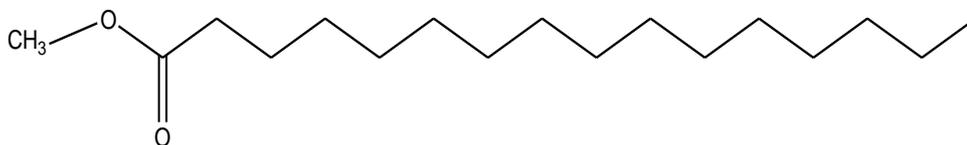


Figure 57: Spectre GC-MS de CBR₁₁

L'analyse de ce spectre GC-MS nous a permis d'attribuer à CBR₁₁ la structure **134**, il s'agit de la palmitate de méthyle isolé pralablement de *Cordia dichotoma* (Jamkhande *et al.*, 2013).



134

II.2.3.17.2. Identification de CBR₁₂

Le spectre de masse GC-MS (Fig 58) de CBR₁₂ présente le pic de l'ion moléculaire [M]⁺ à m/z 256, suggérant ainsi une formule moléculaire C₁₆H₃₂O₂ renfermant une insaturation.

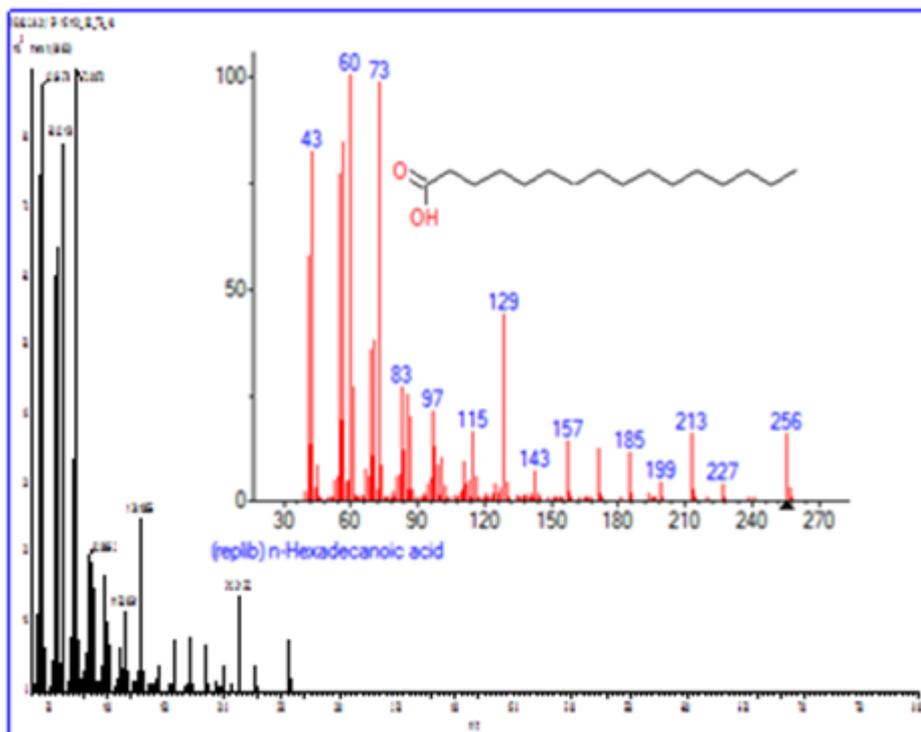
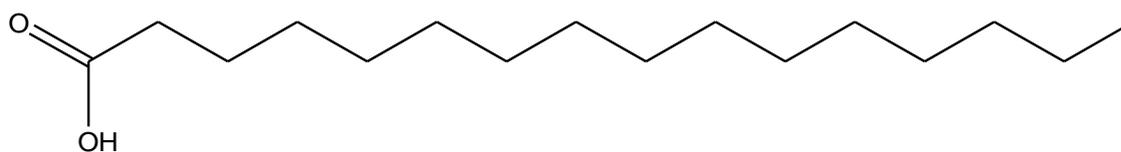


Figure 58: Spectre GC-MS de CBR₀₂



135

L'analyse de ce spectre GC-MS nous a permis d'attribuer à CBR₁₂ la structure **135**, il s'agit de l'acide palmitique isolé préalablement de *Cordia dichotoma* (Jamkhande *et al.*, 2013).

II.2.3.17.3. Identification de CBR₁₃

Le spectre de masse GC-MS (Fig 59) de CBR₁₃ présente le pic de l'ion moléculaire [M]⁺ à m/z 294, suggérant ainsi une formule moléculaire C₂₀H₃₈O₂ renfermant trois insaturation.

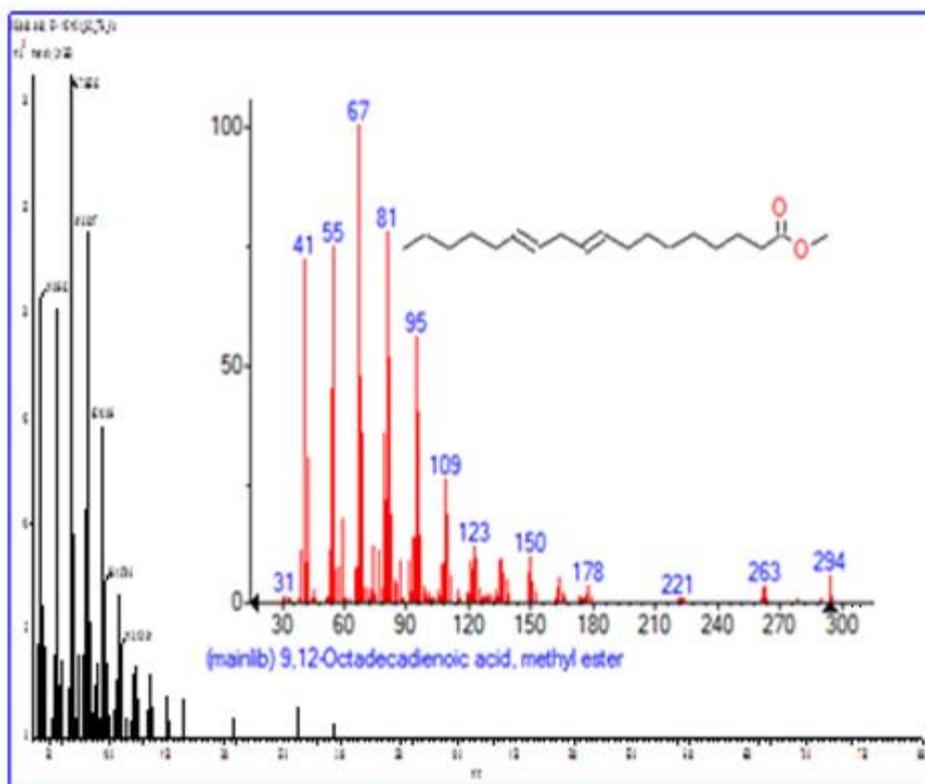
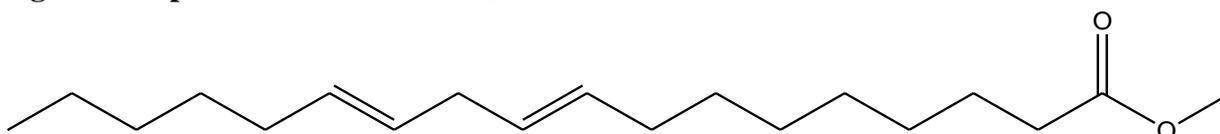


Figure 59: Spectre GC-MS de CBR₁₃



136

L'analyse de ce spectre GC-MS nous a permis d'attribuer à CBR₁₃ la structure **136**, il s'agit de (9E,12E)-octadeca-9,12-dienoate de méthyle isolé préalablement des feuilles de *Cordia myxa* (Wassel *et al.*, 1987; Miralles *et al.*, 1989).

II.2.3.17.4. Identification de CBR₁₄

Le spectre de masse GC-MS (Fig 60) de CBR₁₄ présente le pic de l'ion moléculaire [M]⁺ à *m/z* 296, suggérant ainsi une formule moléculaire C₁₉H₃₆O₂ renfermant deux insaturations.

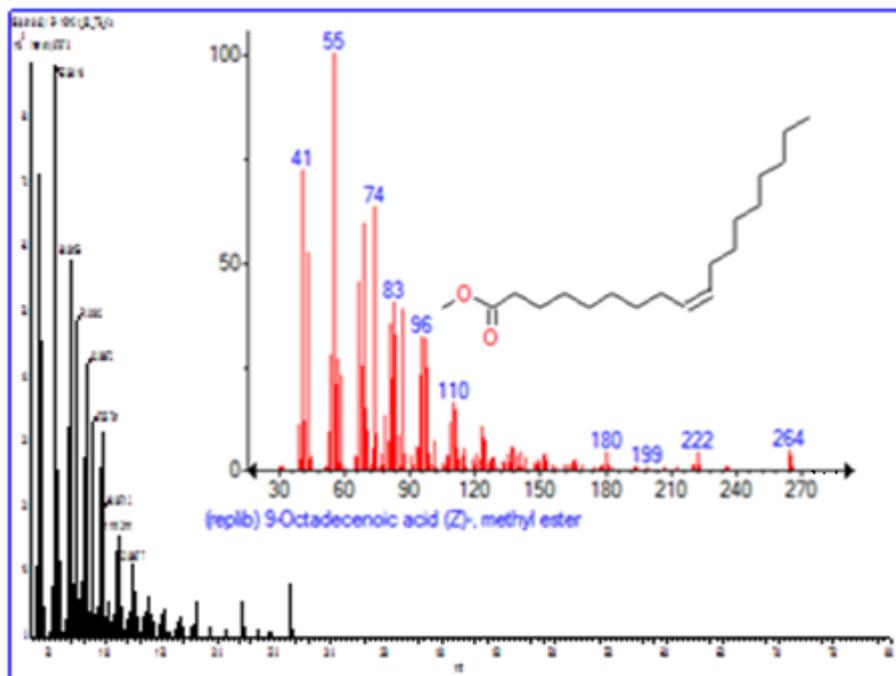
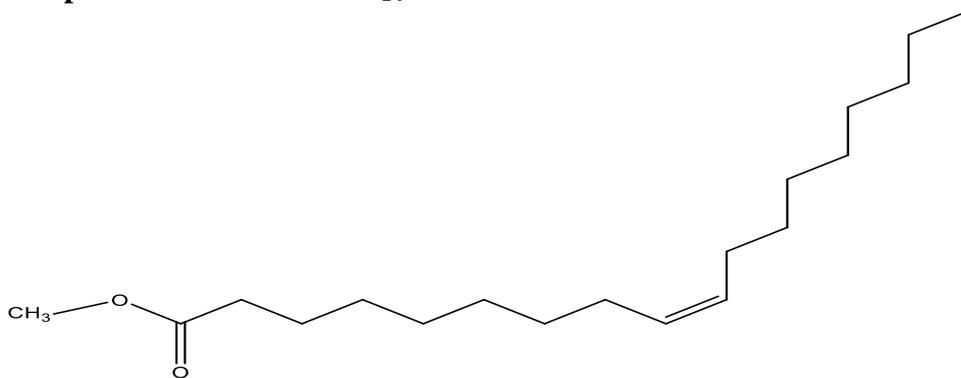


Figure 60: Spectre GC-MS de CBR₁₄



137

L'analyse de ce spectre GC-MS nous a permis d'attribuer à CBR₁₄ la structure **137**, il s'agit de l'oléate de méthyl isolé pralablement de *Cordia obliqua* (Gupta *et al.*, 2017)

II.2.3.17.5. Identification de CBR₁₅

Le spectre de masse GC-MS (Fig 61) de CBR₁₅ présente le pic de l'ion moléculaire [M]⁺ à m/z 228, suggérant ainsi une formule moléculaire C₁₄H₂₈O₂ renfermant une insaturation.

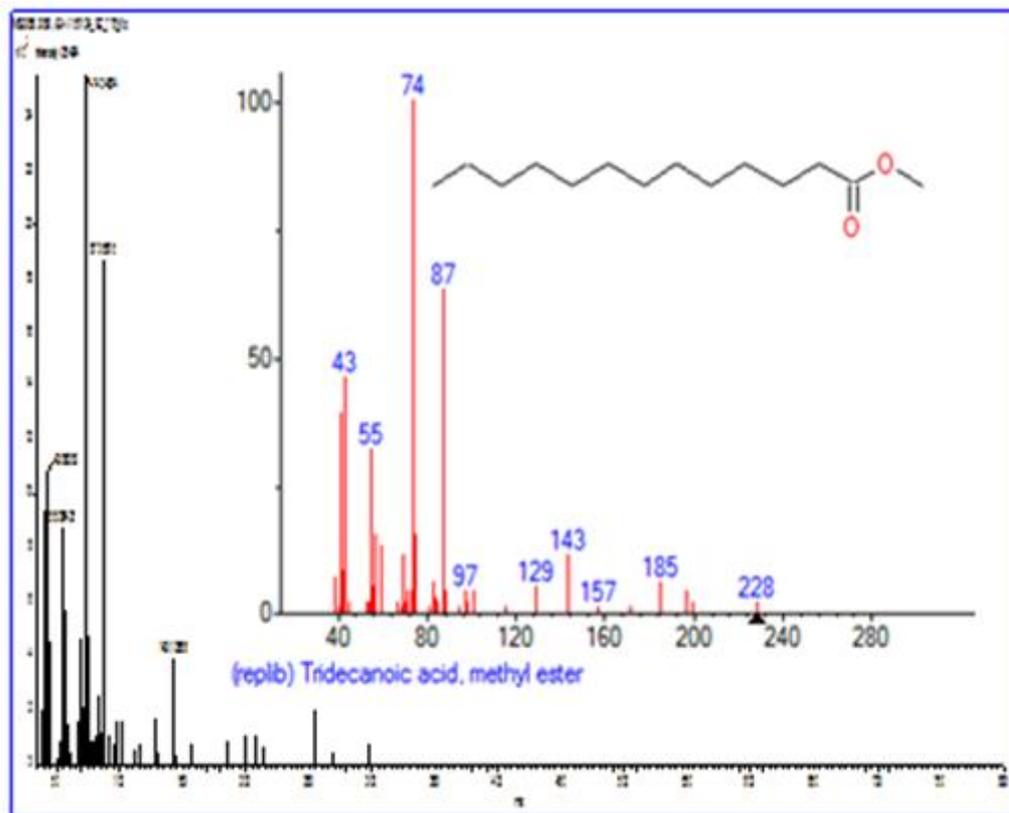
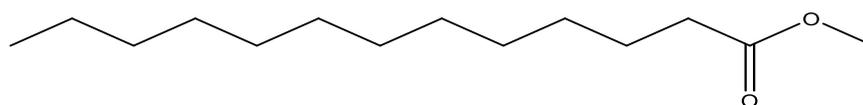


Figure 61: Spectre GC-MS de CBR₁₅



138

L'analyse de ce spectre GC-MS nous a permis d'attribuer à CBR₁₅ la structure **138**, il s'agit de Tridecanoate de méthyl isolé pralablement de *Cordia dichotoma* (Jamkhande *et al.*, 2013).

II.2.3.17.6. Identification de CBR₁₆

Le spectre de masse GC-MS (Fig 62) de CBR₁₆ présente le pic de l'ion moléculaire [M]⁺ à m/z 282, suggérant ainsi une formule moléculaire C₁₈H₃₄O₂ renfermant deux insaturations.

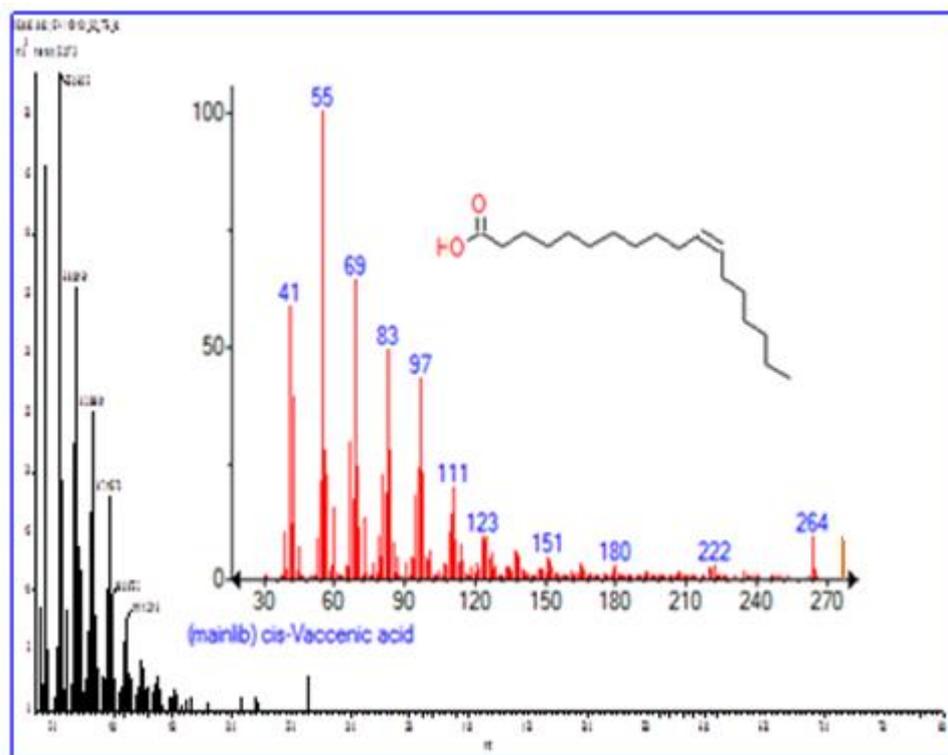
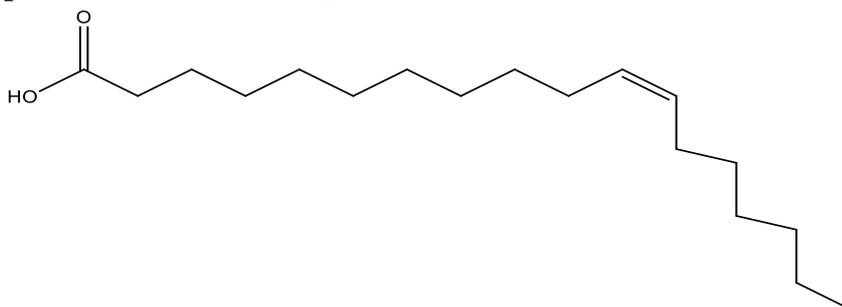


Figure 62: Spectre GC-MS de CBR₁₆



139

L'analyse de ce spectre GC-MS nous a permis d'attribuer à CBR₁₆ la structure **139**, il s'agit de l'acide (Z)-Octadec-11-énoïque isolé préalablement de *C. obliqua* (Gupta *et al.*, 2017)

Il l'est à noté que les huiles essentielles ont déjà été isolées préalablement des feuilles de *Cordia myxa* (Wassel *et al.*, (1987) ; Miralles *et al.*, (1989)).

II.2.3.18. Caractérisation chimique de CBR₂

CBR₂ a été isolé sous forme d'un solide blanc soluble dans le mélange CH₂Cl₂/MeOH (5/1). Sur Son spectre de masse ESI-MS en mode négatif (Fig 63), on observe le pic de l'ion quasi moléculaire [M - H]⁻ à m/z 479,3 compatible avec la formule moléculaire C₂₂H₂₄O₁₂ renfermant onze degrés d'insaturations. Son spectre IR montre la présence d'un hydroxyle (3425 cm⁻¹) et d'une liaison C-O (1100 cm⁻¹), d'une double liaison C=C (1628,cm⁻¹) et des groupements CH₂ et CH₃ (2930, 2864 cm⁻¹)

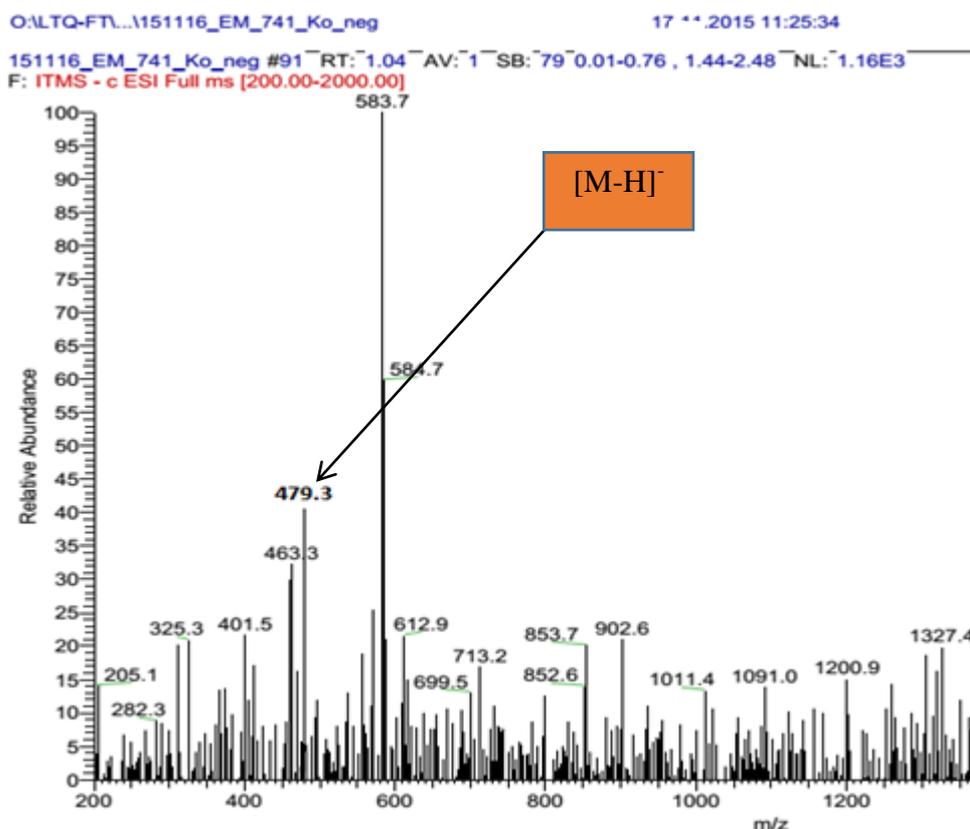


Figure 63: Spectre de masse de CBR₂

Le spectre RMN ¹H (Fig 64a) permet de déceler un groupe de protons aromatiques dans la zone 7,28 – 8,06 ppm attribuables à un groupe benzoyle monosubstitué, hypothèse renforcée par la présence de quatre signaux dans le spectre RMN ¹³C (Fig 65a) entre 128,8 – 133,8 ppm.

Ceci peut aussi se vérifier par la présence dans le spectre RMN ¹³C (Fig 65b) des signaux à 165,5 (C-10) ; 77,8 (C-3) et 116,5 (C-4) ppm caractéristiques des dérivés de la sweroside (Mpondo *et al.*, 1989)

Le spectre RMN-¹H laisse entrevoir entre autres des déplacements chimiques à δ_H 5,99 (H-1, d, 4,9 Hz) caractéristiques des dérivés de la sweroside (Mpondo et al., 1989 ; Yao et al., 2008), à 1,98 (H-9a, m) et 2,22 ppm (H-9b, m).

le signal du singulet de C-3 à δ_H 7,57 qui traduit généralement le proton H-3 des swerosides (Yao et al., 2008) confirme belle et bien qui s'agit d'un dérivé de sweroside.

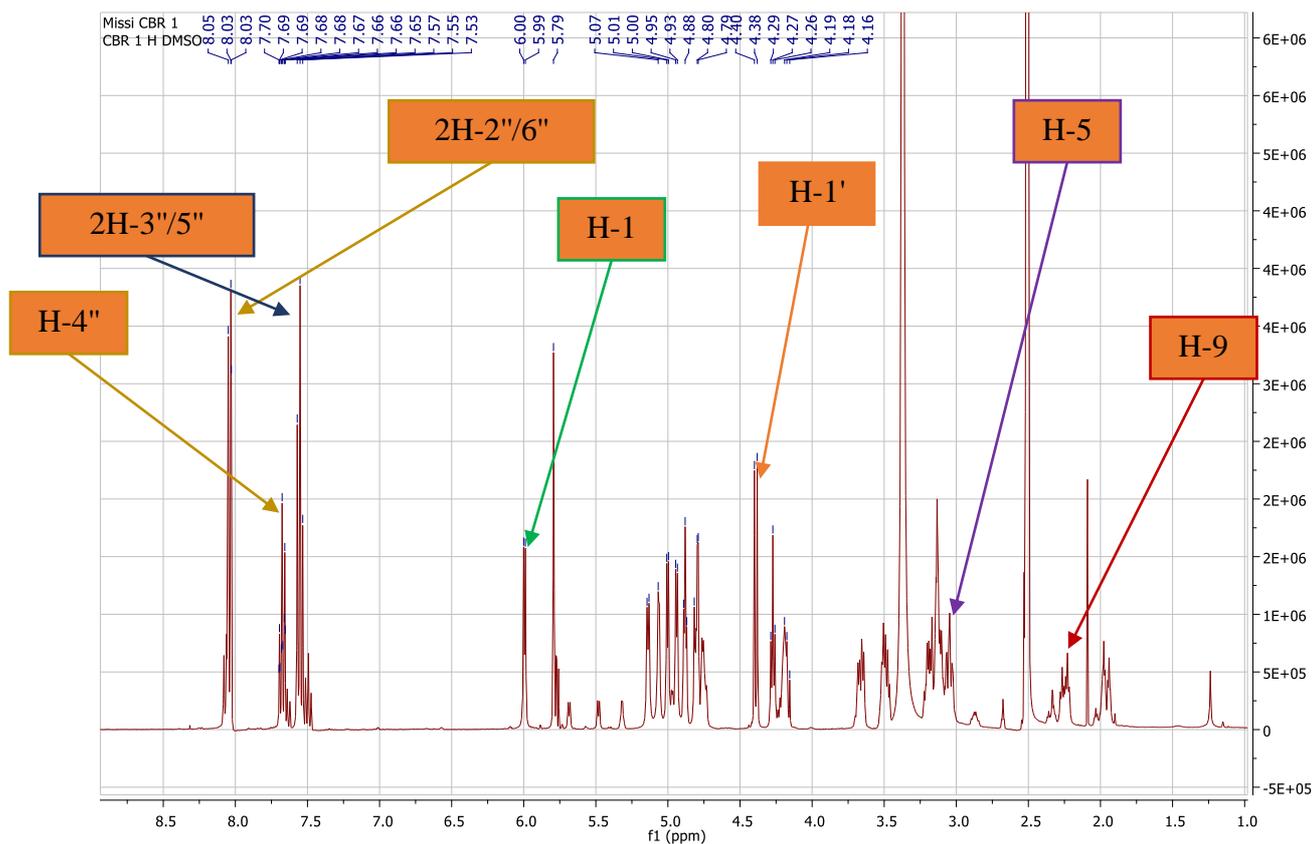


Figure 64a: Spectre RMN-¹H (400MHz, DMSO-*d*₆) de CBR₂

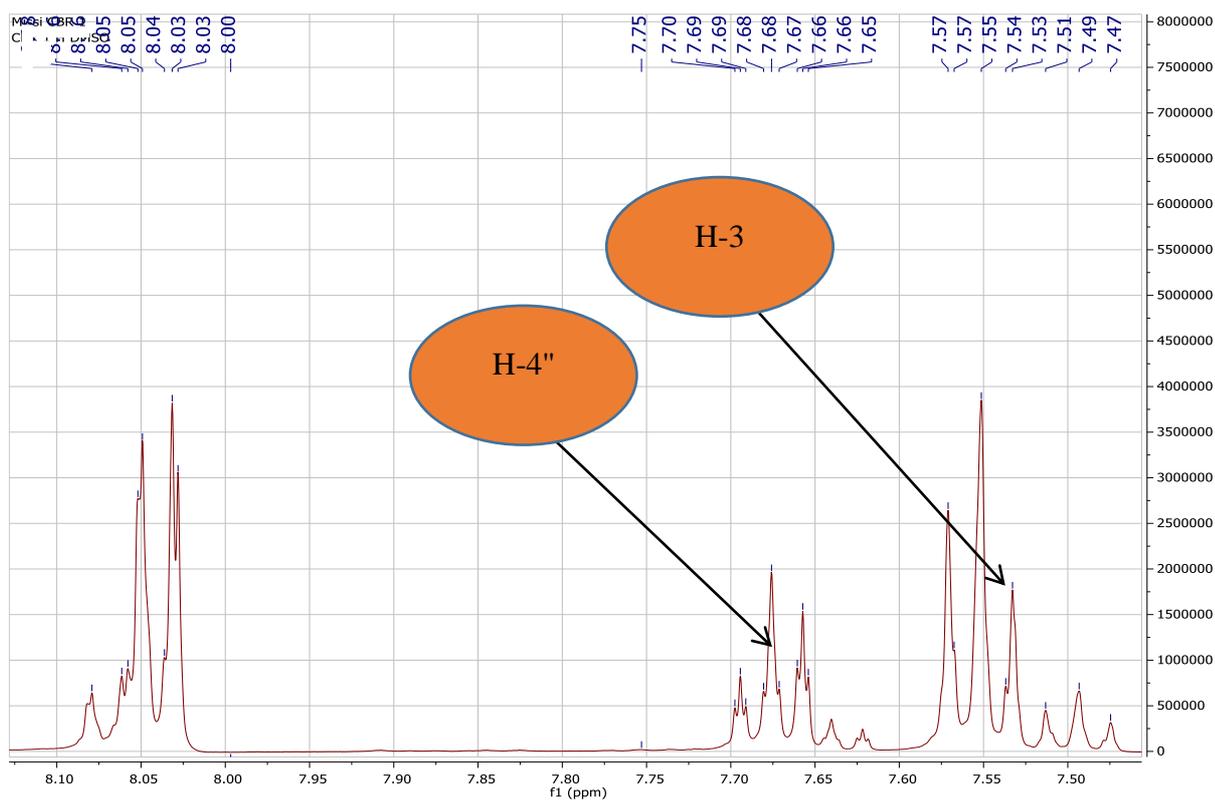


Figure 64b : Spectre RMN- ^1H (400MHz, DMSO-d_6) de CBR_2 élargi

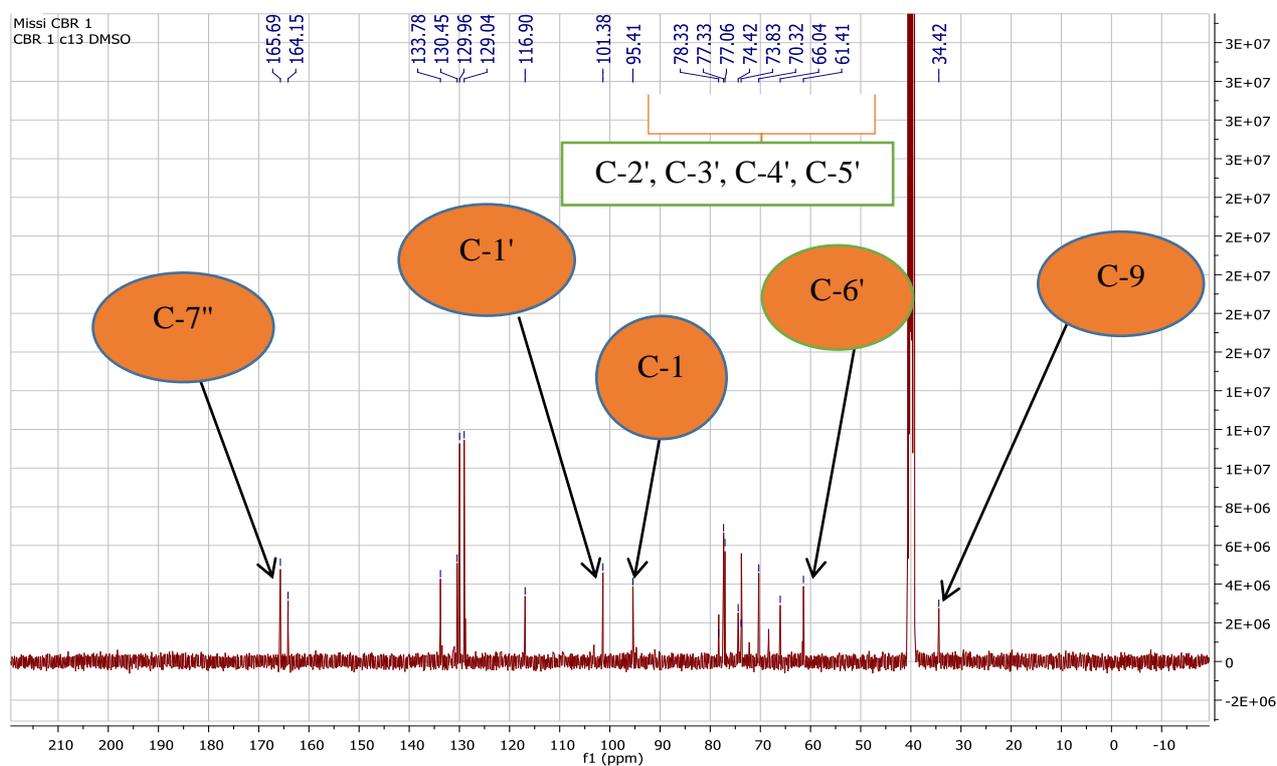


Figure 65a: Spectre RMN ^{13}C (DMSO-d_6 ; 100MHz) de CBR_2

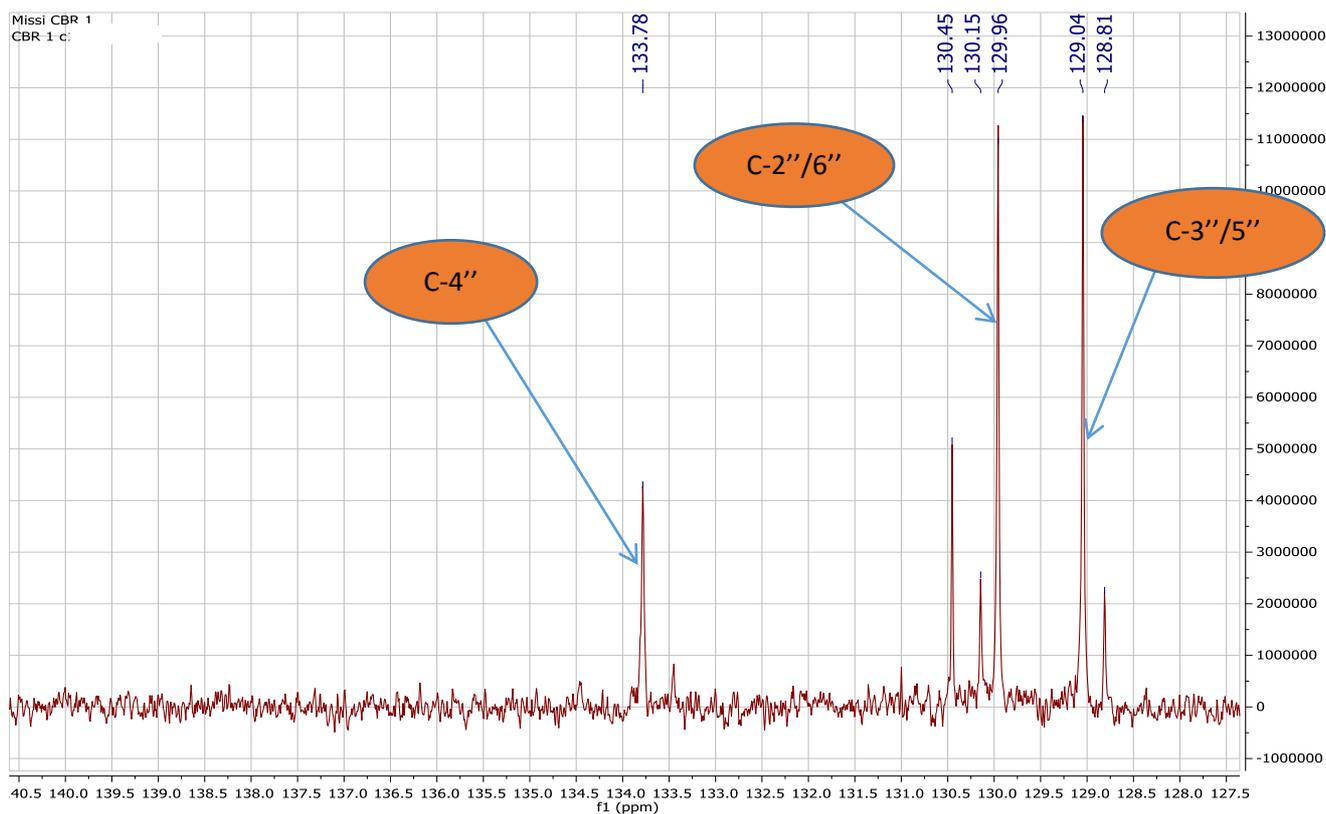


Figure 65b: Spectre RMN ^{13}C (DMSO- d_6 ; 100MHz) de CBR_2 élargi

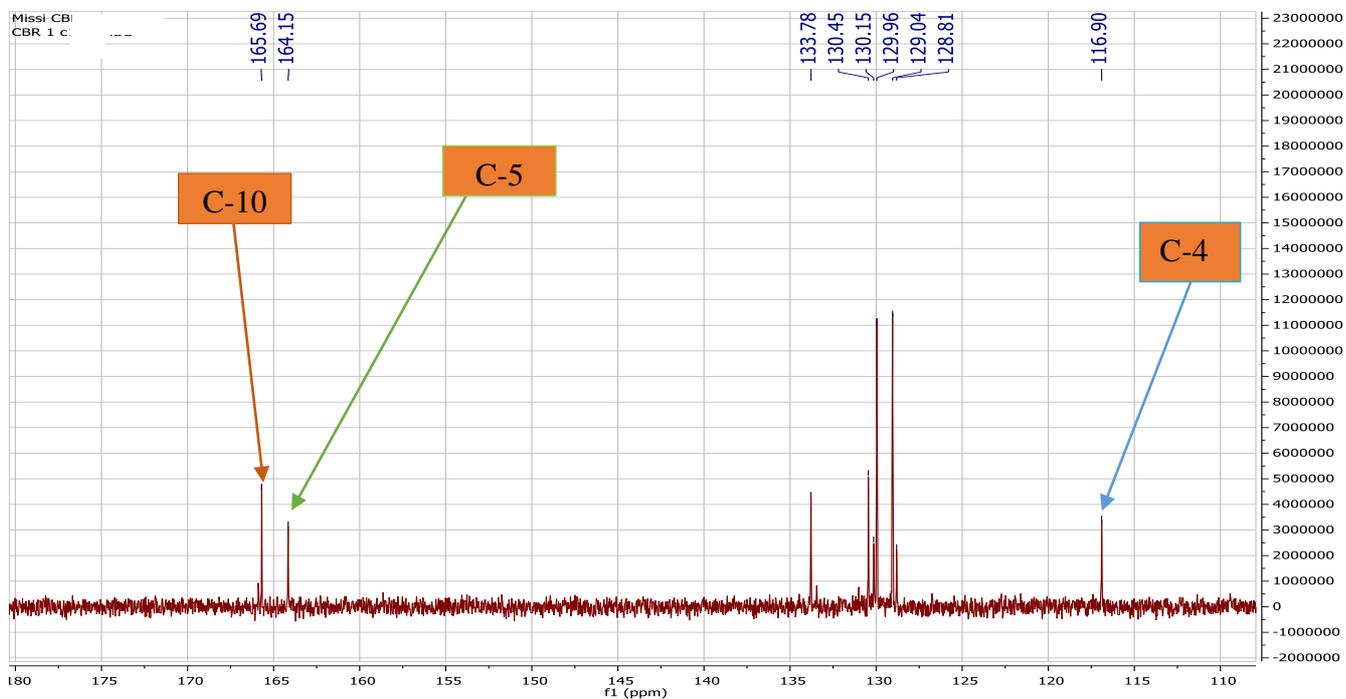


Figure 65c: Spectre RMN ^{13}C (DMSO- d_6 ; 100MHz) de CBR_2 élargi (sweroside)

Son spectre DEPT-135 (Fig 66) confirme des deux signaux de méthylène à δ_C 34.6 (C-9) et 61.4 (C-6'), les trois signaux de méthines du noyau benzenique à δ_C 133.8, 130.0 et 129.1 et les deux signaux méthines caractéristique de C-1 et C-1' à δ_C 101.4 et 95.4

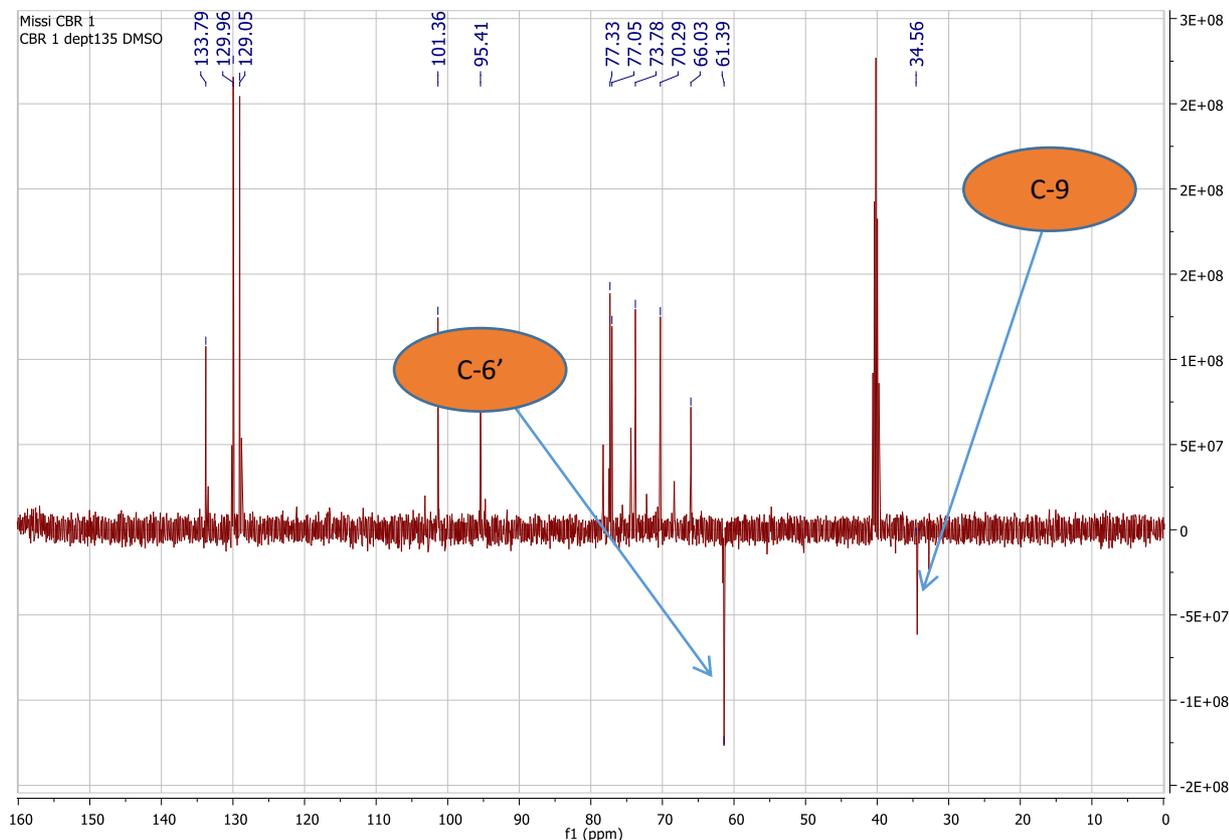


Figure 66: Spectre DEPT-135 (100MHz, DMSO- d_6) de CBR₂

Dans son spectre COSY- 1H - 1H on observe les corrélations entre les protons H-2''/6'' et H-3''/5'' du système AA'BB' du cycle benzenique.

Ces observations ont été confirmées par son spectre HSQC (Fig 67) qui nous révèle les pics des corrélations entre les différents protons et les carbones, en occurrence: entre le proton à δ_H 4,99 ppm (H-1) et le carbone à δ_C 95,4 (C-1) ppm, la seconde entre le proton à δ_H 7,53 (H-3) ppm et le carbone à δ_C 78,3 ppm, la troisième entre le proton à δ_H 5,05 (H-6) ppm et le carbone à δ_C 73,8 ppm et entre le proton à δ_H 4,17 ppm et le carbone à δ_C 70,3 ppm.

Le spectre HMBC (Fig 68) présente des corrélations remarquables entre les protons à δ_H 5,99 ppm (H-1) et les atomes de carbone à δ_C 164,2 ppm (C-5), 165,9 ppm (C-7''), 78,3 ppm (C-3), 70,3 ppm (C-7), entre les protons à δ_H 7,53 ppm (H-4'/6') et des atomes de carbone à δ_C 165,7 ppm (C-7''), 164,2 ppm (C-5), 116,9 ppm (C-4), 95,4 ppm (C-1) (Sch. 4).

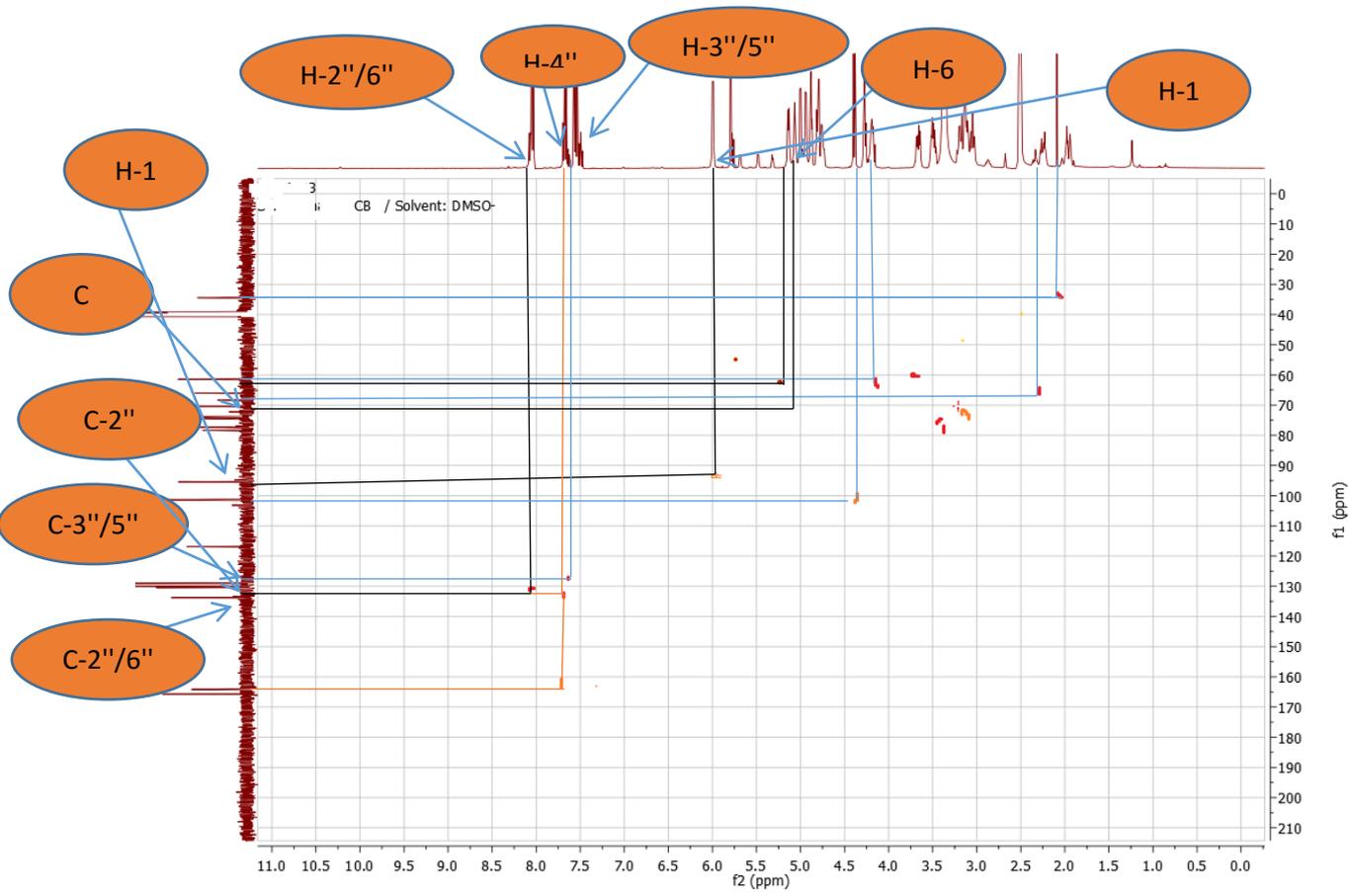


Figure 67: Spectre HSQC (DMSO-*d*₆) de CBR₂

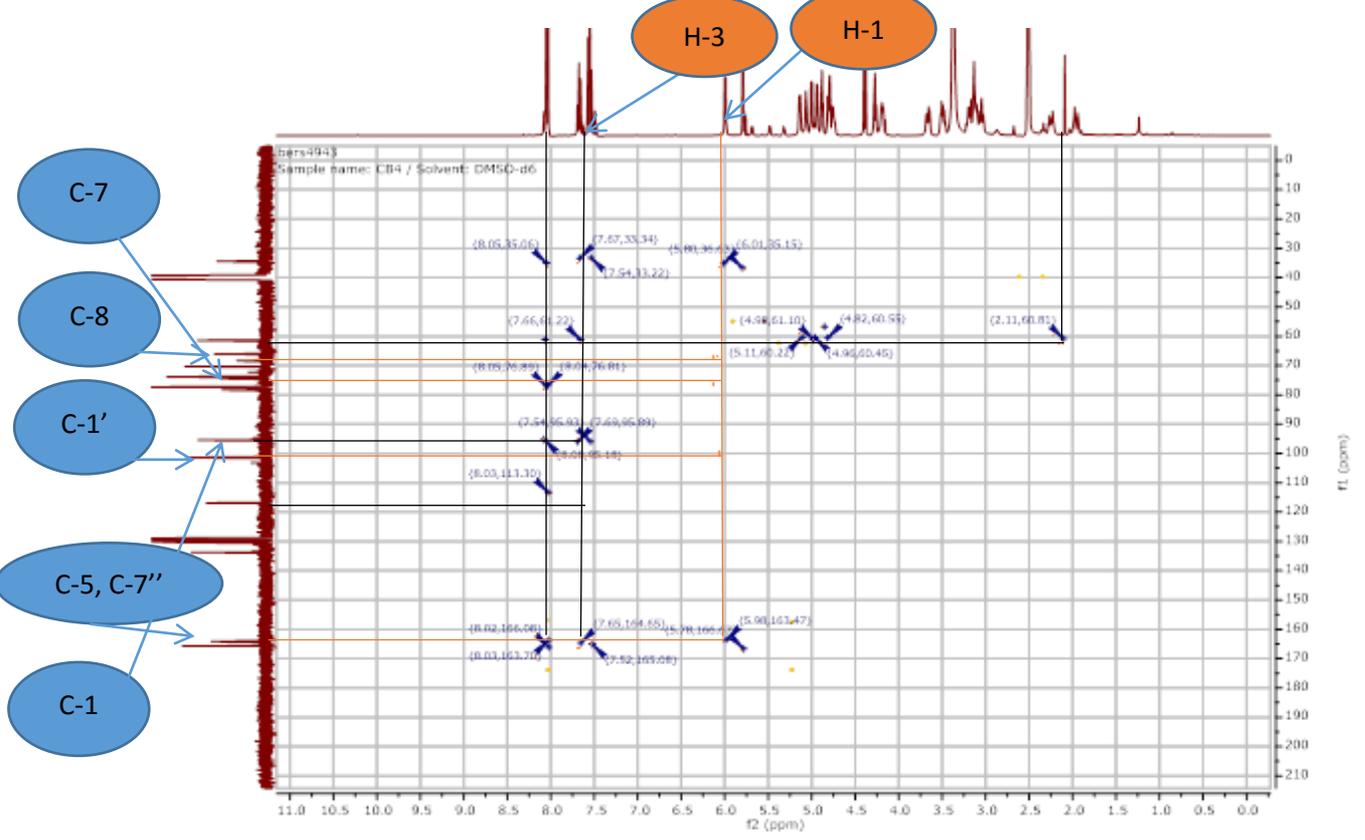
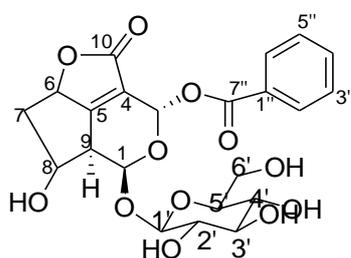


Figure 68: Spectre HMBC (DMSO-*d*₆) de CBR₂

L'analyse de tous ces spectres détaillées plus haut, surtout les spectres protons et carbones nous montre que, CBR₂ est un mélange de deux composés dans les proportions 4:1 avec l'orientation β privilégié au vue des résolutions des pics du spectre RMN très élevés. Ce qui nous a conduit à caractériser CBR₂ comme la (5R,7aR)-1-hydroxy-4-oxo-7-(((2R,3S,4R,5R,6S)-3,4,5-trihydroxy-6-(hydroxymethyl)tetrahydro-2H-pyran-2-yl)oxy)-1,2,2a,5,7,7a-hexahydro-4H-3,6-dioxacyclopenta[cd]inden-5-yl benzoate, un dérivé nouveau trivialement nommé cordialinine **140**.

Le tableau 15 recapitule les données RMN¹H- et RMN-¹³C du composé **140**.



140

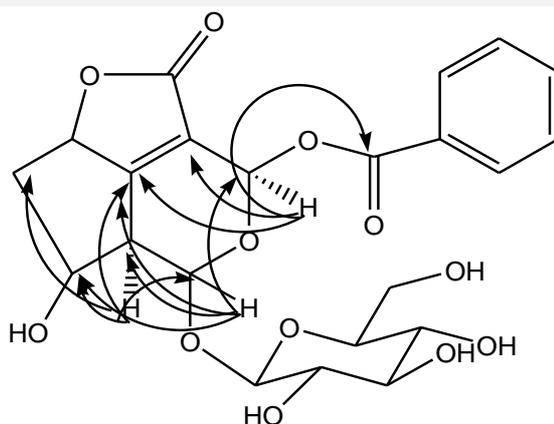


Schéma 5: Corrélations HMBC (—→) de CBR₂

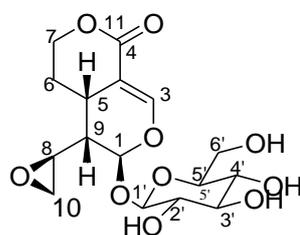
Tableau 15: Données de RMN-¹H (DMSO, 400MHz) et ¹³C (DMSO, 100MHz) de CBR₂

Position	δ_C	δ_H (m, J Hz)
1	95.4	5,99 (1H ; <i>d</i> ; 4,9)
3	78.3	7,53 (1H, <i>s</i>)
4	116,9	/
5	164.2	/
6	73.8	5,05 (1H ; <i>t</i>)
7	70.3	4,17 (1H ; <i>m</i>)
8	66,0	2,87 (1H ; <i>d</i> ; 4,9)
9a		1,98 (1H ; <i>m</i>)
9b	34,6	2,22 (1H ; <i>m</i>)
10	165,5	/
1'	101.4	4,38 (1H ; <i>d</i> ; 7,2)
2'	73,3	3,19 (1H ; <i>t</i> ; 7,5)
3'	77,3	3,49 (1H ; <i>m</i>)
4'	74,4	3,22 (1H ; <i>m</i>)
5'	77,1	3,45 (1H ; <i>m</i>)
6'a		3,71 (1H ; <i>dd</i> ; 11,0 ; 2,2)
6'b	61,2	3,51 (1H ; <i>dd</i> ; 11,0 ; 4,7)
1''	130.5	/
2''/6''	130.0	8,05 (2H ; <i>d</i>)
3''/5''	129.1	7,65 (2H ; <i>d</i>)
4''	133.8	7,69 (1H ; <i>s</i>)
7''	165.7	/

^{a)} Déplacements chimiques confirmés par DEPT-135, HSQC, HMBC, COSY et NOESY

II.2.3.19. Identification de CBR₃

CBR₃ a été isolé sous forme d'un solide blanc soluble dans le système CH₂Cl₂/MeOH (10/1). Sur son spectre de masse ESI-MS en mode négatif, on observe le pic de l'ion *pseudo* moléculaire [M+H]⁺ à *m/z* 375,2 suggérant ainsi, la formule moléculaire C₁₆H₂₂O₁₀ renfermant six degrés d'insaturations. Son spectre IR montre la présence d'un hydroxyle (3425 cm⁻¹) et d'une liaison C–O (1100 cm⁻¹), d'une double liaison C=C (1628, cm⁻¹) et des groupements CH₂ et CH₃ (2930, 2864, 1465, 1375 cm⁻¹). L'interprétation des spectres de RMN-¹H, ¹³C, HSQC et HMBC nous a permis d'attribuer à CBR₃ la structure **141**.



141

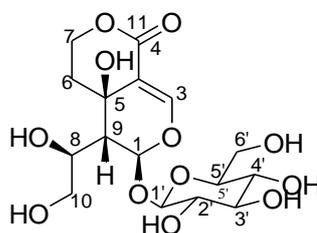
En effet, l'examen minutieux de son spectre RMN-¹H révèle les signaux des protons types iridoïques à δ_H 5,67 (1H; *d*; 1,5) attribué à C-1, 7,55 (1H; *d*; 2,5) attribuable à C-3. Un autre signal à δ_H 4,60 (1H; *d*; 8,0) proton anomérique (H-1'), deux autres protons à δ_H 2,72 (1H; *m*) attribué à C-8 et 1,69 (1H; *ddd*; 9,0; 5,0; 1,5) proton du carbone C-9.

Son spectre RMN-¹³C révèle 16 signaux de carbones donc les deux carbones éthyléniques à δ_C 153,4 (C-3), 106,7 (C-4), un carbone quaternaire δ_C 166,2 (C-11), un autre à δ_C 99,6 (C-1'), et les deux signaux de l'époxyde à δ_C 49,9 (C-8) et le méthylène à δ_C 45,2 (C-10).

La comparaison des valeurs des déplacements chimiques des ¹H et ¹³C du composé **141** avec celles de la littérature montre qu'elles sont identiques à celles de la 5-desoxyeustomoside isolé préalablement de *Gentiana campestris* (Mpondo *et al.*, 1989).

II.2.3.20. Identification de CBR₄

CBR₄ a été isolé sous forme d'un solide blanc soluble dans le système CH₂Cl₂/MeOH (10/1). Sur son spectre de masse ESI-MS en mode négatif, on observe le pic de l'ion *quasi* moléculaire [M - H]⁻ à *m/z* 409,2 suggérant ainsi, la formule moléculaire C₁₆H₂₄O₁₂ renfermant cinq degrés d'insaturations. Son spectre IR montre la présence d'un hydroxyle (3425 cm⁻¹) et d'une liaison C–O (1100 cm⁻¹), d'une double liaison C=C (1628, cm⁻¹) et des groupements CH₂ et CH₃ (2930, 2864, 1465, 1375 cm⁻¹). L'interprétation des spectres de RMN-¹H, ¹³C, HSQC et HMBC nous a permis d'attribuer à CBR₄ la structure **142**.



142

En effet, l'examen minutieux de son spectre RMN-¹H révèle les signaux des protons types iridoïques à δ_H 6,01 (1H; *d*; 1,5) attribué à C-1, 7,60 (1H ; *d* ; 2,5) attribuable à C-3. Un autre signal à δ_H 4,61 (1H; *d*; 8,0) proton anomérique (H-1'), deux autres proton à δ_H 3,34 (1H; *m*) attribué à C-8 et 2,48 (1H; *dd*) porton du carbone C-9.

Son spectre RMN-¹³C révèle 16 signaux de carbones donc les deux carbones éthylénique à δ_C 154,6 (C-3), 110,0 (C-4), un carbone quaternaire δ_C 168,2 (C-11), un méthylène δ_C 65,8 (C-7), un autre à δ_C 100,0 (C-1'), et les trois signaux hydroxylés à δ_C 64,6 (C-5), 70,8 (C-8) et et le méthylène à δ_C 64,7 (C-10).

La comparaison des valeurs des déplacements chimiques des ¹H et ¹³C du composé **142** avec celles de la littérature nous a permis d'identifier ce composé à l'eustomorusside isolé préalablement de *Gentiana campestris* (Mpondo *et al.*, 1989)

II.2.4. Hypothèse sur la biosynthèse de quelques composés isolés

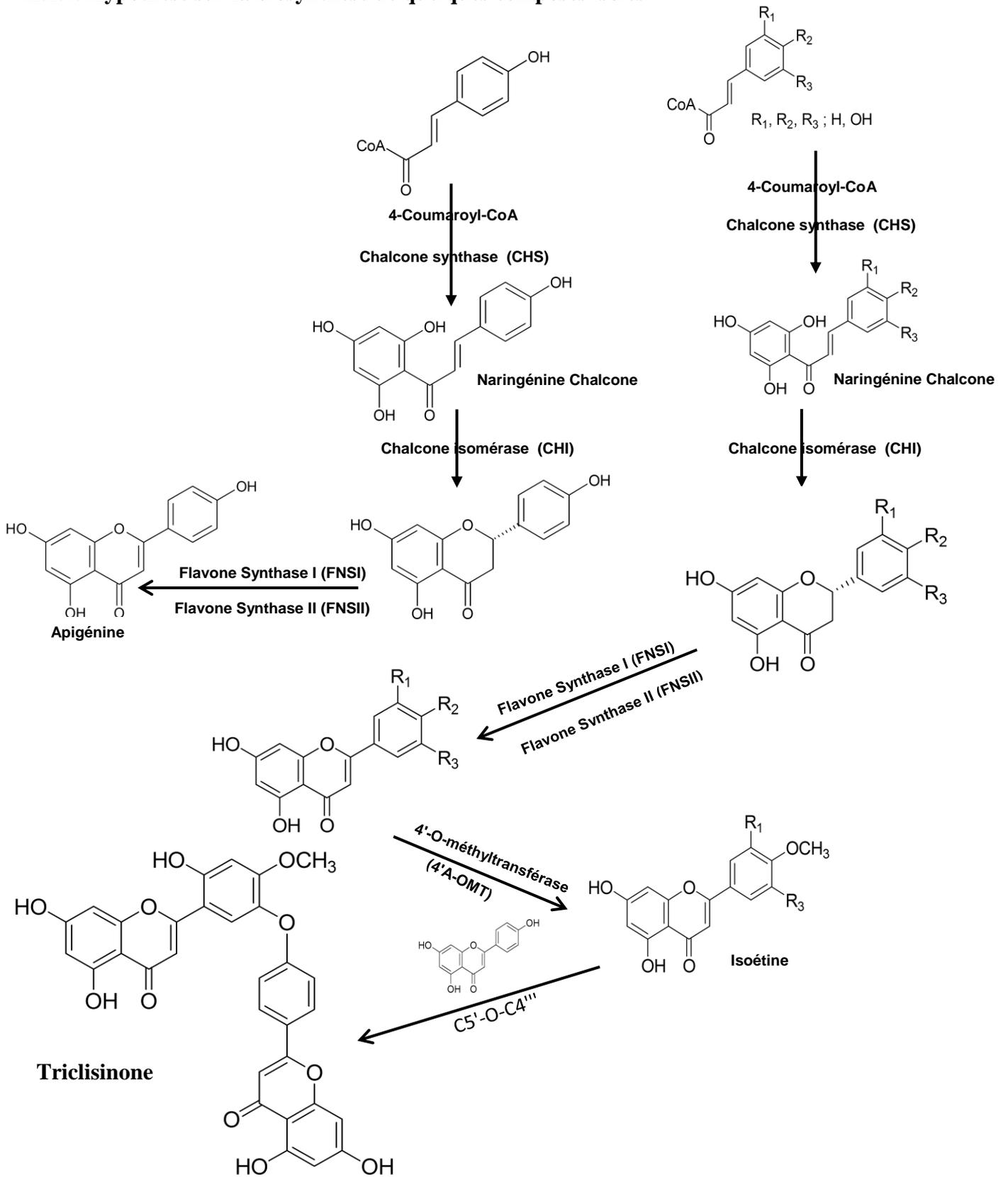


Schéma 6: Biosynthèse de la triclistinone

II.2.5. Etude Chimiotaxonomique

À notre connaissance, la triclisinone (**124**) est signalé pour la première fois dans le genre *Triclisia* et suggère que le genre peut être considéré comme une source potentielle de triterpènes. Néanmoins, certains triterpénoïdes ont déjà été isolés dans la famille des Menispermaceae, en particulier chez *Tinospora crispa* (**Kongkathip et al., 2002**). Cette dernière espèce fournit également des flavonoïdes (**Kalsom et Noor, 1995**) ainsi que *Cissampelos capensis* (Menispermaceae) (**Babajide et al., 2015**), qui contient un analogue de la quercétine (**127**), trouvé dans la présente étude du genre **Triclisia** la première fois. De plus, l'apparition du (+)-nonacosan-10-ol (**118**) dans cette étude est étroitement liée aux données moléculaires d'une étude précédente sur *Stephania abyssinica* (Menispermaceae) (**Gautam et al. 2005**). Même si certains biflavonoïdes ont déjà été décrits dans *Stephania tetrandra* (Menispermaceae) (**Si et al. 2001**), cette enquête montre la première apparition de cette classe de composés dans le genre *Triclisia*. De cette étude, il est évident que la chimie de *Cissampelos* et *Stephania* est plus similaire à celle du genre *Triclisia* en ce qui concerne les structures des composés.

Les résultats obtenus du genre *Cordia* montrent qu'il est source de plusieurs classes de métabolites secondaires telles que les flavonoïdes, les triperpènes, les alcaloïdes et les stérols (**El-Sayed et al., 1998**); **Menezes et al., 2001**; **Dini et al., 2001**) la quercetin (**127**) a déjà été rencontré dans *C. macleodii* et dans *C. globosa* (**El-Sayed et al., 1998**; **Silva et al., 2010**), la cordialin A (**130**) dans *C. multispicat* et dans *C. verbenacea* (**Kuroyanagi et al., 2001**; **Velde et al., 1982**), l'acide oléanique dans *C. trichotoma* (**Menezes et al., 2001**; **Dini et al., 2001**) l'allantoïne (**87**) marqueur biosynthétique des *Cordia* a déjà était recensé dans plusieurs espèces du genre *Cordia* tels que *C. trichotoma* (**Menezes et al., 2001**; **Dini et al., 2001**), *C. dichotoma* (**Jamkhande et al., 2013**). Ce genre est pourvoyeur de plusieurs acides gras (**Wassel et al., 1987**; **Miralles et al., 1989**; **Bhattacharya and Saha 2013**; **Hussain and Kakoti 2013**; **Jamkhande et al., 2013**)

II.3. Activités biologiques des extraits et composés isolés.

Nous avons effectué un Screening biologique en collaboration avec le Laboratoire de Microbiologie de l'université de Yaoundé 1 sur les extraits méthanoliques obtenus.

Tableau 16- Screening microbiologique effectué sur les extraits bruts

Nom botanique	Organe (Poids sec initial)	Solvants d'extraction (L)	Poids de l'extrait	Rdt	Activité à l'égard de		
					M.t. AC45	P.f. Dd2	P.f. 7G8
<i>T. gillettii</i>	Feuilles (0,109 kg)	MeOH (0,6)	12 g	11.01 %	++	ND	ND
	Tiges (0,7 kg)	MeOH (2)	34 g	4.9 %	+	ND	ND
<i>C. batesii</i>	Feuilles (0,5kg)	MeOH (1)	53 g	10.6 %	++	+	+
	Tiges (2 kg)	MeOH (11)	63 g	3.2 %	++	++	ND
	Racines (1 kg)	MeOH (5)	39 g	3.9 %	ND	+	ND

ND : Non déterminé + : Activité moyenne ++ : Activité forte M.t. : *Mycobacterium tuberculosis* P.f. : *Plasmodium falciparum*

Il ressort de ce screening que les extraits de feuilles de *T. gillettii*, *C. batesii* et de des tiges de *C. batesii* ont montré une activité antimycobactérienne modéré. L'extrait issu des tiges de *C. batesii* a montré également une activité modéré sur la souche Dd2 de *Plasmodium falciparum* tandis que Les extraits issus des feuilles montrent une activité moyenne sur les deux souches Dd2 et 7G8 de *Plasmodium falciparum*. Les racines de *C. batesii* montrent également une activité moyenne sur la souche Dd2 de *Plasmodium falciparum*.

Ces activité antimycobactérienne et antiplasmodiale de ces plantes pourrait s'expliquer par la présence dans celles-ci des alcaloïdes de type bisbenzylisoquinolines, pyrrolodiquinolines et vermelhotine, des triterpènes et même des biflavonoïdes (Ganihigama et al., 2015; Sureram et al., 2012; Gonzales et al., 2001).

II.3.1. Activité antituberculeuse des extraits et composés isolés de *Triclisia gillettii*

Les extraits méthanolique des feuilles de *T. gillettii* et les tiges et racines de *C. batesii* et certains composés isolés: la triclisinone **124**, la fridelane-3,11-dione **117**, deux flavonoides: la myrecetine **126** et la quercetine **127** et deux stérols: 3-O-β-D-glucopyranosylsistostérol **120** et 3-O-β-D-glucopyranosylstigmastérol **121** ont été testés pour leurs activités antimycobactérien sur la souche résistante codifiée AC45 de *Mycobacterium tuberculosis* avec

comme référence la rifampicine. Les résultats sont consignés dans les tableaux 17 et 18 suivants.

Tableau 17: Valeurs des CMI et CMB de l'extrait méthanolique et des composés isolés sur *Mycobacterium tuberculosis* (AC 45)

Espèce et composés	CMI ^a (µg/mL)	CMB ^b (µg/mL)	CMB/CMI
<i>T. gillettii</i>	1250	5000	4
<i>C. batessii</i>	1250	2500	2
friedelane-3,11-Dione 115	3.90	15.62	4
Triclisinone 122	62.5	125	2
3-O-β-D-glucopyranosylsistostérol 118	62.5	125	2
3-O-β-D-glucopyranosylstigmastérol 119	62.5	250	4
Myrecetine 124	7.81	31.25	4
Quercetine 125	62.5	125	2
RMP	0.97	7.81	8

a= Concentration minimale d'inhibition

b= Concentration minimale bactéricide

RMP = Rifampicine

Tableau 18: Valeurs des CMI et CMB de l'extrait méthanolique de *C. batessii* sur *Mycobacterium tuberculosis* (AC 45)

Espèce	CMI ^a (µg/mL)	CMB ^b (µg/mL)	CMB/CMI
<i>C. batessii</i>	1250	2500	2
RMP	0.97	7.81	8

a= Concentration minimale d'inhibition b= Concentration minimale bactéricide
RMP = Rifampicine

Discussion

D'après les résultats obtenus (Tab.17), il apparaît que tous les composés testés ont présenté une bonne activité antituberculeuse avec une concentration minimale inhibitrice (CMI) comprise entre 3.90 et 62.5 µg/mL. Selon Cantrell et al. (2001), les composés purs présentant une CMI de 64 µg/mL ou moins sont prometteurs. Et les extraits bruts avec une CMI égale ou inférieure à 125 µg/mL Sont de meilleurs candidats pour l'isolement des principes actifs potentiels (Gu et al. 2004). Les résultats obtenus montrent que la friedelane-3,11-Dione (**117**) et myricétine (**126**) Peuvent être employés comme de potentiels agents antituberculeux très actifs avec des CMI de 3.90 et 7.81 µg/mL, respectivement, au vu des résultats du médicament standard de référence, la Rifampicine (CMI de 0.97 µg/mL). L'extrait au méthanol de *T. gillettii* a montré une faible activité inhibitrice contre *M. tuberculosis*, avec une CMI et une MBC de 1250 et 5 000 µg/mL, respectivement, ce qui suggère qu'il existe d'autres composants dans l'extrait qui pourraient avoir un effet antimycobactérien. Pareil pour l'extrait au méthanol de *C. batessii* qui possède une CMI et une CMB de 1250 et 2 500 µg/mL (tableau 18). La faible activité des extraits pourraient montrer qu'ils sont constitués principalement de bio-molécules polaires, tel que le met en exergue les travaux de Pauli et al., 2005, qui montrent que la paroi cellulaire des mycobactéries est lipophile et donc sensible aux composés de faibles polaires. Les flavonoïdes, la bisbenzylisoquinoléine, les alcaloïdes, les stéroïdes et les triterpénoïdes ont montré une activité prometteuse ou peuvent servir de modèle pour de nouveaux produits naturels antituberculeux (Okunade et al., 2004; Copp et Norrie Pearce 2007; Sureram et al., 2012; Erickson et al., 2014). Pour les triterpénoïdes, la présence de substituants polaires a montré une diminution de leur activité anti-mycobactérienne inhibitrice de l'effet antimycobactérien; ceci est illustré dans la friedelane-3,11-Dione (**117**) (CMI = 3,90 µg / mL, composé isolé le moins polaire testé) corroborant d'une part

l'affirmation de Pauli et collaborateur en 2005 sur le rapport précédent sur des triterpènes antituberculeux (**Jiménez-Alleranes et al., 2007; Bamuamba et al., 2008**) d'autres composés non polaires ayant démontré une lipophilie plus élevée d'autre part (**Lirio et al., 2014**). L'activité antituberculeuse significative des flavonoïdes (myricétine, **126**), s'explique par la présence dans ces métabolites secondaires, des substituants polyhydroxylés alors que la présence de méthyle illustrée par la triclisinone (**124**) (CMI = 62,5 µg/mL) ou des résidus glycosidiques dans ces profils de substitution peuvent entraîner une diminution de l'activité contre l'organisme d'essai (le composé **124** est 8 fois moins actif que **126**). L'activité antimycobactérienne détectée pour ces composés isolés est en accord avec celle précédemment rapportée dans la littérature (**Erickson et al., 2014; Ebeh Messanga et al., 2017**). Selon Peterson et Shanholtzer (1992), l'activité bactériostatique est définie par rapport CMB/CMI supérieur à 4. Ainsi, tous les composés testés présentaient une activité bactéricide ce qui est une bonne chose pour nos composés et nos extraits. Car, selon Fauchère et Avril 2002 les composés bactericides sont efficace et recommandés pour les cas des infections chroniques telles que la tuberculeuse.

II.3.2. Activité antiplasmodiale des extraits et composés isolés de *Cordia Batesii*

Les extraits des feuilles et tiges au méthanol de *C. batesii* et les composés isolés tels que la batesiine (**129**), allantoïne (**87**), la cordianol A (**131**) ont été évaluées pour leur activité antiplasmodiale (Fig 69) contre les souches Dd2 et 7G8 de *P. falciparum*.

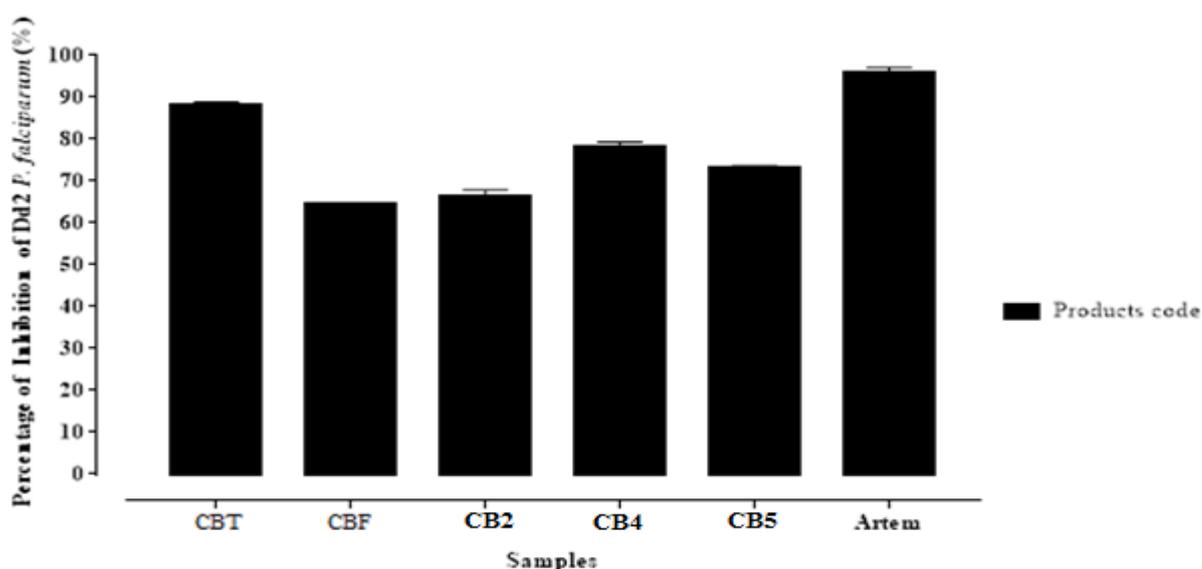


Figure 69: Pourcentage d'inhibition des feuilles de *C. batesii* et des composés isolés contre la souche *P. falciparum* Dd2

. De ces résultats, nous observons que l'extrait au méthanol de tiges de *Cordia batesii* a une activité antiplasmodiale très élevée, avec un pourcentage d'inhibition de 88,24% par rapport à l'artémisinine ((95,75%). Ceci nous a permis d'évaluer son IC₅₀ (Fig 70).

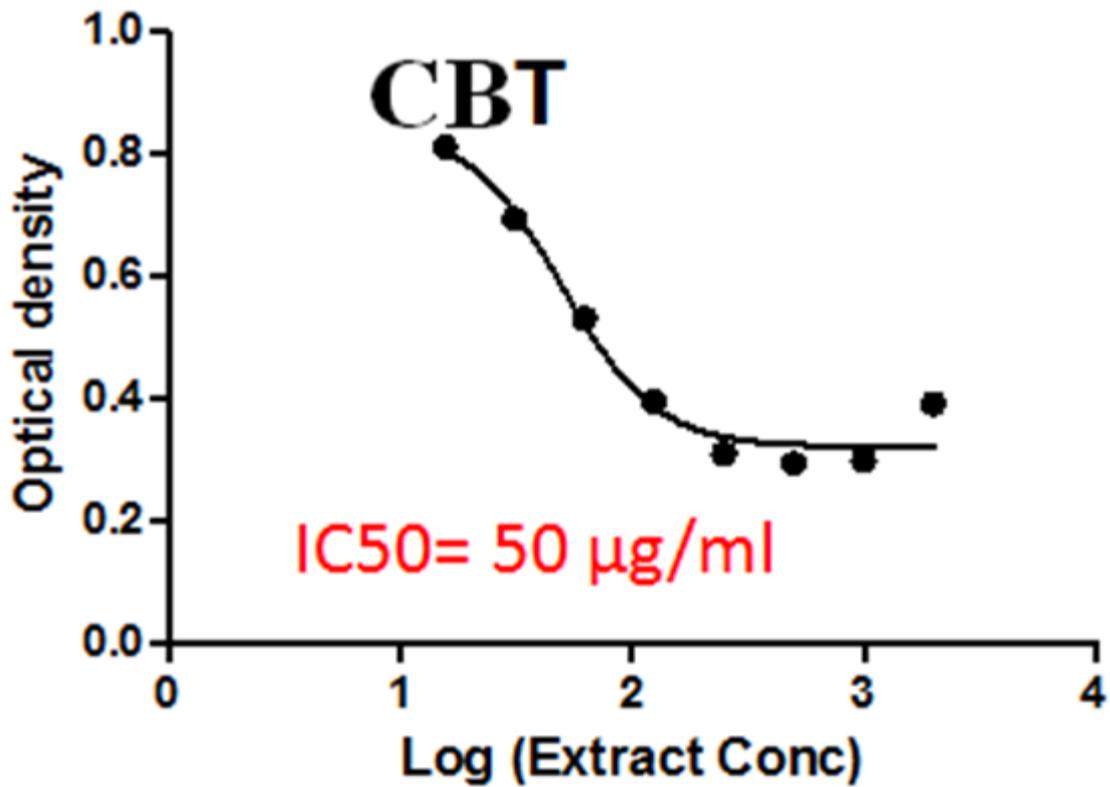


Figure 70: IC₅₀ de l'extrait au méthanol des tiges de *Cordia batesii* sur la souche Dd2 de *P. falciparum*

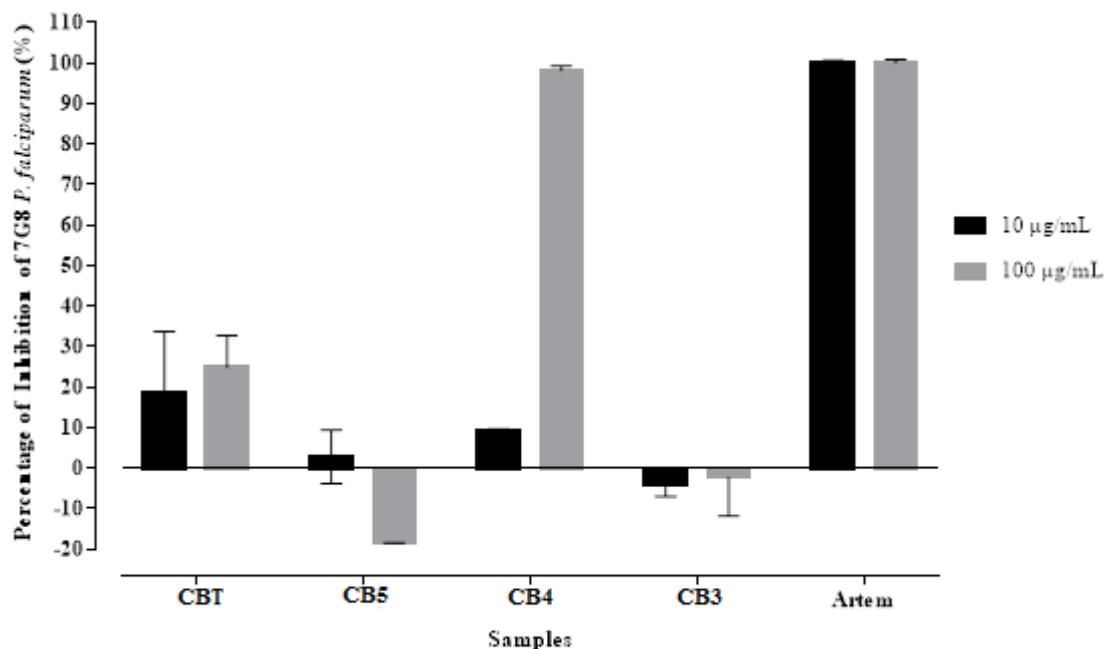


Figure 71: Pourcentage d'inhibition des feuilles de *C. batesii* et des composés isolés sur la souche CQR de *P. falciparum* 7G8

Discussion

L'augmentation des phénomènes de résistance aux espèces de plasmodium est du phénomène de résistance au paludisme est courante de nos jours. Pour ces raisons, les approches ethnopharmacologiques ont été choisies. Cela semble être un moyen prometteur de trouver des substances phytochimiques qui pourraient être utilisées comme modèles pour concevoir les nouvelles molécules.

Dans la présente étude, l'évaluation des effets antipaludiques contre les souches CQR de *P. falciparum* Dd2 et 7G8 de l'extrait au méthanol de feuilles et de tiges de *C. batesii* et de quatre composés isolés: la batesiine (**129**), allantoïne (**87**), la cordianol A (**131**) et la cordialine B (**132**) a été effectué selon les tests basés sur la fluorescence Sybr Green I.

Les résultats présentés dans les figures 62 et 63 indiquent respectivement le pourcentage d'inhibition de la croissance et la valeur de l'IC₅₀ de l'extrait au méthanol des tiges de *cordia batesii* sur la souche Dd2 de *P. falciparum*.

La figure 64 indique le pourcentage d'inhibition de la croissance des souches 7G8 de *P. falciparum*.

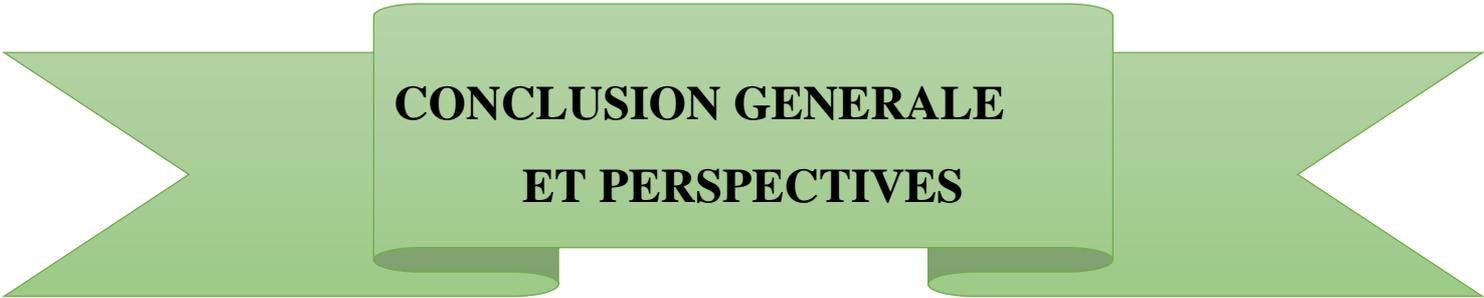
La figure 62 montre que l'extrait au méthanol de tiges de *Cordia batesii* a un fort pourcentage d'inhibition (88,24%) par rapport à l'artémisinine (95,75%). Ceci nous a poussés à effectuer son IC₅₀ afin de confirmer l'activité antiplasmodiale.

De la figure 63, il ressort que les tiges de *cordia batesii* ont une activité modérée sur la souche Dd2 avec une IC₅₀ de 50 µg/mL.

Alors que tous les composés isolés: la batesiine A (**129**), allantoïne (**87**) et la cordianol A (**131**) montrent une activité supérieure ou égale à 65%. Ils ont présenté une bonne activité inhibitrice de la croissance de la souche *P. falciparum* Dd2 avec un pourcentage d'inhibition de 78,11%, 66,43% et 72,99% respectivement.

Pour la souche 7G8 de *P. falciparum*, il ressort des résultats obtenus que l'extrait au méthanol des tiges et certains composés isolés: la batesiine et l'allantoïne ont montré une inhibition de la croissance des parasites modérés avec un pourcentage inhibiteur de 18,82%, 10,04% et 3,84% respectivement à 10 µg/mL, 34,26%, 98,07% et -18,44% à 100 µg/mL.

Ces résultats montrent que la batesiine (**129**) a un pourcentage d'inhibition plus élevé supérieur à 60% sur la souche 7G8 de *P. falciparum* à 100 µg/mL et pourrait être un composé prometteur pour des tests ultérieurs.



**CONCLUSION GENERALE
ET PERSPECTIVES**

Conclusion et perspectives

Au cours de notre étude qui avait pour objectif la recherche des constituants chimiques à intérêt thérapeutique de *Triclisia gilletii* (Menispermaceae) et de *Cordia batesii* (Boraginaceae) du Cameroun, trois extraits provenant de ces deux espèces camerounaises (*T. gilletii* et *C. batesii*) choisies sur la base de leur utilisation en médecine traditionnelle, ont été évaluées à l'aide de méthodes de criblage chimique et biologique. Sur la base des résultats obtenus lors de ce screening, l'espèce *Triclisia gilletii* a été soumise à une investigation phytochimique approfondie qui a permis d'isoler dix composés (**TGF₁-TGF₁₀**), donc un nouveau dérivé, la triclisinone (**124**) et un composé révisé la friedelane-3,11-dione (**117**).

L'investigation phytochimique de l'espèce *C. batesii* nous a permis d'isoler des tiges, six composés (**CBT₁-CBT₆**) donc un dérivé nouveau, la batesiine (**129**) et neuf métabolites secondaires des racines (**CBR₁-CBR₄**) donc un dérivé nouveau, la cordialinine (**140**). Au total vingt-cinq métabolites secondaires isolés et caractérisés répartis comme suit:

- Un biflavonoïde et trois flavonoïdes isolés pour la première fois du genre *Triclisia*: la triclisinone (**124**), la myrecetine (**126**), la quercetine (**127**) et la 3-méthoxyquercetine (**128**).
- Cinq triterpènes: La friedelane-3,11-dione (**117**), l'acide oléanique (**125**), la cordialine A (**130**), la cordialine B (**132**) et la cordianol A (**131**).
- Trois stérols: La stigmastérol (**119**), la sitosterol-3-*O*- β -D-glucopyranoside (**120**) et la stigmastérol-3-*O*- β -D-glucopyranoside (**121**).
- Un alcool: le (+)-nonacosan-10-ol (**118**).
- Trois alcaloïdes: L'allantoïne (**87**), la Pyrimidine-2,4(*1H,3H*)-dione (**133**) et la batesiine (**129**).
- Trois iridoïdes: la cordialinine (**140**), la 5-desoxyeustomoside (**141**) et l'eustomorusside (**142**).
- Six acides gras: La palmitate de méthyle (**134**), l'acide palmitique (**135**), la (9E,12E)-octadeca-9,12-dienoate de méthyle (**136**), l'oléate de méthyle (**137**), la tridecanoate de méthyle (**138**) et l'acide (Z)-octadec-11-énoïque (**139**).

A l'issue de ce travail, les composés purs isolés ont été testés pour leur activité antituberculeuse et antipaludéenne.

La friedelane-3,11-dione (**99**), la triclisinone (**124**), la sitostérol-3-*O*- β -D-glucopyranoside (**120**), la stigmastérol-3-*O*- β -D-glucopyranoside (**121**), la myrecetine (**126**) et la quercetine (**127**) ont montré une activité antibactérienne sur *Mycobacterium tuberculosis* AC45. Par ailleurs, de ces six composés friedelane-3,11-dione (**117**) et la myrecetine (**126**)

isolées des feuilles de *Triclisia gilletii* sont des potentiels agents antituberculeux avec des CMI de **3.90** et **7.81** µg/mL respectivement.

la batesiine (**129**), allantoïne (**87**), la cordianol A (**131**) et la cordialine B (**132**) ont montré une très bonne activité contre la souches Dd2 de *P. falciparum*, l'extrait méthanolique des tiges a la meilleure activité sur cette souche avec une IC₅₀ de 50 µg/mL. En revanche sur la souche 7G8 seul la cordianol A (**131**) montre une forte activité d'inhibition avec un pourcentage d'inhibition de la croissance de 98,07% à la concentration de 100 µg/mL.

La méthodologie de purification a été essentiellement fondée sur les différentes méthodes chromatographiques (CC et CCM).

La détermination structurale des métabolites secondaires isolés a été réalisée grâce à l'utilisation des techniques physicochimiques et spectroscopiques incluant la spectrométrie de masse (SM) et la spectroscopie de résonance magnétique nucléaire (RMN) avec ses différentes techniques monodimensionnelles (¹H, ¹³C) et bidimensionnelles (COSY ¹H-¹H, HSQC, HMBC) accompagnés par les données de la littérature.

Compte tenu de l'impact que pourrait avoir l'étude phytochimique de *T. gilletii* et de *C. batesii* dans le processus de valorisation de la pharmacopée traditionnelle, nous allons poursuivre nos études sur les autres parties ces plantes.

Parachever l'élucidation des composés CBF₇ et CBF₈, ainsi que ceux isolés des tiges de *T. gilletii*,

Étendre notre étude sur l'espèce *T. dictyophylla* et les feuilles de *C. batesii*, sur d'autres espèces de ces genres, c'est qui, permettrait d'isoler d'autres métabolites secondaires dans le but de mieux valoriser la flore camerounaise et résoudre des nombreux problème de santé primaire que nous rencontrons.

Conforter les configurations des centres stéréogéniques via l'application de la Théorie de la Fonctionnelle de la Densité (DFT)

Optimiser l'activité biologique via le processus d'hémisynthèse.



CHAPITRE III: PARTIE EXPERIMENTALE

CHAPITRE III : PARTIE EXPERIMENTALE

III.1. Matériel végétal

Les feuilles et tiges de *Triclisia gillettii* (De Wild) Staner (Menispermaceae) ont été récoltées au mois de mars 2014 à Koumoul par Eseka, localité située dans la région du centre du Cameroun. Cette espèce a été identifiée par comparaison à un échantillon numéro N° 64296/HCN disponible à l'herbier National du Cameroun par monsieur Victor Nana. Les feuilles, tiges et racines de *Cordia batesii* Wernham (Boraginaceae) ont été récoltées toujours à Koumoul en mars 2014. Cette espèce a été identifiée par comparaison à un échantillon numéro N° 14106 /HCN également disponible à l'herbier National du Cameroun toujours par monsieur Victor Nana.

Les espèces ont été ensuite exposées à la lumière du soleil pour séchage pendant plusieurs jours puis broyées.

III.2. Matériels et méthodes d'extraction

III.2.1. Matériels

Les points de fusion n'ont pas été corrigés et ont été mesurés sur un instrument Mettler Toledo. Les spectres IR ont été enregistrés sur un spectromètre Alpha FT-IR de Bruker, tandis que les spectres RMN 1D et 2D ont été obtenus sur un spectromètre de type Bruker Rheinstetten DRX 500 (500 MHz pour ^1H et 125 MHz pour ^{13}C) avec des déplacements chimiques rapportés en δ (ppm) et en utilisant TMS (δ_{H}) comme standard interne. Les spectres HR-ESI-MS ont été obtenus sur un instrument LTQ-FT (Thermo Scientific). Les spectres LC-MS ont été mesurées avec le système Shimadzu LC-MS en utilisant une colonne L2 ODS (I.D.2,1 \times 100 mm, Chemical Evaluation and Research Institute, Japon), à un débit de 0,2 mL min^{-1} , une longueur d'onde de détection de 350 et 300 nm, et FMW (HCOOH / MeCN / H₂O = 1:12:87) comme éluant, ESI+ 4,5 kV, ESI- 3,5 kV, 250 ° C. Les analyses GC-MS ont été réalisées sur un chromatographe Agilent 6890N équipé d'un spectromètre de masse Agilent 5973N sur colonne capillaire HP5-MS. Les rotations optiques ont été mesurées sur Polarimètre Perkin-Elmer 341. Le Gel de silice 60 (230–400 mesh E. Merck, Darmstadt, Allemagne) et le Sephadex LH-20 ont été utilisés pour la chromatographie sur colonne, le mélange de solvants les systèmes d'élution étaient principalement CH₂Cl₂/MeOH pour l'étude phytochimique avec polarité croissant jusqu'au MeOH pur, tandis que des feuilles d'aluminium pré-enduites de gel de silice 60 F₂₅₄ ont été utilisées pour les CCM. Un évaporateur rotatif de marque Buchi et Heidolph connecté à un circulateur d'eau de marque LAUDA type WKL 200, utilisé pour

concentrer l'extrait. Une balance électronique de marque KERN (PKT 4200-2) de précision 0,01g avec laquelle nous avons effectué les différentes pesées. Le partitionnement de l'extrait brut au méthanol, hexane, chlorure et l'eau distillée se fait à l'aide d'un ballon à décanté.

La chromatographie sous pression réduite a été faite à l'aide d'un Büchner en verre de marque Drada de diamètre Ø=15cm, de la silice de marque Merck et de granulométrie 70-230µm, d'une pompe sous vide de marque Vacubrand (200-230; 50/60; 0,85 A) et d'une fiole à vide de 200 ml de marque Drada. Les verreries bécher (50, 100 et 200 mL), erlenmeyer (50, 100 et 250 mL), fiole jaugée (50 et 100 mL), tube à essai, pipette (10 et 20 mL), pro-pipette, qui ont permis de préparer, prélever les différents systèmes de solvants utilisés, de contenant pour stocker les extraits

III.2.2. Méthodes d'extraction

Au cours de ce travail nous avons utilisé la macération et le sonicateur qui permet d'extraire rapidement en série de 30 minutes dans les proportions de 100g pour 500ml de méthanol. Elles se déroulent à température ambiante.

Les feuilles séchées à l'ombre à température ambiante et broyées de *T. gillettii* (109g), ont été extraites pendant 48 heures d'agitation manuelle avec le MeOH (3 x 1L). Après filtration et évaporation sous pression réduite du solvant, les résidus obtenus ont subi une nouvelle extraction toujours dans le MeOH. De La suite de l'évaporation du MeOH, l'extrait brut au MeOH (12 g) a été obtenu pour un rendement d'extraction de 11,01%.

500 g de poudre de tiges de *C. batesii* séchés à l'ombre, découpées et broyées ont été extraits avec 100 % de méthanol pendant 5 jours en utilisant un sonicateur (100 g / 500 mL) à température ambiante. L'extrait a été filtré; le filtrat a été évaporé à sec. Le résidu obtenu à partir de l'extrait de méthanol (53 g pour un rendement de 10,60 %) a été dissous dans de l'hexane-eau (80/20) (100 mL) pendant une journée; le résidus hexane-eau résultante (42 g) a été dissoute dans un mélange de chloroforme-eau (80:20) (100 mL) à nouveau en une période de 24 heures; l'extrait chloroforme-eau résultant (36 g) a été dissous dans de l'acétate-eau (70:30) (100 mL) pendant 24 heures et nous avons obtenu l'extrait brut final (26 g) été soumis à d'autres analyses chromatographiques.

Les racines de *C. batesii* ont été séchées à l'ombre, découpées et broyées. La poudre résultante (1 kg) a été extraite par macération au MeOH. Après 72 heures d'agitation manuelle à température ambiante dans une proportion d'environ 1 litre pour 300 grammes d'extrait de poudre. Après évaporation à basse pression du MeOH, les résidus obtenus ont subi une nouvelle extraction toujours dans le MeOH. La suite de l'évaporation du MeOH, nous avons

recueilli l'extrait brut de *C. batesii* (30 g) qui en a résulté et a été sujet à d'autres analyses chromatographiques.

III.3. Isolement et purification des composés

III.3.1. Isolement et purification des composés des feuilles de *T. gilletii*

L'extrait brut de MeOH (12 g) a été soumis à une chromatographie sur colonne CC (SiO₂, en éluant avec un système de solvant à gradient (CH₂Cl₂/MeOH) donnant quatre fractions principales: A (2,4 g), B (1,6 g), C (3,8 g), D (4,2 g).

III.3.1.1. Purification de la fraction A

La fraction A (2,4 g) a été soumise à une colonne de gel de silice en utilisant le système de solvant CH₂Cl₂/MeOH (60/1) pour donner trois sous-fractions (AA, AB et AC). La sous-fraction AB (0,42 g) a été soumise à une colonne de gel de silice (SiO₂) utilisant le système de solvants CH₂Cl₂/MeOH (60/1 - 40/1) l'éluion nous a conduit au composé **TGF₁** (6 mg). La sous-fraction AC (0,38 g) a été purifiée en utilisant une colonne de gel de silice avec un gradient CH₂Cl₂/MeOH (40/1 - 30/1) pour donner le composé **TGF₂** (9 mg).

III.3.1.2. Purification de la fraction B

La fraction B (1,6 g) a été chromatographiée comme décrit ci-dessus pour donner trois sous-fractions (BA, BB et BC). La sous-fraction BA (0,28 g) a été fractionnée par une colonne de gel de silice dans un gradient d'éluion de CH₂Cl₂/MeOH (40/1 - 20/1) pour obtenir les composés **TGF₃** (16 mg) et **TGF₄** (7 mg). Composé **TGF₅** (13 mg) a été isolé de la sous-fraction BB (0,49 g) en utilisant une colonne de gel de silice avec un solvant système CH₂Cl₂/MeOH (40/1 - 30/1). La sous-fraction BC (0,83 g) a été fractionnée et purifiée en utilisant une colonne de gel de silice et élue avec le système de solvant CH₂Cl₂/MeOH (40/1 - 20/1) pour donner **TGF₆** (2,8 mg).

III.3.1.3. Purification de la fraction C

La fraction C (3,8 g) a été soumise à une colonne de gel de silice comme ci-dessus élue avec un solvant système CH₂Cl₂/MeOH (20/1 à 5/1) pour donner cinq sous-fractions (CA, CB, CC, CD et CE). La sous-fraction CC (0,74 g) a été soumise à une colonne de Séphadex[®] LH-20, élue avec MeOH pour donner les composés **TGF₇** (11 mg) et **TGF₈** (4 mg). La sous-fraction CD (0,42 g) a également été purifiée en utilisant une colonne de sephadex LH-20 pour obtenir le composé **TGF₉** (4,8 mg).

III.3.1.4. Purification de la fraction D

La fraction D (4,2 g) a été soumise à un gel de silice décrit ci-dessus et élué avec le système de solvants CH₂Cl₂/MeOH (20/1 à 5/1) pour donner quatre sous-fractions (DA, DB, DC et DD). La sous-fraction DC (0,89 g) a été successivement chromatographiée en utilisant une colonne de gel de silice en élution en gradient de CH₂Cl₂/ MeOH (20/1 - 1/1), nous avons obtenu le composé **TGF₁₀** (68 mg).

III.3.2. Isolement et purification des composés des tiges de *C. batesii*

Après extraction et partitionnement à l'hexane, au chlorure, à l'acetate d'éthyle et au méthanol, l'extrait brut au MeOH (26 g) a été soumis à une chromatographie sur colonne CC (LH-20) avec MeOH uniquement comme solvant d'élution. Quatre fractions principales ont été obtenues: A (10,36 g), B (4,6 g), C (3,0 g) et D (7,0 g).

III.3.2.1. Purification de la fraction A

La fraction A (10,36 g) a été soumise à une colonne de gel de silice en utilisant un mélange de solvant CH₂Cl₂/MeOH (100 - 15/1) pour donner trois composés **CBT₁** (4,6 mg), **CBT₂** (7,5 mg) et **CBT₃** (11 mg).

III.3.2.2. Purification de la fraction B

La fraction B (4,6 g) a été chromatographiée comme décrit ci-dessus pour donner cinq sous-fractions (BA, BB, BC, BD et BE). La sous-fraction BA (0,20 g) a été fractionnée par du gel de silice CC dans une élution en gradient croissant de CH₂Cl₂/MeOH (30/1 - 20/1) pour donner le composé **CBT₄** (9 mg). Le composé **CBT₅** (7,5 mg) a été isolé de la sous-fraction BC (0,31 g) en utilisant un gel de silice CC avec le système de solvant CH₂Cl₂/MeOH (40/1 - 20/1). La fraction BD (0,60 g) a été fractionnée et purifiée en utilisant un gel de silice CC et éluée avec le système de solvants CH₂Cl₂/MeOH (40/1 - 15/1) pour fournir **CBT₆** (4 mg)

III.3.3. Isolement et purification des composés des racines de *C. batesii*

L'extrait brut au méthanol a été fractionné dans une CC de gel de silice puis élué au mélange CH₂Cl₂/MeOH de polarité croissante. Quatre vingt-quatoze sous fractions regroupées après différentes CCM en huit fractions étiquettées A à H ont été rassemblées (**Tableau 19**).

Tableau 19: Chromatogramme de l'extrait au MeOH des racines de *C. batesii*

Solvants d'élution	Fractions	Observations
CH ₂ Cl ₂ (100%)	1-2 (A)	Mélanges des taches huileuses
	3-13 (B)	Mélanges de huit taches identiques
CH ₂ Cl ₂ /MeOH (50/1)	14-29	
CH ₂ Cl ₂ /MeOH (30/1)	30-40 (C)	Mélanges de cinq taches
CH ₂ Cl ₂ /MeOH (20/1)	41-50	
CH ₂ Cl ₂ /MeOH (10/1)	51-58 (D) 59-73 (E)	Six taches identiques ()
CH ₂ Cl ₂ /MeOH (5/1)	74-82 (F)	Mélanges de cinq taches
	83-93 (G)	Mélanges de six taches
MeOH	94	Une trainée

III.3.3.1. Purification de la fraction A

La fraction A (0,6 g) huileuse, obtenu au CH₂Cl₂ (100%) précipite. 487 mg de ces cristaux huileux sont soumis à la chromatographie en phase gazeuse (CPG). De cette CPG, nous obtenons les six acides gras CBR₁₁, CBR₁₂, CBR₁₃, CBR₁₄, CBR₁₅ et CBR₁₆

III.3.3.2. Purification de la fraction D

La fraction D (4,0 g) a été soumise à une CC de gel de silice avec le système de solvants CH₂Cl₂/MeOH (20/1 à 5/1) nous a donnée les composés **CBR₄** (60,7 mg) et **CBR₅** (30,1 mg).

III.3.3.3. Purification de la fraction F

A la suite de l'élution de la fraction F (2,15 g) au système CH₂Cl₂/MeOH (20/1 à MeOH pur) dans une CC de gel de silice, les composés **CBR₂** (18 mg) et **CBR₃** (9,7 mg) ont pu être isolés.

III.4. Tests biologiques

III.4.1. Evaluation de l'activité antituberculeuse

III.4.1.1. Souche standard utilisée

Pour la présente étude, la mycobactérie (*M. tuberculosis*) utilisée est une souche isolée cliniquement résistante à l'isoniazide et codifiée comme AC-45 (Fig 72). Cette souche a été obtenue à l'hôpital du district de Sangmelima, dans la région du sud du Cameroun. Le profil génétique de cette souche résistance a été réalisé au Laboratoire de recherche sur la tuberculose (Centre de biotechnologie de Nkolbisson, Université de Yaoundé I) par la méthode de dosage par sonde linéaire.

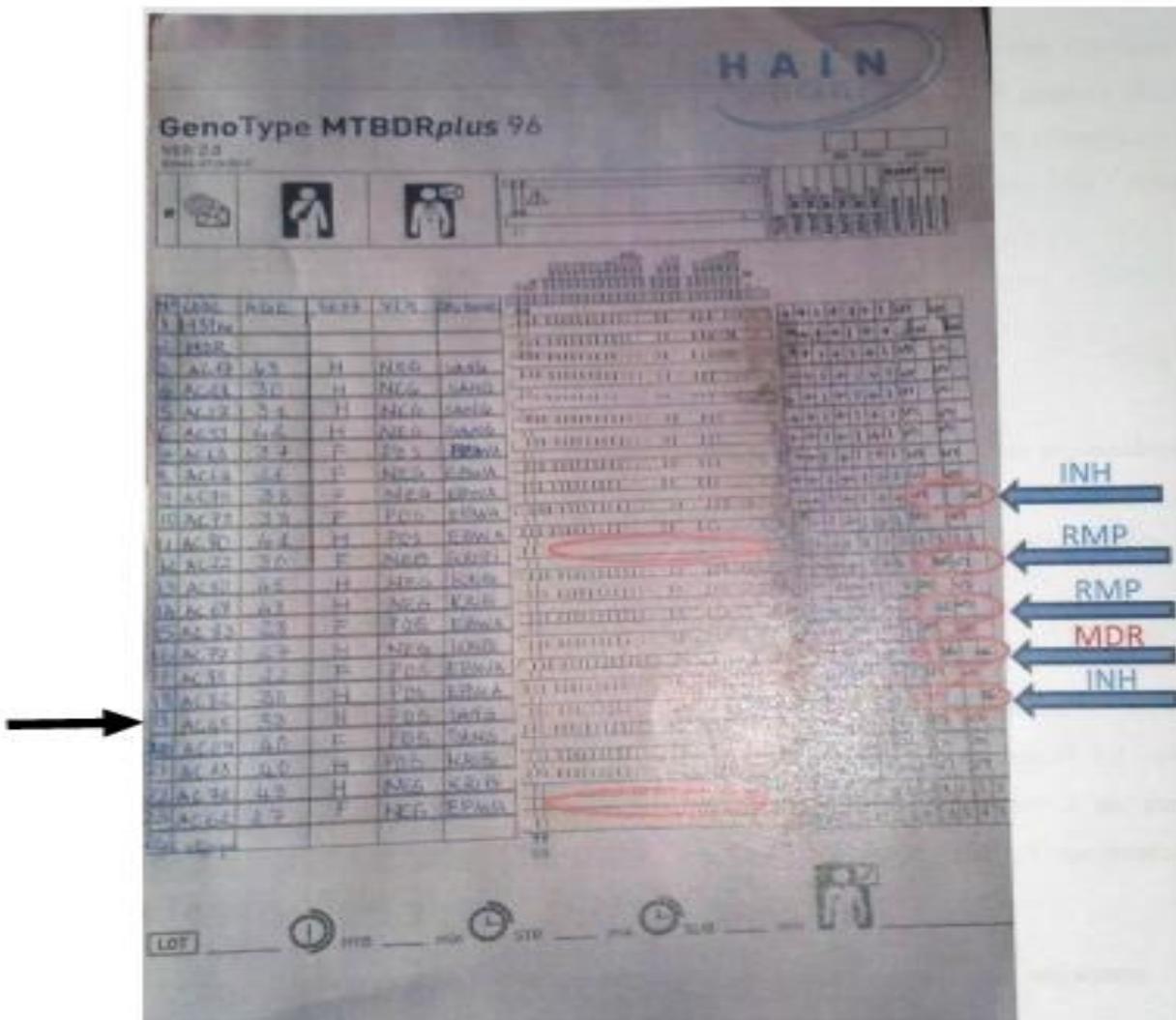


Figure 72: Genotypage de la souche AC45 de *M. tuberculosis*

III.4.1.2. Culture in vitro de la souche *M. tuberculosis*

La souche de mycobactéries a été cultivée à 37 °C pendant deux semaines dans du 7H9 de Middlebrook (Himedia, Inde), supplémenté avec 0,05% (v/v) de tween 80, 2% de glycérol et 10% de OADC (acide oléique-albumine-dextrose-catalase de Liofilchem srl, Italia). La densité optique de 0,45 à 0,55 a été mesurée à l'aide d'un spectrophotomètre à 550 nm pour obtenir une suspension de $1,5 \times 10^8$ UFC/mL (Collins et al. 1997). L'activité de tous les composés phytochimiques (extraits et composés purs) vis-à-vis des souches de *M. tuberculosis* susmentionnées a été testée à l'aide du dosage sur microplaque de blue Alamar décrit précédemment par Collins *et al.*, (1997) et Jiménez-Arellanes *et al.*, (2003; 2007).

III.4.1.3. Dosage de l'activité antituberculeuse

Dans une microplaque à 96 puits, tous les puits ont reçu 100 µL de bouillon MbK 7H9 supplémenté nutritionnel, puis des solutions de métabolites de préparer (100 µL) ont été introduites dans le premier puits de chaque rangée, à partir desquelles une série de dilutions en double a été préparée à travers la colonne de microplaques. L'inoculum de test (100 µL) a été ajouté à tous les puits de test, ainsi qu'aux puits de contrôle sans médicament. La concentration finale de DMSO dans les puits était de 7% v/v. Les concentrations finales testées vont de 250 à 0,244 µg / mL pour les composés purs et de 5 000 à 4 882 µg/mL pour les extraits. La rifampicine a été utilisée comme médicament standard. Chaque concentration a été testée en triple. Chaque microplaque a été scellée avec du papier parafilm et incubée pendant 14 jours à 37 °C. Après cela, 40 µL de solution de bleue Alamar ont été ajoutés à deux colonnes de chaque exemplaire en triple pour indiquer la croissance de mycobactéries et la plaque a été soumise à une nouvelle incubation à 37 °C pendant 24 h. Après une journée d'incubation, la concentration minimale inhibitrice (CMI) était définie comme la plus faible concentration de composés phytochimiques inhibant la croissance bactérienne (empêchant le changement de couleur du bleu au rose) après la période d'incubation (CLSI 2011).

Pour déterminer la concentration (CMB), on a sub-cultivé 50 µL de chaque puits dont la concentration était égale ou supérieure à 150 µL. On a incubé 150 µL de milieu MbK 7H9 à l'incubateur à 37 °C pendant 7 jours, puis on a développé une croissance mycobactérienne par addition de 40 µL de Blue Alamar. la concentration minimale bactéricide (CMB) a été définie comme la plus faible concentration d'extrait à laquelle aucune croissance visible du germe n'a été observée (CLSI 2011).



Figure 73: Photographie du protocole de test sur *M. tuberculosis*

III.4.2. Evaluation de l'activité antiplasmodiale

III.4.2.1. Culture in vitro de souches de *P. falciparum*

Les souches Dd2 et 7G8 de *P. falciparum* ont été utilisées en culture au stade sanguin in vitro pour tester l'efficacité antipaludique de l'extrait au méthanol de tiges de *Cordia batesii* et de leurs composés isolés (127, 128, 129 et 130). La culture a été maintenue au Laboratoire de parasitologie, Centre Pasteur du Cameroun, Cameroun. La culture de *P. falciparum* a été maintenue selon la méthode décrite par Trager et Jensen, (1976), avec de légères modifications. Les cultures de *P. falciparum* Dd2 et 7G8 ont été maintenues dans des érythrocytes humains O + ve frais en suspension à 4% d'hématocrite dans du RPMI 1640 (Sigma Aldrich - France) contenant 0,2% de bicarbonate de sodium, 0,5% d'Albumax, 45 µg/mL d'hypoxanthine et 50 µg / L. gentamicine et incubée à 37 °C sous un mélange gazeux contenant 5% de O₂, 5% de CO₂ et 90% de N₂. Chaque jour, des érythrocytes infectés étaient transférés dans un milieu complet frais pour propager la culture.

III.4.2.2. Dilution de Médicaments

De l'artémisinine (Sigma Aldrich - France) et des composés isolés ont été préparés dans du DMSO. Tous les stocks ont ensuite été dilués avec du milieu de culture pour atteindre les concentrations requises. La solution finale de tous les extraits de plantes, des composés isolés et de l'artémisinine contenait 0,4% de DMSO, qui s'est révélée non toxique pour les parasites. Les médicaments et les composés à tester ont ensuite été placés dans des plaques de qualité pour culture de tissus à fond plat à 96 puits.

III.4.2.3. Dosage de l'activité antiplasmodiale

Les extraits des tiges au méthanol de *C. batesii* ont été évaluées pour leur activité antipaludique contre les souches CQR codifiées Dd2 et 7G8 de *P. falciparum*. Pour le criblage des médicaments, le test de fluorescence à base de SYBR green I a été mis en place comme décrit par Smilkstein et collaborateur (Smilkstein et al. 2004). Les parasites synchronisés au sorbitol ont été incubés dans des conditions de culture normales à 2% d'hématocrite et à 1% de parasitémie en l'absence ou en présence de concentrations croissantes d'extraits au méthanol de *C. batesii*. L'artémisinine a été utilisée comme contrôle positif, tandis que 0,4% de DMSO a été utilisé comme contrôle négatif. Après 48 heures d'incubation, 100 µL de solution de SYBR Green I (0,2 µL/mL de 10 000 X de SYBR Green I (Sigma Aldrich - France)) dans du tampon de lyse [Tris (20 mM; pH 7,5), EDTA (5 mM), De la saponine (0,008%; p/v) et du Triton X-100 (0,08%; v/v)] ont été ajoutés à chaque puits. La plaque de micro titration a été mélangée deux fois avec une pipette à canaux multiples et incubée à l'obscurité à 37 °C pendant 1 heure. La fluorescence a été mesurée avec un lecteur de plaque à puits multiples à fluorescence (Perkin Elmer) avec des bandes de longueurs d'onde d'excitation et d'émission centrées à 485 et 530 nm, respectivement. Les comptes de fluorescence ont été comparés à la concentration en médicament et le pourcentage inhibiteur de chaque extrait de plante et de chaque composé a été calculé en utilisant l'équation suivante

$$I (\%) = \frac{\text{Abs contrôle} - \text{Abs extraits/composés isolés}}{\text{Abs contrôle}} \times 100$$

Où **Abs contrôle** est l'absorbance des puits non traités et $\text{Abs}_{\text{extraits / composés isolés}}$ est l'absorbance des extraits ou des composés isolés.

III.5. Tests de caractérisation des composés isolés

III.5.1. Test de Dragendorff

Préparer une solution composée de 0,85 g de nitrate basique de bismuth et 10 g d'acide tartrique dans 40 mL d'eau (Solution A) et une solution contenant 16 g de KI dans 40 mL d'eau (Solution B). Mélanger extemporanément 5 mL de A, 5 mL de B, 100 mL d'eau et 20 g d'acide tartrique. Vaporiser le mélange sur la plaque. Les alcaloïdes apparaissent sous forme de taches orange (Wagner et Bladt, 1996).

III.5.2. Test de Shinoda

Introduire 10 mL d'acide chlorhydrique concentré et quelques copeaux de magnésium à 2 mg d'extrait méthanolique à analyser, la présence des Flavonoïdes se traduit par une effervescence suivie d'un changement brusque de couleur de la solution passant au rosé ou au pourpre.

III.5.3. Test de Neu

500 mg d'extrait sont dissous dans 5 ml de NaOH 1N. La décoloration de la couleur jaune obtenue après addition d'acide chlorhydrique 1N indique la présence des biflavonoïdes

III.5.4. Test de Liebermann-Burchard

Il consiste à dissoudre quelques milligrammes du produit dans 1ml de chloroforme, à ajouter à la solution obtenue quelques gouttes d'anhydride acétique puis de l'acide sulfurique concentré, la présence des stéroïdes se traduit par l'apparition d'une couleur bleu-verdatre.

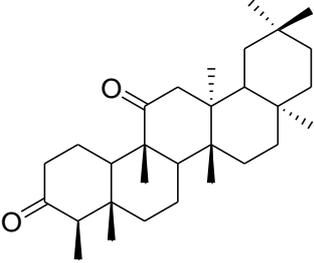
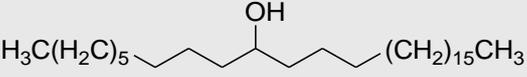
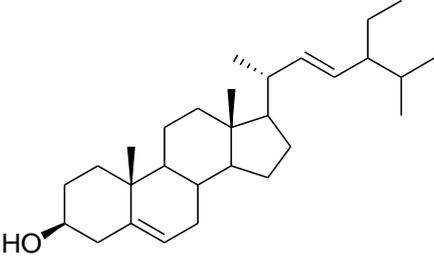
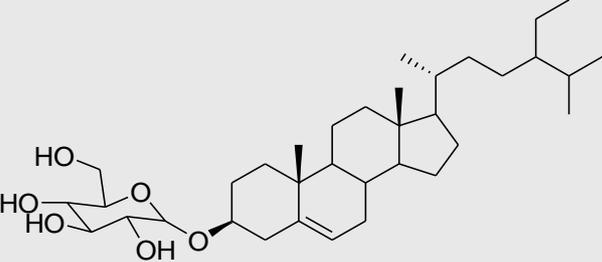
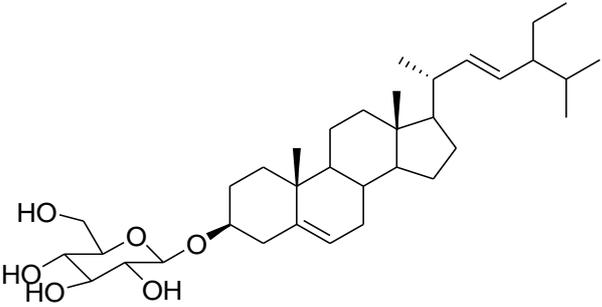
III.5.5. Test de Molisch

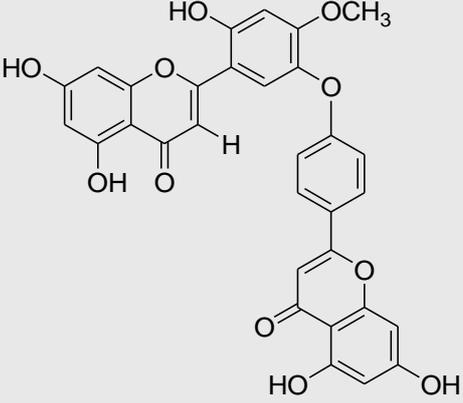
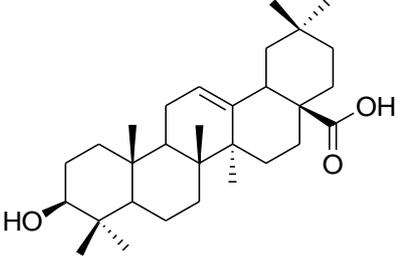
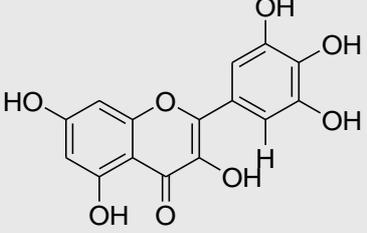
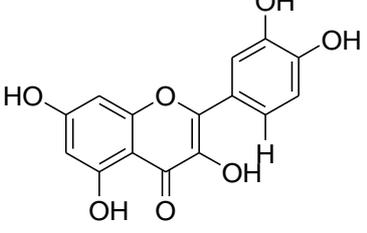
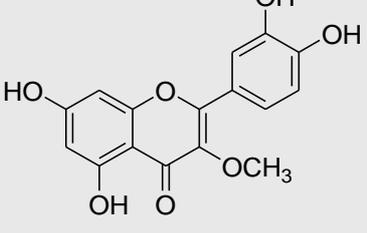
Il consiste à dissoudre quelques milligrammes du produit dans l'éthanol et y ajouter une solution échantillon de α -naphtol 1%. Après homogénéisation, on fait couler lentement sur la paroi du tube quelques gouttes d'acide sulfurique, la présence des sucres se traduit par l'apparition anneau rouge violacé à l'interface.

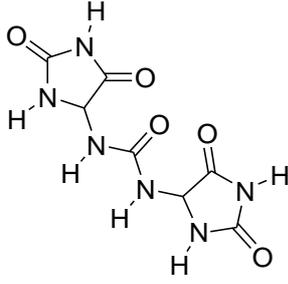
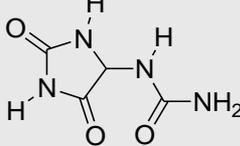
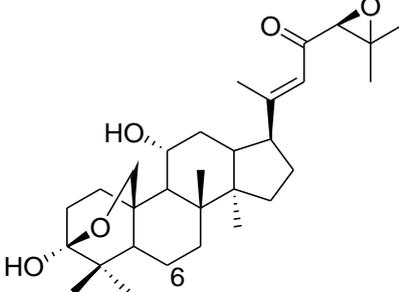
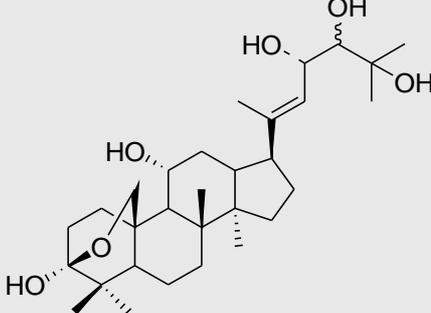
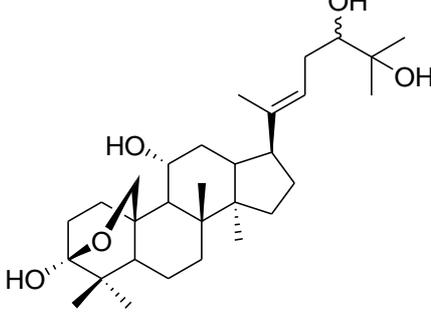
III.5.6. Test au chlorure ferrique (FeCl_3)

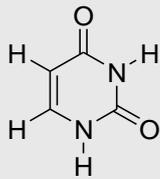
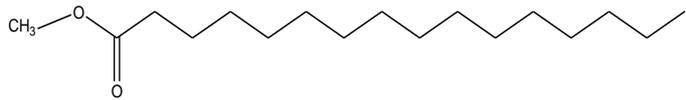
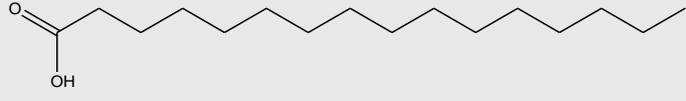
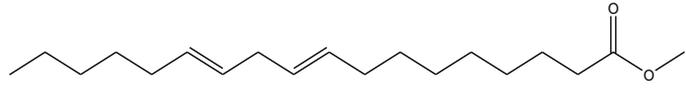
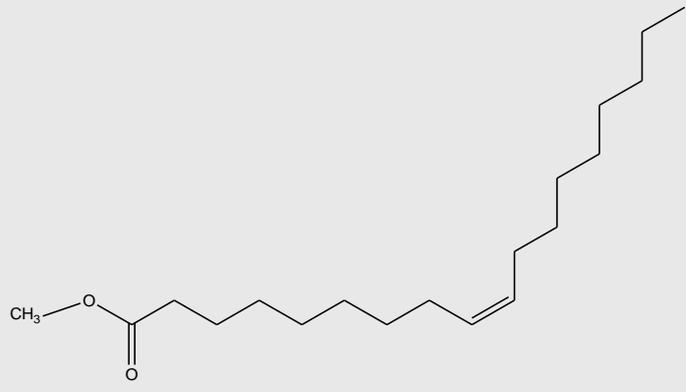
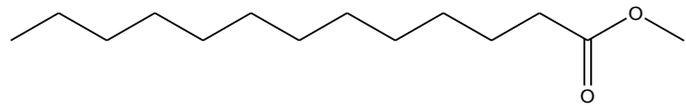
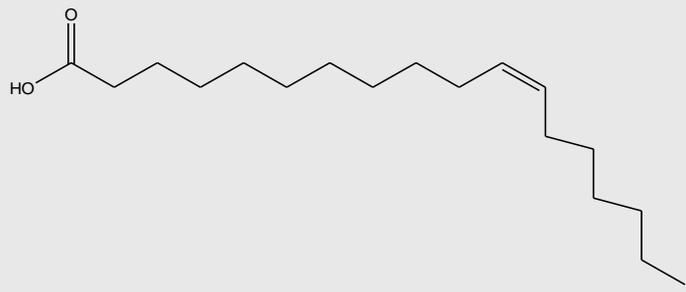
Il consiste à solubiliser 1 mg environ de produit dans l'éthanol puis y ajouter quelques gouttes de FeCl_3 , la présence des composés phénoliques se traduit par la formation des complexes de type $[\text{Fe}(\text{OAr})_6]^{3-}$ de couleur bleue ou violette.

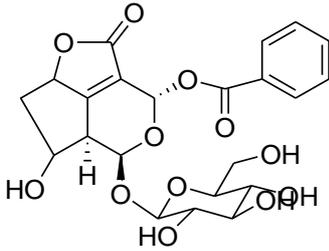
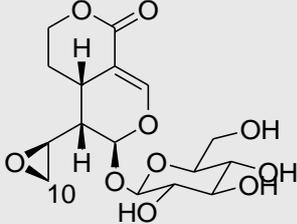
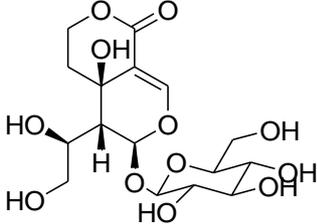
III.6. Caractéristiques physico-chimiques des composés isolés

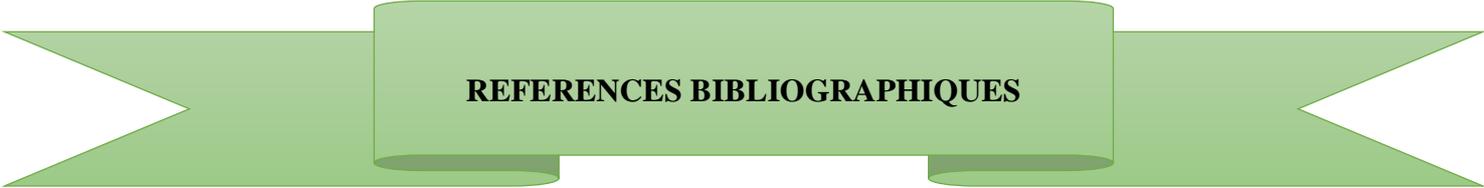
<p>TGF₅: friedelane-3,11-Dione (117) Solide blanc ; PF: 281–283°; CCM <i>R_f</i>: 0.85 (CH₂Cl₂/MeOH; 25/1) ; (<i>c</i> = 0.05, CDCl₃); IR (KBr) cm⁻¹: 2954, 2860, 1718, 1705, 1460, 1068; Données spectral RMN ¹H et ¹³C (500, 125 MHz, CDCl₃), voir Tableau 12; ESI-MS <i>m/z</i>: 439.4 [M-H]⁻; LC-MS <i>m/z</i> 441 [M + H]⁺; FB: C₃₀H₄₈O₂</p>	
<p>TGF₁: (+)-nonacosan-10-ol (118) cristaux blanc ; PF: 81-81,5 °C HRESIMS <i>m/z</i> 425,45767 [M + H]⁺; FB: C₂₉H₆₀O,</p>	
<p>TGF₂: stigmasterol (119) poudre blanche ; PF: 164-168°C ESIMS <i>m/z</i> 413,3 [M + H]⁺; FB: C₂₉H₄₈O</p>	
<p>TGF₃: sitosterol-3-O-B-D-glucopyrano Side (120) poudre blanche; PF: 164-168°C HRESIMS <i>m/z</i> 599.4282 [M + H]⁺; FB: C₃₅H₆₀O₆</p>	
<p>TGF₄: stigmasterol -3-O-B-D-glucopyranoside (121) poudre blanche; ESIMS <i>m/z</i> 597.5 [M + H]⁺; FB: C₃₅H₅₈O₆</p>	

<p>TGF₁₀: trichlisinone (124) Poudre amorphe jaune; PF: 289 à 291°C ; CCM <i>R_f</i>: 0.38 (CH₂Cl₂/MeOH; 10/1), ESIMS <i>m/z</i> 567,2 [M - H]⁻; FB: C₃₁H₂₀O₁₁; IR cm⁻¹ (KBr) 3100, 1653, 1601, 1164 et 1028; Données spectral RMN ¹H et ¹³C (500, 125 MHz, DMSO-<i>d</i>₆), voir Tableau 13</p>	
<p>TGF₆: acide oléanique (125) solide blanc ; HRESIMS <i>m/z</i> 455.3743 [M + H]⁺; FB: C₃₁H₅₀O₂</p>	
<p>TGF₇: myrecetine (126) poudre amorphe jaune ; HRESIMS <i>m/z</i> 319.0441 [M + H]⁺; FB: C₁₅H₁₀O₈</p>	
<p>TGF₈: quercetine (127) poudre amorphe jaune ; HRESIMS <i>m/z</i> 303.0134 [M + H]⁺; FB: C₁₅H₁₀O₇</p>	
<p>TG₉: 3-méthoxyquercetine (128) poudre amorphe jaune; HRESIMS <i>m/z</i> 317.0532 [M + H]⁺; FB: C₁₆H₁₂O₇</p>	

<p>CBT₄: batesiine (129) solide blanc solvant de solubilité: CH₂Cl₂/MeOH ; DMSO), ESIMS <i>m/z</i> 413,6 [M + 2Na]²⁺; FB: C₁₁H₁₃N₉O₆; IR cm⁻¹ (KBr) 3125, 3060, 1810, 1740, 1680, 1560; Données spectral RMN ¹H et ¹³C (500, 125 MHz, DMSO-<i>d</i>₆), voir Tableau 15</p>	
<p>CBT₅: allantoïne (87); PF: 220-222 °C, ESIMS <i>m/z</i> 180,9, FB: C₄H₆O₃N₄</p>	
<p>CBT₁: cordialine A (130): solide blanc; 112-113°C ESI-MS <i>m/z</i> 487,0 [M + H]⁺ FB: C₃₀H₄₆O₅, IR cm⁻¹ (KBr) 3402, 2961, 1659, 1680, 1378 et 1065</p>	
<p>CBT₂: cordianol A (131): solide blanc; 112-113°C ESI-MS <i>m/z</i> 507.3 [M + H]⁺ FB: C₃₀H₅₀O₆, IR cm⁻¹ (KBr) 3402, 2961, 1378, 1065</p>	
<p>CBT₃: cordialine B (132): solide blanc; PF: 114-115°C ESIMS <i>m/z</i> 490,7 [M + H]⁺ FB: C₃₀H₅₀O₅, IR cm⁻¹ (KBr) 3345 et 1630, 2961, 1378, 1065</p>	

<p>CBT₆: pyrimidine-2,4(1H,3H)-dione (133) ; PF: 334-335°C, HRESIMS <i>m/z</i> 113,08967, FB: C₄H₄O₂N₂</p>	
<p>CBR₁₁ : palmitate de méthyl (134) GCMS <i>m/z</i> 270, FB: C₁₇H₃₄O₂</p>	
<p>CBR₁₂: Acide palmitique (135) GCMS <i>m/z</i> 256, FB: C₁₆H₃₂O₂</p>	
<p>CBR₁₃: (9E,12E)-octadeca-9,12- dienoate de méthyl (136); GCMS <i>m/z</i> 310, FB: C₂₀H₃₈O₂</p>	
<p>CBR₁₄: Oleate de méthyl (137) ; GC- MS <i>m/z</i> 296, FB: C₁₉H₃₆O₂</p>	
<p>CBR₁₅: Tridecanoate de méthyl (138); GCMS <i>m/z</i> 228, FB: C₁₄H₂₈O₂</p>	
<p>CBR₁₆: Acide (Z)-Octadec-11-énoïque (139); GCMS <i>m/z</i> 282, FB: C₁₈H₃₄O₂</p>	

<p>CBR₂: cordialinine (140) solide blanc solvant de solubilité: CH₂Cl₂/MeOH; DMSO ;), ESI-MS <i>m/z</i> 479,3 [M - H]⁻; FB C₂₂H₂₄O₁₂; IR cm⁻¹ (KBr) 3425 1100, 1628, 2930, 2864 cm⁻¹; Données spectral RMN ¹H et ¹³C (400, 100 MHz, DMSO), voir Tableau 16</p>	
<p>CBR₃: 5-desoxyeustomoside (141) solide blanc; ESI-MS <i>m/z</i> 375,2 [M + H]⁺ FB: C₁₆H₂₂O₁₀</p>	
<p>CBR₄: eustomorusside (142) solide blanc; ESIMS <i>m/z</i> 409,2 [M - H]⁻ FB: C₁₆H₂₄O₁₂</p>	



REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

- Aarnoud D., Jennifer W., Kerstin K., Wilhelm B., Thomas K. (2007). Synthesis of nonacosan-10-ol, the major component of tubular plant wax crystals. *European Journal of Organic Chemistry*. **21**, 3508-3511.
- A Boire N., Riedel S., Parrish N.M. (2013). Essential Oils and Future Antibiotics: New Weapons against Emerging “Superbugs”. *Journal of Ancient Diseases & Preventive Remedies*. **1**, 104-105.
- Abo, K., Lawal, I., Ogunkanmi, A., (2011). Evaluation of extracts of *Triclisia suboardata* Oliv and *Heinsia crinita* (Afz) G. Taylor for antimicrobial activity against some clinical bacterial isolates and fungi. *African Journal of Pharmacy and Pharmacology*. **5**, 125-131.
- Abdulla S., Schellenberg J.A., Nathan R., Mukasa O., Marchart T., Smith T., Tanner M. (2001). Impact on malaria morbidity of a programme supplying insecticides treated nets in children aged less than 2 years in Tanzania. *British Medical Journal* **322**, 270-273.
- Adams R.P. (2012). Identification of essential oils by Gas Chromatography Quadrupole Mass Spectroscopy. 4th Edit. Allured Publishing Corporation, Carol Stream. pp 13, 39, 76, 109, 241, 453 et 698.
- Adjei A.A. (1999). A review of the pharmacology and clinical activity of new chemotherapy agents for the treatment of colorectal cancer. *British Journal of Clinical Pharmacology* **48**, 265-277.
- Ahmad V.U., Mohammad F.V., Rasheed T. (1987c). Hirsudiol a triterpenoid from *Cocculus hirsutus*. *Phytochemistry* **26**, 793-794.
- Ahmad R., Malik M.A., Zial-ul-Haq M. (1992). Alkaloids of *Cissampelos pareira*. *Fitoterapia* **63**, 282-285.
- Al-Musayeb N., Perveen S., Fatima I., Nasir M., Hussain A. (2011). Antioxidant, anti-glycation and anti-inflammatory activities of phenolic constituents from *Cordia sinensis*, *Molecules* **16**, 10214-10226.

-
- Amzal H. (2010). Etude de l'activité antioxydante des saponines du tourteau de l'arganier. Thèse de Doctorat, Université Mohammed V Agdal, Facultés des Sciences; p. 112
- Asia N.R., Fatma U.A., Mayades S., Mutasem O.T. (2004). Investigation of the active constituents of *portulaca oleraceae* L. (*Portulacaceae*), *pakistan journal of pharmaceutical sciences* **17** (1), 37-45.
- Bamuamba K., Gammon D.W., Meyers P., Dijoux-Franca M.G., Scott G. (2008). Anti-mycobacterial activity of five plants species used as traditional medicine in the western Cape Province (South Africa). *Journal of Ethnopharmacology* **117** (2), 385–390.
- Barbakadze V., Mulkijanyan K., Gogilashvili L., Amiranashvili L., Merlani M., Novikova Z., Sulakvelidze M. (2009). Allantoin and pyrrolizidine alkaloids free wound healing compositions from *Symphytum asperum*. *Bulletin of the Georgian National Academic Science* **3**, 159-165.
- Barbosa-Filho J.M., Ca-Cunha E.V.L., Gray A.I. (2000). Alkaloids of the Menispermaceae. In: *The Alkaloids* Cordell G.A (ed). *Academic Press Illinois* **54**, 1-190.
- Bamrung T. (1992). Alkaloids from the plants of Thailand. Cordell G.A (ed). *Academic Press, California*, p15-17.
- Bezerra T., Bezerra R., Antas D.S., Fachine J.T., Edeltudes F., Maria M.M., Antônio F., Ferreira R.S.R., Braz F.R., Karina J., Vanderlei M.F. (2013). First chemical constituents from *Cordia exaltata* and antimicrobial activity of two neolignans, *Molecules* **18**, 11086-11099.
- Bijnsdorp I.V., Comijn E.M., Padron J.M., Gmeiner W.H., Peters G.J. (2007). Mechanisms of action of FdUMP: metabolite activation and thymidylate synthase inhibition. *Oncology Reports* **18**, 287-291.
- Bloom B.R., Small P.M. (1998). The evolving relation between humans and *Mycobacterium tuberculosis*. *New England Journal of Medicine* **338** (10), 677-678.
- Bonfiglio G., Funeri P.M. (2001). Novel streptogramin antibiotics. *Expert Opinion Investigation Drugs* **10**, 185-198.
- Bouquet A. (1969). *Féticheurs et médecines traditionnelles du Congo Brazzaville*. (ORSTOM,

Paris)

- Bremer K., Bremer B., Thulin M. (2003). Introduction to Phylogeny and Systematics of Flowering Plants, Uppsala University, Stockholm, p. 102.
- Bruneton J. (1993). Pharmacognosie. Phytochimie. Plantes médicinales 3rd edn., Tec&Doc, Paris, p. 1120.
- Brown J.R., Kupchan S.M. (1962). A convenient separation of alkaloid mixtures by partition chromatography, using indicator in stationary phase. *Journal of Chromatography* **9**, 71-76.
- Budavari S. (1996). The Merck Index: An Encyclopedia of Chemicals, Drugs and Biologicals, 12th Edn. Merck & Co. *White House Station*, p 694.
- Butler G.W., Ferguson J.D., Allison R.M. (1961). The Biosynthesis of Allantoin in Lincoln, New Zealand. *physiologia plantarum* **14**, 310-323.
- Burkill H.M. (1997). The useful plants of West Tropical Africa. 2nd Edition. Volume 4, Families M–R. Royal Botanic Gardens, Kew, Richmond, United Kingdom. P.969
- Camacho M.R., Kirby G.C., Warhust D.C., Croft S.L., Philipson J.D. (2000). Oxoaporphine alkaloids and quinines from *Stephania dinklagei* and evaluation of their antiprozoal activities. *Planta Medica* **66**, 478-480.
- Cantrell C.L., Franzblau S.G., Fischer N.H. (2001). Antimycobacterial plant terpenoids. *Planta Medica* **67** (8), 685–694.
- Castagne, E., (1933). *Revue Congo*. 402-405.
- CDC (2018). CDC's Division of Parasitic Diseases. Washington, date d'accès : janvier 2019
<http://www.dpd.cdc.gov/dpdx>
- Chauhan J.S., Srivastava S.K., Sultan M. (1978). *Phytochemistry* **16**, 1004-1005
- Chiozem D.D., Van-Dufat H.T., Wansi J.D., Mbazoa D.C., Fannang V.S., Seguin E., Tillequin F., Wandji J. (2009). New friedelane triterpenoids with antimicrobial activity from the stems of *Drypetes paxii*. *Chemical and Pharmaceutical Bulletin* **57** (10), 1119–1122.
- Clemessy J.I. (1996). Treatment of acute chloroquine poisoning: a 5-year experience. *Critical*

Care Medicine **24**, 1189–1195.

Clements A.N. (1992). *The Physiology of Mosquitoes*. Pergamon Press, Oxford.

Copp B.R., Norrie P.A. (2007). Natural product growth inhibitors of *Mycobacterium tuberculosis*. *Natural Product Research* **24**, 278–297.

Corbett E.L., Churchyard G.J., Clayton T., Herselman P., Williams B., Hayes R. (1999). Risk factors for pulmonary mycobacterial disease in South African gold miners: a case control study. *American Journal of Respiratory and Critical Care Medicine*. **159** (1), 94-99.

Davies J. (1998). Antibiotic resistance in mycobacteria: Genetics and Tuberculosis. D. J. Chadwick & G. Cardew (eds). Chichester: John Wiley. pp 195-208.

Debray M.M. (1964). Contribution à l'étude du genre *Epinetrum*. Thèse Ph/d. Paris 1964 et Mémoire ORSTOM no 18, Park 1966.

Debray M.M., Plat M., Lemen J. (1964). *Ann. Pharm. Fr* **24**, 551-558.

Delaunay P., Estran-Pomares, C. et Marty, P. (2008). Diagnostic du paludisme : frottis sanguin, goutte épaisse et tests antigéniques, *Médecine et Maladies Infectieuses* **38** (2), 121-123.

Dini I., Schettino O., Simioli T., Dini A. (2001). Studies on the constituents of *Chenopodium quinoa* seeds: isolation and characterization of new triterpenesaponins. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* **49**, 741–746.

Disengomoka I., Delaveau P., Sengele K. (1983). Medicinal plants used for child's respiratory diseases in Zaire. Part 2. *Journal of Ethnopharmacology* **8**, 265–277.

Dragota S., Riederer M. (2008). Comparative study on epicuticular leaf waxes of *Araucacia araucana*, *Agathis robusta* and *Wollemia nobilis* (Araucaraceae). *Australian Journal of Botany* **56**, 644-650.

Duan Y.S., Shou X.Z., Jing Z.D. (1992). A 4,5-dioxoaporphine from the arial parts of *Stephania tetrandra*. *Journal of Natural Products* **55**, 828-829

Dwuma-Badu D., Ayim J.S.K., Tackie A.N., Knapp J.E., Slatkin D.J., Schiff P.L. (1975). Additional alkaloids of *Triclisia patens* and *Triclisia subcordata*. *Phytochemistry*. **14**,

2524–2545.

- Ebeh M.R., Ngono B.D.S., Abouem A.A., Mbabi N.N., Moni N.E.D.F., Betote D.P., Nyegue M.A., Atchade A.T., Pegnyemb D.E., Bochet C.G., Koert U. (2017). Rauvolfianine, a new antimycobacterial glyceroglycolipid and other constituents from *Rauvolfia caffra*. *Natural Product Research* **32** (5), 1-6.
- Eholie S., P., Bissagnene E., Pierre-Marie G. (2008). Mémento thérapeutique du paludisme en Afrique, première édition; p:124.
- Erickson M.P., Dietmar G., Karsten K., Scott G.F., Allan P.G.M. (2014). Anti-tubercular flavonol derivatives from *Uvaria rufa*. *Research journal of Pharmaceutical Biological and Chemical Sciences* **5** (6), 856–859.
- Evans W.C., (2009). Trease and Evans Pharmacognosy, Saunders, London, p.603.
- Fangfang W., Xincheng Y., Youwei Z., Jinshan T. (2019). Synthesis, biological function and evaluation of Shikonin in cancer therapy. *Fitoterapia*. **134**, 329-339.
- Feja K., Saiman L. (2005). Tuberculosis in children. *Clinics in Chest Medicine* **26** (2), 295-312.
- Farnsworth N.R., Averred O., Bingel A.S. (1985). Medicinal plants in therapy. *Bull. WHO* **8**, 63-905.
- Fauchère J.L., Avril, J.L. (2002). Bactériologie générale et médicale. *Edition ellipses*, pp: 365.
- Faure S. (2009). Transfert d'un gène de résistance aux β -lactamines *bla*CTX-M-9 entre *Salmonella* et les entérobactéries de la flore intestinale humaine : impact d'une antibiothérapie. Thèse de Doctorat ; Université de Rennes. France. p.184.
- Forgo P., Köver K.E. (2004). Gradient enhanced selective experiments in the ^1H NMR chemical shift assignment of skeleton and side-chain resonances of stigmasterol, a phytosterol derivative. *Steroids* **69**, 43-50.
- Fotsing M.T., Yankep E., Mbafor T.J., Atchade A.T. (2011). Chemical constituents from stem barks of *Milletia versicolor* and *Milletia zechiana*. *Rasayan Journal of Chemistry* **4**, 242-244

-
- Fournet A. (1979). Plantes médicinales congolaises. Paris. 83-84.
- Fu P.P., Yang Y.C., Xia Q., Chou M.C., Cui Y.Y., Lin G. (2002) "Pyrrolizidine alkaloids-tumorigenic components in Chinese herbal medicines and dietary supplements", *Journal of Food and Drug Analysis* 10 (4), 198-211.
- Furuya T., Yutaka D., Hayashi C. (1987). Triterpenoids from *Eucalyptus perriniana* culture cells. *Phytochemistry* 26, 715-719.
- Gallup J.L., Sachs J.D. (2001). The economic burden of malaria. *American Journal of Tropical Medicine and Hygiene* 64, 85-96.
- Garson M.J., Hehre W., Pierens G.K., Suciati. (2017). Revision of the Structure of Acremine P from a Marine Derived Strain of *Acremonium persicinum*. *Molecules* 22, 521–525.
- Gautam L.N., Awale S., Kalauni S.K., Shreshta K., Gewaji M.B. (2005). Pytochemical and biological studies on *Podocarpus neriifolius* D. Don: A Himalayan conifer of Nepal. *Scientific World* 3, 22-24.
- Geiger H. (1994). Biflavonoids and triflavonoids. In: Harborne, J. B. (Ed.), *The Flavonoids: Advances in Research Since 1986*. Chapman & Hall, London, p. 95–115
- Gopi A. (2007). Diagnosis and Treatment of Tuberculous Pleural Effusion. *Chest Journal* 131, 880-889.
- Greenwood B.M., Bradley A.K., Greenwood A.M., Byass P., Jammey K., Tulloch S., Oldfield F.S., Hayes R. (1987). Mortality and morbidity from malaria among children in rural area in the Gambia west. *Transactions Royal Society of Tropical Medicine and Hygiene* 81, 478-486.
- Greenwood A.M., Armstrong J.K.M., Byass P., Snow R.W., Greenwood B.M. (1992) Malaria chemotherapy and prophylaxis, birth weight and child survival. *Transactions Royal Society of Tropical Medicine and Hygiene* 86, 465-476.
- Greenwood B.M., Bojang K., Whitty C.J.M., Target G.A.T. (2005). Malaria. *Lancet* 365, 1487-1498.
- Gu J.Q., Wang Y., Franzblau S.G., Montenegro G., Yang D., Timmermann B.N. (2004). Antitubercular constituents of *Valeriana laxiflora*. *Planta Medica* 70, 509–514.

-
- Gupta R., Gupta G.D. (2017). Determination of Plant Constituents in Fractions of *Cordia obliqua* . Leaf Methanol Extract using GC-MS Analysis. *International Journal of Pharmacognosy and Phytochemical Research* **9**, 1274-1279.
- Güvenalp Z., Demirezer O. (2005). Flavonol glycosides from *Asperula arvensis*. *Turkish Journal of Chemistry* **29**, 163–169.
- Harbone J.B. (1998). *Phytochemical method: a guide to modern technique of plants*. Third edition. ISBN: 0412-57260-5.
- Herbier National du Cameroun: collection d'échantillon N° (14106 SRFK)
- Higuchi C.T., Sannomiya M., Roberto S., Sacramento L.V.S., Sato D.N. (2008). Triterpenes and anti-tubercular activity of *Byrsonima crassa*. *Journal of Química Nova* **31**, 1719–1721.
- Hinou J., Lakkas N., Philianos S. (1988). Les constituants polyphénoliques de *Myrtus communis*. *Medicinal Plants in Phytotherapy* **22**, 98–103.
- Hiroshi F., Hasan A.F.M.F., Tomohiro U., Masaharu K. (1998). Formation and secretion of a new brown benzoquinone by hairy root cultures of *Lithospermum erythrorhizon*. *Phytochemistry* **47**, 1037-1039
- Hooper D. (1937). *Useful Plants and Drugs of Iran and Iraq*. Field Museum of Natural History, Chicago 115.
- Ioset J.R., Marston A., Gupta M.P., Hostettmann K., (1998). Antifungal and larvicidal meroterpenoid Naphthoquinones and a naphthoxirene from the roots of *Cordia linnaei*. *Phytochemistry* **47** (5), 729-734.
- Ioset J.R., Marston A., Gupta M.P., Hostettmann K. (2000). *Journal of Natural Products* **63**, 424-426.
- Jamkhande P.G., Barde S.R., Patweker S.L., Tidke P.S. (2013). Plant profile, phytochemistry and pharmacology of *Cordia dichotoma*, *Asian Pacific Journal of Tropical Biomedicine* **3** (12), 1009-1012.
- Jarlier V., Nikaido H. (1994). Mycobacterial cell wall: structure and role in natural resistance to antibiotics. *Microbiology Letters* **123**, 11-18.

-
- Jimenez-Alleranes A., Meckes M., Torres J., Herrera-Luna J. (2007). Antimycobacterial triterpenoids from *Lantana hispida*. *Journal of Ethnopharmacology* **111**, 202–205.
- Jimenez A., Meckes A., Ramirez M., Torres R., Luna-Herrera J. (2003). Activity against multidrug-resistant *Mycobacterium tuberculosis* in Mexican plants used to treat respiratory diseases. *Phytotherapy Research* **17**, 903–908.
- Ji Young K., Hyung J. J., Ji-Young P., Young M.K., Su-Jin P., Jung K.C., Ki Hun P., Young B.R., Woo S.L. (2012). Selective and slow-binding inhibition of shikonin derivatives isolated from *Lithospermum erythrorhizon* on glycosyl hydrolase 33 and 34 sialidases *Bioorganic & Medicinal Chemistry* **20**, 1740-1748.
- Jgdish S., Chauhan J.S., Srivastava Santhosh K. (1978). *Phytochemistry*. **17**, 1005-1006.
- João B. C. (2005). *Journal of Ethnopharmacology* **100**, 131–134.166.
- Kambu K. (1990). *Eléments de Phytothérapie comparée : plantes médicinales africaines*, C.R.P., Kinshasa
- Kashiwaba N., Morooka S., Kimura M., Murakoshi Y., Ono M. (1997). Alkaloidal constituents of the tubes of *Stephania cepharantha* cultivated in Japan : 3,4 dehydrocycleanine, new bisbenzylisoquinoline alkaloids. *Chemical and Pharmaceutical Bulletin* **45**, 470-475.
- Kashiwaba N., Shigeo M., Michiko K., Minoru O., Hideki S., Takehiro S. (1996). New morphonane and hasubanane alkaloids from *Stephania cepharantha*. *Journal of Natural Products* **59**, 476-480.
- Kerharo J. (1973). *La Pharmacopée Sénégalaise Traditionnelle : Plantes médicinales et toxiques*. Vigot Frères edn., Paris, p.1011.
- Kessler P. (1993). Menispermaceae. In: Kubitzki, K., Rohwer, J., Bittrich, V. *The families and genera of vascular plants* **2**, 402-418.
- Khaled N.R., Monica B. (2014). Isolation, antimicrobial and antioxidant Evaluation of bio-active compounds from *Eriobotrya Japonica* stems. *Advanced Pharmaceutical Bulletin* **4**, 75-81.
- Khosa R.L., Mohan Y., Wahi A.K. (1987). Papaverine, a benzylisoquinoline from

Stephania glacilenta. *Journal of Natural Products* **3**, 403-405.

Kiszewski, A., Mellinger, A., Spielman, A., Malaney, P., Sachs, S.E. et Sachs J. (2004). A Global index representing the stability of malaria transmission, *American Journal of Tropical Medicine and Hygiene* **70** (5), 486-498.

Kojima H., Sato N., Hatano A. and Ogura H. (1990). Sterol glucosides from *Prunella vulgaris*. *Phytochemistry* **29**, 2351-2355

Kuroyanagi M., Kawahara N., Sekita S., Satake M., Hayashi T., Yoichi T. and Masuda K. (2003). Dammarane-Type Triterpenes from the Brazilian Medicinal Plant *Cordia Multispicata*. *Journal of Natural Products* **66**, 1307-1312

Lee N., Jung D., Lee J., Seo C., Lee H., Kim J., Shin H., (2010). Protective effects of allantoin against ovalbumin-induced lung inflammation in a murine model of asthma. *International Immunopharmacology* **10**, 474-480.

Lethoma A. (1969). *Flore du Gabon*, Buffon Ed ; Paris, 9-315

Levesque H. et Lafont, O. (2000). L'aspirine à travers les siècles : rappel historique. *Revue de Médecine Interne* **21**, 8-17.

Levin M.E., Hatfull G.F. (1993). *Mycobacterium smegmatis* RNA polymerase: DNA supercoiling, action of rifampicin and mechanism of rifampicin resistance. *Molecular Microbiology* **8**, 277-285.

Lirio SB, Macabeo AP, Paragas EM, Knorn M, Kohls P, Franzblau SG, Wang Y, Aguinaldo M.A. (2014). Antitubercular constituents from *Premna odorata* Blanco. *Journal of Ethnopharmacology* **154**, 471-474.

Longley D.B., Harkin D.P., Johnston P.G. (2003). 5-fluorouracil: mechanisms of action and clinical strategies. *Nature Reviews Cancer* **3**, 330-338.

Lozniewski A., Rabaud C., Nancy. (2010). Résistance bactérienne aux antibiotiques. *Infections associées aux soins* : 4-5.

Mahato S.B., Kundu A.P. (1994). ¹³C-NMR spectra of pentacyclic triterpenoids. Compilation and some salient features. *Phytochemistry* **37**, 1517-1575 ;

Molyneux X.D., Floyd K., Barnish G., Ferre E.M. (1999). Transmission control and drug

-
- resistance in malaria a crucial interaction. *Parasitology Today* **15**, 238-240. Richard K. (1985). *Parasite Diseases in Man*, ELBS, London, pp: 30-35.
- Manjunatha U.H., Boshoff H., Dowd C.S., Zhang L., Albert T.J., Norton J.E., Daniels L., Dick T., Pang S.S., Barry C.E. (2006). Identification of a nitroimidazooxa-zine-specific protein involved in PA-824 resistance in *Mycobacterium tuberculosis*. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the US*. **103**, 431-436.
- Marsh S., McLeod H.L. (2001). Thymidylate synthase pharmacogenetics in colorectal cancer. *Clinical Colorectal Cancer* **1**, 175-178.
- Marais B.J., Gie R.P., Schaaf H.S., Hesselning A.C., Obihara C.C., Starke J.J. (2004). The natural history of child hood intra-thoracic tuberculosis: a critical review of literature from the pre-chemotherapy era. *International Journal of Tuberculosis and Lung Disease* **8** (4), 392-402.
- Mathys V. (2010). Contribution à la compréhension des mécanismes moléculaires de résistance de *Mycobacterium tuberculosis* aux agents anti-Tuberculeux. Thèse de Doctorat, Université Libre de Bruxelles. Belgique. pp 14-59.
- Matias E., Santos K.K., Costa J.G.M., Coutinho H.D. (2010a). Light-enhanced antibiotic activity of Brazilian medical plants (*Croton campestris* A, *Ocimum gratissimum* L and *Cordia verbenaceae*). *Asian Biomedicine* **4**, 61-70.
- Menezes J.E., Lemos T.L., Silveira E.R., Braz-Filho R., Pessoa O.D. (2001). Trichotomol, a new cadinenediol from *Cordia trichotoma*. *Journal of Brazilian Chemical Society* **12**, 787–790.
- Mesia G.K., Tona G.L., Nanga T.H., Cimanga R.K., Apers S., Cos P., Maes L., Pieters L., Vlietinck A.J. (2008). Antiprotozoal and cytotoxic screening of 45 plant extracts from Democratic Republic of Congo. *Journal of Ethnopharmacology* **115** (3), 409–415.
- Meyer A., Deiana J., Bernard A. (2004). Cours de microbiologie générale. Paris, Doin. p: 430.
- Milcent R., (2003). *Chimie Organique Hétérocyclique* (EDP sciences,France)
- Misawa M. (1997). Plant tissue culture an alternative for production of useful metabolites. *Daya Publishing House, Dehli* 60-62.
- Miralles J., Noba K., Bassene E., (1989). Chemotaxonomy of the boraginaceae acid and

-
- sterol composition of the leaves of some species belonging to the genera *Cordia* and *Heliotropium*. *Herbal Hunger* **28**, 7-12.
- Molyneux X.D., Floyd K., Barnish G., Ferre E.M. (1999). Transmission control and drug resistance in malaria a crucial interaction. *Parasitology Today* **15**, 238-240.
- Mostowy S., Behr M.A. (2005). The origin and evolution of *Mycobacterium tuberculosis*. *Clinics In Chest Medicine* **26** (2), 207-210.
- Morale G., Sierra P., Mancilla A., Parexedes AN., Loyola LA., Gallado O., Borquez J. (2003). Secondary metabolites from four medicinal plants from north Chile: antimicrobial activity and biotoxicity against *Artemia salina*. *Journal of the Chilean Chemical Society* **48**, 1-11.
- Mpondo E., Garcia J., Chulia A., (1989). Secoiridoid glucosides from *gentiana campestris*. *Phytochemistry* **29**, 1687- 1688.
- Murebwayire S., Diallo B., Luhmer M., Vanhaelen-Fastre R., Vanhaelen M., Duez P. (2006). Alkaloids and amides from *Triclisia sacleuxii*. *Fitoterapia* **77**, 615–617.
- Murebwayire S., Ingkaninan K., Changwijit K., Frederich M., Duez P. (2009). *Triclisia sacleuxii* (Menispermaceae), a potential source of acetylcholinesterase inhibitors. *Journal of Pharmacy and Pharmacology* **61**, 103–107.
- Nakamura N., Kojima S., Lim YA., Meselhy M.R., Hattori, M., Gupta, MP., Correa M. (1997). Dammarane-type triterpenes from *Cordia spinescens*. *Phytochemistry*. **46** (6), 1139-1141.
- Neil B., Richard H.D., Freeman J.D., Kein K., Alfred E.R. Koichi S. (1992). *Encyclopedia of Science and Technology*, 7th Edn. Mc Graw Hill Inc; pp: 358-359, 222.
- Neuwinger HD. (1998). *Afrikanische Arzneipflanzen und Jagdgifte Chemie, Pharmakologie, Toxikologie*. 2nd Ed. Stuttgart: Wissenschaftliche Verlagsgesellschaft mbH; p. 960.
- Neuwinger H.D. (2000). *African Traditional Medicine, a dictionary of plant use and applications Medical and Pharmaceutical edition.*, Stuttgart; p. 589.
- Ngono B.D.S., Mosset P., Abouem A.A., Atchade A.T., Balemaken M.M., Mbabi N.N.,

-
- Pegnyemb D.E. (2014). Campylopermine, an *N*-hydroxy alkaloid from the leaves of *Campylopernum densiflorum* (Ochnaceae). *International Journal of Pharmacognosy and Phytochemical Research* **6**, 719-728.
- Nguyen P. (2007). Museum national d'histoire naturelle. *Chimie des Substances Naturelles* **2**, 90-95.
- Nkunya M.H.H. (1992). Progress in the search for anti-malarials. In: *NAPRECA Monograph series*, Vol. 4. *NAPRECA*, Addis Ababa, p1.
- Nopponpunch V., Sirawaraporn W., Greene P.J., Santi D.V. (1999). Cloning and expression of *Mycobacterium tuberculosis* and *Mycobacterium leprae* dihydropteroate synthase in *Escherichia coli*. *Journal of Bacteriology* **181**, 6814-6821.
- Ober D., and Hartmann T. (1999). Homospermidine synthase, the first pathway-specific enzyme of pyrrolizidine alkaloid biosynthesis, evolved from deoxyhypusine synthase, *Proc Nat Acad Sci USA* **96** (26), 14777-14779
- Okigawa M, Kawano N, Aqil M, Rahman W. (1973). The structure of ochnaflavone, a new type of biflavone and the synthesis of its pentamethyl ether. *Tetrahedron Letter* **14** (22), 2003–2006.
- Okunade A., Elvin-Lewis M.P., Lewis W.H. (2004). Natural antimycobacterial metabolites: current status. *Phytochemistry* **65**, 1017–1032.
- Okusa P.N., Beuerle T., Stévigny C., Duez P. (2012). Absence of Pyrrolizidine alkaloids in *Cordia gillettii*. *Biochemical Systematics and Ecology* **41**, 1-2.
- Okusa P.N., Penge O., Devleeschouwer M., Duez P. (2007). Direct and indirect antimicrobial effects and antioxidant activity of *Cordia gillettii* De Wild (Boraginaceae), *Journal of Ethnopharmacology* **112** (3), 476-481.
- OMS. (2017). Organisation mondiale de la santé. Global Tuberculosis Report 2017. OMS/HTM/TB/2017.
- OMS. (2018). Organisation mondiale de la santé. Global Tuberculosis Report 2018. OMS/HTM/TB/2018.
- OMS. (2018). Organisation mondiale de la santé. World Malaria Report 2018. Geneva.

Licence: 978 92 4 156565 3

OMS. (2019). Organisation mondiale de la santé. Global Tuberculosis Report 2019. License CC By NC-SA 3.0 / GO/2019.

Ouga S.Z., Semi AN., Tianga Y.S., Traore F. (2010). Etude des effets pharmacologiques de l'extrait aqueux de *Heliotropium indicum* Linn. (Boraginaceae) sur le cœur isolé de rat et l'aorte isolée de cobaye

Owusu P.D., Slatkin D.J., Knapp J.E., Schiff P.L.J. (1981). Constituents of West African medicinal plants. 28. Additional alkaloids of *Triclisia gilletti*. *Journal of Natural Products* **44**, 61–66.

Paiva R.S., Telma L.G., Deusdênia O.L., Braz-Filho R., Rodrigues-Filho E., Viana F.A., Silveira ER. (2005) Chemical constituents of *Cordia piauhiensis* (Boraginaceae), *Journal of the Brazilian Chemical Society* **16** (3b).

Parks J., Gyeltshen T., Prachyawarakorn V., Mahidol C., Ruchirawat S., Kittakoop P. (2010). Glutarimide alkaloids and a terpenoid benzoquinone from *Cordia globifera*. *Journal of Natural Products* **73** (5), 992-994.

Pauli G.F., Case R.J., Inui T., Wang Y., Cho S., Fischer N.H., Franzblau S.G. (2005). New perspectives on natural products in TB drug research. *Life Sciences* **78**, 485–494.

Peng Z.F., Strack D., Baumert A., Subramaniam R., Goh N.K., Chia T.F., Tan S.N., Chia L.S. (2003). Antioxidant flavonoids from leaves of *Polygonum hydropiper* L. *Phytochemistry* **62**, 219–228.

Peterson L.R., Shanholtzer C.J. (1992). Tests for bactericidal effects of antibacterial agents: technical performance and clinical relevance. *Clinical Microbiology Reviews* **5**, 420–432.

Philardeau Y., Debray, M.M., (1965). Note préliminaire sur les alcaloïdes de *Sphenocentrum jollyanum*. Rapport ronéo ORSTOM. 6 pages.

Philippon. (2001). Bactériologie générale; pp: 89-99.

PNLP, (2019). 12^{ème} Journée Mondiale de lutte contre le paludisme. 25 avril 2019, Yaoundé-Cameroun.

-
- Rang H.P., Dale M.M., Ritter J.M. (1999). *Pharmacology*, 4th Edn. Churchill Livingstone, UK; p: 726-734
- Riekmann, K.H., Campbell, G.H., Sax., L.H. et Mrema, J.E. (1978). Drug sensitivity of *Plasmodium falciparum*. An *in vitro* micro technique, *Lancet* **1**, 22-23.
- Richard K. (1985). *Parasite Diseases in Man*, ELBS, London; p: 30-35.
- Rozendaal J.A. (1997). *Vector Control Methods for Individual or Communities*. WHO Geneva, p10-177.
- Rubinstein I, Goad L.J., Clague A.D.H., Mulheirn L.J. (1976). The 220 MHz NMR spectra of phytosterols. *Phytochemistry* **15**, 195–200.
- Samita F., Ochieng C.O., Owuor P.O., Manguro L.O.A., Midiwo J.O. (2017). Isolation of a new β -carboline alkaloid from aerial parts of *Triclisia sacleuxii* and its antibacterial and cytotoxicity effects. *Nat Prod Res* **31**, 529–536.
- Schiff P.L.J. (1983). Bisbenzylisoquinoline alkaloids. *Journal of Natural Products* **46**, 1–43.
- Selwyn P.A., Hartel D., Lewis V.A. (1989). A prospective study of the risk of tuberculosis among intravenous drug users with human immunodeficiency virus infection. *Journal of Medical Sciences* **320**, 545–550
- Séquin–Frey M.J., (2005). *Chem.Educ*, **82**, 1787.
- Si D., Zhong D., Sha Y., Li W. (2001). Two biflavonoids from the aerial part of *Stephania tetrandra*. *Phytochemistry* **58**, 563–566.
- Silverstein R.M., Webster F.X., (1998). *Spectrometric Identification of Organic Compounds*, 6th Ed, John Wiley and Sons, Inc. New York, USA, pp 1–324
- Singh R., Manjunatha U., Boshoff H.I., Ha Y.H., Niyomrattanakit P., Ledwidge R., Dowd C. S., Lee I.Y., Kim P., Zhang L., Kang S., Keller T.H., Jiricek J., Barry C.E. (2008). PA-824 kills nonreplicating *Mycobacterium tuberculosis* by intracellular NO release. *Journal of Sciences*. **322**, 1392-1395.
- SNHF, (1999). L'essentiel sur les Boraginaceae: 68.

-
- Somoskovi A., Parsons L.M., Salfinger M. (2001). The molecular basis of resistance to isoniazid, rifampin, and pyrazinamide in *Mycobacterium tuberculosis*. *Respiratory Research* **2**, 164-168.
- Souza da Silva S.A., Souto A.S., Agra M.F., da-Cunha V.L.E., Barbosa-Filho J.M., Sobral da Silva M., Braz-Filhoc R. (2004). A new aryl-naphthalene type lignan from *Cordia rufescens* A. DC. (Boraginaceae). *ARKIVOC* **6**, 54-58
- Sousa G.F., Duarte L.P., Alcântara A.F.C., Silva G.D.F., Vieira-Filho S.A., Silva R.R., Oliveira D.M., Takahashi J.A. (2012). New triterpenes from *Maytenus robusta* structural elucidation based on NMR experimental data and theoretical calculations. *Molecules* **17**, 13439–13456.
- Spiff A.I., Zabel V., Watson W.H., Zemaitis M.A., Ateya A.M., Slatkin D.J., Knapp J.E., Schiff P.L.J. (1981). Constituents of West African medicinal plants. XXX. Tridictyophylline, A new morphinan alkaloid from *Triclisia dictyophylla*. *Journal of Natural Products* **44** (2), 160–165.
- Stover C.K., Warrener P., Van Devanter D.R., Sherman D.R., Arain T.M., Langhorne M.H., Anderson S.W., Towell J.A., Yuan Y., McMurray D.N., Kreiswirth B.N., Barry C.E., Baker W.R. (2000). A small-molecule nitroimidazopyran drug candidate for the treatment of tuberculosis. *Nature*. **405**, 962-966.
- Sun C.R., Hu H.J., Xu R.S., Yang J.H., Wan T.H. (2009). A new friedelane type triterpene from *Euonymus hederaceus*. *Molecules* **14**, 2650–2655.
- Sureram S., Senadeera S.P.D., Hongmanee P., Mahidol C., Ruchirawat S., Kittakoop P. (2012). Antimycobacterial activity of bisbenzylisoquinoline alkaloids from *Tiliacora triandra* against multidrug-resistant isolates of *Mycobacterium tuberculosis*. *Bioorganic and Medicinal Chemistry Letters* **22**(8), 2902–2905.
- Tabata M., Tsukada M., Hiroshi F. (1982). Antimicrobial Activity of Quinone Derivatives from *Echium lycopsis* Callus Cultures. *Journal of Medicinal Plants Research* **44**, 234-236.
- Tackie A.N., Dwuma-Badu D., Okarter T., Knapp J.E., Slatkin D.J., Schiff P.L. (1973). Trigilletine and tricordatine: two new bisbenzylisoquinoline alkaloids from *Triclisia* species. *Phytochemistry* **12**, 2509–2511.

-
- Theulier M., Detry A., Cissé O.A., San C., Biligui S., Silvie O., et Danis M. (2002). Diagnosis of malaria using thick bloodsmears: definition and evaluation of a faster protocol with improved readability, *Annals of Tropical Medicine and Parasitology* **96** (2), 115-124.
- Thirupathi K.S., Sathesh K.V.S., Raju B., Ravikumar D.R., Krishna G., Krishna M. (2008). *Journal of Natural Remedies* **8**, 1–10
- Tiam E.R., Ngonu B.S.D., Abouem A.A., Mbabi N.N., Ndedi M.D.F.E., Betote D.P.H., Nyegue A.M., Atchadé A.T., Pegnyemb D.E., Bochet C.G., Koert U. (2019). Secondary metabolites from *Triclisia gillettii* (De Wild) Staner (Menispermaceae) with antimycobacterial activity against *Mycobacterium tuberculosis*, *Natural Product Research* **33** (5), 642-650.
- Toshihiro A., Parthasarathi G., Swapnadip T., Satoshi O., Toshitake T. and Taro M. (1988). 24-methylcholesta-5,22E,25-trien-3-ol and 24-ethyl-cholest-22E-en-3-ol- from *Clerodendrum fragrans*. *Phytochemistry* **27**, 241-244.
- Traoré A., C.(2014). Incidence du paludisme et variation Spatiale des indices paludometriques dans le district de bamako. Thèse de médecine Faculté de Médecine et d'Odontostomatologie; pp: 26-36
- Troupin G. (1962). Monographie des Menispermaceae africaines. Memoires in-8. Academie Royale des Sciences d'Outre-Mer, Classe des Sciences Naturelles et Medicales, Nouvelle serie **8** (2), 313.
- Troupin G., Robyns W., Staner P., Demaret F., Germain R., Gilbert G., Hauman L., Homes M., Jurion F., Lebrun J., et al. (Editors). (1951). Menispermaceae. In: *Flore du Congo belge et du Ruanda-Urundi Spermatophytes*. Volume 2. Brussels, Belgium: Institut National pour l'Etude Agronomique du Congo belge; pp. 202–255.
- Troupin G., Turrill W.B., Milne-Redhead E. (Editors). (1956). Menispermaceae. In: *Flora of Tropical East Africa*. London: Crown Agents for Oversea Governments and Administrations; p 32.
- Uche F.I., Abed M.N., Abdullah M.I., Drijfhout F.P., McCullagh J., Claridge T.W.D., Richardson A., Li W.W. (2017). Isochondodendrine and 2'-norcocsuline: additional alkaloids from *Triclisia subcordata* induce cytotoxicity and apoptosis in ovarian cancer

cell lines. *RSC Advances* **7**, 44154–44161.

Vercauteren J. (2009). Drogues à alcaloïdes. // WWW. Pharma.univ. montp.fr/gnosie/cours
5% 20 Gnosie. pdf consulté le 05 avril 2015; pp 205-296.

Velde V.V., Lavie D., Zelnik R., Matida A.K., Panizza S. (1982) *Journal of the Chemical Society, Perkin Transactions 1* **1**, 2697-2700.

Vezeris N., Cambau E., Sougakoff W., Robert J., Jarlier V. (2005). Resistance to antituberculous drugs. *Archives de Pédiatrie*. 12 Suppl **2**, 102-109.

Vilcheze C., Jacobs W.R.J. (2007). The mechanism of isoniazid killing: clarity through the scope of genetics. *Annual Review of Microbiology* **61**, 35-50.

Wagner H., Horthammer., Kinaly L.C. (1970). Société Française d'Ethnopharmacologie. *Phytochemistry* **9**, 89.

Wandji J, Wansi J.D., Fuendjiep V., Dagne E., Mulholland D.A., Tillequin F., Fomum Z.T., Sondengam B.L., Nkeh B.C, Njamen D. (2000). Sesquiterpene lactone and friedelane derivative from *Drypetes molunduana*. *Phytochemistry* **54**, 811–815.

Wassel G., El-Menshawi B., Saeed A., Mahran G., El-Merzabani M. (1987a), Screening of selected plants for Pyrrolizidine alkaloids and antitumoractivity, *Die Pharmazie* **42** (10), 709.

Wassel G., El-Menshawi B., Saeed A., Mahran G., Reisch J. (1987b). News sources of pyrrolizidine alkaloids: genus *Cordia* (Ehretiaceae) and *Schismus* (Gramineae). *Scientia Pharmaceutica* **55** (3), 163-166

WoulduY., Abegaz B., Bota B., Monache G.D., Monache F.D. (1988). Styryènes from *Dorstenia barnimiana*. *Phytochemistry* **27**, 1227-1228.

Yadessa M., Norbert A., Juergen S., Ermias D. (2017). Analysis of the husk and kernel of the seeds of *moringa stenopetala*. *Bulletin of Chemistry Society* **31**, 107-113.

Yamamoto H., Inoue K., Yazaki K. (2000). Caffeic acid oligomers in *Lithospermum erythrorhizon* cell suspension cultures. *Phytochemistry* **53**, 651-657.

ANNEXE

ANNEXE

Publications SCIENTIFIQUES

1. **Eric Robert Tiam**, Dominique Serge Ngoni Bikobo, Auguste Abouem A Zintchem, Norbert Mbabi Nyemeck II, Esther Del Florence Moni Ndedi, Patrick Hervé Betote Diboué, Maximilienne Ascension Nyegue, Alex de Théodore Atchadé, Dieudonné Emmanuel Pegnyemb, Christian G. Bochet & Ulrich Koert (2019). Secondary metabolites from *Triclisia gillettii* (De Wild) Staner (Menispermaceae) with antimycobacterial activity against *Mycobacterium tuberculosis*, *Natural Product Research*, 33:5, 642-650.

2. Eutrophe Le Doux Kamto, Simony Mendonça, Auguste Abouem A. Zintchem, **Eric Robert Tiam**, Dieudonné Emmanuel Pegnyemb, Gilda Guimarães Leitão (2020). Aporphine Alkaloids from *Triclisia dictyophylla* Diels by pH-Zone Reining Countercurrent Chromatography, *Chromatographia*, 10, 1-8.

3. **Eric Robert Tiam**, Dominique Serge Ngoni Bikobo, Ibrahim Mbouombouo Ndassa, Auguste Abouem A Zintchem, Norbert Mbabi Nyemeck II, Lawrence Ayong, Patrick Hervé Betote Diboué, Bruno Lenta Ndjakou, Joséphine Ngo Mbing, Dieudonné Emmanuel Pegnyemb, (2020). A new derivative of allantoin and other constituents as antiplasmodial agents from *Cordia batesii* Wernham (Boraginaceae), *Scientific report (soumis)*.

COMMUNICATION

Eutrophe L D Kamto, **Eric R. Tiam**, Dieudonné E. Pegnyemb, Gilda G. Leitão (2016).

Alkaloids from *Triclisia Dictyophylla* by Ph-zone refining ccc, Chicago CCC, Countercurrent Chromatography Conference, Chicago Illinois, USA, August 1-3, 2016.