

REPUBLIQUE DU CAMEROUN

Paix – Travail – Patrie

UNIVERSITE DE YAOUNDE I

FACULTE DES SCIENCES

DEPARTEMENT DE CHIMIE

ORGANIQUE

CENTRE DE RECHERCHE ET DE

FORMATION DOCTORALE EN

SCIENCES, TECHNOLOGIE ET

GEOSCIENCES



REPUBLIC OF CAMEROUN

Peace – Work – Fatherland

UNIVERSITY OF YAOUNDE I

FACULTY OF SCIENCE

DEPARTMENT OF ORGANIC

CHEMISTRY

POST GRADUATE SCHOOL FOR

SCIENCES, TECHNOLOGY AND

GEOSCIENCES

**Etude chimique de Croton oligandrum Pierre ex
Hutch(Euphorbiaceae). Evaluation des activités
antiproliférative, antioxydante et
antimicrobienne de quelques diterpenes isolés.**

Thèse

Présentée et soutenue publiquement en vue de l'obtention du
DOCTORAT/Ph.D en Chimie Organique

Par : **ABEGA Felix Destaing**
D.E.A en Chimie Organique

Sous la direction de
KAPCHE WABO FOTSO Gilbert Deccaux
Professeur
NGADJUI TCHALEU Bonaventure
Professeur

Année Académique : 2018



REPUBLIQUE DU CAMEROUN
Paix Travail Patrie

UNIVERSITE DE YAOUNDE I

FACULTE DES SCIENCES

B.P. 812 Yaoundé
Tel/Fax (237) 242234496



REPUBLIC OF CAMEROON
Peace Work Fatherland

UNIVERSITY OF YAOUNDE I

FACULTY OF SCIENCE

P.O. Box 812 Yaounde
Tel/Fax (237) 242234496

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

B.P. 812 Yaoundé.

Email : crfd-stg@uy1.uninet.cm

Nous soussignés, **PEGNYEMB Dieudonné Emmanuel**, *Professeur*, **KEUMEDJIO Félix**, *Maître de Conférences*, **NGADJUI TCHALEU Bonaventure**, *Professeur* et **KAPCHE WABO FOTSO Gilbert Deccaux**, *Professeur*, membres du jury de soutenance de Doctorat/Ph.D en Chimie Organique de **M. ABEGA Félix Destaing**, Matricule **99X115**, intitulée: «Etude chimique de *Croton oligandrum* (*Euphorbiaceae*).Evaluation des activités antiproliférative, antioxydante et antimicrobienne de quelques diterpènes isolés.», attestons que le candidat a effectué toutes les corrections de ladite thèse conformément aux remarques et suggestions faites par les membres du jury.

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

Fait a Yaoundé, le 12/12/2018

MEMBRE :

RAPPORTEURS :

KEUMEDJIO F., *Maître de Conférences*

KAPCHE W.F.G.D., *Professeur*

NGADJUI T.B., *Professeur*

PRESIDENT:

Pegnyemb Dieudonné
Professeur

PEGNYEMB D.E., *Professeur*

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

ANNÉE ACADEMIQUE 2017/2018

(Par Département et par Grade)

DATE D'ACTUALISATION : 10 Mars 2018

ADMINISTRATION

DOYEN : AWONO ONANA Charles, *Professeur*

VICE-DOYEN / DPSAA : DONGO Etienne, *Professeur*

VICE-DOYEN / DSSE : OBEN Julius ENYONG, *Professeur*

VICE-DOYEN / DRC : MBAZE MEVA'A Luc Léonard, *Maitre de Conférences*

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

Chef Division des Affaires Académiques, de la Scolarité et de la Recherche : ABOSSOLO Monique, *Maitre de Conférences*

1- DÉPARTEMENT DE BIOCHIMIE (BC) (41)			
N°	NOMS ET PRÉNOMS	GRADE	OBSERVATIONS
1	FEKAM BOYOM Fabrice	Professeur	En poste
2	MBACHAM FON Wilfried	Professeur	En poste
3	MOUNDIPA FEWOU Paul	Professeur	Chef de Département
4	NINTCHOM PENLAP V. épouse BENG	Professeur	En poste
5	OBEN Julius ENYONG	Professeur	En poste
6	ATOUGHO Barbara Mma	Maître de Conférences	En poste
7	BELINGA née NDOYE FOE M. C. F.	Maître de Conférences	Chef DAF / FS
8	BIGOGA DIAGA Jude	Maître de Conférences	En poste
9	BOUDJEKO Thaddée	Maître de Conférences	En poste
10	EFFA NNOMO Pierre	Maître de Conférences	En poste
11	FOKOU Elie	Maître de Conférences	En poste
12	KANSCI Germain	Maître de Conférences	En poste
13	NANA Louise épouse WAKAM	Maître de Conférences	En poste

14	NGONDI Judith Laure	Maître de Conférences	En poste
15	NGUEFACK Julienne	Maître de Conférences	En poste
16	NJAYOU Frédéric Nico	Maître de Conférences	En poste
17	ACHU Merci BIH	Chargée de Cours	En poste
18	DEMMANO Gustave	Chargé de Cours	En poste
19	DJOKAM TAMO Rosine	Chargée de Cours	En poste
20	DJUIDJE NGOUNOUE Marcelline	Chargée de Cours	En poste
21	DJUIKWO NKONGA Ruth Viviane	Chargée de Cours	En poste
22	EVEHE BEBANDOUÉ Marie-Solange	Chargée de Cours	En poste
23	EWANE Cécile Anne	Chargée de Cours	En poste
24	KOTUE KAPTUE Charles	Chargé de Cours	En poste
25	LUNGA Paul KEILAH	Chargé de Cours	En poste
26	MBONG ANGIE M. Mary Anne	Chargée de Cours	En poste
27	MOFOR née TEUGWA Clotilde	Chargée de Cours	Inspecteur de Service MINESUP
28	Palmer MASUMBE NETONGO	Chargé de Cours	En poste
29	TCHANA KOUATCHOUA Angèle	Chargée de Cours	En poste
30	PACHANGOU NSANGOU Sylvain	Chargé de Cours	En poste
31	DONGMO LEKAGNE Joseph Blaise	Chargé de Cours	En poste
32	FONKOUA Martin	Chargé de Cours	En poste
33	BEBOY EDZENGUELE Sara Nathalie	Chargée de Cours	En poste
34	DAKOLE DABOY Charles	Chargée de Cours	En poste
35	MANANGA Marlyse Joséphine	Chargée de Cours	En poste
36	MBOUCHE FANMOE Marceline Joëlle	Assistante	En poste
37	BEBEE Fadimatou	Assistante	En poste
38	TIENTCHEU DJOKAM Leopold	Assistant	En poste

2- DÉPARTEMENT DE BIOLOGIE ET PHYSIOLOGIE ANIMALES (BPA) (44)

1	BILONG BILONG Charles-Félix	Professeur	Chef de Département
2	DIMO Théophile	Professeur	En Poste
3	DJIETO LORDON Champlain	Professeur	En poste
4	ESSOMBA née NTSAMA MBALA	Professeur	<i>VDoyen/FMSB/UIYI</i>
5	FOMENA Abraham	Professeur	En Poste

6	KAMTCHOUING Pierre	Professeur	EN POSTE
7	NJAMEN Dieudonné	Professeur	En poste
8	NJIOKOU Flobert	Professeur	En Poste
9	NOLA Moïse	Professeur	En poste
10	TAN Paul VERNYUY	Professeur	En poste
11	TCHUEM TCHUENTE Louis Albert	Professeur	<i>Coord. Progr. MINSANTE</i>
12	AJEAGAH Gidéon AGHAINDUM	Maître de Conférences	Chef Service DPER
13	DZEUFJET DJOMENI Paul Désiré	Maître de Conférences	En poste
14	FOTO MENBOHAN Samuel	Maître de Conférences	En poste
15	KAMGANG René	Maître de Conférences	<i>C.S. MINRESI</i>
16	KEKEUNOU Sévilor	Maître de Conférences	En poste
17	MEGNEKOU Rosette	Maître de Conférences	En poste
18	MONY Ruth épouse NTONE	Maître de Conférences	En Poste
19	TOMBI Jeannette	Maître de Conférences	En poste
20	ZEBAZE TOGOUET Serge Hubert	Maître de Conférences	En poste
21	ALENE Désirée Chantal	Chargée de Cours	En poste
22	ATSAMO Albert Donatien	Chargée de Cours	En poste
23	BELLET EDIMO Oscar Roger	Chargé de Cours	En poste
24	BILANDA Danielle Claude	Chargée de Cours	En poste
25	DJIOGUE Séfirin	Chargée de Cours	En poste
26	DONFACK Mireille	Chargée de Cours	En poste
27	GOUNOUE KAMKUMO Raceline	Chargée de Cours	En poste
28	LEKEUFACK FOLEFACK Guy B.	Chargé de Cours	En poste
29	MAHOB Raymond Joseph	Chargé de Cours	En poste
30	MBENOUN MASSE Paul Serge	Chargé de Cours	En poste
31	MOUNGANG LucianeMarlyse	Chargée de Cours	En poste
32	MVEYO NDANKEU Yves Patrick	Chargée de Cours	En poste
33	NGOuateu KENFACK Omer Bébé	Chargé de Cours	En poste
34	NGUEGUIM TSOFAK Florence	Chargée de Cours	En poste
35	NGUEMBOK	Chargé de Cours	En poste
36	NJATSA Hermine épouse MEGAPTCHE	Chargée de Cours	En Poste
37	NJUA Clarisse Yafi	Chargée de Cours	CD/UBa
38	NOAH EWOTI Olive Vivien	Chargée de Cours	En poste

39	TADU Zephyrin	Chargée de Cours	En poste
40	YEDE	Chargée de Cours	En poste
41	ETEME ENAMA Serge	Assistant	En poste
42	KANDEDA KAVAYE Antoine	Assistant	En poste
43	KOGA MANG DOBARA	Assistant	En poste
3- DÉPARTEMENT DE BIOLOGIE ET PHYSIOLOGIE VÉGÉTALES (BPV) (26)			
1	AMBANG Zachée	Professeur	Chef Division/UYII
2	BELL Joseph Martin	Professeur	En poste
3	YOUMBI Emmanuel	Professeur	Chef de Département
4	MOSSEBO Dominique Claude	Professeur	En poste
5	BIYE Elvire Hortense	Maître de Conférences	En poste
6	DJOCGOUE Pierre François	Maître de Conférences	En poste
7	KENGNE NOUMSI Ives Magloire	Maître de Conférences	En poste
8	MALA Armand William	Maître de Conférences	En poste
9	NDONGO BEKOLO	Maître de Conférences	<i>CE / MINRESI</i>
10	NGONKEU MAGAPTCHE Eddy L.	Maître de Conférences	En poste
11	ZAPFACK Louis	Maître de Conférences	En poste
12	MBARGA BINDZI Marie Alain	Maître de Conférences	CT/Univ Dschang
13	MBOLO Marie	Maître de Conférences	En poste
14	ANGONI Hyacinthe	Chargée de Cours	En poste
15	MAHBOU SOMO TOUKAM. Gabriel	Chargé de Cours	En poste
16	ONANA JEAN MICHEL	Chargé de Cours	En poste
17	GOMANDJE Christelle	Chargée de Cours	En poste
18	NGODO MELINGUI Jean Baptiste	Chargé de Cours	En poste
19	NGALLE Hermine BILLE	Chargée de Cours	En poste
20	NGOUO Lucas Vincent	Chargé de Cours	En poste
21	NSOM ZAMO Annie Claude épouse PIAL	Chargée de Cours	<i>Expert national /UNESCO</i>
22	TONFACK Libert Brice	Chargé de Cours	En poste
23	TSOATA Esaïe	Chargé de Cours	En poste
24	DJEUANI Astride Carole	Assistante	En poste
25	MAFFO MAFFO Nicole Liliane	Assistante	En poste
26	NNANGA MEBENGA Ruth Laure	Assistante	En poste

27	NOUKEU KOUAKAM Armelle	Assistante	En poste
----	------------------------	------------	----------

4- DÉPARTEMENT DE CHIMIE INORGANIQUE (CI) (33)			
1	AGWARA ONDOH Moïse	Professeur	<i>Vice Recteur Univ ,Bamenda</i>
2	ELIMBI Antoine	Professeur	En poste
3	Florence UFI CHINJE épouse MELO	Professeur	<i>RECTEUR Univ. Ngaoundere</i>
4	GHOGOMU Paul MINGO	Professeur	<i>Directeur Cabinet PM</i>
5	LAMINSI Samuel	Professeur	En poste
6	NANSEU Njiki Charles Péguy	Professeur	En poste
7	NDIFON Peter TEKE	Professeur	<i>ISI MINRESI/Chef de Département</i>
8	NENWA Justin	Professeur	En poste
9	NGAMENI Emmanuel	Professeur	<i>DOYEN FS Univ. Dschang</i>
10	BABALE née DJAM DOUDOU	Maître de Conférences	<i>Chargée Mission P.R.</i>
11	DJOUFAC WOUMFO Emmanuel	Maître de Conférences	En poste
12	KEMMEGNE MBOUGUEM Jean C.	Maître de Conférences	En poste
13	KONG SAKEO	Maître de Conférences	<i>Chargé de Mission au P. M.</i>
14	NDIKONTAR Maurice KOR	Maître de Conférences	<i>Vice-Doyen Univ. Bamenda</i>
15	NGOMO Horace MANGA	Maître de Conférences	<i>VC/UB</i>
16	NJIOMOU C. épouse DJANGANG	Maître de Conférences	En poste
17	YOUNANG Elie	Maître de Conférences	En poste
18	ACAYANKA Elie	Chargé de Cours	En poste
19	EMADACK Alphonse	Chargé de Cours	En poste
20	KAMGANG YOUNBI Georges	Chargé de Cours	En poste
21	NDI NSAMI Julius	Chargée de Cours	En poste
22	NJOYA Dayirou	Chargé de Cours	En poste
23	PABOUDAM GBAMBIE A.	Chargée de Cours	En poste
24	TCHAKOUTE KOUAMO Hervé	Chargé de Cours	En poste
25	BELIBI BELIBI Placide Désiré	Chargé de Cours	En poste
26	CHEUMANI YONA Arnaud M.	Chargé de Cours	En poste
27	NYAMEN Linda Dyorisse	Chargée de Cours	En poste

28	KENNE DEDZO GUSTAVE	Chargé de Cours	En poste
29	KOUOTOU DAOUDA	Chargé de Cours	En poste
30	MAKON Thomas Beauregard	Chargé de Cours	En poste
31	MBEY Jean Aime	Chargé de Cours	En poste
32	NCHIMI NONO KATIA	Chargé de Cours	En poste
33	NEBA nee NDOSIRI Bridget NDOYE	Chargé de Cours	En poste
5- DÉPARTEMENT DE CHIMIE ORGANIQUE (CO) (34)			
1	DONGO Etienne	Professeur	Vice-Doyen / DPSAA
2	GHOGOMU TIH Robert Ralph	Professeur	Dir IBAF/UDS
3	MBAFOR Joseph	Professeur	En poste
4	NGADJUI TCHALEU Bonaventure	Professeur	En poste
5	NGOUELA Silvère Augustin	Professeur	En poste
6	NKENGFAK Augustin Ephraïm	Professeur	Chef de Département
7	NYASSE Barthélemy	Professeur	<i>Directeur/UN</i>
8	PEGNYEMB Dieudonné Emmanuel	Professeur	<i>Directeur/ MINESUP</i>
9	WANDJI Jean	Professeur	En poste
10	Alex de Théodore ATCHADE	Maître de Conférences	<i>DEPE/ Rectorat/UYI</i>
11	FOLEFOC Gabriel NGOSONG	Maître de Conférences	<i>En poste</i>
12	KEUMEDJIO Félix	Maître de Conférences	En poste
13	KOUAM Jacques	Maître de Conférences	En poste
14	MBAZOA née DJAMA Céline	Maître de Conférences	En poste
15	NOUNGOUE TCHAMO Diderot	Maître de Conférences	En poste
16	TCHOUANKEU Jean-Claude	Maître de Conférences	<i>VR/ UYII</i>
17	YANKEP Emmanuel	Maître de Conférences	En poste
18	TIH née NGO BILONG E. Anastasie	Maître de Conférences	En poste
19	MKOUNGA Pierre	Maître de Conférences	En poste
20	NGO MBING Joséphine	Maître de Conférences	En poste
21	TABOPDA KUATE Turibio	Maître de Conférences	En poste
22	KEUMOGNE Marguerite	Maître de Conférences	En poste
23	AMBASSA Pantaléon	Chargé de Cours	En poste
24	EYONG Kenneth OBEN	Chargé de Cours	En poste
25	FOTSO WABO Ghislain	Chargé de Cours	En poste

26	KAMTO Eutrophe Le Doux	Chargé de Cours	En poste
27	NGONO BIKOBO Dominique Serge	Chargé de Cours	En poste
28	NOTE LOUGBOT Olivier Placide	Chargé de Cours	Chef Service/Minesup
29	OUAHOUE WACHE Blandine M.	Chargée de Cours	En poste
30	TAGATSING FOTSING Maurice	Chargé de Cours	En poste
31	ZONDENDEGOUNBA Ernestine	Chargée de Cours	En poste
32	NGOMO Orléans	Chargée de Cours	En poste
33	NGNINTEDO Dominique	Assistant	En poste
6- DÉPARTEMENT D'INFORMATIQUE (IN) (25)			
1	ATSA ETOUNDI Roger	Professeur	Chef de Département
2	FOUDA NDJODO Marcel Laurent	Professeur	<i>Chef Dpt ENS/ I.G.A.MINESUP</i>
3	NDOUNAM René	Maître de Conférences	En poste
4	KOUOKAM KOUOKAM E. A.	Chargé de Cours	En poste
5	CHEDOM FOTSO Donatien	Chargé de Cours	En poste
6	MELATAGIA YONTA Paulin	Chargé de Cours	En poste
7	MOTO MPONG Serge Alain	Chargé de Cours	En poste
8	TINDO Gilbert	Chargé de Cours	En poste
9	TSOPZE Norbert	Chargé de Cours	En poste
10	WAKU KOUAMOU Jules	Chargé de Cours	En poste
11	TAPAMO Hyppolite	Chargé de Cours	En poste
12	ABESSOLO ALO'O Gislain	Assistant	En poste
13	BAYEM Jacques Narcisse	Assistant	En poste
14	DJOUWE MEFFEJA Merline Flore	Assistante	En poste
15	DOMGA KOMGUEM Rodrigue	Assistant	En poste
16	EBELE Serge	Assistant	En poste
17	HAMZA Adamou	Assistant	En poste
18	KAMDEM KENGNE Christiane	Assistante	En poste
19	KAMGUEU Patrick Olivier	Assistant	En poste
20	KENFACK DONGMO Clauvice V.	Assistant	En poste
21	MEYEMDOU Nadège Sylvianne	Assistante	En poste
22	MONTHÉ DJIADEU Valéry M.	Assistant	En poste
23	JIOMEKONG AZANZI Fidel	Assistant	En poste

7- DÉPARTEMENT DE MATHÉMATIQUES (MA) (35)

1	BEKOLLE David	Professeur	<i>Vice-Recteur UN</i>
2	BITJONG NDOMBOL	Professeur	<i>En poste</i>
3	DOSSA COSSY Marcel	Professeur	En poste
4	AYISSI Raoult Domingo	Maître de Conférences	Chef de Département
5	EMVUDU WONO Yves S.	Maître de Conférences	<i>CD/ MINESUP</i>
6	NKUIMI JUGNIA Célestin	Maître de Conférences	En poste
7	NOUNDJEU Pierre	Maître de Conférences	En poste
8	TCHAPNDA NJABO Sophonie B.	Maître de Conférences	Directeur/AIMS Rwanda
9	AGHOUKENG JIOFACK Jean Gérard	Chargé de Cours	Chef Cellule MINPLAMAT
10	CHENDJOU Gilbert	Chargé de Cours	En poste
11	FOMEKONG Christophe	Chargé de Cours	En poste
12	KIANPI Maurice	Chargé de Cours	En poste
13	KIKI Maxime Armand	Chargé de Cours	En poste
14	MBAKOP Guy Merlin	Chargé de Cours	En poste
15	MBANG Joseph	Chargé de Cours	En poste
16	MBEHOU Mohamed	Chargé de Cours	En poste
17	MBELE BIDIMA Martin Ledoux	Chargé de Cours	En poste
18	MENGUE MENGUE David Joe	Chargé de Cours	En poste
19	NGUEFACK Bernard	Chargé de Cours	En poste
20	POLA DOUNDOU Emmanuel	Chargé de Cours	En poste
21	TAKAM SOH Patrice	Chargé de Cours	En poste
22	TCHANGANG Roger Duclos	Chargé de Cours	En poste
23	TCHOUNDJA Edgar Landry	Chargé de Cours	En poste
24	TETSADJIO TCHILEPECK M. E.	Chargée de Cours	En poste
25	TIAYA TSAGUE N. Anne-Marie	Chargée de Cours	En poste
26	DJIADEU NGAHA Michel	Assistant	En poste
27	MBIAKOP Hilaire George	Assistant	En poste
28	NIMPA PEFOUNKEU Romain	Assistant	En poste
29	TANG AHANDA Barnabé	Assistant	Directeur/MINTP

8- DÉPARTEMENT DE MICROBIOLOGIE (MIB) (13)			
1	ESSIA NGANG Jean Justin	Professeur	DRV/IMPM
2	ETOA François Xavier	Professeur	Chef de Département Recteur Université de Douala
3	NWAGA Dieudonné M.	Maître de Conférences	En poste
4	NYEGUE Maximilienne Ascension	Maître de Conférences	En poste
5	SADO KAMDEM Sylvain Leroy	Maître de Conférences	En poste
6	BOYOMO ONANA	Maître de Conférences	En poste
7	RIWOM Sara Honorine	Maître de Conférences	En poste
8	BODA Maurice	Chargé de Cours	En poste
9	BOUGNOM Blaise Pascal	Chargé de Cours	En poste
10	ENO Anna Arey	Chargée de Cours	En poste
11	ESSONO OBOUGOU Germain G.	Chargé de Cours	En poste
12	NJIKI BIKOÏ Jacky	Chargée de Cours	En poste
13	TCHIKOUA Roger	Chargé de Cours	En poste
9.DEPARTEMENT DE PYSIQUE(PHY)(41)			
1	ESSIMBI ZOBO Bernard	Professeur	En poste
2	KOFANE Timoléon Crépin	Professeur	En poste
3	NDJAKA Jean Marie Bienvenu	Professeur	Chef de Département
4	NJOMO Donatien	Professeur	En poste
5	PEMHA Elkana	Professeur	En poste
6	TABOD Charles TABOD	Professeur	Doyen Univ/Bda
7	TCHAWOUA Clément	Professeur	En poste
8	WOAFO Paul	Professeur	En poste
9	EKOBENA FOU DA Henri Paul	Maître de Conférences	<i>Chef Division. UN</i>
10	NJANDJOCK NOUCK Philippe	Maître de Conférences	<i>Sous Directeur/ MINRESI</i>
11	BIYA MOTTO Frédéric	Maître de Conférences	DG/HYDRO Mekin
12	BEN- BOLIE Germain Hubert	Maître de Conférences	CD/ENS/UN
13	DJUIDJE KENMOE épouse ALOYEM	Maître de Conférences	En poste
14	NANA NBENDJO Blaise	Maître de Conférences	En poste

15	NOUAYOU Robert	Maître de Conférences	En poste
16	SIEWE SIEWE Martin	Maître de Conférences	En poste
17	ZEKENG Serge Sylvain	Maître de Conférences	En poste
18	EYEBE FOU DA Jean sire	Maître de Conférences	En poste
19	FEWO Serge Ibraïd	Maître de Conférences	En poste
20	HONA Jacques	Maître de Conférences	En poste
21	OUMAROU BOUBA	Maître de Conférences	<i>En poste</i>
22	SAIDOU	Maître de Conférences	Sous Directeur/Minresi
23	SIMO Elie	Maître de Conférences	En poste
24	BODO Bernard	Chargé de Cours	En poste
25	EDONGUE HERVAIS	Chargé de Cours	En poste
26	FOUEDJIO David	Chargé de Cours	En poste
27	MBANE BIOUELE	Chargé de Cours	En poste
28	MBINACK Clément	Chargé de Cours	En poste
29	MBONO SAMBA Yves Christian U.	Chargé de Cours	En poste
30	NDOP Joseph	Chargé de Cours	En poste
31	OBOUNOU Marcel	Chargé de Cours	DA/Univ Inter Etat/Sangmalima
32	TABI Conrad Bertrand	Chargé de Cours	En poste
33	TCHOFFO Fidèle	Chargé de Cours	En poste
34	VONDOU DerbetiniAppolinaire	Chargé de Cours	En poste
35	WOULACHE Rosalie Laure	Chargée de Cours	En poste
36	ABDOURAHIMI	Chargé de Cours	En poste
37	ENYEGUE A NYAM épouse BELINGA	Chargée de Cours	En poste
38	WAKATA née BEYA Annie	Chargée de Cours	<i>Sous Directeur/ MINESUP</i>
39	MVOGO ALAIN	Chargé de Cours	<i>En poste</i>
40	CHAMANI Roméo	Assistant	En poste
41	MELI'I JOELLE LARISSA	Assistante	<i>En poste</i>
10- DÉPARTEMENT DE SCIENCES DE LA TERRE (ST) (42)			
1	NDJIGUI Paul Désiré	Professeur	Chef de Département
2	BITOM Dieudonné	Professeur	<i>Doyen / FASA / UDs</i>
3	NZENTI Jean-Paul	Professeur	En poste
4	KAMGANG Pierre	Professeur	En poste

5	MEDJO EKO Robert	Professeur	<i>Coseiller Technique/UYII</i>
6	FOUATEU Rose épouse YONGUE	Maître de Conférences	En poste
7	NDAM NGOUPAYOU Jules-Remy	Maître de Conférences	En poste
8	NGOS III Simon	Maître de Conférences	DAAC/Uma
9	NJILAH Isaac KONFOR	Maître de Conférences	En poste
10	NKOUMBOU Charles	Maître de Conférences	En poste
11	TEMDJIM Robert	Maître de Conférences	En poste
12	YENE ATANGANA Joseph Q.	Maître de Conférences	<i>Chef Div. /MINTP</i>
13	ABOSSOLO née ANGUE Monique	Maître de Conférences	<i>Chef div. DAASR / FS</i>
14	GHOGOMU Richard TANWI	Maître de Conférences	CD/UMa
15	MOUNDI Amidou	Maître de Conférences	<i>Chef Div. MINIMDT</i>
16	ONANA Vincent	Maître de Conférences	En poste
17	TCHOUANKOUE Jean-Pierre	Maître de Conférences	En poste
18	ZO'O ZAME Philémon	Maître de Conférences	<i>DG/ART</i>
19	MOUNDI Amidou	Maître de Conférences	<i>CT/ MINIMDT</i>
20	BEKOA Etienne	Chargé de Cours	<i>En poste</i>
21	BISSO Dieudonne	Chargé de Cours	<i>Directeur/Projet Barrage Memve'ele</i>
22	ESSONO Jean	Chargé de Cours	<i>En poste</i>
23	EKOMANE Emile	Chargé de Cours	<i>En pste</i>
24	FUH Calistus Gentry	Chargée de cours	<i>Sec. D'Etat/MINMIDT</i>
25	GANNO Sylvestre	Chargé de Cours	En poste
26	LAMILLEN BILLA Daniel	Chargé de Cours	En poste
27	MBIDA YEM	Chargé de Cours	<i>En poste</i>
28	MINYEM Dieudonné-Lucien	Chargé de Cours	<i>CD/Uma</i>
29	MOUAFO Lucas	Chargé de Cours	En poste
31	NGO BELNOUN Rose Noël	Chargée de Cours	En poste
32	NGO BIDJECK Louise Marie	Chargée de Cours	En poste
33	NGUETCHOUA Gabriel	Chargé de Cours	CEA/MINRESI
34	NYECK Bruno	Chargé de Cours	En poste
35	TCHAKOUNTE J. épouse NOUMBEM	Chargée de Cours	<i>CT / MINRESI</i>
36	METANG Victor	Chargé de cours	En poste
37	NOMO NEGUE Emmanuel	Chargé de cours	En poste

38	TCHAPTCHET TCHATO De P.	Chargé de cours	En poste
39	TEHNA Nathanaël	Chargé de cours	En poste
40	TEMGA Jean Pierre	Chargé de cours	En poste
41	MBESSE CECILE OLIVE	Chargée de cours	En poste
42	ELISE SABABA	Chargé de cours	En poste
43	EYONG JOHN TAKEM	Assistant	En poste
44	ANABA ONANA Achille Basile	Assistant	En poste

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

NOMBRE D'ENSEIGNANTS					
DÉPARTEMENT	Professeurs	Maîtres de Conférences	Chargés de Cours	Assistants	Total
B.C.	5 (1)	10 (5)	19 (10)	3 (1)	38 (16)
B.P.A.	11 (1)	9 (3)	20 (8)	3 (5)	43 (17)
B.P.V.	4 (0)	9(2)	10 (2)	4 (4)	27 (8)
C.I.	9(1)	8(2)	16 (4)	0 (0)	33 (9)
C.O.	8 (0)	13 (3)	8 (2)	1 (0)	30 (5)
I.N.	3 (0)	1 (0)	8 (0)	12 (3)	24 (3)
M.A.	3 (0)	5 (0)	18 (1)	4 (0)	30 (1)
M.B.	2 (0)	5 (2)	6 (2)	0 (0)	13 (4)
P.H.	8 (0)	17 (0)	15 (2)	2 (1)	42 (3)
S.T.	5 (0)	15 (2)	22 (3)	2 (0)	44 (5)
Total	58 (3)	92(19)	143 (33)	31(16)	324(71)

Soit un total de **324(71)** dont :

- Professeurs **58 (3)**
- Maîtres de Conférences **92 (19)**
- Chargés de Cours **143 (33)**
- Assistants **31 (16)**

() = Nombre de Femmes

DEDICACE

Je dédie ce travail à :

- Mes Défunts ; DZOU ENGOULOU Paul et ENGOULOU Jean-Baptiste. Comme j'aurais aimé que vous soyez présents pour me voir soutenir cette thèse. Que vos âmes reposent en paix !
- Ma mère EZEMBE Rosalie qui malgré l'absence de son époux, n'a ménagé aucun effort pour que j'atteigne ce niveau.
- Mes enfants BALLA ABEGA Emilie, EZEMBE ABEGA Inès, ZANGA ABEGA Manuel et MBANG ABEGA Hélène. Faites montre de courage et d'abnégation dans le travail. Puisse ce travail être votre repère, je vous souhaite de faire au moins autant.

REMERCIEMENTS

Mes remerciements vont:

Aux Professeurs B.T. NGADJUI et G.W.F. KAPCHE qui, durant ces cinq années, ont bien voulu diriger mes travaux de thèse, en me faisant bénéficier de leur expérience, leurs compétences et encouragements.

Au Professeur A.E. NKENGFAK Chef du Département de Chimie Organique de l'université de Yaoundé I pour l'adresse avec laquelle il dirige le Département.

Au Professeur S.O. YEBOAH de l'Université du Botswana pour m'avoir invité et accueilli dans son laboratoire.

A la *Network for Analytical and Bioassay Services in Africa* (NABSA) pour les trois séjours de recherche qu'elle m'a accordée à l'Université du Botswana.

Aux Professeurs S.F. KOUAM, B. LENTA, P. WAFO, J. ATANGANA et au Docteur R. NGANSOP, tous enseignants à l'Ecole Normale Supérieure de Yaoundé, pour leurs différentes contributions scientifiques dans la réalisation de ce travail.

A tous les enseignants du Département de Chimie Organique de l'Université de Yaoundé I.

A monsieur J.C. EKO'O AKOUAFANE, Directeur Général de la Société de Développement du Cacao pour son soutien aussi bien moral que financier.

Au Docteur Y.P. ANGO. Toi qui as toujours répondu avec promptitude à mes multiples sollicitations. Tu es mieux placé pour savoir d'où nous sortons. Mon frère, ce travail est aussi le tien. Puisse Dieu renforcer notre amitié et nous garder toujours unis.

A monsieur J. EKOUDI MEBARA. Toi qui as toujours trouvé les mots justes pour m'orienter dans les circonstances difficiles. Mon frère, je pense que je nous ouvre le chemin. Fait au moins autant.

A ma famille adoptive, la famille MEBARA. Vous m'avez accueilli dans votre maison comme votre fils, votre frère. Votre disponibilité, votre soutien et surtout vos encouragements m'ont été très utiles pendant toutes ces années. Que Dieu vous donne longue vie et vous comble de bonheur.

A toute la famille ZANGA en général, à monsieur et madame ZANGA en particulier pour tout le soutien qu'ils m'ont apporté durant toutes ces années. Que Dieu vous donne longue vie et vous comble de bonheur.

A madame A.B. ESSAH Epse ABEGA pour les sacrifices qu'elle a consentis et surtout pour son soutien indéfectible. Trouve dans ce travail l'expression de notre union.

A mon frère et à mes sœurs qui pendant de longues années ont consenti d'importants sacrifices pour voir ce travail aboutir. Trouvez ici l'expression de ma profonde gratitude. Que Dieu nous donne longue vie, nous comble de bonheur et nous garde toujours unis.

A monsieur NKWIZIN Milan, mesdames NKWIZIN Cristelle et ANGO Arlette pour leur soutien moral et matériel.

A tous mes camarades de promotion ainsi qu'à tous mes aînés de Laboratoire pour les intenses moments d'échange que nous avons passés ensemble.

A tous mes oncles maternels qui n'ont toujours eu de cesse que de m'encourager dans toutes mes actions.

A tous ceux qui de prêt ou de loin ont contribué à la réalisation de ce travail.

SOMMAIRE

DEDICACES	xv
SOMMAIRE	xvii
RESUME.....	xix
ABSTRACT	xxi
LISTE DES TABLEAUX.....	xxiii
LISTE DES FIGURES	xxv
INTRODUCTION GENERALE.....	1
CHAPITRE I : REVUE DE LA LITTERATURE.....	4
I-1-APERÇU BOTANIQUE.....	5
I.1.1- Aperçu botanique sur la famille des Euphorbiaceae	5
I.1.2- Aperçu botanique sur le genre Croton	5
I.1.3-L'espèce Croton oligandrum.....	6
I.1.4- Quelques usages des espèces du genre Croton.....	8
I.2.1-Les alcaloïdes.	9
I.2.2- Les flavonoïdes.....	12
I.2.3- Les triterpènes.	15
I.2.4-Les diterpènes	19
I.2.5-Autres composés isolés du genre Croton.	35
I.3-ACTIVITES BIOLOGIQUES ET PHARMACOLOGIQUES DE QUELQUES EXTRAITS DE PLANTES ET COMPOSES ISOLES DU GENRE CROTON.....	35
I.4- LES MICROORGANISMES.....	37
I.4.1-Généralités	37
I.4.2-Exemple de classification des bactéries	38
I.4.3-La concentration minimale inhibitrice.	39
I.5-LES ANTIOXYDANTS ET LES ANTIPROLIFERATIFS.....	40
I.5.1-Les antioxydants	40
I.5.2-Les antiprolifératifs.....	44
CHAPITRE II : RESULTATS ET DISCUSSION	47
II-1-ISOLEMENT DES COMPOSES.....	48
II-2-CARACTERISATION DES COMPOSES ISOLES.....	56
II-2-1-Les triterpénoïdes.....	56
II-2-2-Les stéroïdes.....	69
II-2-3-Les diterpénoïdes.....	81
II-2-3- Les composés phénoliques	152
II-3- REACTION D'ACETYLATION.....	171
II-3-1- Acétylation de Kayadiol (CO11)	171
II-3-2- Acétylation de 15β, 18-dihydroxy Ent-trachylobane (COR8).....	173
II-3-2- Mécanisme de la réaction d'acétylation.	174
II-4-TESTS BIOLOGIQUES SUR LES COMPOSES ISOLES.....	176
II-4-1-Evaluation de l'activité antioxydante	176
II-4-2-Evaluation de l'activité antiproliférative.	177
CONCLUSION GENERALE ET PERSPECTIVES	180

CHAPITRE III : MATERIELS ET METHODES	183
III.1.1- Appareillage	184
III.1.2- Matériel végétal	187
III.2-EXTRACTION, ISOLEMENT DES PRODUITS	187
III.2.1- Extraction.....	187
III.2.2-Isolement des produits	188
III-3-REACTIONS D'ACETYLATION.....	198
III-3-1-Acétylation de Kayadiol (CO11)	198
III-3-1-Acétylation de 15 β , 18-dihydroxy Ent-trachylobane (COR8)	198
III-4-TESTS BIOLOGIQUES	199
III-4-1-Produits chimiques	199
III-4-2-Test antioxydant.	199
III-4-3-Test antiprolifératif	199
III-4-3-Test antimicrobien.....	200
III-5-CARACTERISTIQUES PHYSICO-CHIMIQUES DES COMPOSES ISOLEES.	201
III.6-TESTS CARACTERISTIQUES	209
III.6.1-Test de Libermann Burchard.....	209
III.6.2-Test au chlorure ferrique.....	209
BIBLIOGRAPHIE	210
ANNEXES	219

RESUME

Le présent travail porte sur l'étude phytochimique et l'évaluation biologique des écorces du tronc, des racines, des feuilles et du bois de *Croton oligandrum*, une plante camerounaise de la famille des Euphorbiaceae.

L'étude phytochimique de cette plante a conduit à l'isolement et à la purification par des méthodes spectroscopiques usuelles de vingt-quatre (24) composés qui ont été entièrement caractérisés. Parmi ceux-ci, trois (03) sont des dérivés nouveaux de diterpènes de type clérodane auxquels les noms de Crotonoligaketone, Crotonoligafuranon A et Crotonoligafuranon B ont été attribués et deux (02) sont des dérivés nouveaux de composés phénoliques baptisés : ferrulicrutonoate et *cis*-balanopholin

Les dix-neuf autres composés connus sont regroupés en trois classes structurales :

- Quatre triterpènes pentacycliques : acide-3 α -acétoxyaleuritolique, lupéol, taraxerol et la 3 α -acétoxy-15 β -hydroxyoléanan-28,13-olide.
- Cinq stéroïdes : β -sitostérol, stigmastérol, palmitate de β -sitostérol, glucosyde de β -sitostérol et sitoindoside I.
- Neuf diterpènes: crotozambefuran A, crotozambefuran B, crotozambefuran C, crotozambefuran D, crotonadiol, kayadiol, acide-7 β -acétoxytrachylobane-18-oïque, Ent-trachylobane-15 β , 18-diol et trachinodiol.
- Un composé phénolique : 4-hydroxy-3-méthoxybenzaldéhyde.

Les structures de tous ces composés ont été établies sur la base d'une interprétation de leurs spectres en particulier la Résonance Magnétique Nucléaire (RMN) et la Spectrométrie de Masse.

L'acétylation de kayadiol et de l'Ent-trachylobane-15 β , 18-diol nous a permis d'obtenir le 15, 18-diacétoxy- λ -8(17), 13-diene et le 15 β , 18-diacétoxyEnt-trachylobane, respectivement.

Certains des composés isolés en particulier : crotozambefuran B, crotonadiol, kayadiol, acide-7 β -acétoxy-trachylobane-18-oïque et crotonoligaketone ont été évalués pour leurs activités biologiques notamment, l'activité antiproliférative, l'activité antioxydante et l'activité antimicrobienne. Si les résultats obtenus ont montré une activité antimicrobienne très faible pour ces composés, les activités antioxydante et antiproliférative se sont révélées prometteuses. La plus importante activité antiproliférative est observée sur crotozambefuran B avec une IC₅₀ comprise entre 10 et 100 μ M. L'acide-7 β -acétoxytrachylobane-18-oïque quant

à lui présente l'activité antioxydante la plus intéressante avec une IC₅₀ de (7,75±0,88) mg/mL et un pourcentage d'inhibition (de chélation) des ions Fe²⁺ de (26,5±0,5)%.

Mots clés : *Croton oligandrum*; Crotonoligaketon ; Crotonoligafuranon ; Ferulicrotonoate, antioxydant ; antiprolifératif ; antimicrobien.

ABSTRACT

This work focuses on phytochemical and biological evaluation of the stem barks, roots, leaves and wood of *Croton oligandrum*, a Cameroonian medicinal plant belonging to the *Euphorbiaceae* family. From the different parts of *Croton oligandrum* studied, we have isolated twenty-four compounds by usual chromatographic techniques and characterized them by spectroscopic methods. Five of them are new derivatives thus: crotonoligaketon, crotonoligafuranon A, croton oligafuranon B, ferrulicrutonoate and *cis*-balanopholin.

The nineteen others have been reported before in the literature; they include:

- Four pentacyclic triterpenes: aleuritolic acetyl acid, lupeol, taraxerol and 3 α -acetoxy-15 β -hydroxyoleanan-28, 13-olid.
- Five steroids: β -sitosterol, stigmasterol, β -sitosterol palmitate, β -sitosterol glucoside and sitoindoside I.
- Nine diterpens: crotozambefuranA, crotozambefuranB, crtozambefuranC, crotozambefuranC, crotozambefuranC, crotozambefuranC, Crotonadiol, kayadiol, 7 β -acetoxytrachyloban-18-oic acid, Ent-trachylobane-15 β , 18-diol and trachinodiol.
- One phenolic compound: 4-hydroxy-3-méthoxybenzaldéhyde

Acetylation was carried out on kayadiol and Ent-trachylobane-15 β , 18-diol which enabled us to obtain two acetylated derivatives namely: 15, 18- diacetoxyabda-8(17), 13-diene and 15 β , 18-diacetoxy-Ent-trachylobane, respectively.

Antimicrobial, antioxidant and antiproliferative tests on five diterpenes isolated from the stem bark of *Croton oligandrum* namely: crotozambefuran B, crotonadiol, kayadiol, 7 β -acetoxy trachyloban-18-oic acid, and crotonoligaketone allowed to show that:

- All tested compounds showed a weak antibacterial activity.
- All tested compounds have antiproliferative activity; the largest being observed by crotozambefuran B with IC₅₀ from 10 to 100 μ M.
- 7 β -acetoxy trachyloban-18-oic acid showed the most interesting antioxidant activity, with IC₅₀ of (7,75 \pm 0,88) mg/mL .It also showed the highest ferrous iron chelating ability (26,5 \pm 0,5)%.

Keywords: *Croton oligandrum*; Crotonoligaketon; Crotonoligafuranon; Ferulicrutonoate; antioxidant; antiproliferative; antimicrobial.

LISTE DES ABREVIATIONS ET SYMBOLES

AE	: Acétate d'éthyle
BHT	: Butyl Hydroxy-Toluène
C	: Croton
CC	: Chromatographie sur Colonne
CCM	: Chromatographie sur Couche Mince
CI ₅₀	: Concentration Inhibant 50% de l'activité
CO	: <i>Croton oligandrum</i>
COSY	: <i>COrrélation SpectroscopY</i>
Δ	: Echelle de déplacement chimique en ppm
J	: Constante de couplage en Hertz
D	: Doublet
dd	: Doublet dédoublé
ddd	: Doublet dédoublé dédoublé
DEPT	: <i>Distorsionless Enhancement by Polarisation Transfert</i>
dt	: Doublet de triplet
DMSO	: Diméthylsulfoxyde
EDTA	: Ethylenediaminetetraacétique
ESI	: <i>Electro Spray Ionisation</i>
IE	: Impact Electronique
Hex	: <i>n-Hexane</i>
HMBC	: <i>Heteronuclear Multiple Bond Connectivity</i>
HMQC	: <i>Heteronuclear Multiple Quantum Coherence</i>
ld	: Large doublet
ldd	: Large doublet dédoublé
m	: Multiplet
OMS	: Organisation Mondiale de le Santé
ppm	: Partie par million
RMN	: Résonance Magnétique Nucléaire
SM	: Spectrométrie de masse
s	: Singulet
sl	: Singulet large
t	: Triplet
tq	: Triplet de quadruplet
UV	: Ultra Violet

LISTE DES TABLEAUX

- Tableau I** : Quelques alcaloïdes isolés des plantes du genre *Croton* (suite)
- Tableau II** : Quelques flavonoïdes isolés des plantes du genre *Croton*.
- Tableau III** : Quelques triterpènes isolés des plantes du genre *Croton*.
- Tableau IV** : Quelques diterpènes isolés des plantes du genre *Croton*
- Tableau V** : Codes des composés isolés des différentes parties de *Croton oligandrum*.
- Tableau VI** : Données de RMN ^1H (300MHz, CDCl_3) et ^{13}C (75MHz, CDCl_3) de CO1 comparées à celles de la littérature.
- Tableau VII** : Données de RMN ^1H (300MHz, CDCl_3) et ^{13}C (75MHz, CDCl_3) de CO2 comparées à celles de la littérature.
- Tableau VIII** : Données de RMN ^1H (300MHz, CDCl_3) et ^{13}C (75MHz, CDCl_3) de COFe1 comparées à celles de la littérature.
- Tableau IX** : Données de RMN ^1H (300MHz, CDCl_3) et ^{13}C (75MHz, CDCl_3) de CO14a comparées à celles de la littérature.
- Tableau X** : Données de RMN ^1H (300MHz, CDCl_3) et ^{13}C (75MHz, CDCl_3) de COF2116 comparées à celles de la littérature.
- Tableau XI** : Données de RMN ^1H (300MHz, CDCl_3) et ^{13}C (75MHz, CDCl_3) de COF2116 comparées à celles de la littérature.
- Tableau XII** : Données de RMN ^1H (300MHz, CDCl_3) et ^{13}C (75MHz, CDCl_3) de COR1 comparées à celles du β -sitostérol.
- Tableau XIII** : Données de RMN ^1H (300MHz, CDCl_3) et ^{13}C (75MHz, CDCl_3) de COR9 comparées à celles du glucoside de β -sitostérol.
- Tableau XIV** : Données de RMN ^1H (300MHz, CDCl_3) et ^{13}C (75MHz, CDCl_3) de COR8.
- Tableau XV** : Données de RMN ^1H (300MHz, CDCl_3) et ^{13}C (75MHz, CDCl_3) de COR10 comparées à celles de la littérature.
- Tableau XVI** : Données de RMN ^1H (300MHz, CDCl_3) et ^{13}C (75MHz, CDCl_3) de CO4 comparées à celles de la littérature.
- Tableau XVII** : Données de RMN ^1H (300MHz, MeOD) et ^{13}C (75MHz, MeOD) de CO6 comparées à celles de la littérature.
- Tableau XVIII** : Données de RMN ^1H (300MHz, Acétone d_6) et ^{13}C (75MHz, acétone d_6) de CO11 comparées à celles de la littérature.
- Tableau XIX** : Données de RMN ^1H (300MHz, CDCl_3) et ^{13}C (75MHz, CDCl_3) de CO3 comparées à celles de la littérature.
- Tableau XX** : Données de RMN ^1H (300MHz, CDCl_3) et ^{13}C (75MHz, CDCl_3) de CO5.
- Tableau XXI** : Données de RMN ^1H (300MHz, CDCl_3) et ^{13}C (75MHz, CDCl_3) de CO12 comparées à celles de la littérature.
- Tableau XXII** : Données de RMN ^1H (300MHz, CDCl_3) et ^{13}C (75MHz, CDCl_3) de CORF1a.
- Tableau XXIII** : Données de RMN ^1H (300MHz, CDCl_3) et ^{13}C (75MHz, CDCl_3) de COR6 comparée
- Tableau XXIV** : Données de RMN ^1H (300MHz, CDCl_3) et ^{13}C (75MHz, CDCl_3) de COR7s à celles de la littérature.

- Tableau XXV** : Données de RMN ^1H (300MHz, DMSO) et ^{13}C (75MHz, DMSO) de CO13 comparées à celles de la littérature.
- Tableau XXVI** : Données de RMN ^1H (300MHz, CDCl_3) et ^{13}C (75MHz, CDCl_3) de COBSP3 comparées à celles de la littérature.
- Tableau XXVII** : Données de RMN ^1H (300MHz, CDCl_3) et ^{13}C (75MHz, CDCl_3) de COR2.
- Tableau XXVIII** : Données de RMN ^1H (300MHz, CDCl_3) et ^{13}C (75MHz, CDCl_3) de CORF1b.
- Table XXIX** : Activité antioxydante des diterpènes isolés des écorces du tronc de *Crotonoligandrum*
- Table XXX** : Activité antimicrobienne des diterpènes isolés des écorces du tronc de *Croton oligandrum*.
- Tableau XXXI** : Composés isolés de *croton oligandrum*
- Tableau XXXII** : Quelques propriétés des colonnes utilisées.
- Tableau XXXIII** : Chromatogramme de l'extrait au chlorure de méthylène / méthanol (1 :1) des écorces du tronc de *Croton oligandrum*
- Tableau XXXIV** : Chromatogramme de la série COF2.
- Tableau XXXV** : Chromatogramme de la fraction COF3.
- Tableau XXXVI** : Chromatogramme de l'extrait à l'acétate d'éthyle des écorces du tronc de *Croton oligandrum*.
- Tableau XXXVII** : Chromatogramme de la série COFA3.
- Tableau XXXVIII** : chromatogramme de l'extrait au chlorure de méthylène / méthanol (1 :1) des écorces des racines de *Croton oligandrum*.
- Tableau XXXIX** : Chromatogramme de la série COR5.
- Tableau XXXX** : Chromatogramme de la fraction CR6.
- Tableau XXXXI** : chromatogramme de l'extrait au méthanol des feuilles de *Croton oligandrum*.
- Tableau XXXXII** : chromatogramme de l'extrait au méthanol du bois de *Croton oligandrum*.

LISTE DES FIGURES

Figure 1 : *Croton oligandrum* filmé à Nkol-nkoumou. Source : Photos Abega (2013)

Figure 2 : Quelques antibiotiques couramment utilisés

Figure 3 : Quelques antifongiques couramment utilisés

Figure 4 : Quelques antioxydants naturels (Marc et *al.*, 2004).

Figure 5 : Piégeage du radical libre DPPH par un antioxydant donneur de H

Figure 6 : Quelques exemples d'antiprolifératifs

Figure 7 : Spectre de RMN ^1H (300MHz, CDCl_3) de CO1.

Figure 8 : Spectre de RMN ^{13}C (75MHz, CDCl_3) de CO1.

Figure 9 : Spectre de RMN ^1H (300MHz, CDCl_3) de CO2

Figure 10 : Spectre de RMN ^{13}C (75MHz, CDCl_3) de CO2

Figure 11 : Spectre de RMN ^1H (300MHz, CDCl_3) de COFe1

Figure 12 : Spectre de RMN ^{13}C (75MHz, CDCl_3) de COFe1

Figure 13 : Spectre de RMN ^1H (300MHz, CDCl_3) de CO14a

Figure 14 : Spectre de RMN ^{13}C (75MHz, CDCl_3) de CO14a

Figure 15 : Spectre DEPT 135 de CO14a

Figure 16 : Spectre de RMN ^1H (300MHz, CDCl_3) de COF2116.

Figure 17 : Spectre de RMN ^{13}C (75MHz, CDCl_3) de COF2116.

Figure 18 : Spectre de RMN ^1H (300MHz, CDCl_3) de COR1.

Figure 19 : Spectre de RMN ^{13}C (75MHz, CDCl_3) de COR1.

Figure 20 : Spectre de RMN ^1H (300MHz, CDCl_3) de COR9.

Figure 21 : Spectre de RMN ^{13}C (75MHz, CDCl_3) de COR9

Figure 22 : Spectre de RMN ^1H (300MHz, DMSO) de COR8.

Figure 23 : Spectre de RMN ^{13}C (75MHz, DMSO) de COR8

Figure 24 : Spectre DEPT 135 (75MHz, DMSO) de COR8

Figure 25 : Spectre HMBC partiel de COR8

Figure 26 : Spectre COSY partiel de COR8

Figure 27 : Spectre de RMN ^1H (300MHz, CDCl_3) de COR10.

Figure 28 : Spectre de RMN ^{13}C (75MHz, CDCl_3) de COR10.

Figure 29 : Spectre DEPT 135 (75MHz, CDCl_3) de COR10

Figure30 : Spectre HMBC partiel de COR10

Figure 31 : Spectre de RMN ^1H (300MHz, CDCl_3) de CO4

Figure 32 : Spectre de RMN ^{13}C (75MHz, CDCl_3) de CO4.

Figure 33: Spectre DEPT 135 de CO4.

Figure 34 : Spectre HMBC partiel de CO4

Figure 35 : Spectre de RMN ^1H (300MHz, MeOD) de CO6

Figure 36 : Spectre de RMN ^{13}C (75MHz, MeOD) de CO6.

Figure 37 : Spectre COSY de CO6

Figure 38 : Spectre de RMN ^1H (300MHz, Acétone- d6) de CO11.

Figure 39 : Spectre de RMN ^{13}C (75MHz, Acétone- d6) de CO11.

Figure 40: Spectre de COSY de CO11.

Figure 41: Spectre de HMQC de CO11.

Figure 42 : Spectre de RMN ^1H (300MHz, CDCl_3) de CO3

Figure 43 : Spectre de RMN ^{13}C (75MHz, CDCl_3) de CO3

Figure 44: Spectre de DEPT135 (75MHz, CDCl_3) de CO3.

Figure 47 : Spectre de RMN ^1H (300MHz, CDCl_3) de CO5.

Figure 48 : Spectre de RMN ^{13}C (75MHz, CDCl_3) de CO5.

Figure 49 : Spectre de DEPT 135 (75MHz, CDCl_3) de CO5.

Figure 50 : Spectre HMQC de CO5.

Figure 51 : Spectre HMQC partiel de CO5.

Figure 52 : Spectre COSY de CO5

Figure 53 : Spectre HMBC partiel de CO5

Figure 54 : Spectre HMBC partiel de CO5.

Figure 55: Spectre NOESY partiel de CO5.

Figure 56 : Spectre de RMN ^1H (300MHz, CDCl_3) de CO12.

Figure 57: Spectre de RMN ^{13}C (75MHz, CDCl_3) de CO12.

Figure 58: Spectre DEPT 135(75MHz, CDCl_3) de CO12.

Figure 59 : Spectre HMQC partiel de CO12.

Figure 60 : Spectre de masse (ESI) de CORF1a

Figure 61 : Spectre de IR de CORF1a

Figure 62 : Spectre de RMN ^1H (300MHz, CDCl_3) de CORF1a.

Figure 63 : Spectre COSY total et partiel de CORF1a

Figure 64 : Spectre COSY partiel de CORF1a

Figure 65: Spectre de RMN ^{13}C (75MHz, CDCl_3) de CORF1a.

Figure 66 : Spectre DEPT 135(75MHz, CDCl_3) de CORF1a.

Figure 67 : Spectre HMQC total et partiel de CORF1a.

Figure 68 : Spectre HMBC total et partiel de CORF1a

Figure 69 : Spectre de RMN ^1H (300MHz, CDCl_3) de CORF1a
Figure 70 : Spectre de RMN ^{13}C (75MHz, CDCl_3) de COR6.
Figure 71 : Spectre de masse en ESI de COR7.
Figure 72 : Spectre de IR de COR7.
Figure 73 : Spectre de RMN ^1H (300MHz, CDCl_3) de COR7.
Figure 74 : Spectre de RMN ^{13}C (75MHz, CDCl_3) de COR7.
Figure 75 : Spectre DEPT 135(75MHz, CDCl_3) de COR7.
Figure 76 : Spectre HMBC partiel de COR7
Figure 77 : Spectre HMBC de COR7
Figure 78 : Spectre HMQC de COR7.
Figure 79 : Spectre COSY de COR7
Figure 80 : Spectre de RMN ^1H (300MHz, DMSO) de CO13.
Figure 81 : Spectre de RMN ^{13}C (75MHz, DMSO) de CO13.
Figure 82 : Spectre COSY de CO13.
Figure 83 : Spectre de masse ESI de CObSP3.
Figure 84 : Spectre IR de CObSP3.
Figure 85 : Spectre de RMN ^1H (300MHz, CDCl_3) de CObSP3.
Figure 86 : Spectre COSY de CObSP3.
Figure 87 : Spectre de RMN ^{13}C (75MHz, CDCl_3) de CObSP3.
Figure 88 : Spectre de HMQC de CObSP3.
Figure 89 : Spectre de DEPT135 de CObSP3.
Figure 90 : Spectre HMBC de CObSP3.
Figure 91 : Spectre IR de COR2.
Figure 92 : Spectre de RMN ^1H (300MHz, CDCl_3) de COR2.
Figure 93 : Spectre de RMN ^{13}C (75MHz, CDCl_3) de COR2.
Figure 93 : Spectre de RMN ^{13}C (75MHz, CDCl_3) de COR2
Figure 94: Spectre DEPT 135 de COR2.
Figure 95: Spectre HMQC de COR2.
Figure 96: Spectre COSY de COR2.
Figure 97 : Spectre HMBC de COR2.
Figure 98 : Spectre NOESY de COR2.
Figure 99 : Spectre de RMN ^1H (300MHz, CDCl_3) de CORF1b.
Figure 100 : Spectre de RMN ^{13}C (75MHz, CDCl_3) de CORF1b.
Figure 101: Spectre de RMN ^1H de CO11r.

Figure 102: Spectre de RMN ^{13}C de CO11r.

Figure 103 : Spectre de RMN ^1H de COR8r.

Figure 104: Spectre de RMN ^{13}C de COR8r.

Figure 105: Spectromètre de RMN 300 MHz de marque Bruker (source : photo Abega)

Figure 106: Spectromètre de RMN 600 MHz de marque Bruker (source : photo Abega)

Figure 107 : Spectromètre de masse (source : photo Abega)

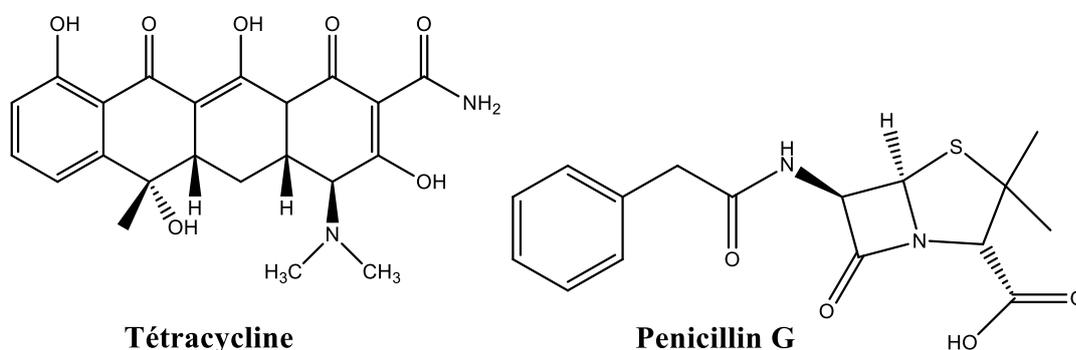
Figure 108 : spectrophotomètres Shimadzu UV-2401 PC (source : photo Abega)

Figure 109: Spectromètre IRShimadzu 8900(source : photo Abega).

INTRODUCTION GENERALE

De plus en plus, de nombreuses maladies posent des problèmes de santé publique. C'est le cas par exemple des cancers et des infections bactériennes. Les cancers figurent parmi les principales causes de mortalité et de morbidité dans le monde. En 2012, on comptait approximativement quatorze millions de nouveaux cas et huit millions et demi de décès liés à cette maladie. Les études épidémiologique prévoient 1,2 million de nouveaux cas de cancer en Afrique d'ici 2030 avec plus de 970.000 morts si des mesures adéquates de lutte ne sont pas prises rapidement (OMS, 2015). Par ailleurs les maladies diarrhéiques à l'instar du choléra constituent l'une des principales causes de mortalité infantile dans les pays du tiers monde. En Octobre 2010, le choléra a causé la mort de près de 500 enfants au Cameroun (OMS, 2012).

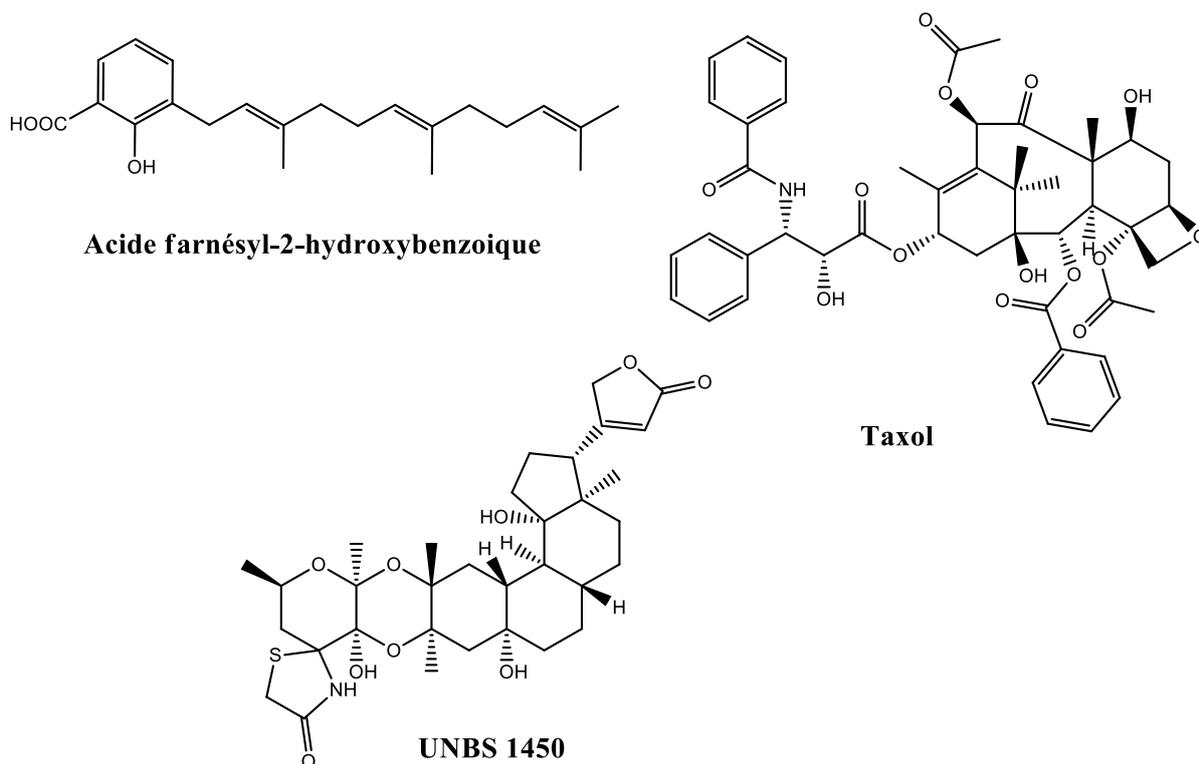
Les antibiotiques comme la **pénicilline G** et la **tétracycline**, sont les principaux principes actifs utilisés de nos jours dans le traitement des affections dues aux bactéries. Les antibiotiques sont de plus en plus accessibles du fait de leur coût de moins en moins élevé. Cependant, les bactéries développent de plus en plus des résistances contre ces antibiotiques. C'est particulièrement le cas du vibriion cholérique.



Le traitement du cancer quant à lui est surtout basé sur la chirurgie, la chimiothérapie, la radiothérapie, l'immunothérapie et l'hormonothérapie. Le traitement du cancer dans les pays sous-développés et les pays en voie de développement demeure très couteux et très peu accessible pour les populations ; il présente aussi de nombreux effets secondaires. De plus la survenue des métastases rend la plupart des cancers résistants au traitement chimiothérapeutique classique (Hetie, 2012). Dans l'optique de faire face à toutes ces insuffisances, les stratégies actuelles de lutte contre les cancers sont basées sur la prévention et le développement de nouvelle approche thérapeutique.

Les études conjointes de certaines substances naturelles par les botanistes, les biologistes, les biochimistes, les chimistes, les pharmacologistes et les toxicologues ont

montré que certaines molécules présentes dans ces substances naturelles possèdent des activités chimio préventives ou pour lutter contre les cancers. Ainsi par exemple, l'**UNBS 1450**, un cardénolide isolé des racines de *Calotropis proceda* présente une très bonne activité antiproliférative. Le **taxol** isolé de *Taxus brevifolia* est utilisé pour le traitement du cancer de l'ovaire et du sein (**Rates, 2001**). L'**acide 3-farnésyl-2-hydroxybenzoïque** isolé de *Piper multiplinrvium* est une molécule qui possède une très bonne activité contre les bactéries Gram négatif (**Ruegg et al. 2006 ; Gibon, 2008**). Les plantes constituent donc une source potentielle dans la recherche de nouvelles molécules pouvant lutter efficacement contre les cancers et les infections bactériennes. C'est dans cette optique que des recherches sont effectuées dans bon nombre de laboratoire de phytochimie du Département de Chimie Organique de l'Université de Yaoundé I, dans le but d'une part d'isoler, de caractériser et de synthétiser totalement ou partiellement les principes actifs responsables des vertus thérapeutiques attribuées aux plantes médicinales, d'autre part d'évaluer leur toxicité et leur spectre d'activité afin de promouvoir ou de proscrire l'utilisation de ces plantes par les populations.



Pour apporter notre contribution à ces recherches, et dans le cadre de nos travaux de recherche pour l'obtention du Doctorat/Ph.D, nous avons entrepris l'investigation chimique et l'évaluation biologique de *Croton oligandrum*, une plante camerounaise de la famille des Euphorbiaceae. Le choix de cette plante très peu étudiée a été motivé par ses multiples

utilisations en pharmacopée traditionnelle dans le traitement des troubles gastriques, la splénomégalie, la pneumonie (**Jiofack et al., 2009**) et l'anémie (**Betti et al., 2013**).

Problématique.

Les plantes du genre *Croton* peuvent-elles être utilisées dans la pharmacopée traditionnelle pour le traitement des infections bactériennes et des cancers ?

L'objectif général.

L'objectif général de ce travail est de faire l'étude chimique et l'évaluation biologique de *Croton oligandrum*:

Les objectifs spécifiques.

Les objectifs spécifiques sont :

- D'isoler, d'identifier et de caractériser les métabolites secondaires qu'on retrouve dans cette plante (*Croton oligandrum*);
- D'évaluer les activités antioxydantes, antiprolifératives et antimicrobiennes des composés isolés de cette plante.

Après une revue de la littérature, nous présenterons et discuterons les résultats obtenus, puis nous allons présenter le matériel et les méthodes utilisées et nous terminerons par la bibliographie consultée.

CHAPITRE I :
REVUE DE LA LITTERATURE

I-1-APERÇU BOTANIQUE

I.1.1- La famille des Euphorbiaceae

La famille des *Euphorbiaceae* est une large famille de plantes à fleurs, qui compte environ 7500 espèces réparties dans 300 genres (**Rahman et al., 2013**). Les plantes de cette famille présentent un appareil végétatif aux formes variées. On y trouve les arbres, les arbustes et les plantes herbacées annuelles. Certaines espèces sont succulentes et/ ou en forme de cactus. Les feuilles des *Euphorbiaceae* sont généralement alternées et simples, souvent très réduites chez les espèces succulentes. Certaines espèces et genres possèdent cependant des feuilles opposées et/ ou palmées. Les fleurs des *Euphorbiaceae* sont caractérisées par une évolution de la morphologie florale allant des fleurs classiques (sous-famille des *crotonoïdeae*) à des fleurs simplifiées et réduites (sous-famille des *Euphorbioïdeae*) (**Mahbulur et al., 2013**). Les espèces de cette famille sont monoïques en général. Les fruits des *Euphorbiaceae* se présentent généralement sous forme d'une capsule à 3 (parfois 2) lobes contenant chacune une graine. Le tronc des plantes de cette famille se caractérise par leur latex blanc, collant, épais et irritant. Ce latex est toxique dans la sous-famille des *Euphorbioïdeae* et inoffensif dans la sous-famille des *Crotonoïdeae* (**Charles et al., 2007**). Les *Euphorbiaceae* poussent dans toutes les régions du monde. Cette famille représente l'une des familles les plus diversifiées en matière de genres. Nous pouvons citer entre autres les genres: *Acalypha*, *Acidocroton*, *Acidoton*, *Actephila*, *Adelia*, *Adenochlaena*, *Adenocline*, *Blachia*, *Blotia*, *Cordemoya*, *Croizatia*, *Crotonogyne*, *Dodecastigma*, *Domohinea*, *Doryxylon*, *Droceloncia*, *Drypetes*, *Duvigneaudia*, *Dysopsis*, *Elaeophorbia*, *Elateriospermum*, *Endadenium*, *Endospermum*, *Enriquebeltrania*, *Epiprinus*, *Eremocarpus*, *Erismanthus*, *Erythrococca*, *Euphorbia*, *Hevea*, *Manihot*, *Croton*... (**Troupin, 1982**).

I.1.2- Le genre Croton

. C'est un genre cosmopolite qui compte environ 1300 espèces comprenant des arbres, arbustes et des plantes herbacées, distribuées dans les régions tropicales et subtropicales du monde depuis des siècles. (**Hutchinson et Dalziel, 1958; Salatino et al., 2007**). Les plantes du genre *Croton* sont des arbres ou arbustes monoïques rarement dioïques généralement avec des poils étoilés ou poils écaillés. Les feuilles sont simples, alternes parfois opposées ou verticillées sur le même rameau et à face inférieure blanc argenté brillant. Les fruits sont formés de capsules à 3 coques s'ouvrant par 2 ou 3 valves parfois charnus (**Troupin, 1982**). Nous donnons ci-dessous une liste non exhaustive de quelques espèces appartenant à ce genre.

Croton megalocarpus; *Croton nigritanus*; *Croton scarcies*; *Croton cubanus*; *Croton moritibensis*; *Croton lanjouwensis*; *Croton abutifolius*; *Croton adenodontus*; *Croton alabamensis*; *Croton dichogamus*; *Croton lobatus*; *Croton macrostachyus*; *Croton zambezicus*; *Croton penduliforus*; *Croton aubrevillei*; *Croton longiracemosus*; *Croton silvaticus*; *Croton oligandrum*... (**Troupin, 1982**; **Berhaut, 1975**).

I.1.3-L'espèce *Croton oligandrum*

I.1.3.1-Position systématique

Croton oligandrum présente la classification suivante (**Hutchinson et Dalziel, 1958**).

Règne	Plantae
Division	Magnoliophyta
Classe	Magnoliopsida
Ordre	Euphorbiales
Famille	Euphorbiaceae
Sous famille	Crotonoideae
Genre	<i>Croton</i>
Espèce	<i>Croton oligandrum</i> Pierre ex Hutch., 1912

I.1.3.2- Description botanique.

Appelé *ebin* chez les Ewondo (tribu de la région du Centre Cameroun), o-bamba au Gabon (**Raponda-Walker et Sillans, 1961**), *Croton oligandrum* est un arbre tropical de 9 à 15 mètres de hauteur avec des branches angulaires secrètement parsemées avec des écailles brunes. C'est un arbre à écorce d'un gris cendré rencontré fréquemment dans les forêts secondaires. L'écorce est très odorante et le bois est blanc. Les feuilles sont oblongues-elliptiques ou elliptiques-lancéolés, acuminiées, et plutôt aigues, arrondies à la base. Sub-argentées en-dessous, densément recouvertes d'écailles, avec 2 glandes à la base de la feuille. Les fleurs sont unisexuées avec de minuscules stipules, densément couverts d'écailles. Cet arbre monoïque est très peu répandu au Cameroun. (**Baker et Wright, 1913**).

Les photos suivantes nous montrent l'arbre en question, le tronc et le feuillage



(a)



(b)



(c)

Figure 2 : *Croton oligandrum* filmé à Nkol-nkoumou. Source : Photos Abega (2013)

I.1.3.3- Répartition géographique

Les plantes du genre *Croton* poussent dans des régions tropicales, et subtropicales du monde, notamment, en Asie, en Amérique du Sud et en Afrique. *Croton oligandrum* est une espèce africaine que l'on trouve dans les pays du golfe de Guinée (**Salatino et al. 2007**).

Selon les informations collectées à l'Herbier National du Cameroun, *Croton oligandrum* est une espèce très peu répandue au Cameroun. Les spécimens retrouvés et déposés à l'Herbier ont été collectés dans les Régions du Centre, de l'Est et du Sud.

I.1.4- Quelques usages des espèces du genre Croton

Les espèces du genre *Croton* sont principalement utilisées comme plantes ornementales et/ou médicinales.

I.1.4.1-Usage ornemental.

Le genre *Croton* grâce à son éclatant et brillant feuillage est utilisé de plusieurs manières dans les projets floraux pour la décoration des jardins et des maisons. *Croton zambesicus* par exemple est une espèce très décorative grâce à ses feuilles argentées en dessous (**Aubreville, 1959**).

I.1.4.2-Usage en médecine traditionnelle

Différentes espèces de *Croton* sont utilisées en médecine traditionnelle et leurs activités ont été confirmées dans le traitement de plusieurs affections.

Le latex de *Croton lechleri* est très utilisé en Amérique du Sud comme cicatrisant, antalgique et dans le traitement des ulcères gastriques, de la dysenterie, de la diarrhée, de l'anémie et des cancers (**Risco et al., 2003 ; Kenneth, 2003**).

Au Brésil, les feuilles de *Croton celtidifolius* communément connue sous le nom de «sangue-de-adave», sont utilisées sous forme d'infusion dans le traitement des maladies inflammatoires (**Salatino et al., 2007**).

Au nord du Brésil les décoctions des écorces et les feuilles de *Croton nepetaefolius* Baill. sont couramment utilisées pour le traitement des problèmes intestinaux ou pour leurs propriétés antispasmodiques et d'augmentation de l'appétit (**Salatino et al., 2007**). Au Mexique et en Amérique centrale la sève rouge de *Croton draco* Cham. & Schltdl. est largement utilisée dans la médecine traditionnelle contre la toux, la grippe, la diarrhée, les ulcères d'estomac, pour la cicatrisation des coupures, des plaies ouvertes, l'herpès et comme antiseptique après une extraction dentaire (**Salatino et al., 2007**).

Dans l'ouest du Venezuela et au nord de la Colombie l'infusion des écorces de *Croton malambo Karst.*, est utilisée en médecine traditionnelle pour le traitement du diabète, de la diarrhée, du rhumatisme, de l'ulcère gastrique et en tant qu'agent anti-inflammatoire et analgésique (**Salatino et al., 2007**).

En Thaïlande *Croton Kurz* est utilisée en médecine populaire pour traiter les problèmes dermatologiques (**Salatino et al., 2007**).

En médecine chinoise *Croton tiglium* est utilisé dans le traitement des tumeurs cancéreuses et des plaies. Ses graines sont source d'une huile disponible dans le commerce, utilisée comme purgatif (**Salatino et al., 2007**).

Dans les régions tropicales d'Afrique occidentale et centrale la décoction des feuilles de *Croton zambesicus Müll. Arg.* est utilisée pour baisser la fièvre, traiter la dysenterie et les convulsions. Au Bénin la même décoction est utilisée comme anti-hypertenseur, anti-microbienne (infections urinaires) et pour traiter le paludisme (**Salatino et al., 2007**).

Au Ghana l'extrait des racines de *Croton membranaceus* est utilisé dans le traitement et la gestion de la prostate, des cancers connexes et de la rougeole (**Bayor et al., 2009**).

Au Cameroun la poudre des écorces du tronc de *Croton oligandrum* est utilisée pour le traitement des troubles gastriques et la splénomégalie. Les décoctions des écorces sont utilisées dans le traitement de la pneumonie (**Jiofack et al., 2009**). Au Gabon la même décoction est utilisée par les pygmées pour le traitement de l'anémie (**Betti et al., 2013**).

I.2- TRAVAUX CHIMIQUES ANTERIEURS SUR LES PLANTES DU GENRE CROTON

Du point de vue phytochimique, le genre *Croton* contient principalement des alcaloïdes, des flavonoïdes, des triterpènes, diterpènes tr's commun dans le genre et des polyacétates.

I.2.1-Les alcaloïdes.

Les alcaloïdes ne sont pas communs dans la grande famille des Euphorbiaceae, Ce sont des substances naturelles réagissant comme des bases organiques et qui, à faible dose, ont des propriétés pharmacologiques importantes. Les alcaloïdes ont une structure complexe dans laquelle leur atome d'azote est ou non dans un système hétérocyclique. Ainsi on distingue:

- ✓ Les alcaloïdes vrais qui dérivent des acides aminés et ont une structure complexe. Leur atome d'azote est inclus dans un système hétérocyclique. Ils sont issus du règne végétal.
- ✓ Les pseudo-alcaloïdes : ils présentent les caractéristiques des alcaloïdes vrais mais ne dérivent pas des acides aminés.
- ✓ Les proto-alcaloïdes sont des amines simples dont l'azote n'est pas inclus dans un système cyclique (Bruneton, 1993).

Le tableau I ci-dessous présente quelques alcaloïdes isolés des plantes du genre *Croton*.

Tableau I: Quelques alcaloïdes isolés des plantes du genre *Croton*.

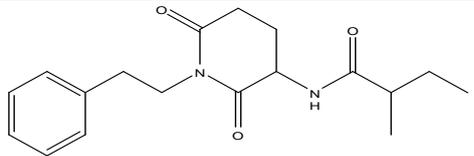
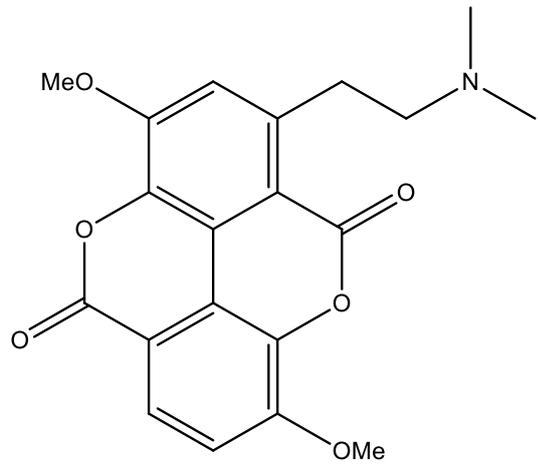
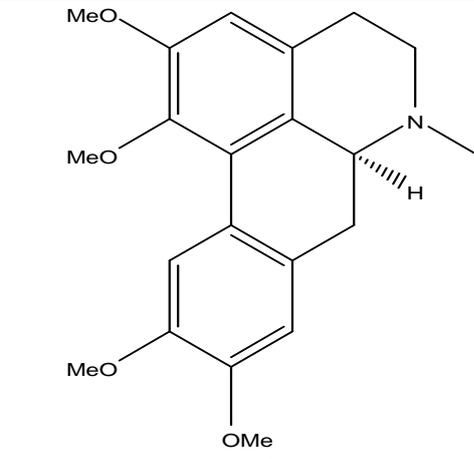
Structures des composés	Noms	Sources	Références
 <p style="text-align: center;">1</p>	Julocrotine	Racines de <i>Croton membranaceus</i>	(Bayor et al., 2009)
 <p style="text-align: center;">2</p>	Taspine	Latex de <i>Croton draco</i> ,	(Risco et al., 2003)
 <p style="text-align: center;">3</p>	Glaucine	Feuilles et les écorces de <i>Croton hemiargyreus</i> Müll.	(Amaral et Barnes, 1998)

Tableau I : Quelques alcaloïdes isolés des plantes du genre *Croton* (suite)

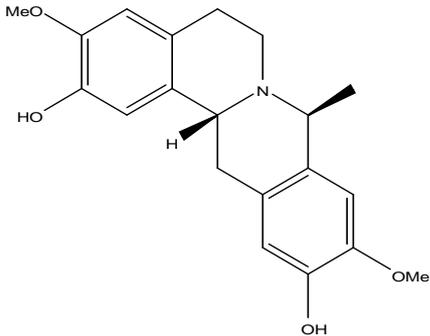
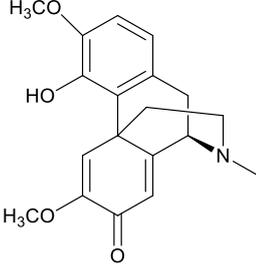
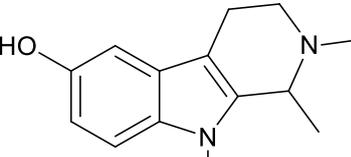
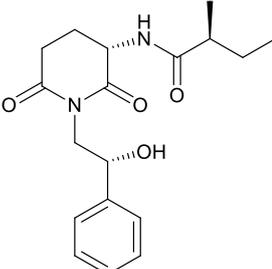
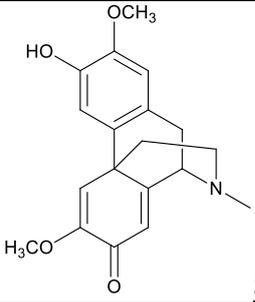
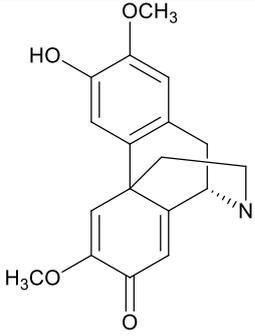
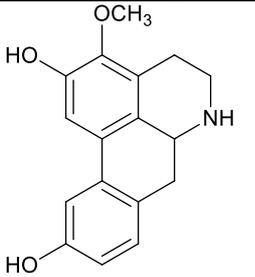
Structures	Noms	Sources	Références
 <p style="text-align: center;">4</p>	<p>2,10-dihydroxy-3,10-dimethoxy-8β-methyl-dibenzo[a,g]-quinolizidine (hemiargyrine)</p>	<p>Feuilles et les écorces de <i>Croton hemiargyreus</i> Müll.</p>	<p>(Amaral et Barnes, 1998)</p>
 <p style="text-align: center;">5</p>	<p>Salutaridine</p>		
 <p style="text-align: center;">6</p>	<p>6-hydroxy-2-Methyltetrahydroharman</p>	<p>Ecorces de <i>Croton moritibensis</i></p>	<p>(Araujo-Junior et al., 2004)</p>
 <p style="text-align: center;">7</p>	<p>Julocrotone</p>	<p>Parties aériennes de <i>Croton cuneatus</i></p>	<p>(Suarez et al., 2004)</p>

Tableau I : Quelques alcaloïdes isolés des plantes du genre *Croton* (Suite et fin).

Structures	Noms	Sources	Références
 <p style="text-align: right;">8</p>	Flavinantine	Feuilles de <i>Croton flavens</i>	(Clinton et al., 1968)
 <p style="text-align: right;">9</p>	Flavinine	Feuilles de <i>Croton flavens</i>	(Clinton et al., 1968)
 <p style="text-align: right;">10</p>	Sarisiflorine	<i>Croton sparsiflorus</i>	

I.2.2- Les flavonoïdes

Les flavonoïdes sont des pigments quasi universels des végétaux. Ils sont responsables de la coloration des fruits, des fleurs et parfois des feuilles. Ils constituent une vaste classe de substances naturelles très répandue dans le règne végétal. Du point de vue structural, les flavonoïdes sont des composés aromatiques dont le squelette carboné en C₁₅ est caractérisé par un enchaînement C₆-C₃-C₆ correspondant à un diphenylpropane (**11**), soit au phénylchromane (**12**) (Lawson, 2006). Le tableau suivant présente quelques flavonoïdes isolés des plantes du genre *Croton*.

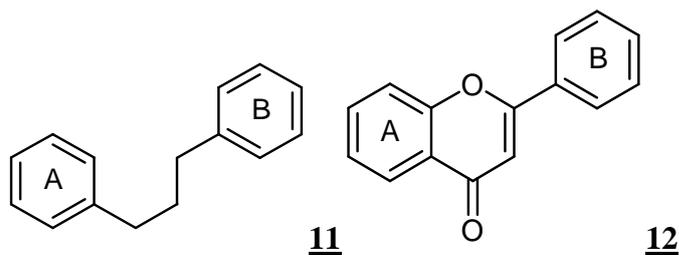


Tableau II : Quelques flavonoïdes isolés des plantes du genre *Croton*.

Structures des composés	Noms	Sources	Références
<p style="text-align: center;"><u>13</u></p>	Casticine	Ecorces du tronçde <i>Croton. brasiliensis</i>	(Palmeira et al., 2005)
<p style="text-align: center;"><u>14</u></p>	Penduletine		
<p style="text-align: center;"><u>15</u></p>	D-chryso-splenol	Ecorces du tronçde <i>Croton. brasiliensis</i>	(Palmeira et al., 2005)

Tableau II : Quelques flavonoïdes isolés des plantes du genre *Croton* (suite et fin).

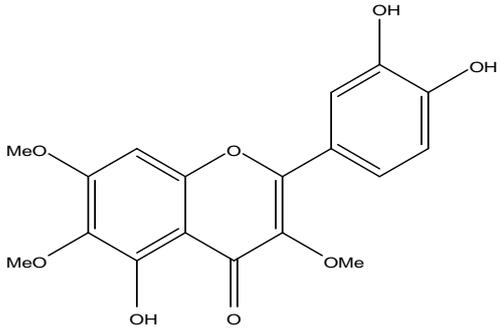
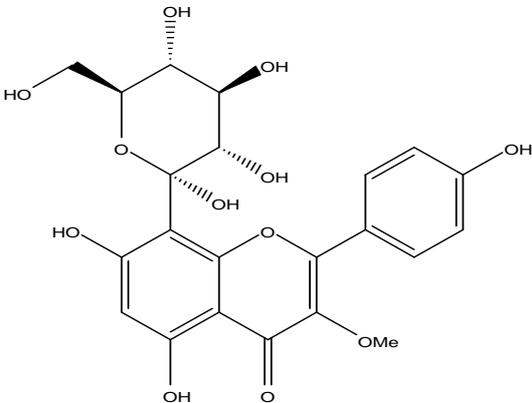
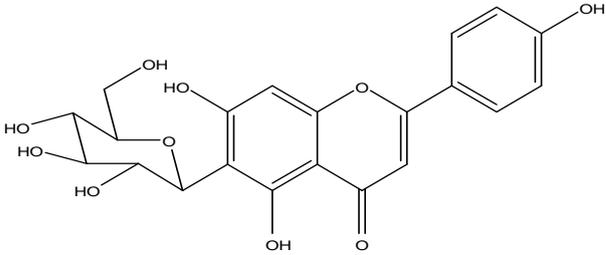
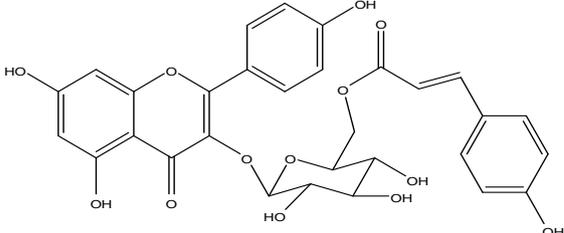
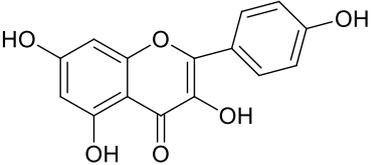
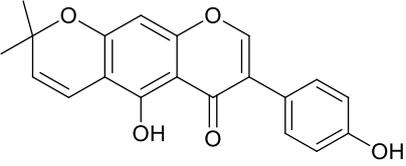
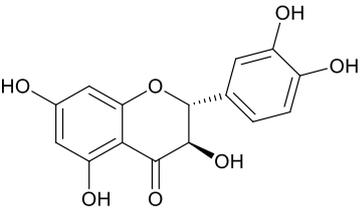
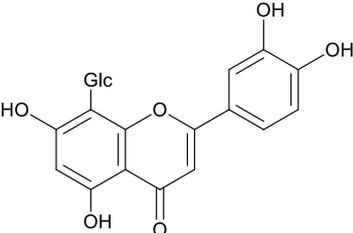
 <p style="text-align: center;"><u>16</u></p>	Artemetine	Ecorces du tronche <i>Croton. brasiliensis</i>	(Palmeira et al., 2005)
 <p style="text-align: center;"><u>17</u></p>	Vitexine	Ecorces du tronche <i>Croton. Ho varum</i>	(Salatino et al., 2007)
 <p style="text-align: center;"><u>18</u></p>	Isovitexine	Ecorces du tronche <i>Croton. lobatus</i>	(Lagnika, 2005)
 <p style="text-align: center;"><u>19</u></p>	Tiliroside 3-O-β-6''-cafféoylglucoside de kaempférol		

Tableau II : Quelques flavonoïdes isolés des plantes du genre *Croton* (suite et fin).

 <p style="text-align: center;"><u>20</u></p>	<p style="text-align: center;">5, 7,4'- Trihydroxyflavonol</p>	<p style="text-align: center;">Ecorces du troncde <i>Croton pedicellatus Kunt</i></p>	<p style="text-align: center;">(Lopes et al ., 2012)</p>
 <p style="text-align: center;"><u>21</u></p>	<p style="text-align: center;">Alpinumisoflavone</p>		
 <p style="text-align: center;"><u>22</u></p>	<p style="text-align: center;">Catéchine</p>	<p style="text-align: center;">Ecorces du troncde <i>Croton. urucurana</i></p>	<p style="text-align: center;">(Millo et al., 2002)</p>
 <p style="text-align: center;"><u>23</u></p>	<p style="text-align: center;">Orientine</p>	<p style="text-align: center;">Ecorces du troncde <i>Croton zambesicus</i></p>	<p style="text-align: center;">(Wagner et al., 1970)</p>

I.2.3- Les triterpènes.

Les triterpènes constituent une classe de composés très peu répandus dans le genre *Croton* et dont le squelette de base comporte trente atomes de carbone. Ils dérivent presque tous du squalène issu de la condensation de six unités isopréniques et d'autres modifications selon qu'il s'agit d'un triterpène tétracyclique ou pentacyclique (**Bruneton, 1993**). Quelques triterpènes isolés des plantes du genre *Croton* sont présentés dans le **Tableau III** suivant.

Tableau III : Quelques triterpènes isolés des plantes du genre *Croton*.

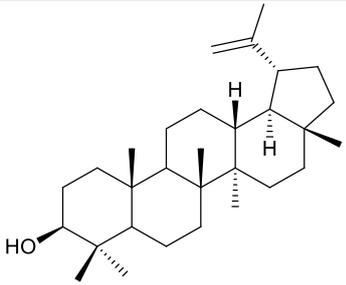
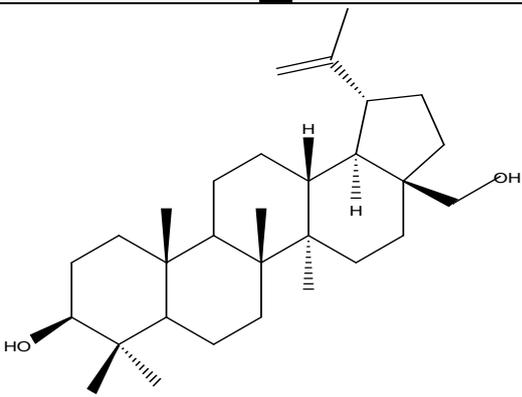
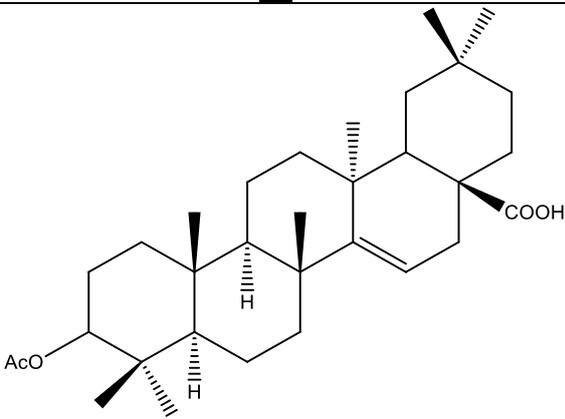
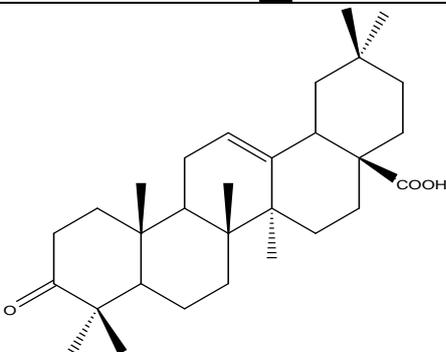
Structures des composés	Noms	Sources	Références
 <p style="text-align: center;">24</p>	Lupéol	Ecorces du tronc de <i>Croton macrostachys</i>	(Tene et al., 2009)
 <p style="text-align: center;">25</p>	Betuline		
 <p style="text-align: center;">26</p>	acide 3α-acetoxyaleuritolique	Ecorces de <i>Croton cajucara</i>	(Salatino et al., 2007)
 <p style="text-align: center;">27</p>	acide 3-oxo-olean-12-en-28-oïque	<i>Croton betulaster</i>	(Catalan et al., 2003)

Tableau III : Quelques triterpènes isolés des plantes du genre *Croton*(Suite).

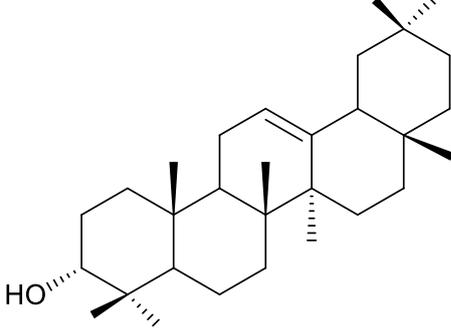
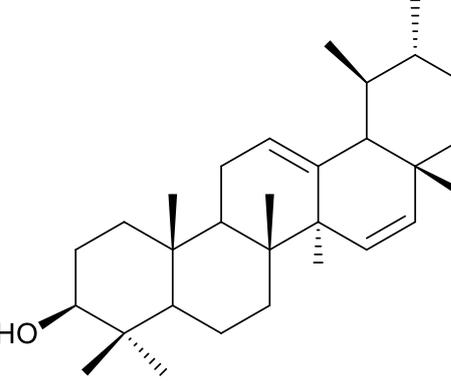
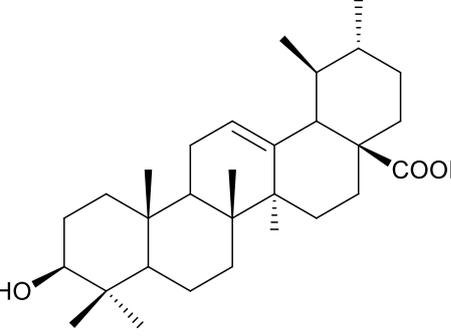
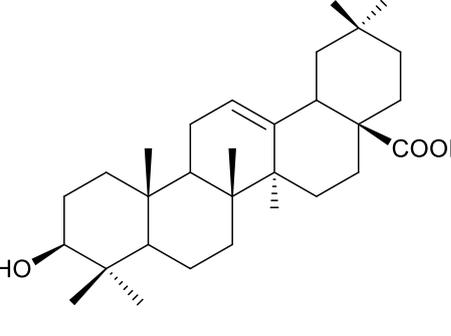
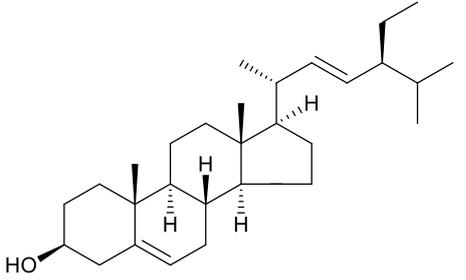
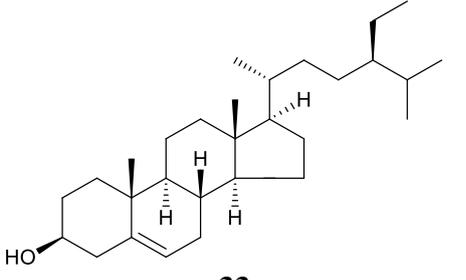
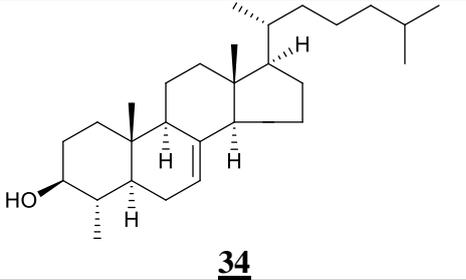
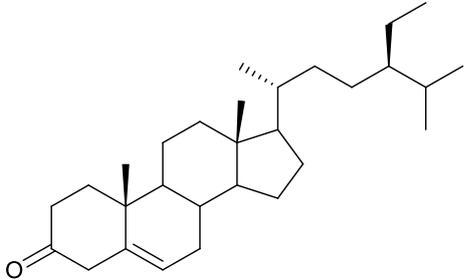
Structures	Noms	Sources	Références
 <p style="text-align: center;">28</p>	<p style="text-align: center;">β-amyrine</p>	<p style="text-align: center;"><i>Croton betulaster</i></p>	<p style="text-align: center;">(Catalan et al., 2003)</p>
 <p style="text-align: center;">29</p>	<p style="text-align: center;">3α-hydroxy- urs-12,15- diene</p>	<p style="text-align: center;">Racines de <i>Croton bonplandianu m</i> Bail</p>	<p style="text-align: center;">(Ghosh et al., 2013)</p>
 <p style="text-align: center;">30</p>	<p style="text-align: center;">Acide ursolique</p>		
 <p style="text-align: center;">31</p>	<p style="text-align: center;">Acide oléanolique</p>		

Tableau III : Quelques triterpènes isolés des plantes du genre *Croton* (Suite et fin).

Structures	Noms	Sources	Références
 <p style="text-align: center;">32</p>	Stigmastérol	Parties supérieures du <i>Croton draco</i>	(Murillo et al., 2001)
 <p style="text-align: center;">33</p>	β-sitostérol		
 <p style="text-align: center;">34</p>	Lophénol	Saumités de <i>Croton hieronymi</i>	(Catalan et al., 2003)
 <p style="text-align: center;">35</p>	Sitostenone	Ecorces de <i>Croton lechleri</i>	(Mechesney et al., 1991)

I.2.4-Les diterpènes

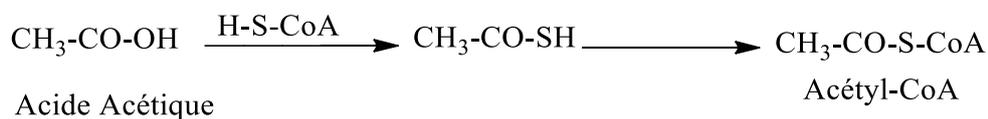
I.2.4.1-Définition

Ces molécules, qu'on retrouve aussi sous le nom de phytanes, sont constituées de quatre unités d'isoprène (2-méthylbuta-1,3-diène). Les diterpènes sont des composés dont le squelette de base compte 20 atomes de carbone. Dans la nature, ils sont souvent sous forme d'alcools ou de leurs dérivés glycosylés, d'éthers, d'aldéhydes, de cétones, d'acides carboxyliques ou d'esters. Ils sont largement répandus dans le genre *Croton* et peuvent être trouvés dans les météorites, les huiles, les sédiments, ainsi que dans le milieu vivant terrestre, marin, végétal et animal. Leur structure est assez variable, ils peuvent être cycliques ou non (**Breitmaier, 2008**). Compte tenu du fait que plus de la moitié des composés isolés de *Croton olingandrum* sont des diterpenes, nous allons analyser leur biosynthèse et leurs propriétés pharmacologiques.

I.2.4.2-Biosynthèse des diterpènes

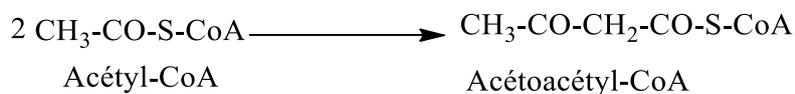
Les diterpènes sont issus du métabolisme du 2E, 6E, 10E – géranylgeranyl pyrophosphate (GGPP). La GGPP dérivent de l'acide R (+) mévalonique qui provient de l'acide acétique en présence du coenzyme A. La formation de la GGPP s'effectue en six étapes.

Etape 1 : Formation de l'acétyl-CoA.



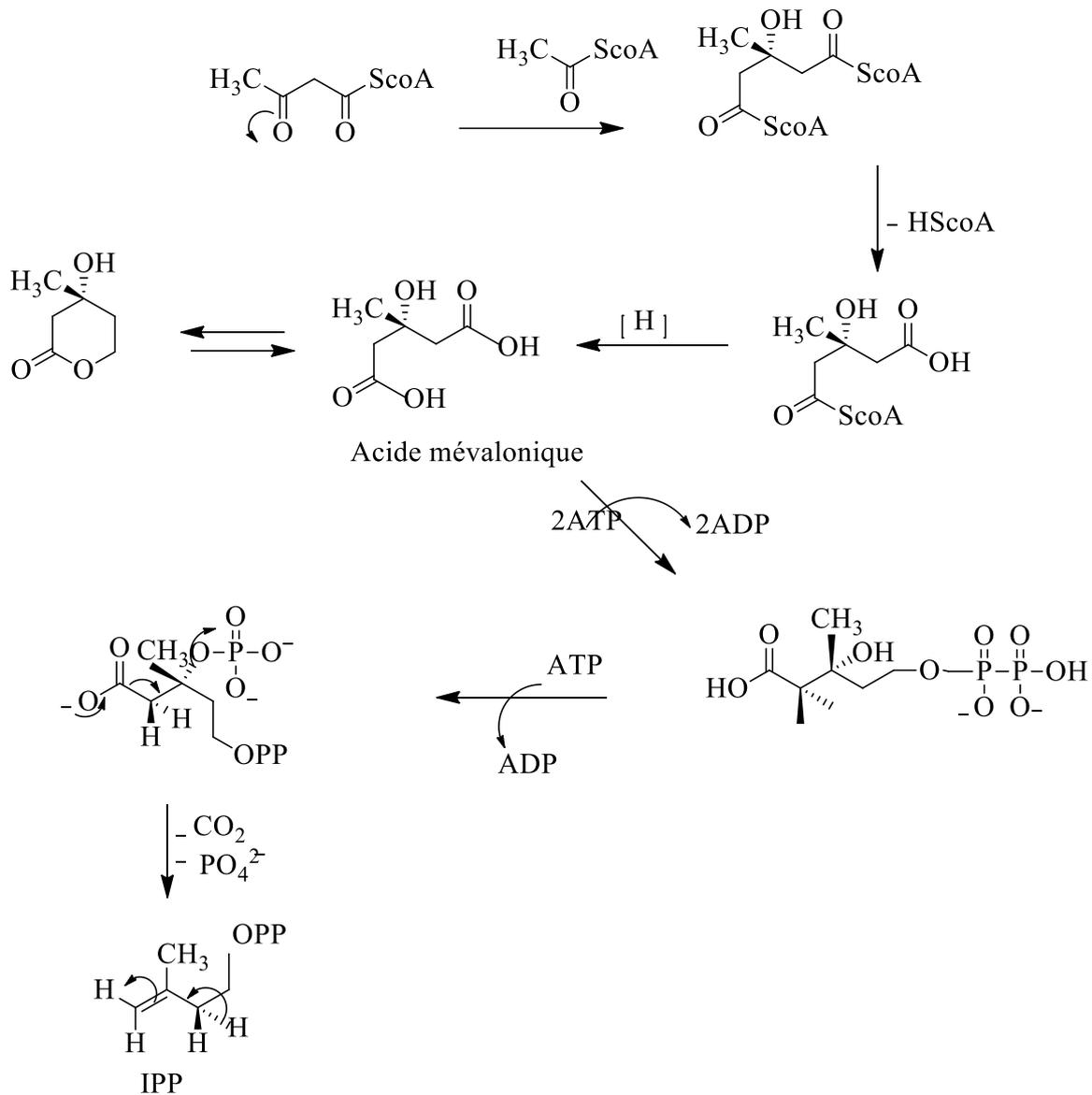
Etape 2 : Formation de l'acétoacétyl-CoA.

Il y a condensation entre 2 Acétyl-CoA pour donner l'acétoacétyl-CoA

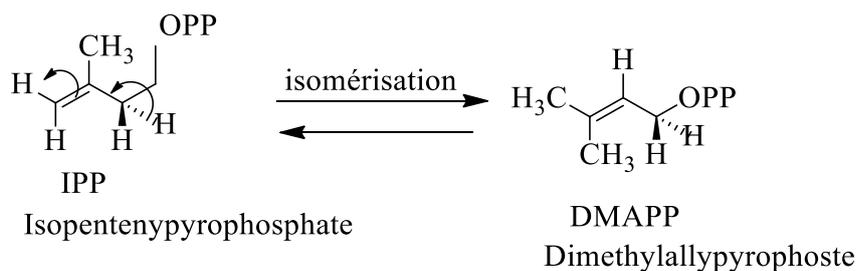


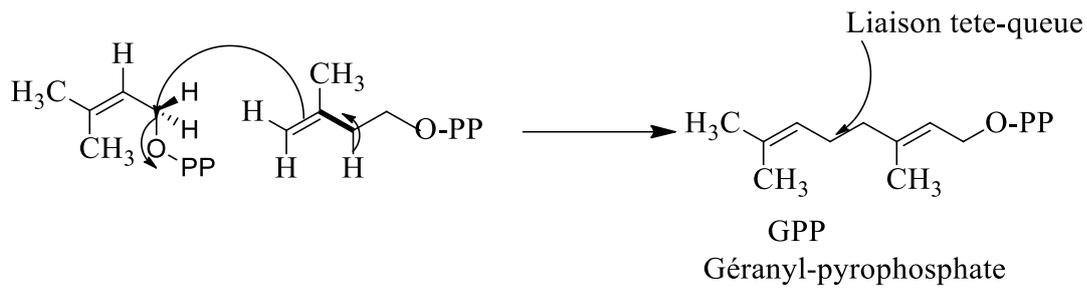
Etape 3 : Formation de l'IPP.

Un 3^{em} Acétyl-CoA agit sur l'acétoacétyl-CoA



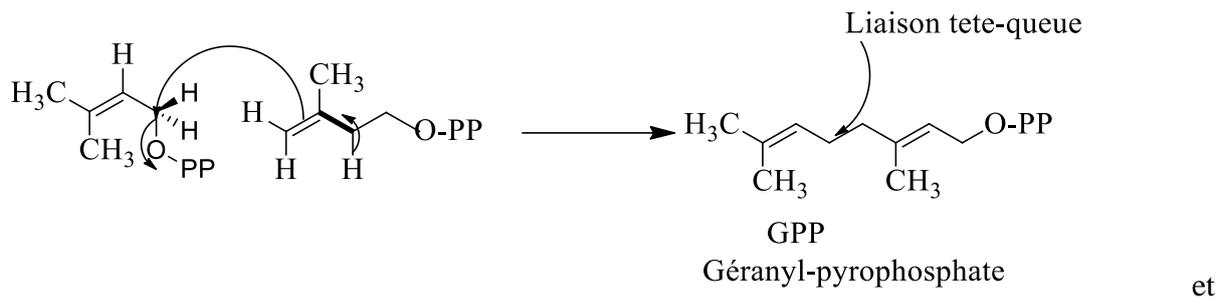
Etape 4 : Isomérisation de l'IPP en DMAPP suivie de la condensation entre une molécule de l'IPP et de DMAPP de façon tête-queue.



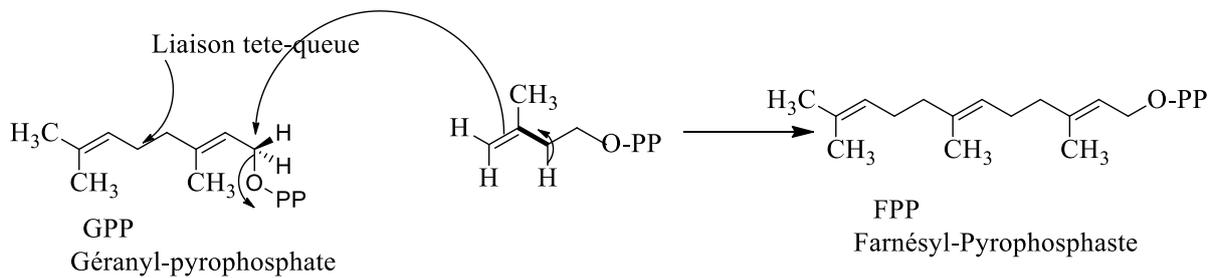


Etape 5 : Formation de la trans-farnésylpyrophosphate en C₁₅.

La trans-GPP en C₁₀ possède un groupement pyrophosphate en position allylique



et susceptible d'être déplacé de la même manière par une nouvelle molécule de IPP pour former le trans-farnésylpyrophosphate en C₁₅.



Etape 6 : Formation de la GGPP.

Enfin la formation d'une liaison tête-queue entre une molécule de FPP et une molécule de d'IPP conduit à la GGPP(C₂₀).

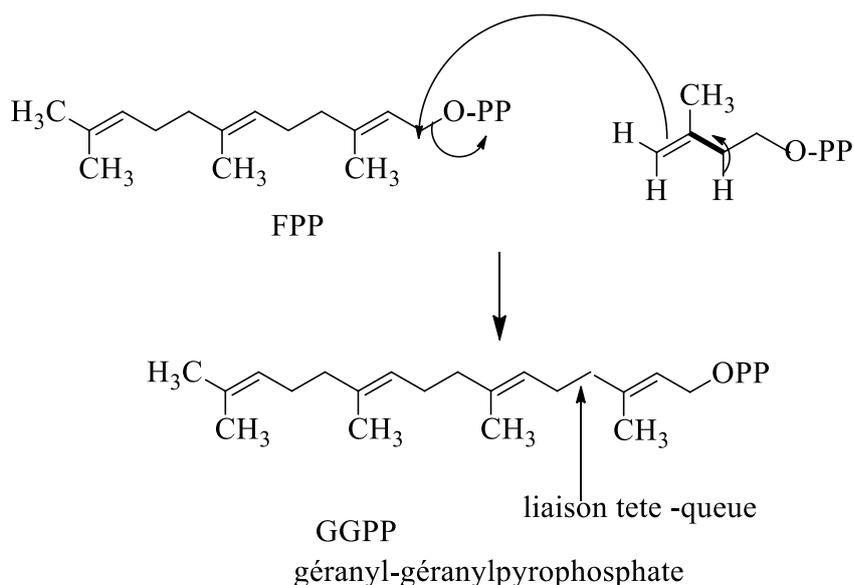


Schéma 1 : biosynthèse de la GGPP.

La cyclisation acido-catalytique du géranyl géranyl pyrophosphate (précurseur immédiat des diterpènes) ou de l'époxyde correspondant, conduit à la formation des dérivés de perhydronaphtalène ou de perhydrophénantrène. La chaîne de GGPP se cyclise partiellement en système décaline et ensuite de nouveaux cycles peuvent par conséquent se former avec souvent des réarrangements des squelettes conduisant aux diterpènes monocycliques (Cembrene...), bicycliques (labdane, clérodane...), tricycliques (pimarane...), tétracycliques (kaurane, gibberelline...) et pentacycliques (trachylobane...) (Ndom, 2008). Les schémas 2 et 3 suivants présentent la biosynthèse de quelques squelettes de diterpènes.

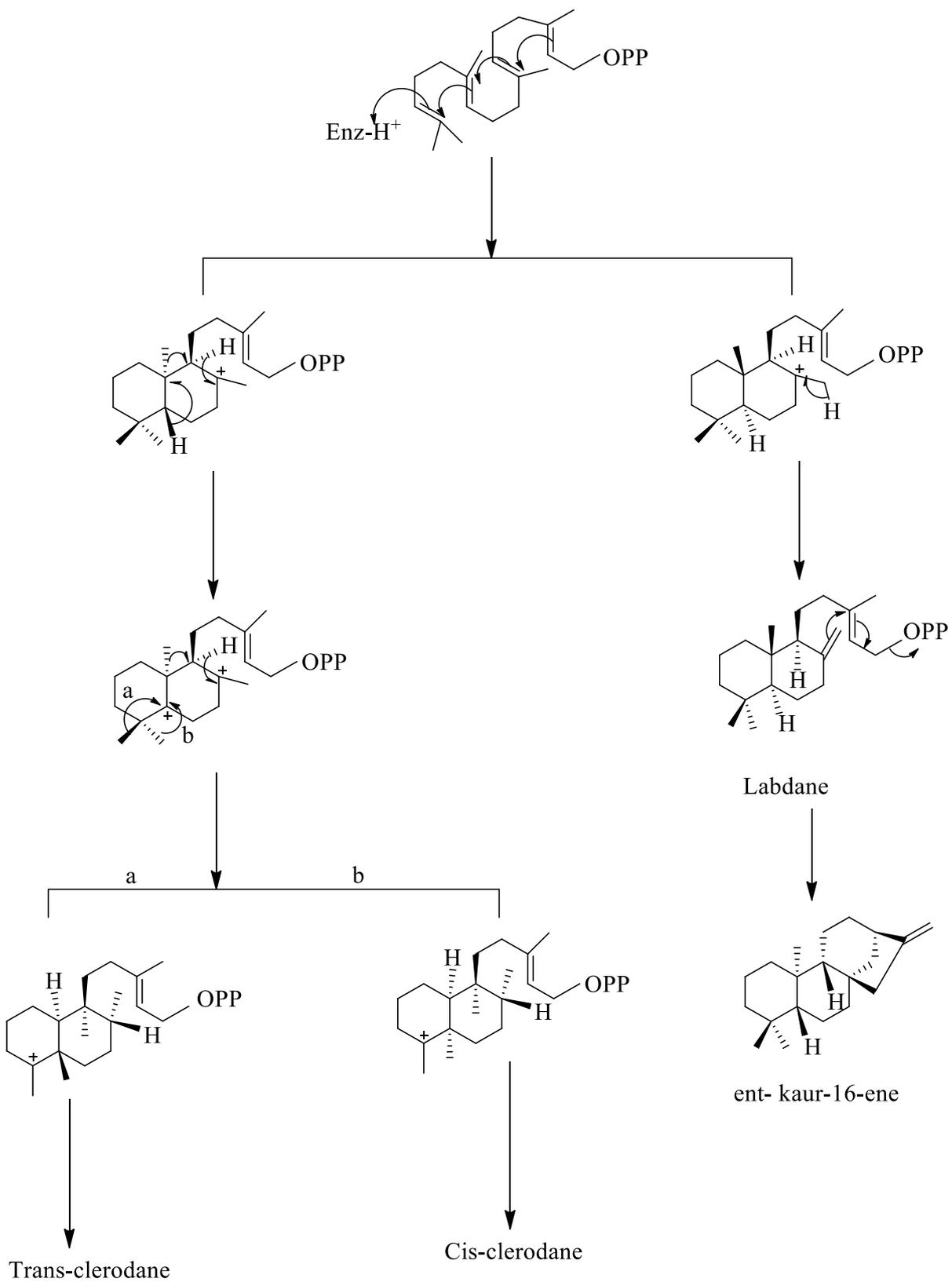


Schéma 2: Biosynthèse de quelques diterpènes (MacMillan et Beale, 2000)

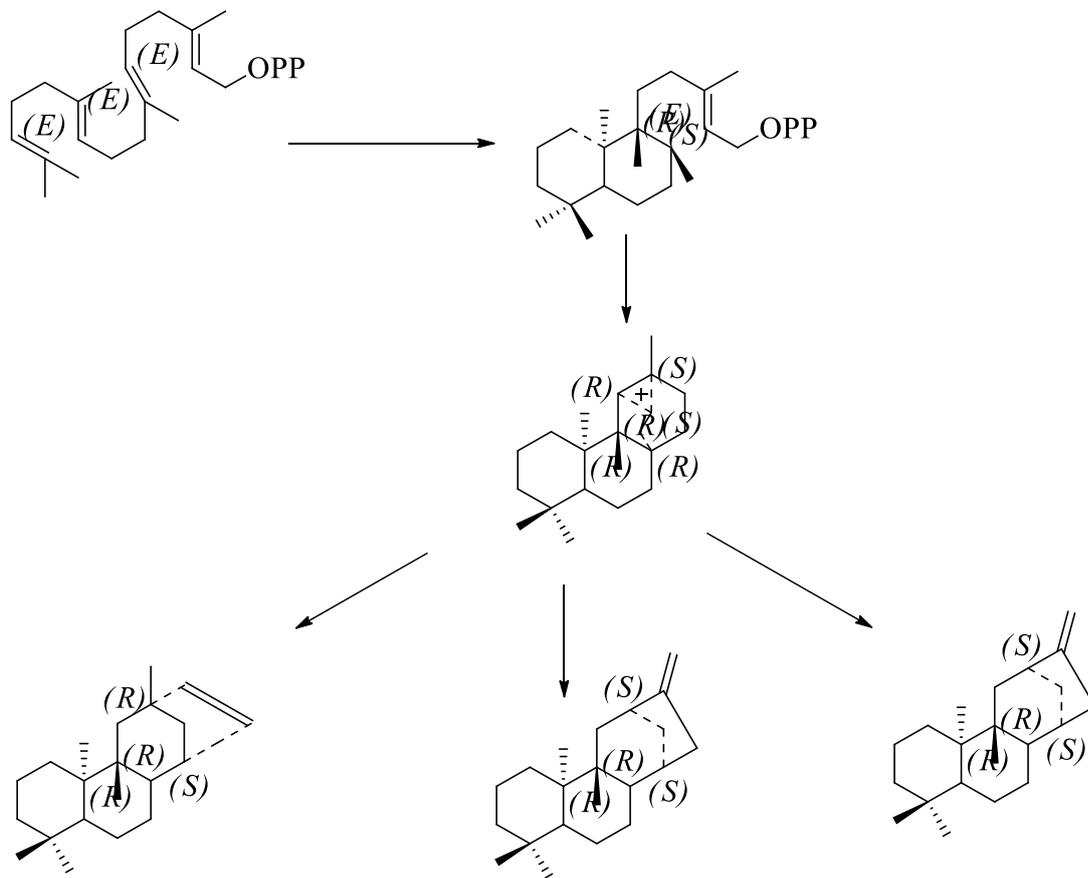


Schéma 3 : formation des trachylobanes (fraga, 1994).

Quelques diterpènes isolés des plantes du genre *Croton* sont présentés dans le **tableau IV** suivant.

Tableau IV: Quelques diterpènes isolés des plantes du genre *Croton*

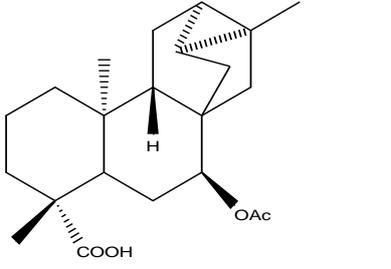
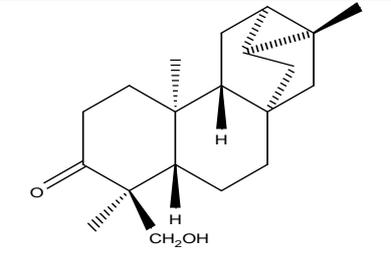
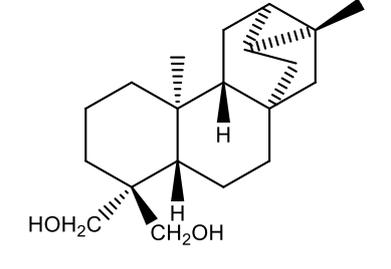
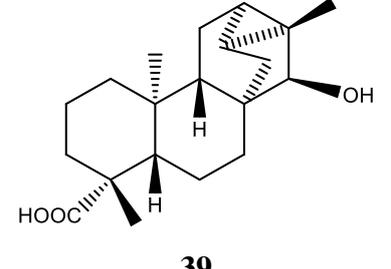
Structures des composés	Noms	Source	Référence
 <p><u>36</u></p>	Acide-7β-acetoxytrachyloban-18-oïque	Ecorces du tronc de <i>Croton zambesicus</i>	(Ngadjui et al., 2002)
 <p><u>37</u></p>	Ent-18-hydroxytrachyloban-3-one	Feuilles de <i>Croton zambesicus</i>	(Block et al., 2004)
 <p><u>38</u></p>	Ent-trachylobane-18-19-diol	Ecorces des racines de <i>Croton floribundus</i>	(Uchôa et al., 2013)
 <p><u>39</u></p>	Acide ent-15 β -hydroxytrachyloban-18-oïque	Ecorces des racines de <i>Croton floribundus</i>	(Uchôa et al., 2013)

Tableau IV: Quelques diterpènes isolés des plantes du genre *Croton*(suite).

<p style="text-align: center;">40</p>	<p style="text-align: center;">Ent- trachylobane- 3β-18-diol</p>	<p style="text-align: center;">Fruits de <i>Croton</i> <i>macrostachyus</i></p>	<p style="text-align: center;">(Galaw et al., 2012)</p>
<p style="text-align: center;">41</p>	<p style="text-align: center;">Gomojoside H</p>	<p style="text-align: center;">Racines de <i>Croton</i>. <i>membranaceus</i></p>	<p style="text-align: center;">(Bayor et al., 2009)</p>
<p style="text-align: center;">42</p>	<p style="text-align: center;">Crotonadiol</p>	<p style="text-align: center;">Ecorces du tronc de <i>Croton</i> <i>zambezius</i></p>	<p style="text-align: center;">(Ngadjui et al., 1999)</p>
<p style="text-align: center;">43</p>	<p style="text-align: center;">cide communiqué</p>	<p style="text-align: center;">Ecorce du tronc de <i>Croton</i> <i>stipuliformis</i></p>	<p style="text-align: center;">(Franco et al., 2011)</p>
<p style="text-align: center;">44</p>	<p style="text-align: center;">Entkaur-16- ène-6α,19- diol</p>	<p style="text-align: center;">Ecorces des racines de <i>Croton</i> <i>floribundus</i></p>	<p style="text-align: center;">(Uchôa et al., 2013)</p>

Tableau IV: Quelques diterpènes isolés des plantes du genre *Croton*(suite).

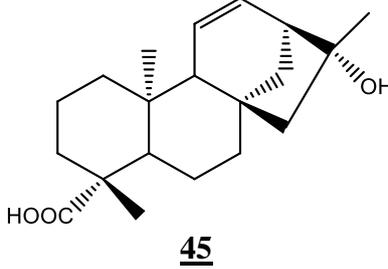
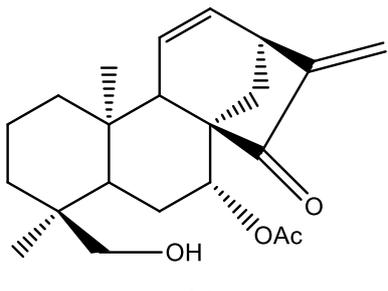
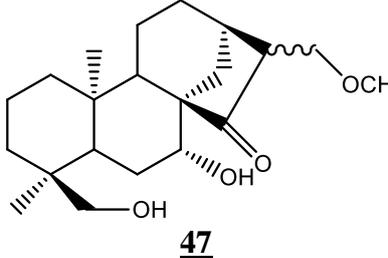
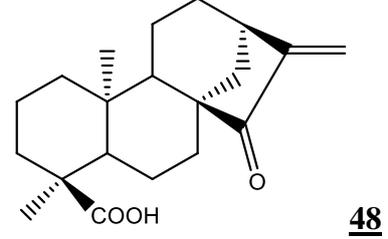
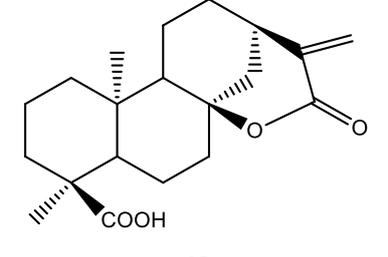
 <p style="text-align: center;">45</p>	<p>Acide ent-16α-hydroxykaur-11- en-19-oïque</p>	<p>Ecorces des racines de <i>Croton floribundus</i></p>	<p>(Uchôa et al., 2013)</p>
 <p style="text-align: center;">46</p>	<p>Crotonkinine E</p>	<p><i>Croton tonkinensis</i></p>	<p>(Kuo et al., 2013)</p>
 <p style="text-align: center;">47</p>	<p>Crotonkinine G</p>		
 <p style="text-align: center;">48</p>	<p>Acide ent-15-oxokaur-16- en-18-oïque</p>	<p>Ecorces de <i>Croton argyrophyloides</i></p>	<p>(Santos et al., 2009)</p>
 <p style="text-align: center;">49</p>	<p>Acide-14-épihyalique</p>		

Tableau IV: Quelques diterpènes isolés des plantes du genre *Croton* (suite).

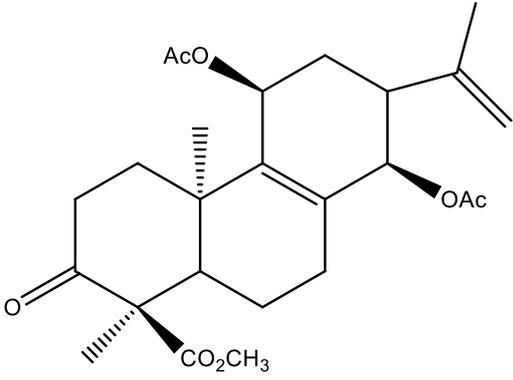
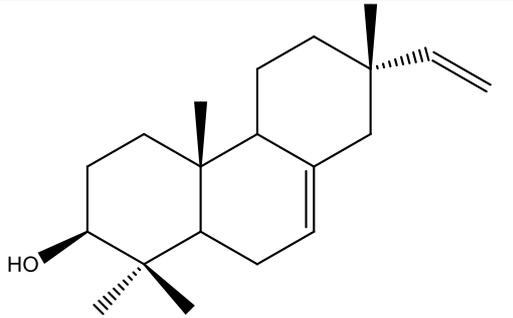
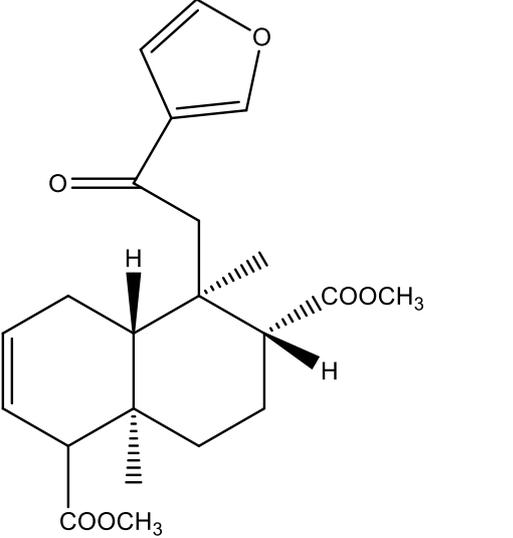
 <p style="text-align: center;">50</p>	<p>rel- (1R,4aR,5R,8R)- Methyl-7-(1- (methoxycarbony l)vinyl)-5,8- diacetoxy- 1,2,3,4a,5,6,7,8,9, 10,10a- dodecahydro- 1,4a-dimethyl-2- oxophenanthrene- 1-carboxylate</p>	<p>Ecorces de <i>Croton</i> <i>argyrophyloide</i> <i>s</i></p>	<p>(Santos et al., 2009)</p>
 <p style="text-align: center;">51</p>	<p>Isopimara-7,15- dièn-3β-ol</p>	<p>Feuilles de <i>Croton</i> <i>zambesicus</i></p>	<p>(Block et al., 2004)</p>
 <p style="text-align: center;">52</p>	<p>Crotomembranaf- uran</p>	<p>Racines de <i>Croton</i> <i>membranaceus</i></p>	<p>(Bayor et al., 2009)</p>

Tableau IV: Quelques diterpènes isolés des plantes du genre *Croton* (suite).

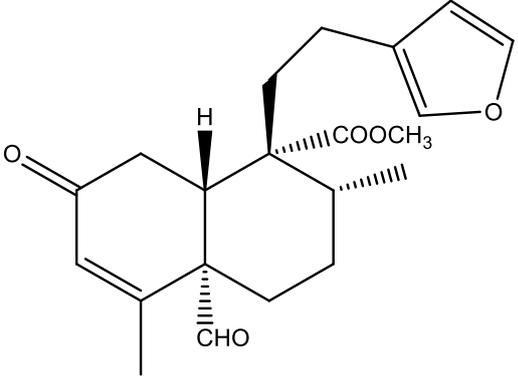
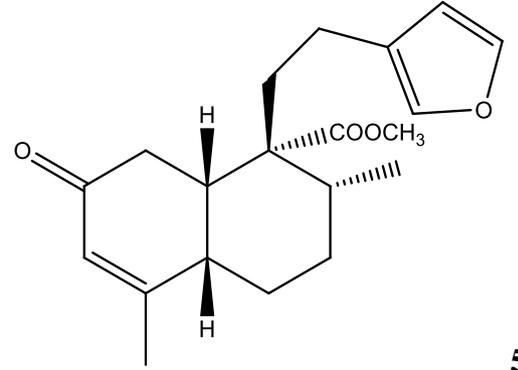
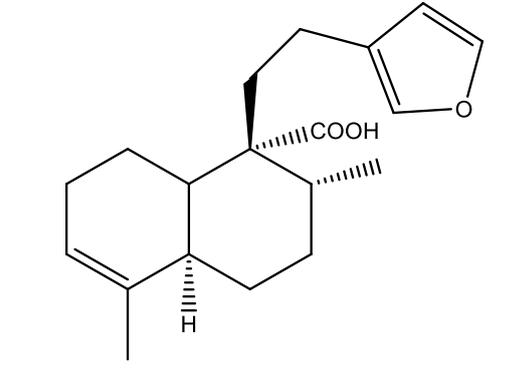
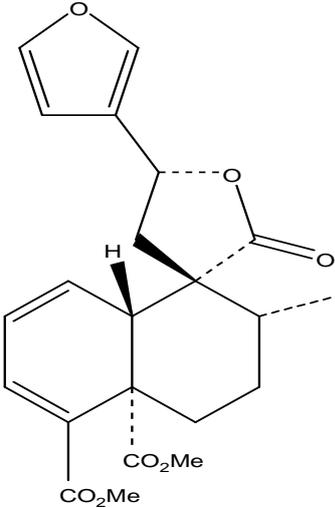
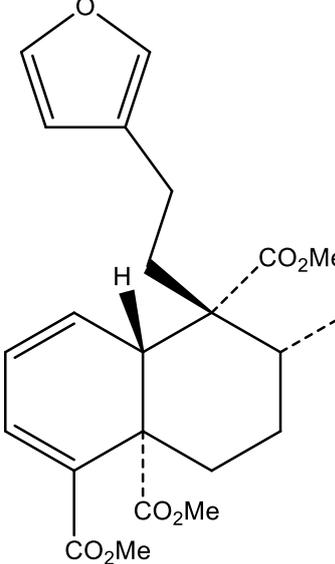
 <p style="text-align: right;">53</p>	<p>Cajucarine A</p>	<p>Cortex de <i>Croton</i> <i>cajucara</i></p>	<p>(Itokawa et al., 1990)</p>
 <p style="text-align: right;">54</p>	<p>Cajucarine B</p>	<p>Cortex de <i>Croton</i> <i>cajucara</i></p>	<p>(Itokawa et al., 1990)</p>
 <p style="text-align: right;">55</p>	<p>Acide juncéique</p>	<p>Racine de <i>Croton</i> <i>argyratus</i></p>	<p>(Norizan et al., 2007)</p>

Tableau IV: Quelques diterpènes isolés des plantes du genre *Croton* (suite).

 <p style="text-align: right;"><u>56</u></p>	<p>Crotozambefuran A</p>	<p>Ecorces du tronc de <i>C. zambezicus</i></p>	<p>(Ngadjui <i>et al.</i>, 2002)</p>
 <p style="text-align: right;"><u>57</u></p>	<p>Crotozambefuran B</p>		

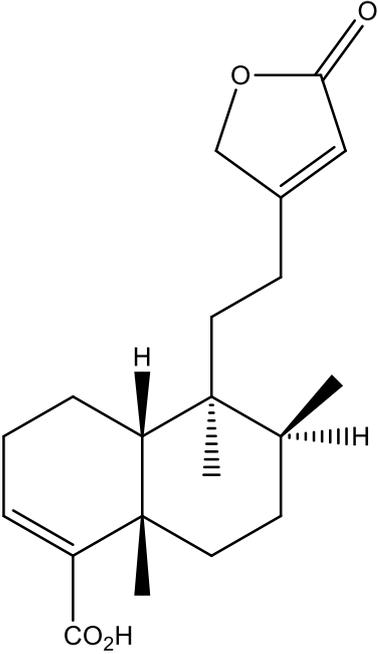
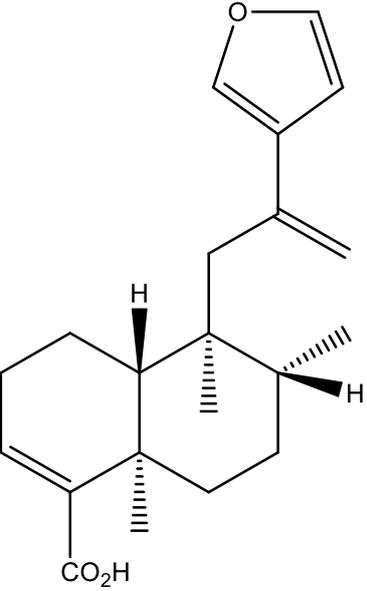
 <p style="text-align: center;"><u>58</u></p>	floridolide A	Ecorces du tronc de <i>Croton macrostachys</i>	(Tene et al.,2009)
 <p style="text-align: center;"><u>59</u></p>	acide hardwickique		

Tableau IV: Quelques diterpènes isolés des plantes du genre *Croton* (suite).

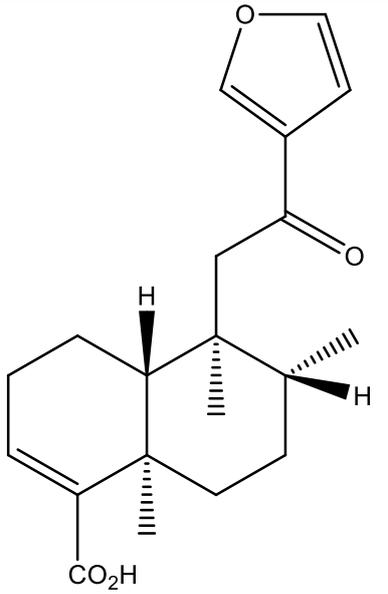
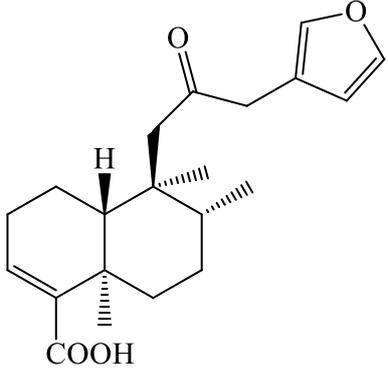
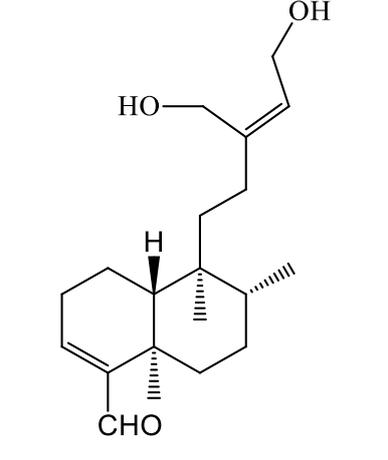
 <p>60</p>	<p>Acide 12-oxohardwickique</p>	<p>Ecorces du tronc de <i>Croton macrostachys</i></p>	<p>(Tene et <i>al.</i>,2009)</p>
 <p>61</p>	<p>Acide (5R, 8R, 9S, 10R)- 15, 16-epoxy12- oxocleroda-3, 13(16), 14- trien-18-oïque</p>	<p>Ecorces du tronc et feuilles de <i>Croton draco</i></p>	<p>(Murillo et <i>al.</i>, 2001)</p>
 <p>62</p>	<p>(5R,8R,9S,10R)-15,16- dihydroxy-18-oxocleroda- 3,13-diene</p>		

Tableau IV: Quelques diterpènes isolés des plantes du genre *Croton* (suite).

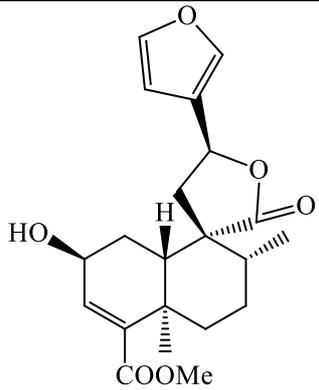
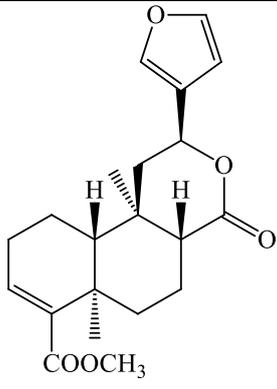
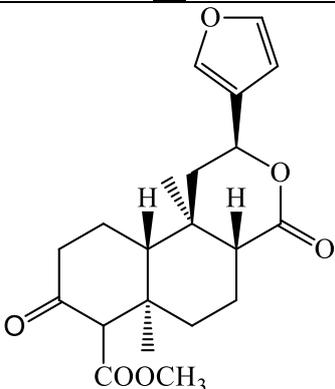
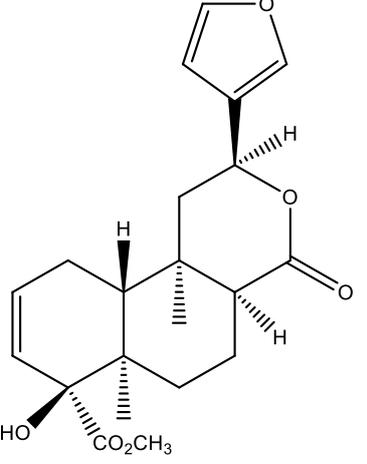
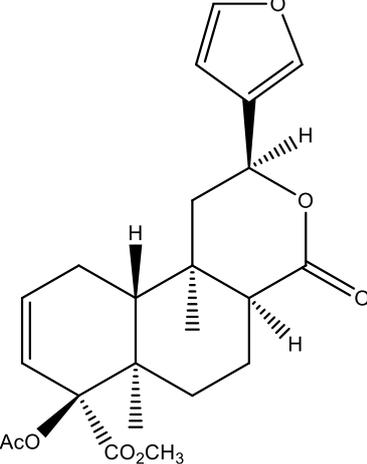
 <p style="text-align: center;">63</p>	<p>Acide- (2S,5R,8R,9R,10S,12S)12,20;15,16-diepoxy-2-hydroxy-20-oxocleroda-3,13(16),14-trien-18-oïque</p>	<p>Ecorces du tronc et feuilles de <i>Croton draco</i></p>	<p>(Murillo et al., 2001)</p>
 <p style="text-align: center;">64</p>	<p>12-epibarbascoate de méthyls</p>	<p>Ecorces du tronc de <i>Croton urucurana</i></p>	<p>Pizzolatti et al., 2013)</p>
 <p style="text-align: center;">65</p>	<p>3-oxo-12-epibarbascoate de méthyle</p>		

Tableau IV: Quelques diterpènes isolés des plantes du genre *Croton* (suite et fin).

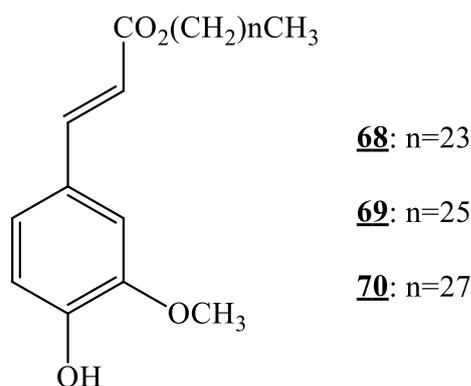
 <p style="text-align: center;">66</p>	<p style="text-align: center;">croto brasilin B</p>	<p style="text-align: center;">Feuilles et tiges de <i>Croton</i> <i>brasiliensis</i></p>	<p style="text-align: center;">(Palmeira et al., 2005)</p>
 <p style="text-align: center;">67</p>	<p style="text-align: center;">croto brasilin A</p>		

I.2.4.3- Intérêt biologique des diterpènes.

L'intérêt thérapeutique des diterpènes reste intéressant. Secokaurenes, labdanes et diterpènes cembranoides possèdent des activités cytotoxiques et antimicrobiennes (**Salatino et al ., 2007 ; Tene et al.,2009**).Les trachylobanes possèdent des activités cytotoxiques. Des études ont révélé des activités spasmolytique, antihypertensive, antituberculeuse, antifongique et anti-inflammatoire des pimaranes diterpéniques (**Block et al., 2004**).

I.2.5-Autres composés isolés du genre Croton.

En plus des flavonoïdes, des triterpènes et des diterpènes, d'autres métabolites secondaires ont déjà été isolés du genre *Croton*. Parmi ceux-ci on peut citer les esters d'acides ou d'alcools gras. De *Croton megalocarpus* par exemple ont été isolés des esters de l'acide ferulique en C₂₄, C₂₆ et C₂₈ (**Addae-Mensah et al., 1992**).



I.3-ACTIVITES BIOLOGIQUES DES QUELQUES EXTRAITS ET COMPOSES ISOLES DU GENRE CROTON

Les *Croton* constituent un énorme réservoir de molécules naturelles potentiellement actives contre les virus, les bactéries et certaines cellules cancéreuses.

L'acide 3-acétoxyaleuritolique **26** présente des activités antifilaires et inhibe considérablement les effets de *l'onchocercose gutturosa* (**Nyasse et al., 2006**).

Le Lupéol **24** montre des actions anti-oxydantes. C'est un remède potentiel des maladies causées par les radicaux libres. Il présente également des activités anti-inflammatoires (**Geetha et Varalakshmi, 2001**). Le traitement au lupéol a montré un effet préventif significatif et un potentiel anti prolifératif et apoptotique ce qui est très prometteur pour la lutte contre le cancer de la peau (**Nigam et al., 2009**).

Les Crotonkinins E **46** et G **47** présentent chacun une activité anti-inflammatoire modérée avec des IC₅₀ de 3,11 et 4,29 respectivement (**Kuo et al., 2013**).

La Ent-18-hydroxy-trachyloban-3-one **37** et l'isopimara-7,15-dièn-3β-ol **51** montrent une activité cytotoxique modérée sur les cellules cancéreuses du cerveau humain (**Bock et al., 2004**).

L'acide ent-15-oxokaur-16-èn-18-oïque **48** présente une activité cytotoxique intéressante sur les cellules sanguines humaines (**Santos et al., 2009**).

Les effets cytotoxiques ont été observés dans des essais avec la taspine **2**. Plusieurs autres activités des substances isolées du genre *Croton* ont été enregistrées, à savoir: les activités anti-hypertenseur, anti-inflammatoire, anti-paludéenne, anti-microbienne, anti-spasmodique, anti-ulcéreux, anti-virale et myorelaxante. (**Salatino et al., 2007**).

Une activité anti-diabétique de l'extrait à l'éthanol des feuilles de *Croton zambesicus* a été évaluée, à l'aide d'une induction d'alloxane(150 mg/kg) à des rats, provoquant ainsi une hyperglycémie. Cette activité était comparable à celle d'un médicament de référence chlorpropamide (**Okokon et al. 2006**).

Les décoctions des feuilles ou des racines de *Croton lobatus* utilisées au Bénin en pharmacopée traditionnelle possèdent une activité antispasmodique (**Lagnika, 2005**).

Des études antérieures ont révélé une activité cytotoxique significative de l'extrait au méthanol des racines de *Croton membranaceus* face aux cellules cancéreuses humaines. D'autres enquêtes ont révélé une activité cytotoxique marquée du β-sitosterol-3-D-glucoside et de DL-thréitol contre les cellules cancéreuses de la prostate humaine (PC-3). Des activités antimicrobiennes ont été également prouvées (**Bayor et al., 2009**).

L'extrait à l'acétate d'éthyle des écorces du tronc de *Croton macrostachys*, ainsi que les composés qui y ont été isolés : lupeol, betulin, ont présenté *in vitro* des activités antibactérienne et antifongique (**Tene et al., 2009**).

De ce qui précède, il ressort que les extraits et les composés obtenus des espèces du genre *Croton* présentent des activités biologiques intéressantes. Raison pour laquelle nous nous sommes proposés d'évaluer les activités antimicrobiennes, anti oxydantes et antiprolifératives de certains composés isolés de *Croton oligandrum*.

I.4- LES MICROORGANISMES.

I.4.1-Généralités (Seto et al., 1997).

Les bactéries sont des microorganismes de 1 à 10 μm de diamètre. Elles sont des parasites si elles vivent aux dépens d'autres organismes ; dans le cas contraire elles sont des saprophytes.

Les champignons sont très répandus dans la nature (levures et moisissures) et peuvent vivre en parasite ou en saprophyte chez les hommes ou les animaux. Les mycoses sont des infections causées par des champignons.

Les substances anti-microbiennes sont des molécules capables d'inhiber le développement des microorganismes tels que les bactéries, les champignons, les levures et même les virus. Ces molécules sont d'origines diverses : biologique (végétaux, microorganismes), synthétique ou héli synthétique (Philipon et Prots, 2002 ; Aissatou, 2005).

Les antibiotiques sont des substances chimiques élaborées par les microorganismes et qui ont le pouvoir de s'opposer à la multiplication des germes microbiens (médicaments bactériostatiques) ou de les détruire (médicaments bactéricides).

La **figure 2** ci-contre présente les structures de quelques antibiotiques couramment utilisés (Fozing, 2011).

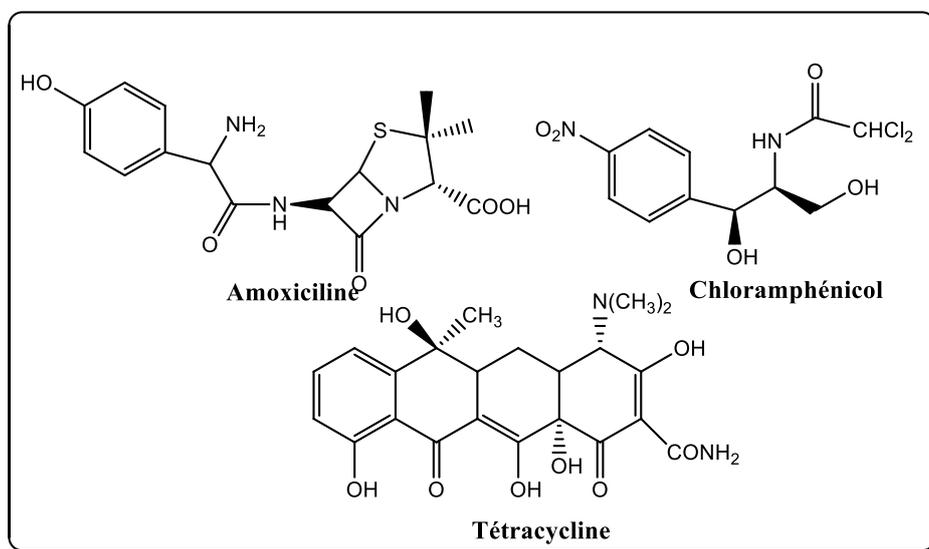


Figure 2 : Quelques antibiotiques couramment utilisés

Les antifongiques sont des substances détruisant les champignons responsables des mycoses (fongicides) ou empêchant leur croissance et leur multiplication.

La **figure 3** ci-dessous présente les structures de quelques antifongiques couramment utilisés (Fozing, 2011).

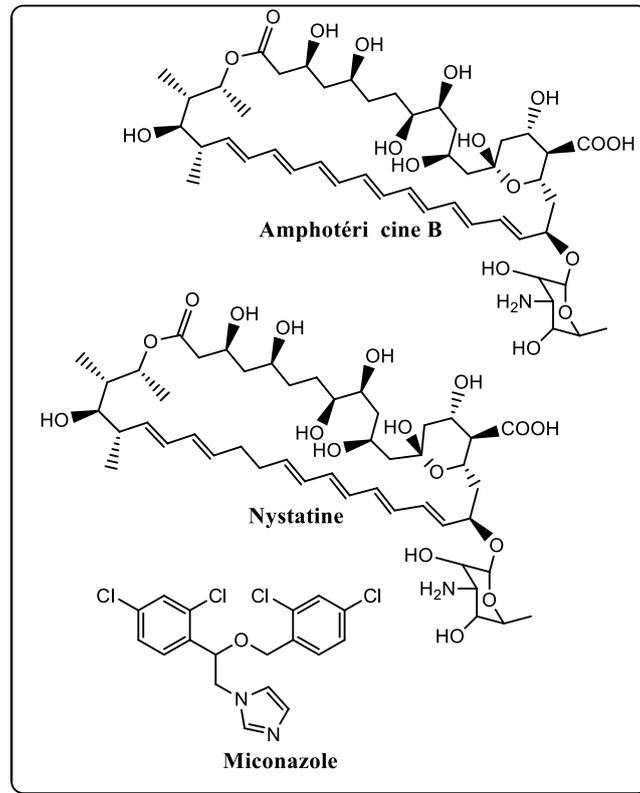


Figure 3 : Quelques antifongiques couramment utilisés

I.4.2-Exemple de classification des bactéries (Aissatou, 2005).

Les bactéries sont classées selon :

- **Leur morphologie. On distingue :**
 - Les bactéries en forme arrondie ou coque ou cocci. Parmi celles-ci on peut citer le gonocoque, le staphylocoque, le méningocoque...
 - Les bactéries en forme de bâtonnet ou bacille. On peut citer : le bacille de Koch, *Escherichia coli*, *Salmonella sp...*

- **Leur affinité à la coloration de Gram.**

Le Danois Gram a mis au point en 1884 une technique qui permet de classer les bactéries en Gram+ et Gram-. Elle consiste à faire agir sur les bactéries de la violette gentiane puis une solution iodo-iodurée. Si la paroi des cellules bactériennes conserve la coloration violette, même après lavage à l'éthanol, elles sont dites Gram+ ; mais s'il y a décoloration elles sont dites Gram-.

I.4.3-La concentration minimale inhibitrice(CMI) (Berthe et al., 1988).

La concentration minimale inhibitrice est définie comme étant la plus faible concentration d'antibiotique inhibant de 18 à 24 heures la multiplication des bactéries (bactériostase). Cette valeur permet de classer une souche bactérienne dans les catégories sensible, résistant ou intermédiaire à l'action d'un agent antimicrobien.

Une souche est dite sensible à un antibiotique lorsque sa CMI est nettement inférieure à la concentration sanguine obtenue après administration d'une dose utilisable en thérapeutique. A l'opposé, elle est dite résistante lorsque la CMI de l'antibiotique est trop élevée pour être atteinte sans utiliser des doses toxiques. Si la CMI se situe entre les deux extrêmes, la sensibilité de la souche microbienne est dite intermédiaire. Les organismes ne pourront pas être atteints avec une antibiothérapie standard mais ils pourront l'être par un traitement par voie générale à forte dose ou par voie locale, ou encore si l'antibiotique se concentre où se trouve l'affection.

La détermination de la CMI d'un antibiotique sur une souche microbienne peut être réalisée soit par la méthode par dilution, soit par diffusion de l'antibiotique.

❖ La méthode de diffusion

Des disques de papier buvard imprégnés d'une quantité définie d'antibiotique sont déposés à la surface d'un milieu gélosé de Muller Hinton préalablement ensemencé avec une suspension de bactéries (10^6 bactéries /mL) en phase exponentielle de croissance. A partir du disque, l'antibiotique diffuse dans la gélose, sa concentration étant d'autant plus faible qu'on s'éloigne de la source (gradient de concentration). Après incubation du milieu de culture (18heures à 37°C), on constate que chaque disque est entouré d'une zone d'inhibition de la croissance bactérienne. La multiplication des microorganismes s'arrête là où il existe dans la gélose une concentration d'antibiotique supérieure ou égale à la CMI. Pour chaque antibiotique, on mesure le diamètre d'inhibition de la croissance bactérienne et on en déduit la valeur approchée de la CMI de l'agent antimicrobien vis-à-vis de la souche étudiée. En effet, pour un antibiotique donné, une relation existe entre la valeur des diamètres d'inhibition de croissance et celle des CMI. Cette relation étant établie par des études comparatives préalables portant sur un grand nombre de souches appartenant à des espèces différentes.

❖ **La méthode par dilution**

C'est la méthode de référence qui peut être utilisée en milieu solide ou liquide. Lorsque la mesure de la CMI est effectuée selon une technique en milieu liquide, on distribue dans un premier temps dans une série de tubes à hémolyse stériles, sous un même volume des concentrations décroissantes d'antibiotique (habituellement en progression géométrique de raison 2). Puis on ajoute dans chaque tube sous un même volume une culture bactérienne en phase exponentielle de croissance, dilué de façon à obtenir une concentration finale d'environ 10^6 bactéries /mL (inoculum bactérien optiquement visible). La CMI de l'antibiotique sur la souche étudiée est définie comme la plus faible concentration inhibant après 18 à 24 heures de contact à 37°C toute croissance bactérienne visible à l'œil nu. Le principe de la technique en milieu solide est identique, l'antibiotique étant incorporé dans un milieu de culture rendu solide par la présence de gélose. L'intérêt de cette technique en milieu solide réside dans la possibilité d'étudier un grand nombre de souches bactériennes.

❖ **La méthode bio-autographique.**

Elle consiste à la dilution rapide ainsi qu'à l'isolement des constituants actifs à travers une cible. Les chromatogrammes sont recouverts d'un milieu de culture incorporé de microorganismes. Après une incubation de 24 heures à 37°C, un révélateur approprié permet d'observer l'activité (Mogodé, 2005).

I.5-LES ANTIOXYDANTS ET LES ANTIPROLIFERATIFS

I.5.1-Les antioxydants

I.5.1.1-Généralités sur les antioxydants (Amadou, 2005)

Le concept selon lequel le dioxygène, molécule indispensable pour la vie peut entraîner des dommages cellulaires importants par formation de dérivés oxygénés actifs tels que les radicaux libres, est encore mal perçu dans le domaine médical. Pourtant de très nombreuses études épidémiologiques et cliniques ont suggéré le rôle de ces espèces réactives de l'oxygène(ERO) dans le développement de nombreux processus pathologiques comme l'athérosclérose et la cancérogénèse. Pour se protéger des effets toxiques de l'oxygène, l'organisme a développé des systèmes de défense antioxydants composés d'enzymes, de vitamines, de protéines et d'oligo-éléments. En situation physiologique, ces systèmes antioxydants ont la capacité de réguler parfaitement la production des ERO. Un stress survient lorsqu'il y aura un déséquilibre dans cette balance pro oxydants/antioxydants en

faveur des ERO. Le potentiel oxydant d'un individu dépend de ses habitudes alimentaires, son mode de vie, ses caractéristiques génétiques ou l'environnement dans lequel il vit. De très nombreuses études ont montré que les personnes ayant des concentrations sanguines faibles en antioxydants (vitamine A, C ou E) ou des concentrations élevées en marqueurs d'oxydation des lipides ou de l'ADN, ont plus de risque de développer des maladies cardiovasculaires ou un cancer que des personnes ayant un bilan oxydant normal résultant d'une alimentation équilibrée en fruits et légumes.

On désigne par antioxydant toute substance qui lorsqu'elle est présente en faible concentration comparée à celle du substrat oxydable, retarde ou prévient de manière significative l'oxydation de ce substrat.

Les antioxydants sont aussi des produits naturels ou synthétiques provoquant la neutralisation des radicaux libres qui sont les vecteurs du stress oxydatif. Or c'est le stress oxydatif qui est responsable de la détérioration et du vieillissement cellulaire.

I.5.1.2-Mécanismes d'action des antioxydants (Amadou, 2005)

Les mécanismes d'action des antioxydants sont divers, incluant le captage de l'oxygène singulet, la désactivation des radicaux par réaction d'addition covalente, la réduction de radicaux ou de peroxydes, la complexation d'ions ou de métaux de transition.

I.5.1.3-Classification des antioxydants (Aissatou, 2005)

Les antioxydants sont classés en deux grands groupes.

I.5.1.3.1-Les antioxydants naturels.

On distingue trois types :

- Les antioxydants primaires : ce sont des enzymes qui participent à la neutralisation en radicaux libres excédentaires. On peut citer : l'enzyme superoxyde dismutase (SOD), le glutathion peroxyde, certaines protéines de transport comme la ferritine et la ceruloplasmine.
- Les antioxydants secondaires : ils sont apportés par l'alimentation. Ce sont : les vitamines (A et E), les polyphénols (stilbénoides, flavonoïdes, tanins, anthocyanes), les caroténoïdes (β -carotène et α -carotène) et les oligo-éléments.
- Les antioxydants tertiaires : ils comprennent l'enzyme réparatrice de l'ADN et de la méthionine sulfoxyde réductase.

La **figure 4** ci-dessous présente quelques antioxydants naturels.

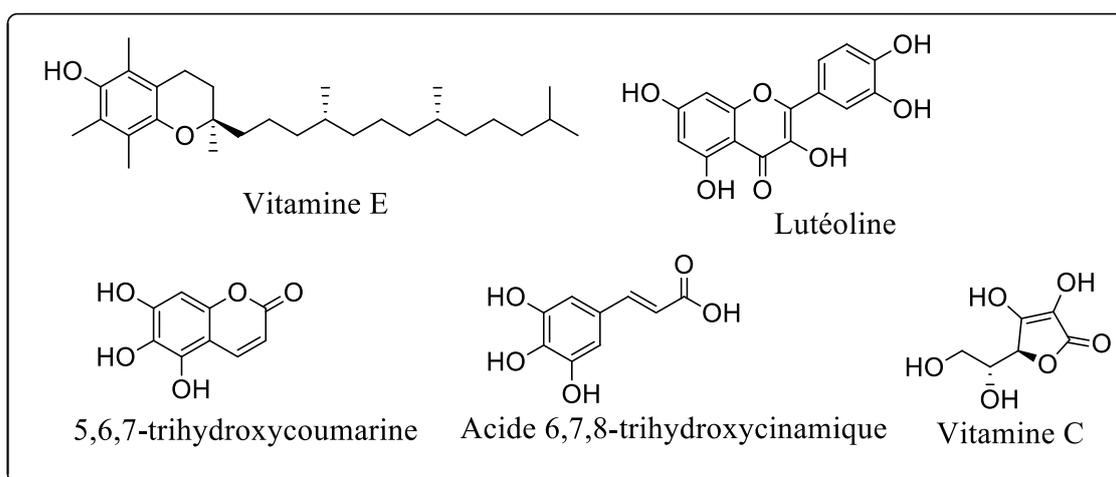


Figure 4 : Quelques antioxydants naturels (Marc et al., 2004).

I.5.1.3.2-Les antioxydants de synthèse.

Ce sont des produits utilisés dans l'industrie alimentaire pour la conservation des aliments. On peut citer : le Butylhydroxytoluène(BHT), le Butylhydroxyanisole(BHA).

I.5.1.4-Test pour la mesure du potentiel antioxydant.

I.5.1.4.1-Test à la DPPH (Brand-William et al., 1995).

Le test est basé sur la dégradation du radical DPPH. Un antioxydant aura la capacité de donner un électron singulet au radical synthétique DPPH de coloration violette pour le stabiliser en DPPH de coloration jaune-verte (**figure 5**). La mesure de la décroissance de la coloration violette au cours du temps permet de déterminer EC_{50} , généralement interprétée sur la base de la quantité d'un antioxydant nécessaire pour faire diminuer de 50% la quantité initiale de DPPH (EC_{50}), le résultat dépend de la concentration initiale en DPPH. Ce test n'est pas suffisant mais utile comme premier système d'évaluation du potentiel antioxydant des échantillons à tester.

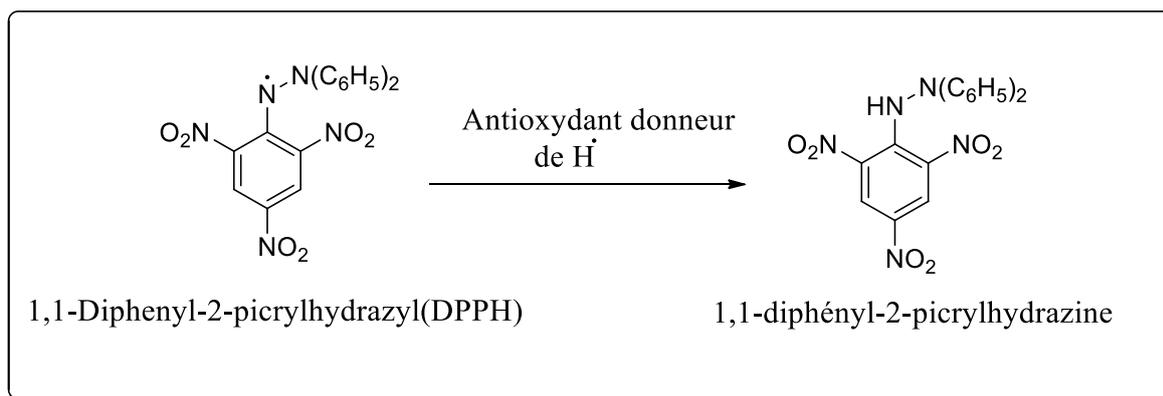


Figure 5 : Piégeage du radical libre DPPH par un antioxydant donneur de H•

En ajoutant une référence connue, on pourrait standardiser la méthode en ramenant par exemple les résultats à un équivalent Trolox. Cette méthode est utilisée pour mesurer la capacité antioxydante totale des extraits végétaux et alimentaires.

Le principe consiste à déposer des extraits, fractions ou produits purs à tester sur des plaques CCM de gel de silice GF 254 en aluminium et développer dans des systèmes appropriés. Après séchage, on gicle les plaques CCM avec une solution méthanolique à 2mg/mL de DPPH. Des activités anti-radicalaires apparaissent sous forme de spots de couleur jaune-verte sur fond violet.

I.5.1.4.2-Activité chélatrice.

Certaines espèces chimiques possèdent la capacité de chélation des ions des métaux de transition. La chélation des ions des métaux de transition est une activité antioxydante très importante car ces ions peuvent intervenir dans la production des radicaux libres (prooxydant) (Le et al., 2006). Parmi les espèces d'ions métalliques, les ions Fe²⁺ sont les prooxydants les plus puissants à cause de leur réactivité élevée (Gulcin et al., 2010).

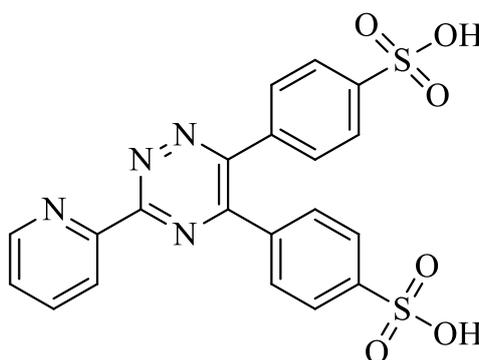
La capacité chélatrice d'un échantillon est déterminée selon une méthode qui est basée sur l'inhibition de la formation du complexe Fe(II)-Ferrozine après le traitement des échantillons avec les ions Fe²⁺. Des volumes égaux des solutions d'échantillon ou du chélateur standard (EDTA) à différentes concentrations sont additionnés à un même volume de solution de FeCl₂ et de méthanol. Après un temps d'incubation bien déterminé, une quantité de ferrozine (acide 3-(2-pyridyl)-5,6-bis (4-phényl)-sulfonique) **71** est ajoutée, et le mélange est agité et laissé réagir pendant environ 10 minutes pour permettre la complexation

du fer résiduel. L'absorbance du complexe Fe^{2+} -ferrozine de couleur rouge est mesurée à une longueur d'onde déterminée (généralement 562nm). L'activité chélatrice est exprimée en pourcentage en utilisant l'équation ci-dessous : **(Le et al., 2006)**.

$$\text{Activité chélatrice (\%)} = [(\text{Ac} - \text{At}) / \text{Ac}] \times 100$$

Ac : absorbance du contrôle.

At : Absorbance du test.



71

I.5.2-Les antiprolifératifs.

I.5.2.1-Généralités (Hetie ,2012).

Le cancer correspond à la prolifération anarchique de certaines cellules de l'organisme. Ces cellules qui échappent aux mécanismes de différenciation et de régulation sont capables de détruire et d'envahir le tissu normal avoisinant et de migrer à distance pour former des métastases. D'un point de vue biologique, le cancer est la conséquence d'une accumulation d'altération du génome cellulaire ou de sa transcription qui permettent l'autonomie de la division, l'invasion locale, l'angiogenèse, la diffusion métastatique ou la résistance aux drogues.

Un antiprolifératif est un agent capable d'inhiber la multiplication cellulaire. On peut distinguer de façon très schématique, quatre(4) classes de médicaments utilisés en chimiothérapie anti-cancéreuse. Il s'agit des alkylants, des agents intercalants, des anti-métabolites et des antimétabolites.

- ❖ Alkylants : Ce sont des composés capables de fixer un groupe alkyl (R-CH_2) sur des acides nucléiques (ADN) ou des protéines. Les principales familles chimiques rencontrées sont les moutardes azotées (Chlorméthine, melphalan), les Ethylène-

imines ou aziridines, les sulfonylalcane, Les nitroso-urées et les complexes du platine.

- ❖ Agents intercalants : Ils agissent par insertion d'une molécule aromatique plane dans la double hélice de l'ADN (**Hurley, 2002**). Il s'ensuit un blocage de la réplication de l'ADN, l'arrêt du cycle cellulaire puis la mort de la cellule cancéreuse. Les principaux médicaments utilisés en clinique sont souvent extraits de champignons, d'où le terme générique d'antibiotiques. Les principales familles utilisées sont : les bléomycines, les actinomycines et les anthracyclines.
- ❖ Anti-métabolites : Les agents anti-métabolites agissent indirectement sur l'ADN en bloquant des enzymes impliquées dans la synthèse ou la réplication de l'ADN. Les anti-métabolites peuvent être subdivisés en deux groupes à savoir les anti-foliques (méthotrexate) et les anti-pyrimidines (la fluoro-uracile).
- ❖ Antimitotiques : Les antimitotiques peuvent être subdivisés en 2 groupes :
 - ✓ Ceux qui inhibent la polymérisation de la tubuline en microtubules (Alcaloïdes de la pervenche : Vincristine, Vinblastine, etc.).
 - ✓ Ceux qui empêchent la dépolymérisation des microtubules (alcaloïdes d'Iif, Paclitaxel, Docetaxel).

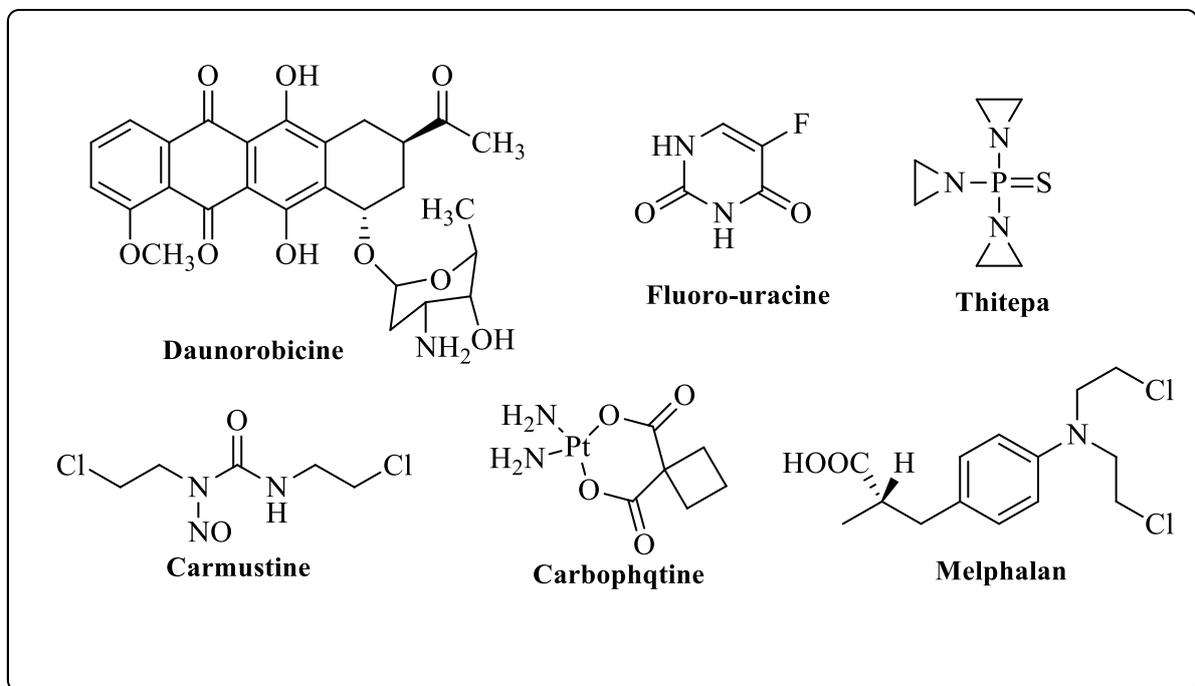


Figure 6 : Quelques exemples d'antiproliferatifs

I.5.2.2-Exemple de méthode d'évaluation de l'activité antiproliférative (Hetier, 2012)

L'effet antiprolifératif peut être évalué par le test colorimétrique MTT (Mitochondrial Tetrazolium). Ce test fait partie des méthodes fondées sur des perturbations de la perméabilité des cellules et utilise le sel de tétrazolium MTT qui est un colorant nécessitant une étape de métabolisation une fois avoir pénétré dans les cellules vivantes.

Le principe de ce test est basé sur la capacité des cellules vivantes métaboliquement actives à réduire l'anneau de tétrazolium contenu dans le sel de tétrazolium (de couleur jaune) par leur succinate déshydrogénase mitochondriale en cristaux de Formazan (de couleur violette). Le nombre de cellules vivantes après 72h d'incubation en présence ou non des composés à tester est directement proportionnel à l'intensité de la coloration violette mesurée quantitativement par spectrophotométrie à une longueur d'onde donnée.

L'étude bibliographique faite sur les plantes du genre *Croton* nous a permis de constater une large utilisation des plantes de ce genre dans la médecine traditionnelle. Les tests biologiques déjà effectués sur certains extraits et composés des plantes de ce genre ont montré des activités biologiques très satisfaisantes. Dans le but d'apporter notre contribution à la connaissance chimio taxonomique de ce genre, nous nous sommes proposés :

- D'entreprendre l'étude phytochimique de *Croton oligandrum* afin d'en isoler les métabolites secondaires.
- De soumettre les composés isolés aux tests d'activités biologiques afin de déterminer ou d'étendre leur spectre d'activités.

CHAPITRE II :

RESULTATS ET DISCUSSION

II-1-ISOLEMENT DES COMPOSES.

Les écorces du tronc de *Croton oligandrum* ont été récoltées deux fois.

La première récolte a eu lieu en Mars 2013 à Nkol-Nkoumou une localité située dans l'arrondissement de Yaoundé 7. Elles ont été découpées, séchées et broyées. Nous avons ainsi obtenu 3kg de poudre qui ont été extrait au mélange chlorure de méthylène/méthanol (1 :1) à température ambiante pendant 48 heures puis au méthanol pendant 48 heures. Après évaporation sous pression réduite, nous avons obtenu respectivement 110g et 90g d'extrait qui ont été combinés sur la base des CCM analytiques. Après séparation et purification par des méthodes chromatographiques usuelles, nous avons obtenu huit composés indexés CO1 à CO6, CO11 et CO2116 (**Schéma 4**).

La deuxième récolte a eu lieu en Janvier 2014 toujours dans le village Nkol-Nkoumou. Les écorces de cette récolte ont été découpées séchées et broyées. Les 2,5kg de poudre obtenue ont été extrait au mélange chlorure de méthylène/méthanol (1 :1) à température ambiante pendant 48 heures. L'évaporation sous pression réduite nous a permis d'obtenir 100g d'extrait. Après solubilisation différentielle à l'hexane et l'acétate d'éthyle, 22,8g et 50g d'extraits ont été respectivement obtenus. Après séparation et purification par des méthodes chromatographiques usuelles nous avons obtenu de l'extrait à l'acétate d'éthyle huit composés indexés CO1 à CO5 ; CO12 à CO14 (**Schéma 5**).

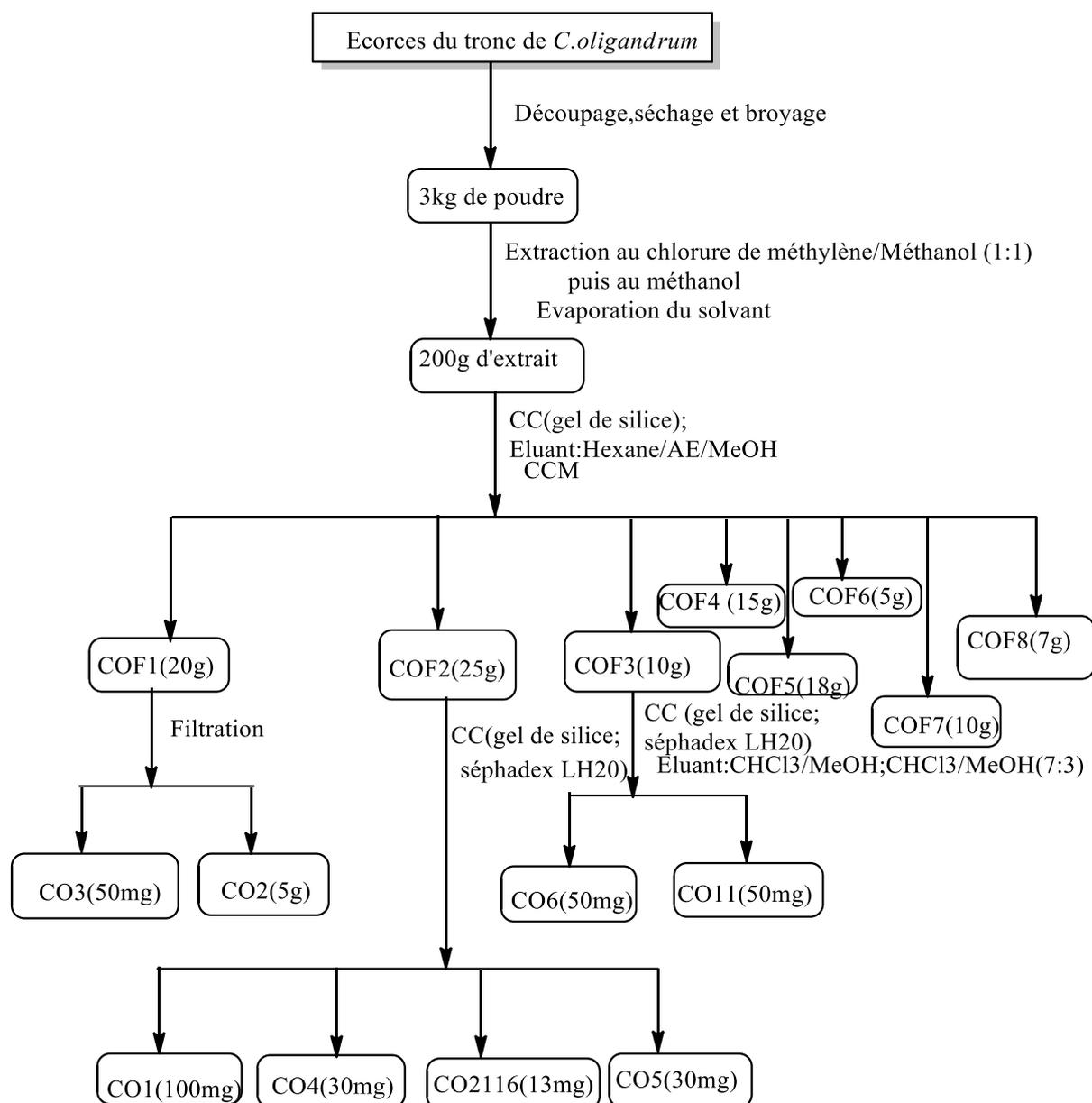


Schéma4 : Protocole d'extraction et d'isolement des composés des écorces du tronc de *Croton oligandrum* récoltées Mars 2013.

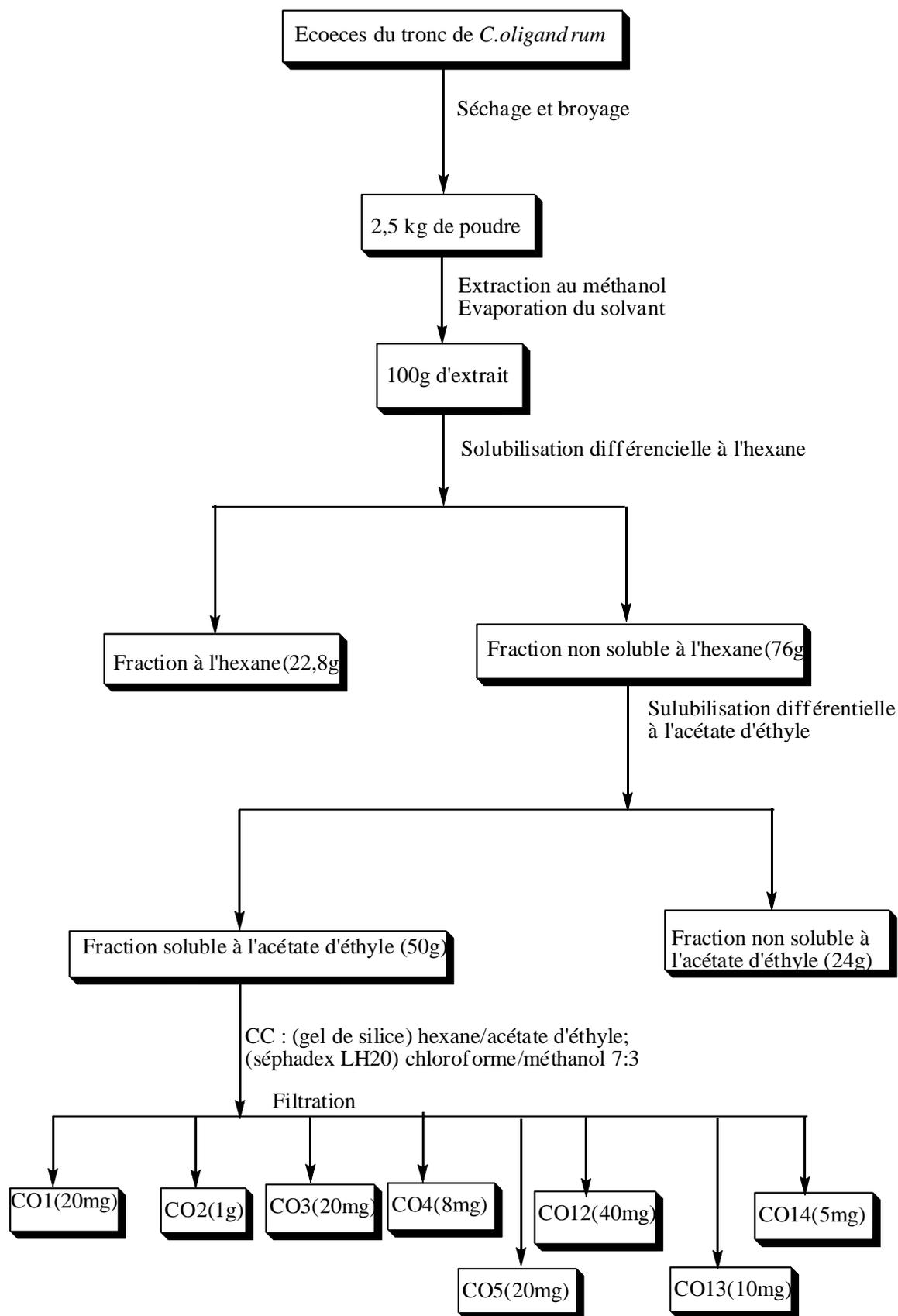


Schéma 5 : Protocole d'extraction et d'isolement des composés des écorces du tronc de *Croton oligandrum* récoltées en Janvier 2014.

Les écorces des racines de *Croton oligandrum* ont été récoltées en Avril 2014 à Nkol-Nkoumou. Elles ont été découpées, séchées et broyées. Nous avons ainsi obtenu 2,5kg de poudre qui ont été extraite au mélange chlorure de méthylène/méthanol (1 :1) à température ambiante pendant 48 heures. Après évaporation sous pression réduite, nous avons obtenu 180g d'extrait. Après séparation et purification par des méthodes chromatographiques usuelles de 160g d'extrait, nous avons obtenu quatorze composés indexés COR1 à COR12, CORF1a et CORF1b (**Schéma 6**).

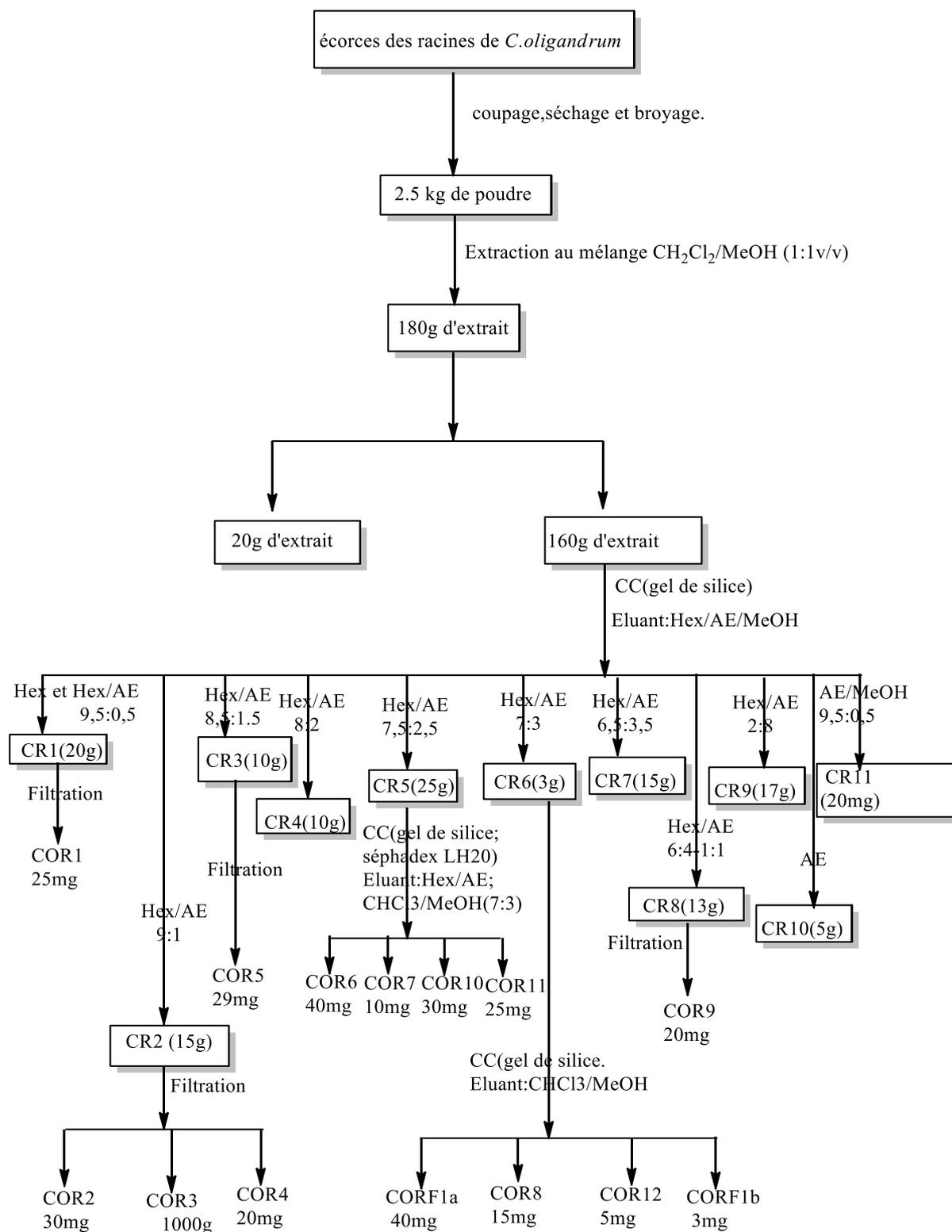


Schéma 6 : Protocole d'extraction et d'isolement des composés des écorces des racines de *Croton oligandrum*.

Les feuilles de *Croton oligandrum* ont été récoltées en Janvier 2014 à Nkol-Nkoumou. Elles ont été, séchées et broyées. Nous avons ainsi obtenu 2,5kg de poudre qui ont

été extrait au méthanol à température ambiante pendant 48 heures. Après évaporation sous pression réduite, nous avons obtenu 100g d'extrait. Après séparation et purification par des méthodes chromatographiques usuelles, nous avons obtenu quatre composés indexés CORFe1 à CORFe4 (Schéma 7).

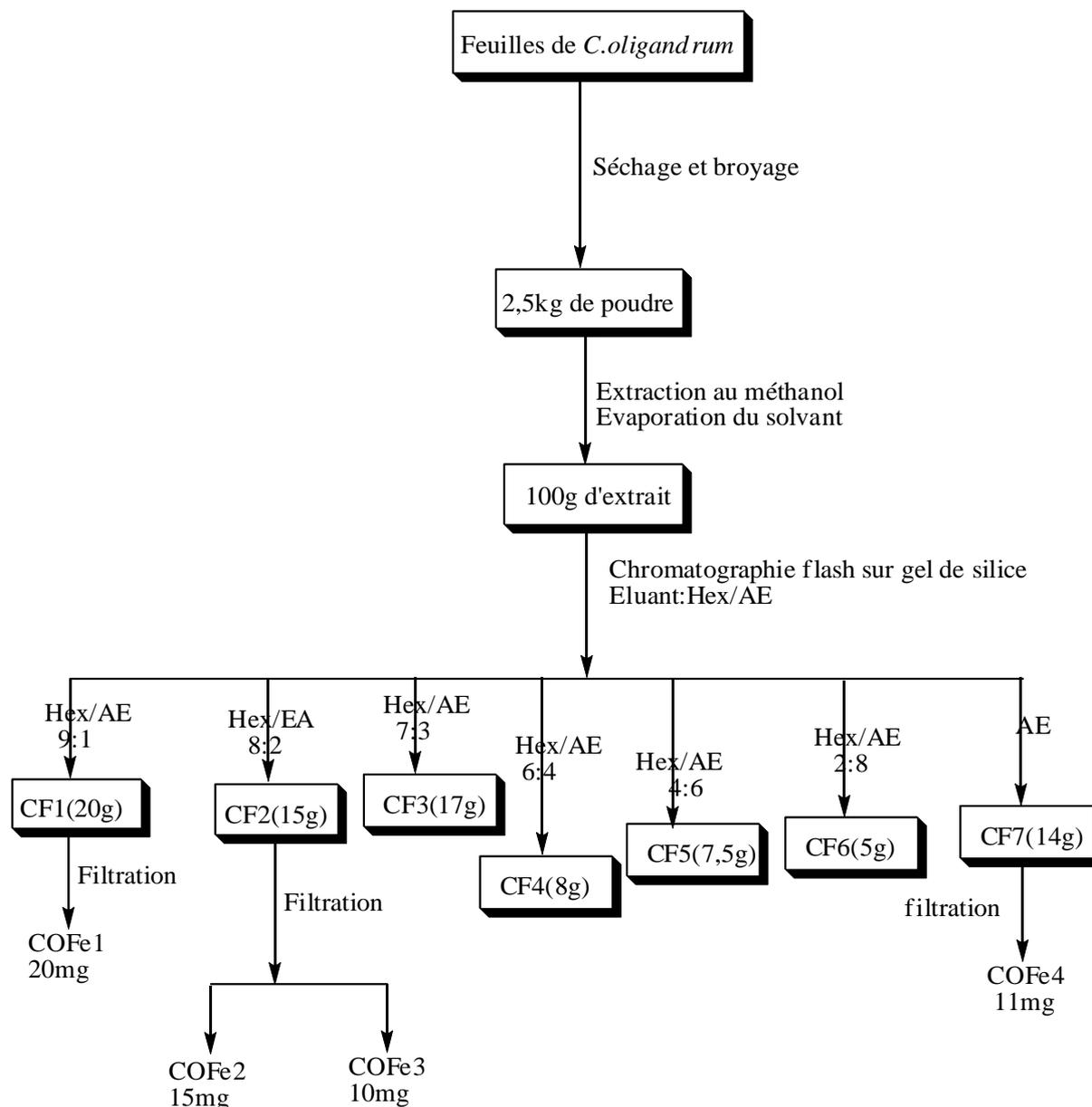


Schéma 7 : Protocole d'extraction et d'isolement des composés des feuilles de *Croton oligandum*

Le bois de *Croton oligandrum* a été récolté en Janvier 2014 à Nkol-Nkoumou. Il a été découpé, séché et broyé. Nous avons ainsi obtenu 2kg de poudre qui ont été extrait au méthanol à température ambiante pendant 72 heures. Après évaporation sous pression réduite, nous avons obtenu 10g d'extrait. Après séparation et purification par des méthodes chromatographiques usuelles, nous avons obtenu quatre composés indexés COb1, CObSP1 à CObSP3 (Schéma 8).

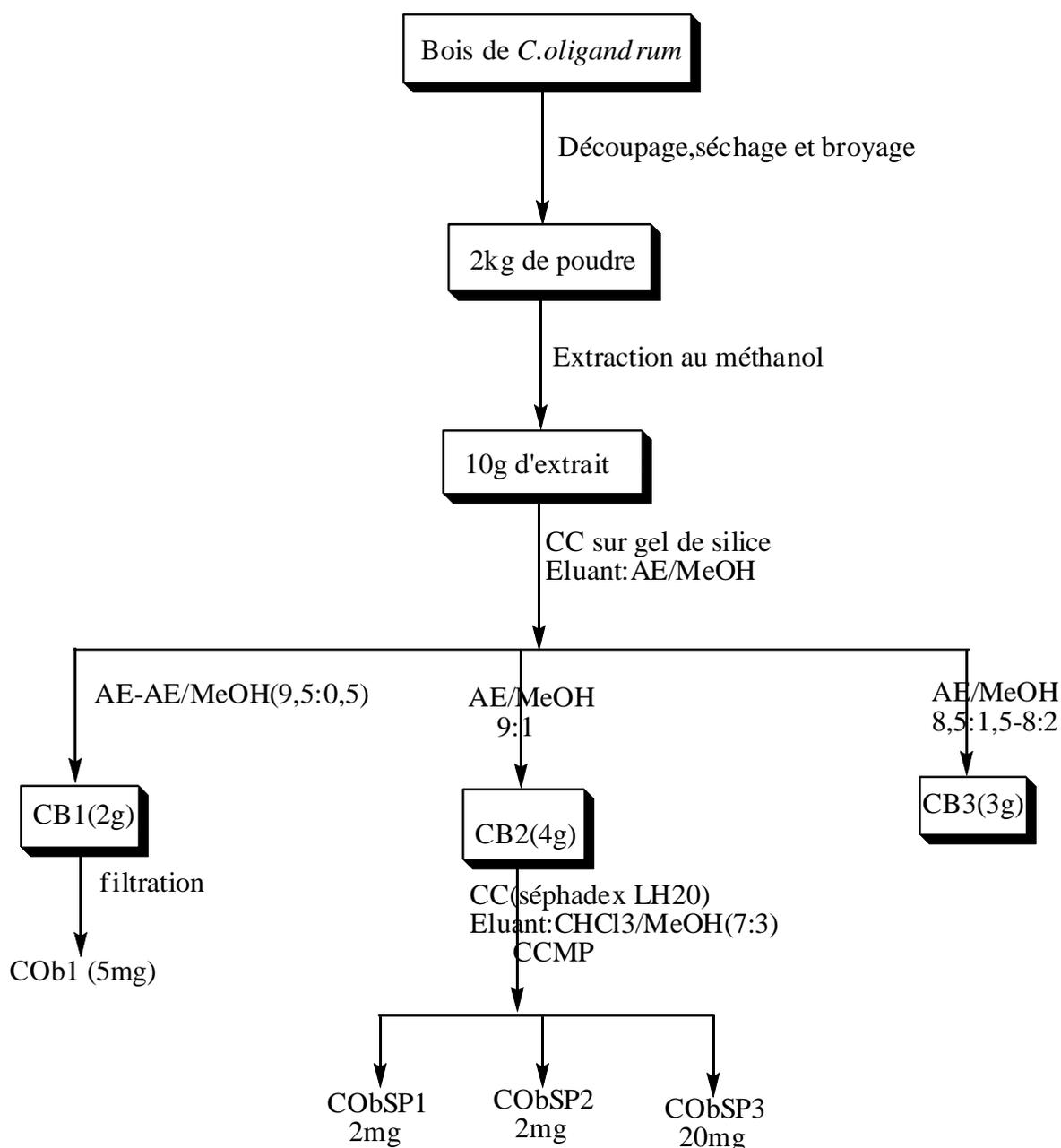


Schéma 8 : Protocole d'extraction et d'isolement des composés du bois de *Croton oligandrum*.

Certains composés isolés des différentes parties de la plante ont été reconnus comme étant identiques sur la base de la CCM analytique et parfois par comparaison de leurs données spectroscopiques de RMN ¹H. Le **tableau V** ci-dessous présente les codes des composés isolés de chacune des parties étudiées, ainsi que les codes des composés identiques isolés des autres parties.

Tableau V : Codes des composés isolés des différentes parties de *Croton oligandrum*.

Code	Ecorces du tronc	Ecorces des racines	Feuilles	Bois
CO1	✓	✓ (COR5)	-	-
CO2	✓	✓ (COR4)	✓ (COFe3)	-
CO3	✓	-	-	-
CO4	✓	-	-	-
CO5	✓	-	-	-
CO6	✓	-	-	-
CO11	✓	-	-	-
CO12	✓	✓ (COR11)	-	-
CO13	✓	✓ (COR12)	-	✓ (CObSP2)
CO14a	✓	-	-	-
CO2116	✓	✓ (COR3)	✓ (COFe3)	-
COR1	✓	-	-	-
COR2	-	-	-	✓
COR6	-	✓	-	-
COR7	-	✓	-	-
COR8	-	✓	-	-
COR9	-	✓	-	-
COR10	-	✓	-	-
CORF1a	-	✓	-	-
CORF1b	-	✓	-	-
CObSP1	-	✓	-	-
CObSP3	-	✓	-	-
COFe1	-	-	✓	-
COFe4	-	-	✓	✓ (Cb1)

✓ = a été isolé - = n'a pas été isolé

II-2-CARACTERISATION DES COMPOSES ISOLES

L'étude chimique de *Croton oligandrum* nous a permis d'isoler 22 métabolites secondaires purs et un mélange de deux composés ; ces différents composés, caractérisés sur la base de leurs données spectroscopiques et physiques ainsi que par CCM comparative ont été regroupés en quatre classes structurales : triterpénoïdes (04), stéroïdes (05), diterpénoïdes (12) et composés phénoliques (03).

II-2-1-Les triterpénoïdes

II-2-1-1-Identification de CO1 : acide acétyle aleuritologique

Isolé des écorces du tronc et des racines de *C. oligandrum*, CO1 se présente sous forme de poudre blanche amorphe dans le mélange hexane/acétate d'éthyle (9 : 1). Il est soluble dans le chloroforme et donne en présence du réactif de Libermann Burchard une coloration rouge violacée indiquant qu'il est un triterpène.

Son spectre de masse en Impact Electronique présente le pic de l'ion moléculaire à m/z 498,3762, compatible avec la formule brute $C_{32}H_{50}O_4$ renfermant 8 insaturations.

Sur son spectre de RMN 1H (300MHz, $CDCl_3$, tableau VI ; figure 7) on observe des signaux attribuables à 8 méthyles à δ_H 0,89 ; 0,92 ; 0,96 ; 0,97 ; 0,99(6H, s) ; 1,00 ; 2,08. Le signal à 2,08 ppm attribuable à un groupement méthyle lié à un carbone sp^2 . On observe aussi sur ce spectre le signal du proton d'un oxyméthine à δ_H 4,50(1H, dd, $J=6,0$ et $9,9$ Hz) attribuable au proton H-3 α des triterpènes ; cette valeur élevée de δ_H peut être justifié par la présence d'un groupement attracteur tel que le carbonyle d'un ester (Connolly et Hill, 1991). La grande valeur de la constante de couplage de 9,9Hz montre que ce proton est en axial. Ce spectre 1H présente aussi le signal d'un proton éthylénique à δ_H 5,58(1H, dd, $J=3,3$ et $8,1$ Hz).

CO1 ABEGA
 PROTON CDCl3



Current Data Parameters
 NAME: CO1
 EXPNO: 1
 PROCNO: 1
 F2 - Acquisition Parameters
 Date_: 20110531
 Time: 11.13
 INSTRUM: spect
 PROBHD: 5 mm QNP 1H/13
 PULPROG: zg30
 TD: 65536
 SOLVENT: CDCl3
 NS: 16
 DS: 2
 SWH: 6172.839 Hz
 FIDRES: 0.094190 Hz
 AQ: 5.3084660 sec
 RG: 1024
 DW: 81.000 usec
 DE: 6.00 usec
 TE: 297.2 K
 D1: 1.0000000 sec
 TDO: 1

***** CHANNEL f1 *****
 NUC1: 1H
 P1: 6.72 usec
 PL1: 0.00 dB
 SFO1: 300.1318534 MHz
 F2 - Processing parameters
 SI: 32768
 SF: 300.1300000 MHz
 WDW: EM
 SSB: 0
 LB: 0.30 Hz
 GB: 0
 PC: 1.00

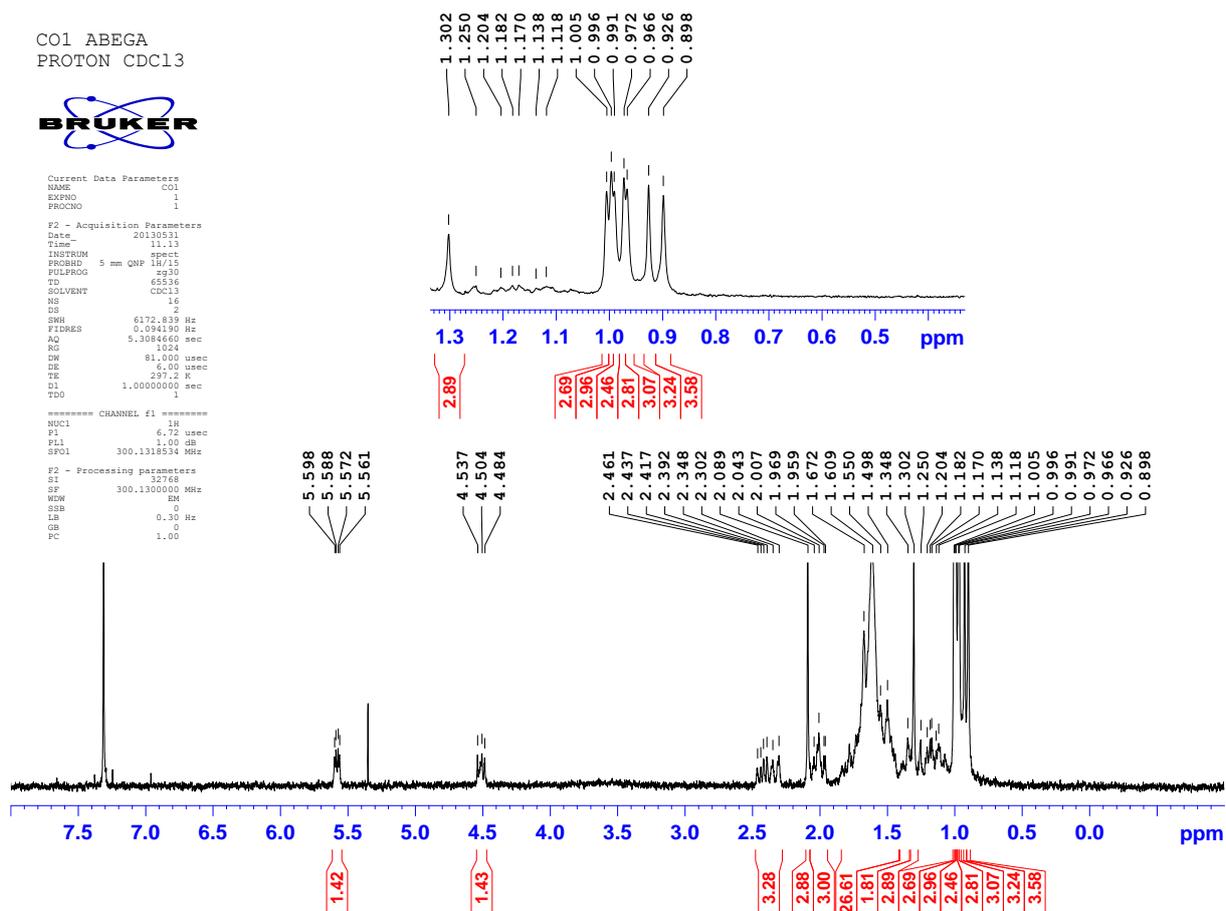


Figure 7 : Spectre de RMN ¹H (300MHz, CDCl₃) de CO1.

L'analyse de ses spectres de RMN ¹³C (75MHz, CDCl₃, Tableau VI ; .Figure 8) et DEPT 135 révèle les signaux de 32 atomes de carbone dont :

- le signal à δ_C 80,9 attribuable au carbone d'un oxyméthine ;
- les signaux de deux carbones éthyléniques à δ_C 116,9 et 160,5 caractéristiques des carbones C-14 et C-15 des triterpènes pentacycliques de la série des taraxanes (Mahato et Kundu, 1994) ;
- les signaux à δ_C 171,0 et 184,6 attribuables respectivement à un carbonyle des esters et à carbonyle d'acides carboxyliques.

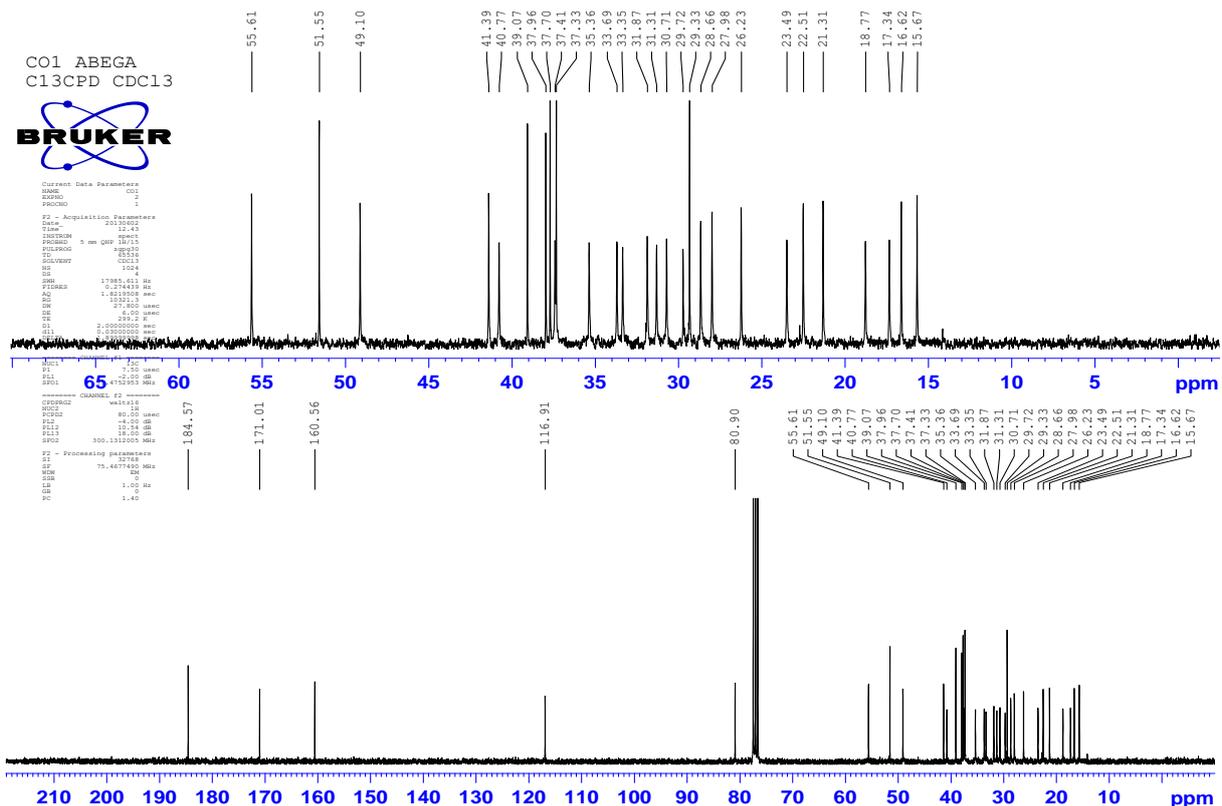
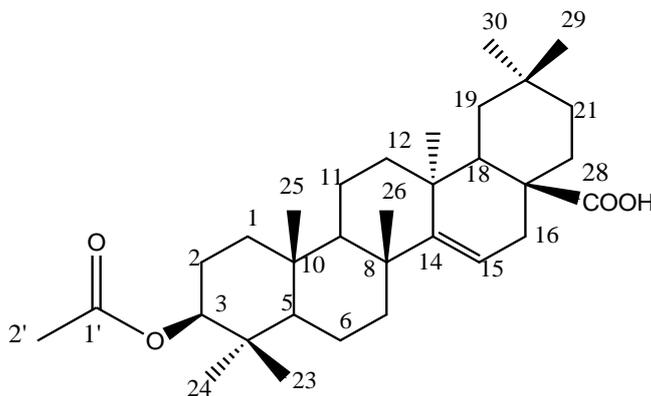


Figure 8 : Spectre de RMN ^{13}C (75MHz, CDCl_3) de CO1.

La comparaison de ces données avec celles de la littérature permet d'attribuer à CO1 la structure **72** qui est celle de l'acide acétyl aleuritolique déjà isolé de plusieurs plantes du genre *Croton* telle que *Croton macrostachys* (Kapingu et al, 2000).

L'acide acétyl aleuritolique présente des activités antifilaires et lutte contre l'onchocercose gutturosa (Nyasse et al., 2006).



72

Tableau VI: Données de RMN ¹H (300MHz, CDCl₃) et ¹³C (75MHz, CDCl₃) de CO1 comparées à celles de la littérature.

N°	δ _H	δ _C	δ _C de l'acide acétyle aleuritolique (Mahato et Kundu, 1994)
1		37,4	37,4
2	1,55 et 1,88	23,5	23,4
3	4,50	80,9	80,8
4	-	37,7	37,6
5		55,6	55,5
6		18,7	18,7
7		40,7	40,7
8	-	39,0	39,0
9		49,1	49,0
10	-	37,9	37,9
11		17,3	17,2
12		33,3	33,2
13	-	37,3	37,2
14	-	160,5	160,5
15	5,58	116,9	116,8
16	2,42 et 2,32	31,3	31,3
17	-	51,5	51,4
18		41,4	41,3
19		35,3	35,2
20	-	29,3	29,2
21		33,7	33,6
22		30,7	30,6
23	0,99	27,9	27,9
24	0,92	16,6	16,5
25	0,89	15,7	15,6
26	0,96	26,2	26,1
27	0,97	22,5	22,4
28	-	184,6	184,2
29	1,00	31,9	31,8
30	0,99	28,6	28,6
1'	-	171,0	
2'	2,08	21,3	

II-2-1-2-Identification de CO2 : Lupéol.

CO2 se présente sous forme de paillettes blanches dans le mélange hexane/acétate d'éthyle (8,5 :1,5). Il fond à 216°C et est soluble dans le chloroforme. Le test de Libermann Burchard relatif aux triterpènes est positif en présence de CO2.

L'analyse de ses spectres de RMN ^1H , ^{13}C et DEPT 135 permet d'attribuer à CO2 la formule brute $\text{C}_{30}\text{H}_{50}\text{O}$ renfermant 6 insaturations.

Sur son spectre de **RMN ^1H (300MHz, CDCl_3 , Tableau VII, Figure 9)** on observe :

- six signaux à δ_{H} 0,80 ; 0,83 ; 0,87 ; 0,98 ; 1,01 et 1,07 attribuables à 6 méthyles tertiaires ;
- un signal à δ_{H} 1,72 attribuable aux protons d'un méthyle vinylique ;
- le signal du proton d'un oxyméthine à δ_{H} 3,23(1H, dd, $J=5,1$ et $10,8$ Hz) attribuable au proton H-3 α des triterpènes hydroxylés en C-3 (**Connolly et Hill, 1991**). La grande valeur de la constante de couplage de 10,8Hz montre que ce proton est en axial ;
- deux signaux attribuables à deux protons éthyléniques à δ_{H} 4,73(1H, sl) et 4,61(1H, sl).

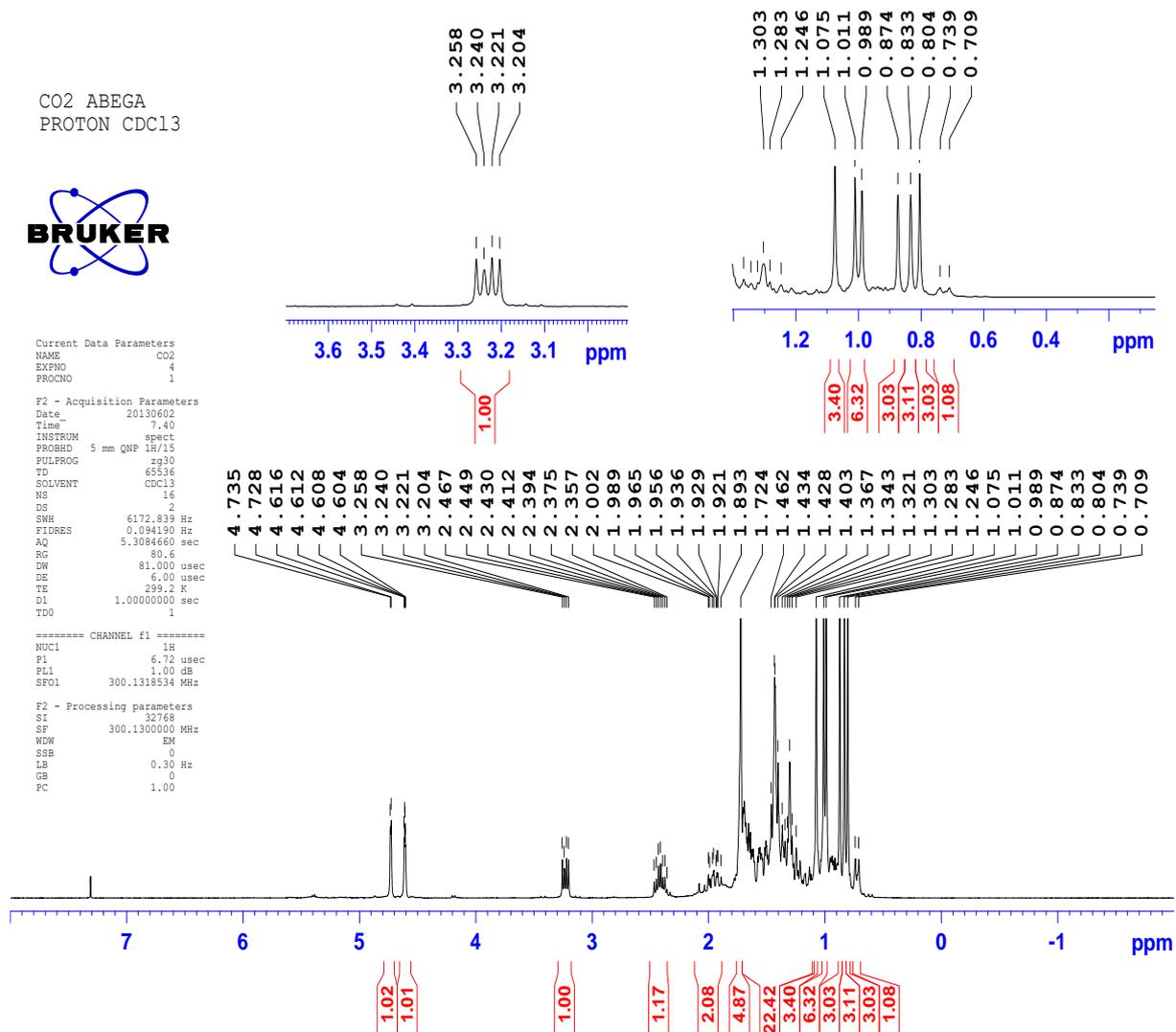


Figure 9 : Spectre de RMN ^1H (300MHz, CDCl_3) de CO2

Ses spectres de RMN ^{13}C (75MHz, CDCl_3 , Tableau VII, Figure 10) et DEPT 135 permettent d'identifier :

- le signal du carbone d'un oxyméthine à δ_{C} 79,0 ;
- les signaux de deux carbones éthyléniques à δ_{C} 109,4 et 150,9 attribuables respectivement aux carbones C-29 et C-20 des triterpènes penta cycliques de la série des lupanes (Mahato et Kundu, 1994).

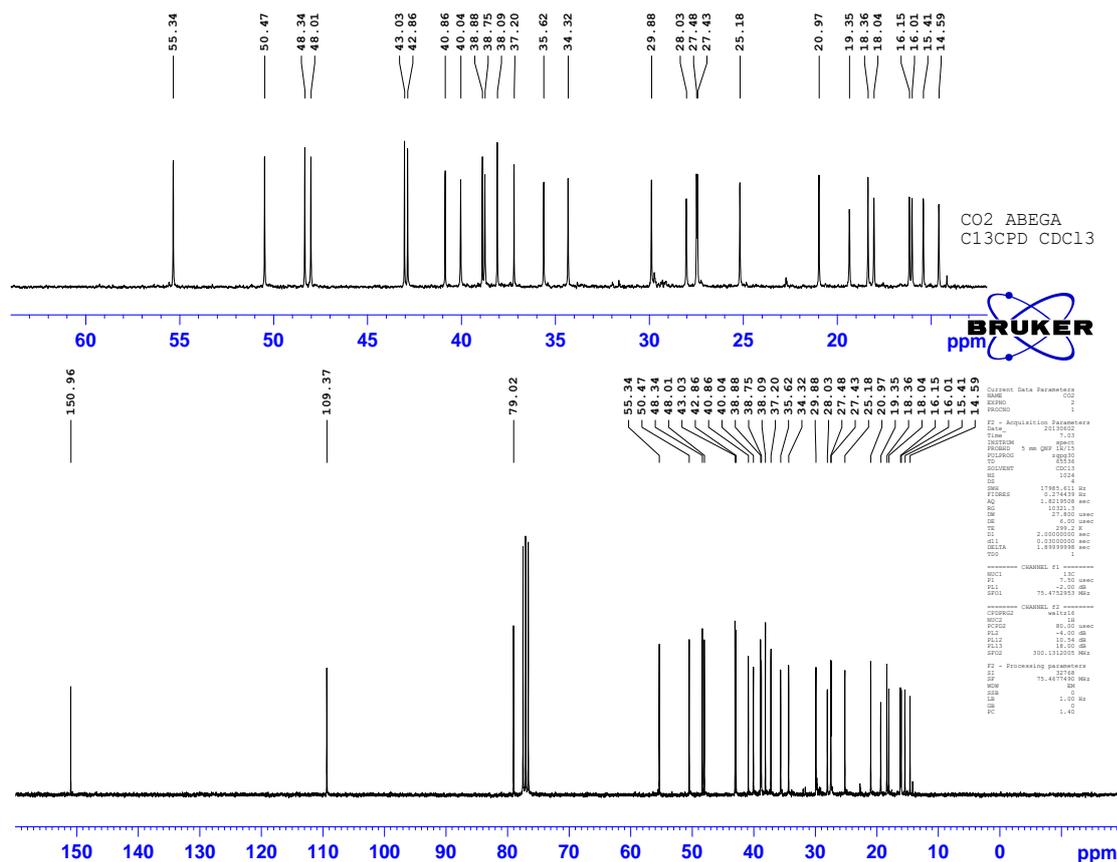
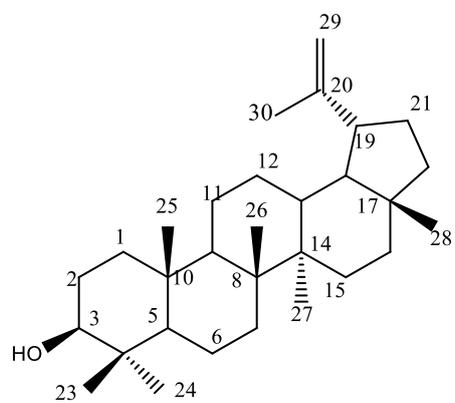


Figure 10 : Spectre de RMN ¹³C (75MHz, CDCl₃) de CO₂

La comparaison des données spectrales de CO₂ avec celles de la littérature permet de l'identifier au lupéol **73** déjà isolé de *Croton zambesicus* (Ngadjui et al, 2002).

Egalement présent dans les fruits (mangue, pomme), le Lupéol montre des actions anti-oxydantes. C'est un remède potentiel des maladies causées par les radicaux libres. Il présente également des activités anti-inflammatoires (Geetha et al., 1998). Le traitement au lupéol a montré un effet préventif significatif et un potentiel anti prolifératif et apoptotique ce qui est très prometteur pour la lutte contre le cancer de la peau (Nigam et al., 2009).



73

Tableau VII: Données de RMN ¹H (300MHz, CDCl₃) et ¹³C (75MHz, CDCl₃) de CO₂ comparées à celles de la littérature.

N°	δ _H	δ _C	δ _C Du lupéol (Mahato et Kundu, 1994)
1		38,7	38,7
2		27,4	27,4
3	3,23	79,0	78,9
4	-	38,9	38,8
5	0,72	55,3	55,3
6		18,4	18,3
7		34,3	34,2
8	-	40,8	40,8
9		50,5	50,4
10	-	37,2	37,1
11		21,0	20,9
12		25,2	25,1
13		38,1	38,0
14	-	42,8	42,8
15		27,5	27,4
16		35,6	35,5
17	-	43,0	43,0
18	2,41	48,3	48,2
19		48,0	47,9
20	-	150,9	150,9
21		29,9	29,8
22		40,0	40,0
23	1,07	28,0	28,0
24	0,80	14,4	15,4
25	0,98	16,1	16,1
26	0,87	16,0	15,9
27	0,83	14,6	14,5
28	1,01	18,0	18,0
29	4,73 et 4,61	109,4	109,3
30	1,72	19,3	19,3

II-2-1-3-Identification de COFe1 : Taraxerol

Isolé des feuilles de *C. oligandrum*, COFe1 se présente sous forme de cristaux blancs dans le mélange hexane/acétate d'éthyle (95 :5). Il est soluble dans le chloroforme, fond entre 282°C et 283°C et donne un test positif au réactif de Libermann Burchard caractéristique des triterpènes.

L'analyse de ses spectres de RMN ^1H et ^{13}C permet de lui attribuer la formule brute $\text{C}_{30}\text{H}_{52}\text{O}$ renfermant 5 insaturations.

Sur son spectre de RMN ^1H (600MHz, CDCl_3 , Tableau VIII, Figure 11) on identifie :

- Les signaux de 8 méthyles entre δ_{C} 0,80 et 1,09 ;
- Le signal du proton d'un oxyméthine à δ_{H} 3,19 (1H, ld, 5,1 Hz) attribuable au proton H-3 α des triterpènes hydroxylés en C-3 (Connolly et Hill, 1991) ;
- Le signal d'un proton éthylénique à δ_{H} 5,53(1H, dd, J=1,5 et 4,2Hz) attribuable au proton H-15 des triterpènes de la série des taraxanes (Connolly et Hill, 1991).

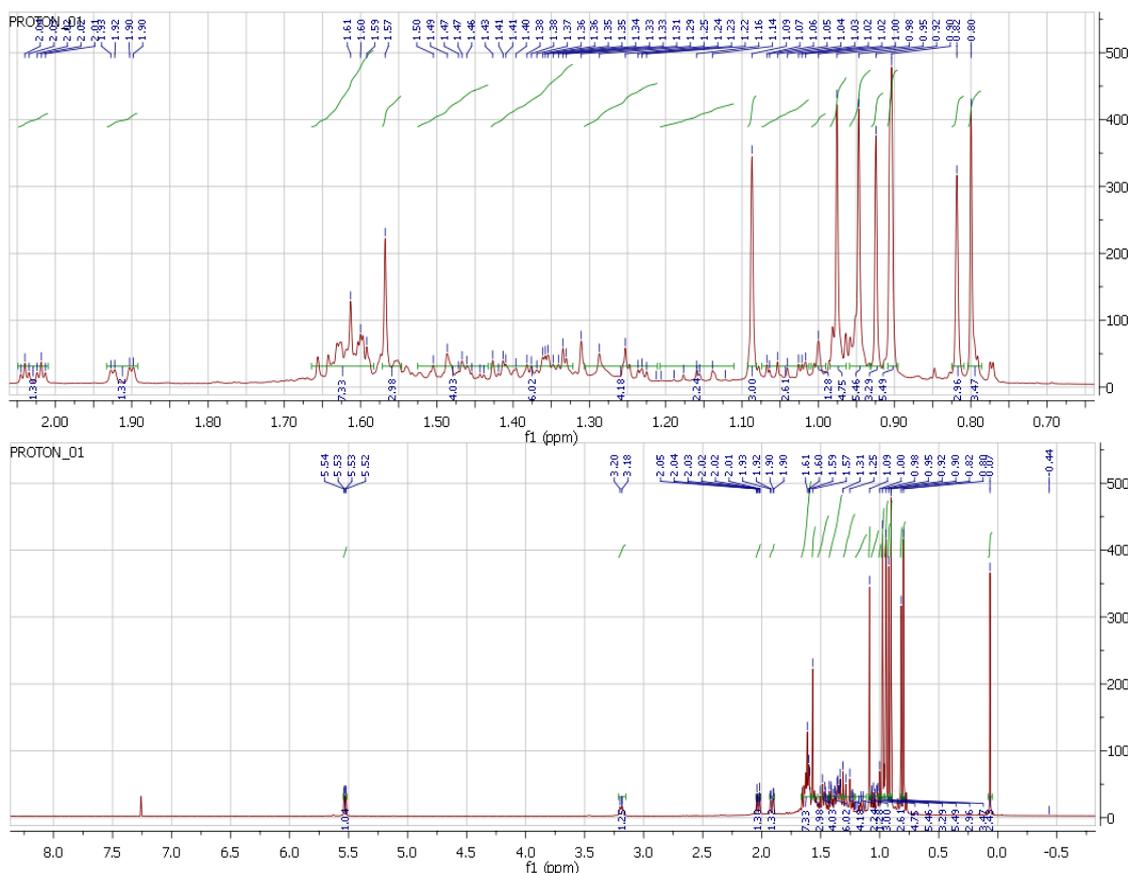


Figure 11 : Spectre de RMN ^1H (300MHz, CDCl_3) de COFe1

Sur son spectre de RMN ^{13}C (150MHz, CDCl_3 , Tableau VIII, Figure 12), on observe les signaux de deux carbones éthyléniques à δ_{C} 116,8 et 158,0 attribuables respectivement aux carbones C-15 et C-14 des triterpènes pentacycliques de la série des taraxanes (Mahato et Kundu, 1994). On observe aussi sur ce spectre le signal du carbone d'un oxyméthine à δ_{C} 79,0.

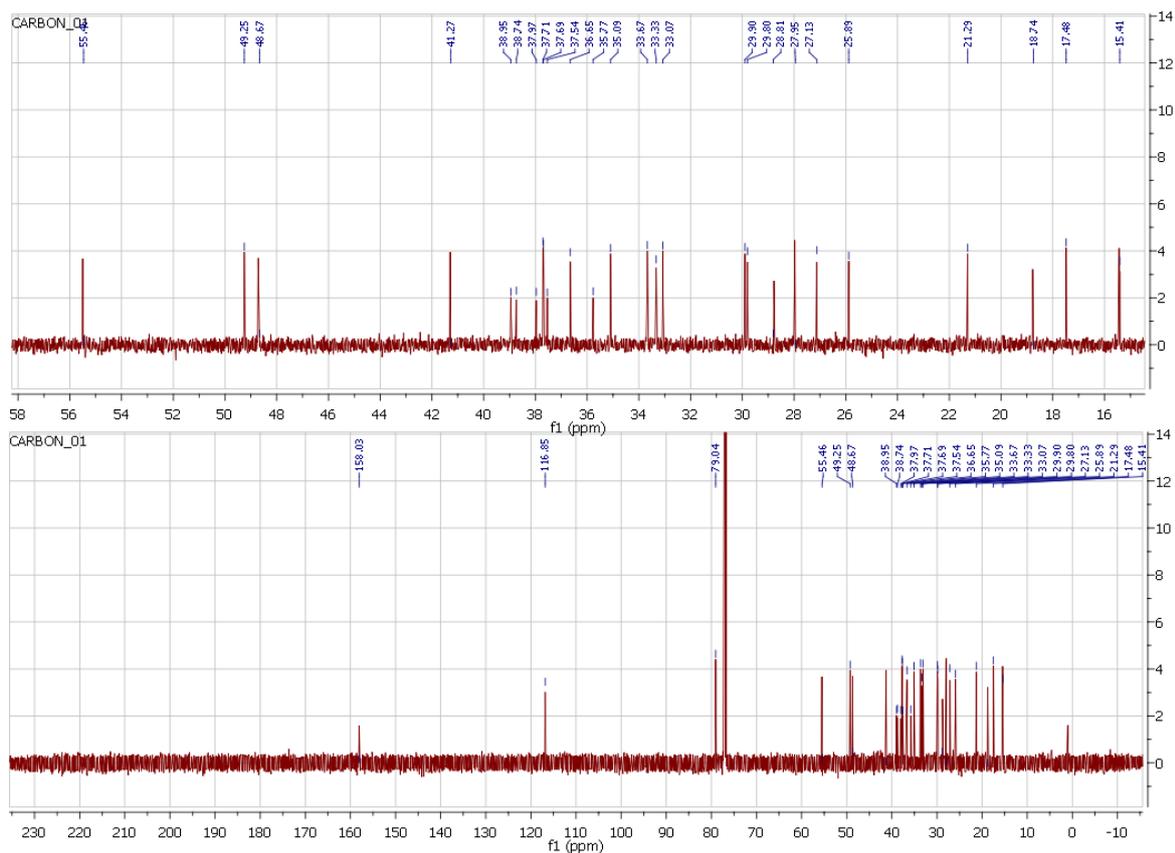
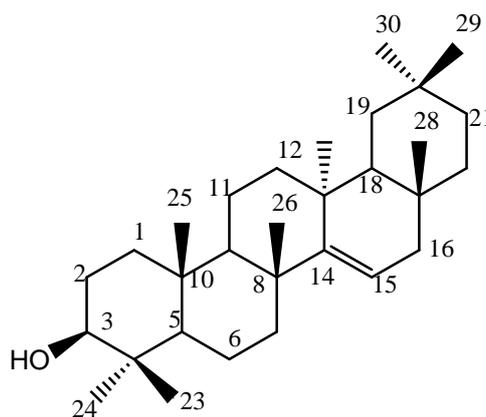


Figure 12 : Spectre de RMN ^{13}C (75MHz, CDCl_3) de COFe1

En combinant toutes ces données et en les comparant avec celles de la littérature (Mahato et Kundu, 1994), nous avons attribué à COFe1 la structure **74** qui est celle du taraxérol déjà isolé de plusieurs plantes du genre *Croton* comme *C.zambensicus* (Ngadjui et al., 2002).



74

Tableau VIII : Données de RMN ¹H (300MHz, CDCl₃) et ¹³C (75MHz, CDCl₃) de COFe1 comparées à celles de la littérature.

N°	δ _H	δ _C	δ _C du taraxérol (Mahato et Kundu, 1994)
1		38,0	38,1
2		27,1	27,3
3	3,19	79,0	79,2
4	-	38,9	39,1
5		55,5	55,7
6		18,7	19,0
7		35,1	35,3
8	-	38,7	38,9
9		48,7	48,9
10	-	37,7	37,9
11		17,5	17,7
12		35,8	35,9
13	-	37,7	37,9
14	-	158,0	158,1
15	5,53	116,8	117,0
16	1,91 et 2,02	36,6	36,9
17	-	38,0	38,1
18		49,2	49,4
19		41,3	41,4
20	-	28,8	29,0
21		33,7	33,9
22		33,0	33,2
23		27,9	28,1
24	0,80	15,4	15,6
25	0,92	15,4	15,6
26	0,90	29,9	30,1
27	1,09	25,9	26,0
28	0,82	29,8	30,1
29	0,95	33,3	33,5
30	0,90	21,3	21,5

II-2-1-4-Identification de CO14a : 3 α -acétoxy-15 α -hydroxyoléanan-28,13-olide.

CO14a est obtenu sous forme de poudre amorphe blanche dans le mélange hexane/acétate d'éthyle (8 :2), il est soluble dans le chloroforme et répond positivement au test de Libermann Burchard. La formule brute C₃₂H₅₀O₅ lui a été attribuée sur la base de ses spectres de RMN ¹H, ¹³C et DEPT 135.

Sur son spectre de RMN ¹H (300MHz, CDCl₃, Tableau IX, Figure 13) on observe:

- Les signaux attribuables aux protons de deux oxyméthines à δ_H 4,27(1H, dd, J=6,6 et 10,8Hz) et 4,48(1H, tl, J=9.0 Hz) les grandes valeurs des constantes de couplage de 10,8 et 9.0Hz indiquent que ces protons sont en axial. Le signal à δ_H 4,48 étant probablement celui du proton H-3 α des triterpènes pentacycliques estérifiés en C-3 (Connolly et Hill, 1991).
- Les signaux attribuables aux protons de 8 méthyles à δ_H 0,82 ; 0,86 ; 0,87 ; 0,91 ; 0,99 ; 1,03 ; 1,24 et 2,05. Le signal à δ_H 2,05 étant attribuable aux protons d'un méthyle lié à un carbonyle.

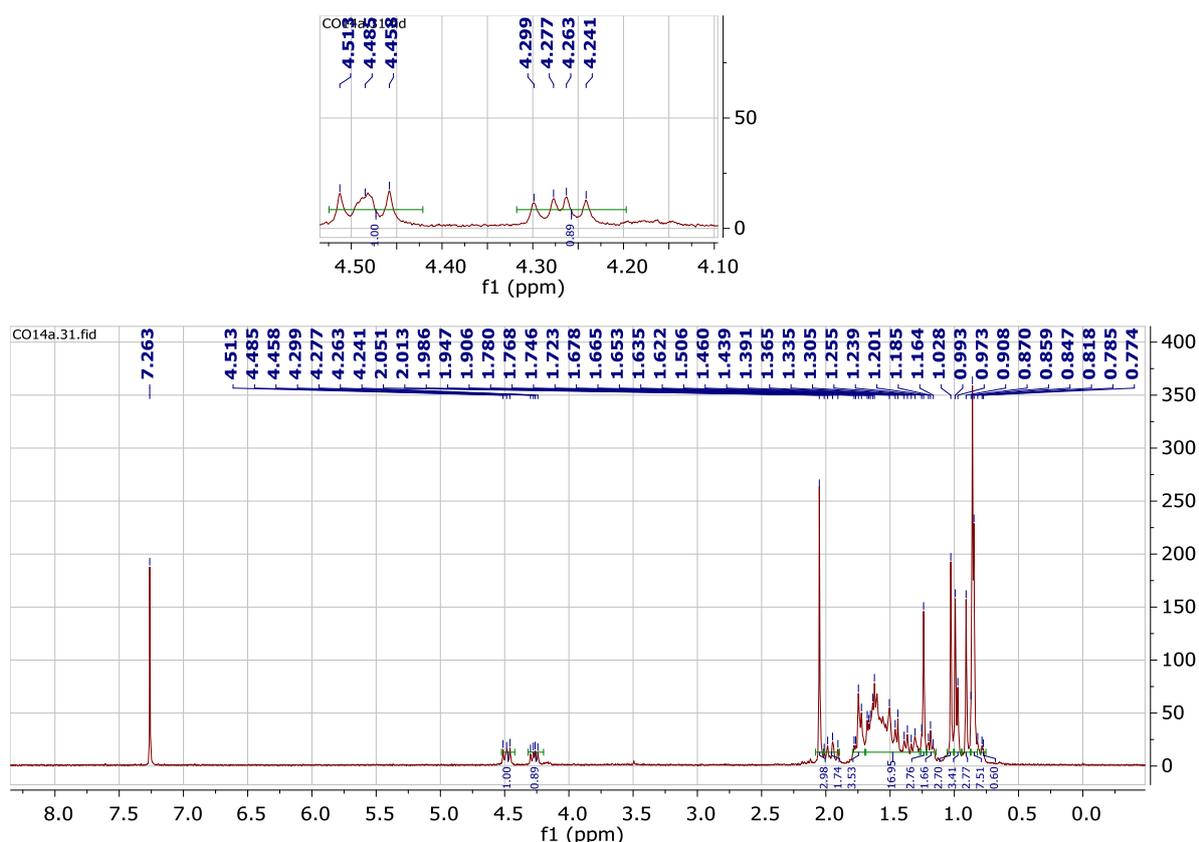


Figure 13 : Spectre de RMN ¹H (300MHz, CDCl₃) de CO14a

Les spectres de RMN ¹³C (75MHz, CDCl₃, Tableau IX, Figure 14) et DEPT 135 (Figure 15) de CO14a nous permettent d'identifier les signaux de 32 atomes de carbones parmi lesquels :

- Les signaux à δ_C 179,2 et 171,0 attribuables respectivement au carbonyle d'une γ -lactone et au carbonyle d'un ester.
- Deux signaux attribuables aux carbones de deux oxyméthines à δ_C 67,8 et 80,7.
- Un signal attribuable à un carbone quaternaire oxygéné à δ_C 93,2.

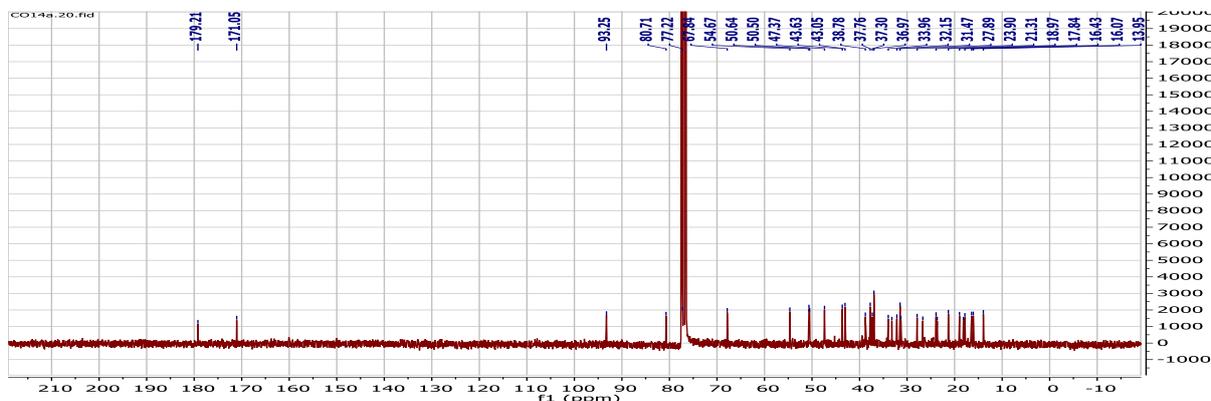


Figure 14 : Spectre de RMN ^{13}C (75MHz, $CDCl_3$) de CO14a

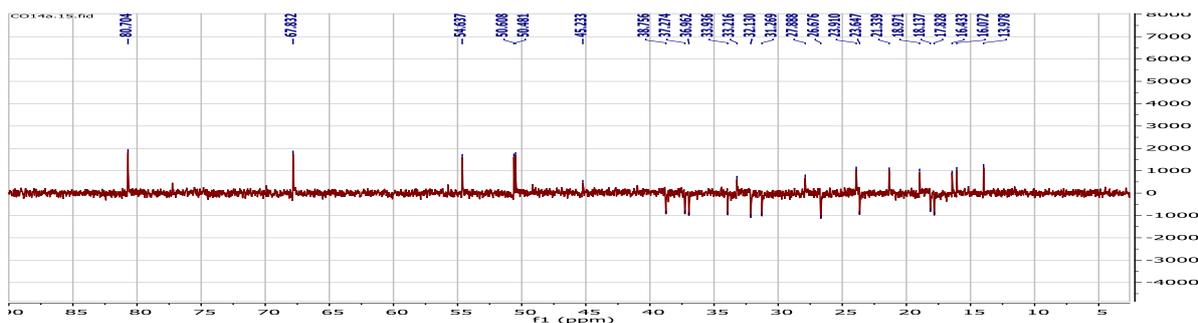
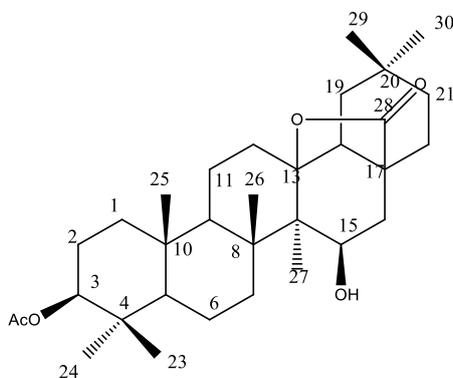


Figure 15 : Spectre DEPT 135 de CO14a

L'ensemble de toutes ces informations comparées à celles de la littérature nous a permis d'attribuer à CO14a la structure **75** qui est celle de la 3 α -acétoxy-15 α -hydroxyoléanan-28,13-olide isolé pour la première fois de *Croton zambezicus* (Keumedjio, 2003).



75

Tableau IX : Données de RMN ¹H (300MHz, CDCl₃) et ¹³C (75MHz, CDCl₃) de CO14a comparées à celles de la littérature.

N°	δ _H	δ _C	δ _C 3α-acétoxy-15β-hydroxyoléanan-28,13-olide (Keumedjio, 2003)
1		38,8	39,1
2		26,7	27,1
3	4,48	80,7	81,1
4	-	37,8	38,1
5		54,7	55,0
6		18,1	18,5
7		37,8	38,7
8	-	47,4	47,7
9		50,5	50,9
10	-	37,0	37,3
11		17,8	18,2
12		26,7	27,1
13	-	93,5	93,7
14	-	43,0	43,4
15	4,27	67,9	68,2
16		23,6	24,0
17	-	43,6	43,9
18		50,6	51,0
19		34,0	34,3
20	-	31,3	31,8
21		32,1	32,3
22		23,9	24,6
23	0,82	27,9	28,3
24	0,86	16,4	16,8
25	0,91	16,0	16,4
26	1,24	18,9	19,3
27	1,03	13,9	14,3
28	-	179,2	179,6
29	0,99	33,2	33,6
30	0,87	23,9	24,3
1'	-	171,0	171,0
2'	2,05	21,3	21,7

II-2-2-Les stéroïdes.

II-2-2-1-Identification de COF2116 : mélange de β-sitostérol et stigmastérol

COF2116 se présente sous forme de paillettes blanches dans le mélange hexane/acétate d'éthyle (8,5 :1,5) et fond à 135°C. Il est soluble dans le chloroforme et donne en présence du réactif de Libermann Burchard une coloration bleu-verdâtre caractéristique des stéroïdes.

Sur le spectre de RMN ¹H (300MHz, CDCl₃, Tableaux X et XI, Figure 16.) on observe trois signaux à δ_H 5,40(2H, d, J=5,1Hz) ; 5,20(1H,dd,J=8,4 et 15,3Hz) et

5,08(1H,dd,J=8,4et 15,3Hz) attribuables respectivement aux protons H-6 du β -sitostérol et du stigmastérol, H-22 et H-23 du stigmastérol (Chaturvedula et Prakash, 2012). On observe aussi le signal du proton d'un oxyméthine à δ_H 3,57(2H,m).

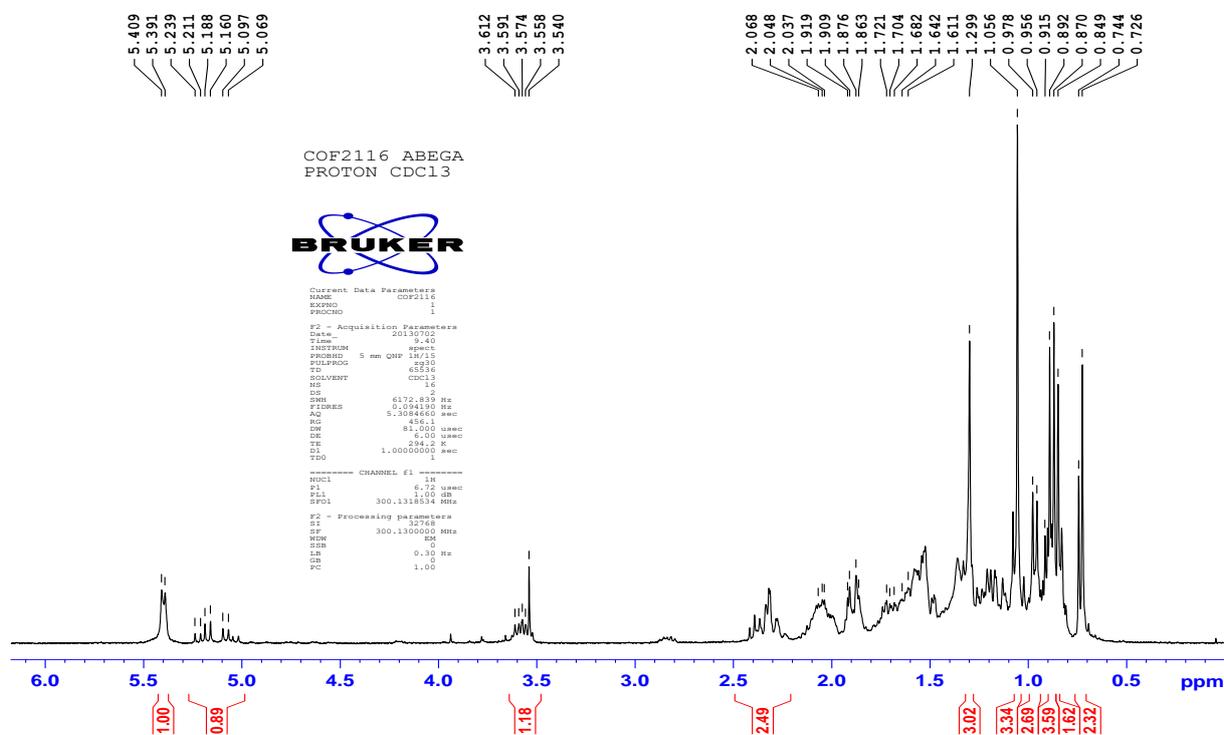


Figure 16 : Spectre de RMN 1H (300MHz, $CDCl_3$) de COF2116.

Le spectre de RMN ^{13}C (75MHz, $CDCl_3$, Tableau X et XI, Figure 17) montre les signaux de 4 carbones oléfiniques à δ_c 121,7 ; 140,8 ; 129,3 et 138,3 attribuables respectivement aux carbones C-6 et C-5 des 2 stéroïdes (β -sitostérol et stigmastérol) d'une part et aux carbones C-23 et C-22 du stigmastérol d'autre part (Chaturvedula et Prakash, 2012). Ce spectre montre également le signal du carbone d'un oxyméthine à δ_c 71,8 attribuable au carbone C-3 des deux stéroïdes.

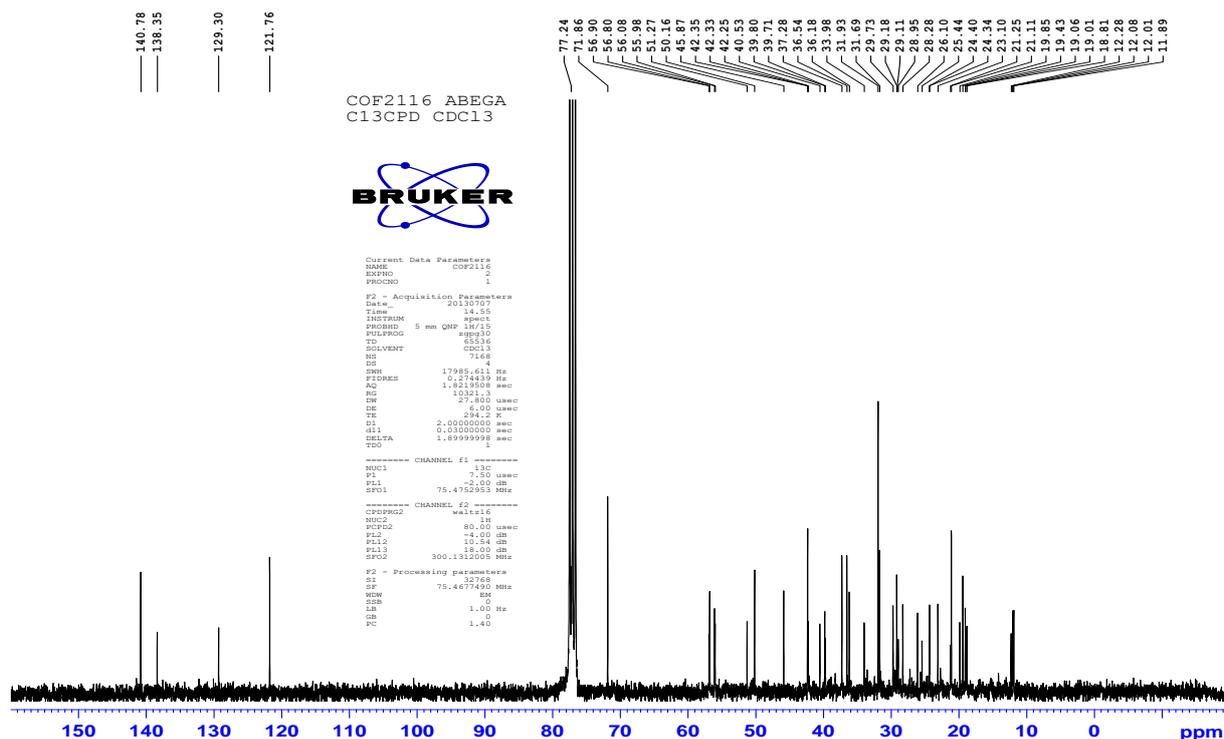
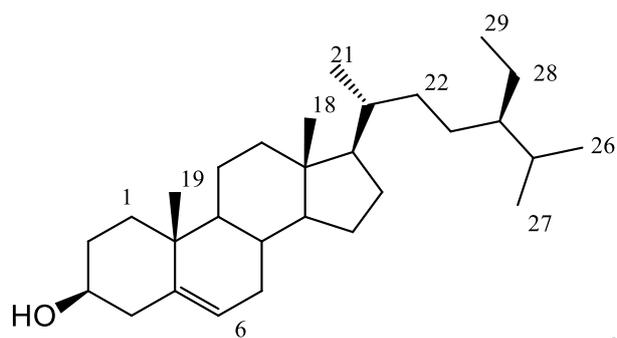


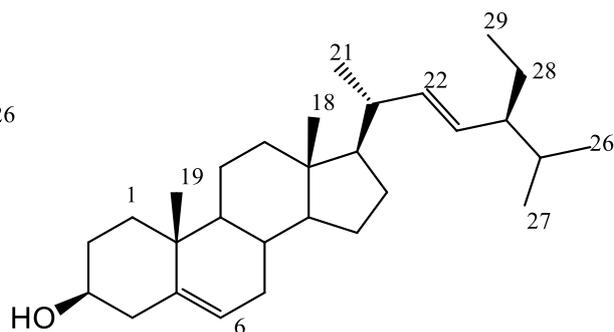
Figure 17 : Spectre de RMN ¹³C (75MHz, CDCl₃) de COF2116.

La comparaison de ces données avec celles de la littérature nous montre que COF2116 est un mélange de β -sitostérol **76** et stigmastérol **77**, mélange déjà isolé de *Croton zambesicus* (Ngadjui et al., 2002).

Le β -sitostérol possède des propriétés immunomodulatrice (Dae-Sup et al., 2003), et antimutagénique (Kun-Young et al., 2003). D'autres travaux, notamment sur l'homme, ont montré des effets prometteurs sur la normalisation du fonctionnement des cellules T, impliquées dans la diminution des réponses trop actives des anticorps. Le bêta-sitostérol, seul ou en association avec d'autres phytostérols, diminue les niveaux sanguins de cholestérol. Plusieurs études montrent l'intérêt du β -sitostérol dans le traitement de l'hyperplasie de la prostate. Il a été également montré qu'il possède des propriétés antioxydantes, diminuant la production des anions superoxyde (O²⁻) et du peroxyde d'hydrogène (H₂O₂) (Moreno, 2003).



76



77

Tableau X : Données de RMN ¹H (300MHz, CDCl₃) et ¹³C (75MHz, CDCl₃) de COF2116 comparées à celles de la littérature.

N°	δ _H	δ _C	δ _C du β-sitostérol (Chaturvedula et Prakash, 2012)
1		37,3	37,5
2		31,7	31,9
3	3,57	71,8	72,0
4		42,3	42,5
5	-	140,8	140,9
6	5,40	121,8	121,9
7		31,9	32,1
8		31,9	32,1
9		50,2	50,3
10	-	36,5	36,7
11		21,1	21,3
12		39,7	39,9
13	-	42,3	42,6
14		56,8	56,9
15		26,1	26,3
16		28,3	28,5
17		56,1	56,3
18	1,01	11,9	12,0
19	0,74	18,8	19,0
20		36,2	36,3
21	0,95	19,1	19,2
22		34,0	34,2
23		26,1	26,3
24		45,9	46,1
25		29,2	29,4
26	0,87	19,9	20,1
27	0,85	19,4	19,6
28		23,1	23,3
29	0,89	12,0	12,2

Tableau XI : Données de RMN ¹H (300MHz, CDCl₃) et ¹³C (75MHz, CDCl₃) de COF2116 comparées à celles de la littérature.

N°	δ _H	δ _C	δ _C du stigmastérol (Chaturvedula etPrakash, 2012)
1		37,3	37,6
2		32,0	32,1
3	3,57	71,8	72 ,1
4		42,3	42,4
5	-	140,8	141,1
6	5,40	121,8	121,8
7		31,7	31,8
8		31,7	31,8
9		50,2	50,2
10	-	36,5	36,6
11		21,2	21,5
12		39,8	39,9
13	-	42,3	42,4
14		56,9	56,8
15		24,4	24,4
16		29,2	29,3
17		56,1	56,2
18	1,01	12,3	12,2
19	0,72	19,0	18,9
20		40,5	40,6
21	0,91	21,2	21,7
22	5,08	138,3	138,7
23	5,20	129,3	129,6
24		45,9	46,1
25		29,7	29,6
26	0,72	19,9	20,2
27	0,74	19,4	19,8
28		25,4	25,4
29	0,85	12,1	12,1

II-2-2-Identification de COR1 : Palmitate de β -sitosterol

COR1 se présente sous forme de poudre amorphe blanche dans le mélange hexane acétate/d'éthyle (9,5 :0,5). Il est soluble dans le chloroforme et donne une coloration bleu-verdâtre en présence du réactif de Libermann Burchard, caractéristique des stéroïdes.

Sur le spectre de masse (ESI mode négatif) on observe le pic de l'ion pseudo-moléculaire $[M-H]^+$ à m/z 654,122. L'analyse de cet ion couplée aux données de RMN 1H et ^{13}C , nous a permis d'attribuer à COR1 la formule brute $C_{48}H_{80}O_2$ renfermant 6 insaturations.

L'analyse de son spectre de RMN 1H (300MHz, $CDCl_3$, Tableau XII, Figure 18) permet d'identifier :

- Le signal d'un proton à δ_H 5,42 (1H, d, $J=4,2Hz$), attribuable au proton H-6 du β -sitostérol ;
- Le signal du proton d'un oxyméthine à δ_H 4,64(1H, m) attribuable au proton H-3 α des stéroïdes estérifiés en position 3 (Dinda et al., 2003) ;
- Un signal à δ_H 2,32(2H, t, $J=7,5Hz$) attribuable aux protons d'un méthylène lié à un carbonyle.

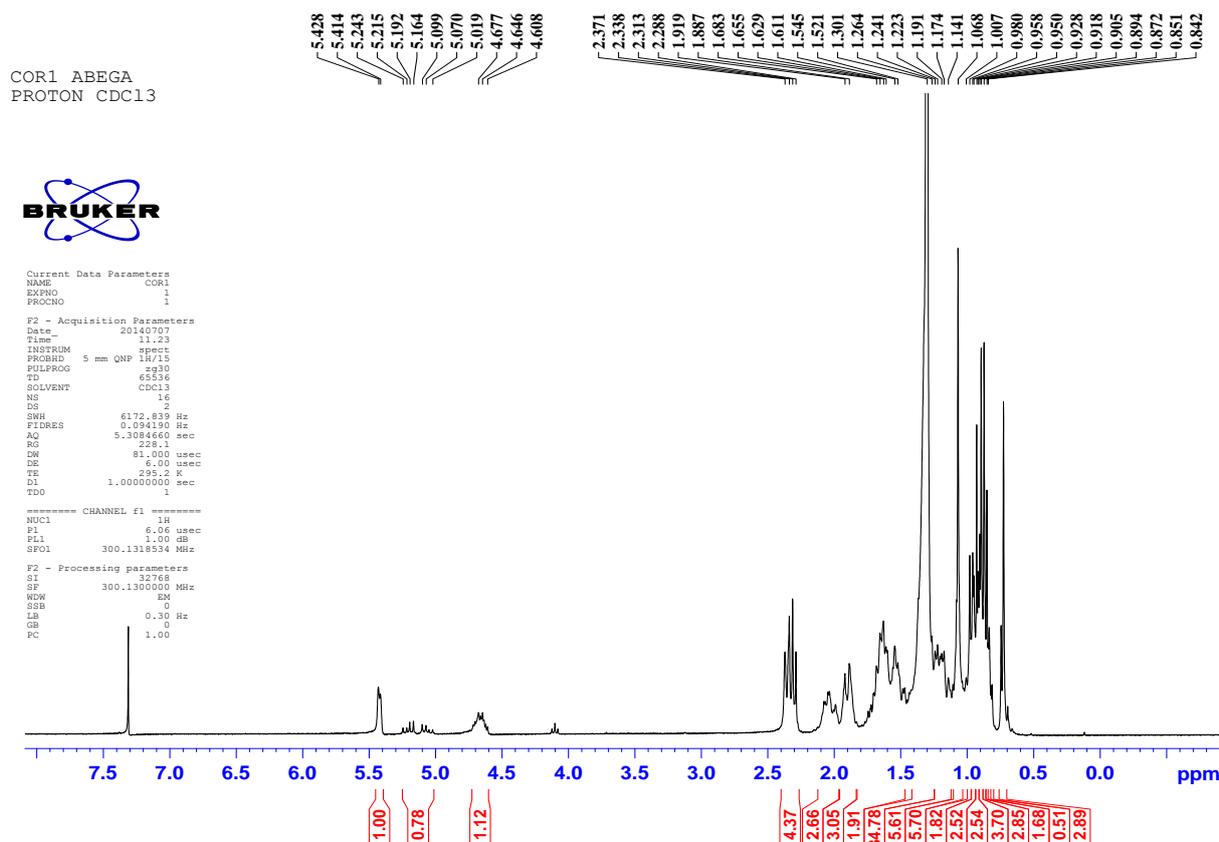


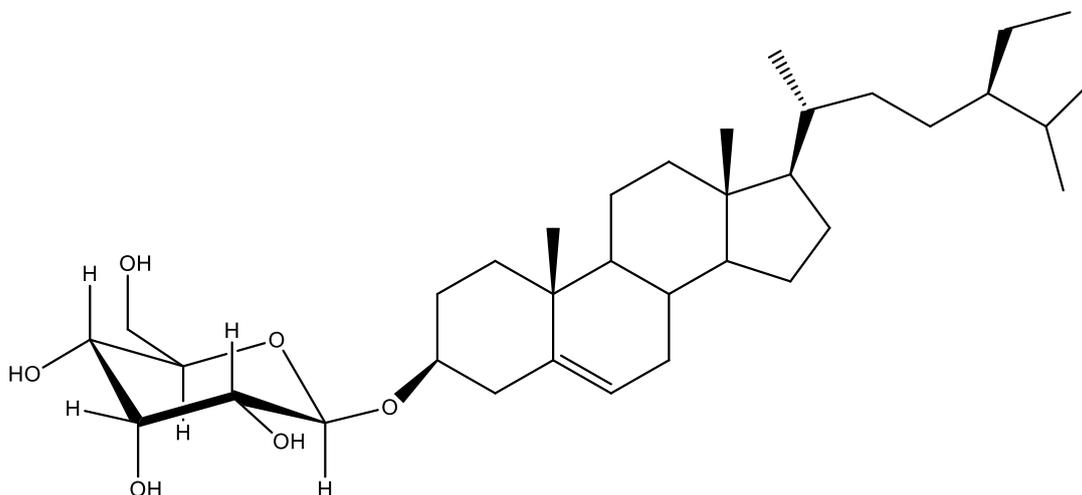
Figure 18 : Spectre de RMN 1H (300MHz, $CDCl_3$) de COR1.

Tableau XII : Données de RMN ¹H (300MHz, CDCl₃) et ¹³C (75MHz, CDCl₃) de COR1 comparées à celles duβ-sitostérol.

N°	δ _H	δ _C	δ _C du β-sitostérol (Chaturvedula etPrakash, 2012)
1		37,0	37,5
2		31,9	31,9
3	4,64	73,7	72,0
4		42,3	42,5
5	-	139,8	140,9
6	5,42	122,7	121,9
7		32,0	32,1
8		32,0	32,1
9		50,1	50,3
10	-	36,6	36,7
11		21,1	21,3
12		39,8	39,9
13	-	42,3	42,6
14		56,7	56,9
15		26,1	26,3
16		28,3	28,5
17		56,1	56,3
18	1,07	11,9	12,0
19	0,84	18,8	19,0
20		36,2	36,3
21	0,95	19,1	19,2
22		34,0	34,2
23		26,1	26,3
24		45,9	46,1
25		29,2	29,4
26	0,87	19,8	20,1
27	0,85	19,3	19,6
28		22,7	23,3
29	0,89	12,0	12,2
1'		173,3	
2'	2,32	38,2	
3'-21'		29,1-29,7	
22'		14,1	

II-2-2-3-Identification de COFe4 : Glucoside de β -sitostérol.

COFe4 se présente sous forme de poudre blanche dans l'acétate d'éthyle. Il est difficilement soluble dans les solvants de RMN disponibles (chloroforme, méthanol, acétone, DMSO, eau). Grâce à une CCM comparative avec un échantillon authentique présent au laboratoire, COFe4 a été identifié au glucoside de β -sitostérol **79**.



79

II-2-2-4-Identification de COR9 : Sitoindoside I

COR9 apparaît sous forme de poudre amorphe blanche dans le mélange hexane/acétate d'éthyle (5,5 : 4,5). Il est soluble dans le chloroforme et donne avec le réactif de Libermann Burshard une coloration bleu-verdâtre indiquant que COR9 est un stéroïde.

Sur son spectre de masse en impact électronique on observe le pic de l'ion moléculaire à m/z 814, 641. L'analyse de ce spectre couplée aux données des spectres de RMN ^1H et ^{13}C permet de lui attribuer la formule brute $\text{C}_{51}\text{H}_{90}\text{O}_7$ renfermant 7 insaturations.

Son spectre de RMN ^1H (300MHz, CDCl_3 , Tableau XIII, Figure 20) présente :

- le signal d'un proton vinylique à δ_{H} 5,40(1H, sl) attribuable au proton H-6 du β -sitostérol ;
- des signaux entre δ_{H} 3,41 et 4,43 attribuables aux protons d'un sucre.



COR9 ABEGA
PROTON CDCl3

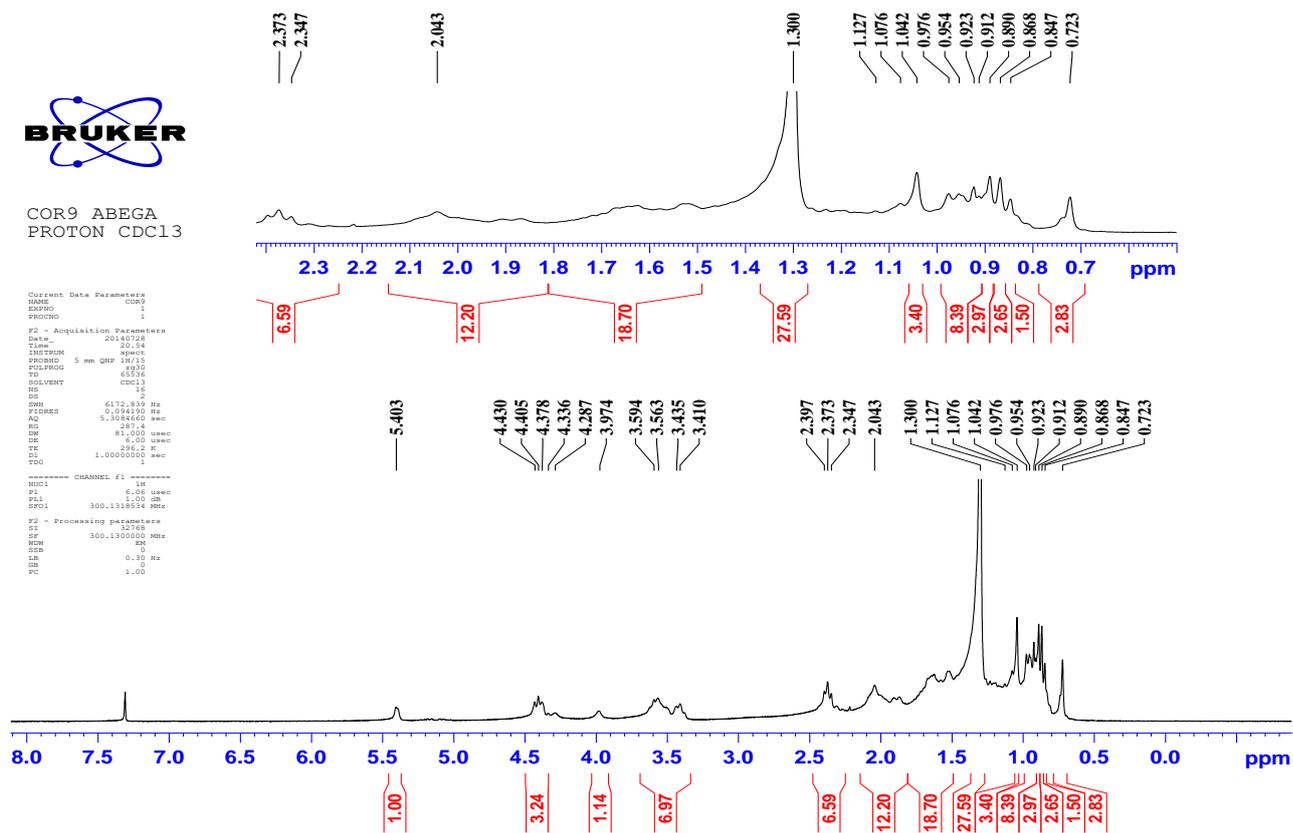


Figure 20 : Spectre de RMN ^1H (300MHz, CDCl_3) de COR9

Sur son spectre de RMN ^{13}C (75MHz, CDCl_3 , Tableau XIII, Figure 21), on observe en plus des signaux à δ_{C} 140,6 et 122,1 caractéristiques des carbones C-5 et C-6 du β -sitostérol (Chaturvedula et Prakash, 2012) :

- six signaux à δ_{C} à 101,3 ; 76,1 ; 73,8 ; 73,5 ; 70,3 et 63,5 attribuables aux carbones du glucose lié à un stéroïde en C-3 (Khatun et al., 2012) ;
- Le signal du carbone d'un oxyméthine à δ_{C} 79,7 attribuables au carbone C-3 du glucoside de β -sitostérol (Khatun et al., 2012) ;
- Le signal du carbonyle d'ester à δ_{C} 174,4.

Ces données indiquent que COR9 serait un dérivé estérifié du glucoside de β -sitostérol.

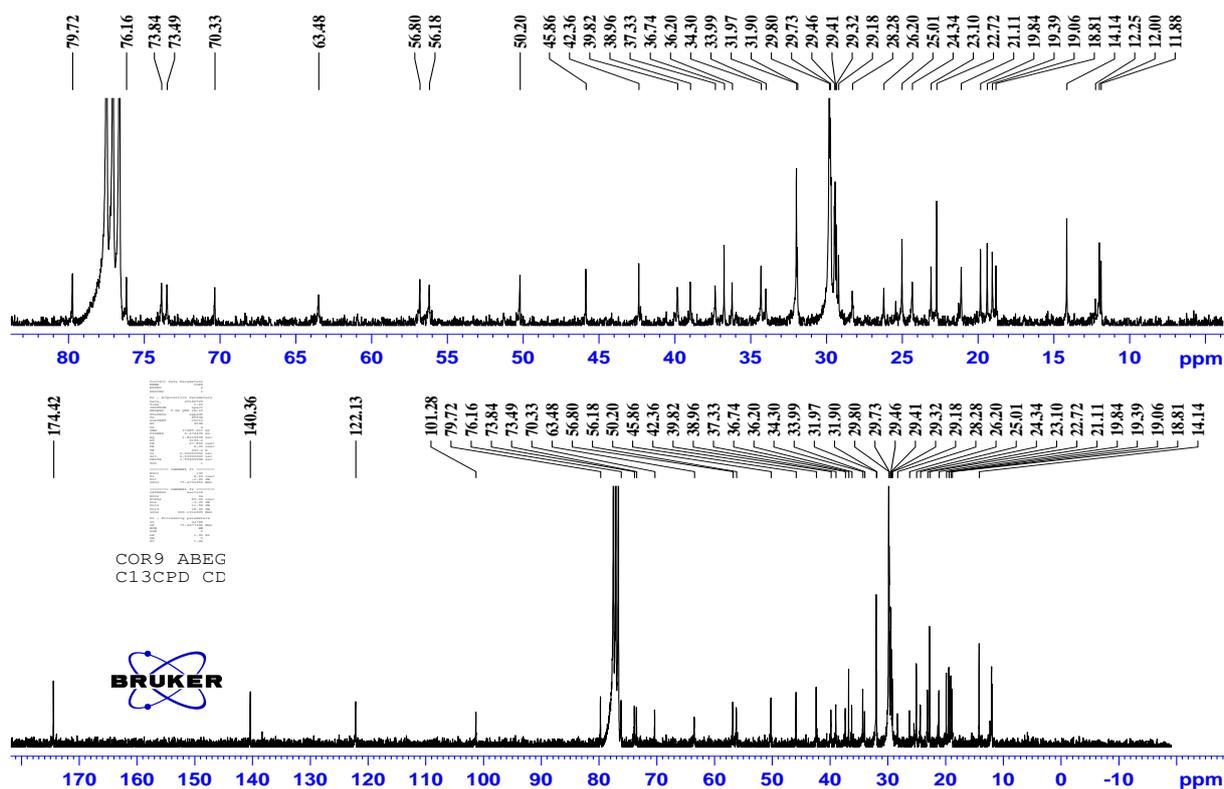


Figure 21 : Spectre de RMN ^{13}C (75MHz, CDCl_3) de COR9

La comparaison de toutes ces données avec celles de la littérature nous a permis d'attribuer à COR9 la structure **80** qui est celle du 6-*O*-hexadécanyol-3-*O*- β -D-glucopyranoside de stigmast-5-ène (Sitoindoside I) déjà isolé de *Thalia geniculata* (Lagnika, 2005).

La sitoindoside I possède un effet antiulcérogénique (Ghosal et al., 1984).

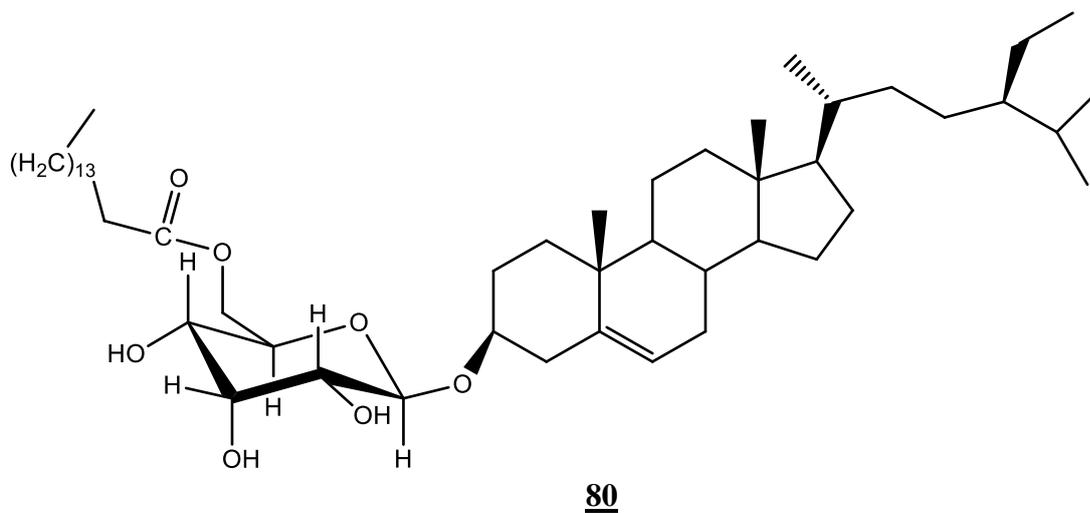


Tableau XIII : Données de RMN ¹H (300MHz, CDCl₃) et ¹³C (75MHz, CDCl₃) de COR9 comparées à celles du glucoside deβ-sitostérol.

Position	δ _H	δ _C	δ _C du glucoside de β-sitostérol (Khatun et <i>al.</i> , 2012)
1		37,3	36,8
2		29,2	29,1
3		79,7	78,6
4		42,4	42,1
5		140,3	140,0
6	5,40	122,1	121,4
7		31,9	31,4
8		31,9	31,4
9		50,2	49,8
10		36,7	36,3
11		21,1	20,2
12		38,9	38,2
13		42,3	41,9
14		56,8	56,3
15		24,3	23,8
16		28,3	27,7
17		56,2	55,6
18		11,9	11,3
19		19,4	19,1
20		36,2	35,7
21		19,0	18,7
22		33,9	33,5
23		26,2	25,6
24		45,8	45,6
25		29,2	28,7
26		19,0	18,7
27		18,8	18,3
28		22,7	22,6
29		12,2	12,3
1'		101,2	100,7
2'		73,5	73,2
3'		76,2	76,2
4'		70,3	69,9
5'		73,8	75,6
6'		63,5	61,3
1''		174,4	
2''		39,8	
3''-15''		25,0-29,8	
16''		14,1	

II-2-3-Les diterpénoïdes

II-2-3-1-Identification de COR8 : Ent-trachylobane-15 α , 18-diol

COR8 se présente sous forme de poudre blanche dans le mélange hexane/acétate d'éthyle (7 : 3) et est soluble dans le DMSO. L'analyse de ses spectres de RMN ^1H , ^{13}C et DEPT 135 nous a permis de lui attribuer la formule brute $\text{C}_{20}\text{H}_{32}\text{O}_2$ renfermant 5 insaturations.

Sur ses spectres de RMN ^1H et ^{13}C , on n'observe aucun signal caractéristique d'un proton vinylique ou d'un carbone éthylénique, ce qui nous a permis, sur la base des travaux chimiques antérieurs sur le genre croton, de suggérer que COR8 peut être un diterpène penta cyclique.

Son spectre de RMN ^1H (300MHz, DMSO, Tableau XIV, Figure 22) présente :

- Les signaux à δ_{H} 0,55(1H, d, $J=7,5\text{Hz}$) et δ_{H} 0,75(1H, dd, $J=2,4$ et $7,5\text{ Hz}$) caractéristiques d'un groupement cyclopropanique tétra substitué suggérant que COR8 est un diterpène de la série des trachylobanes (Uchôa et al., 2013).
- Trois signaux attribuables à trois méthyles tertiaires à δ_{H} 0,64 (3H, s) ; 0,94(3H,s) et 1,09(3H,s).
- Les signaux de deux protons d'un oxyméthylène formant un système AB à δ_{H} 2,83(1H, dd, $J= 5,7$ et $10,5\text{ Hz}$) et δ_{H} 3,15(1H, dd, $J=5,7$ et $10,5\text{ Hz}$).
- Le signal du proton d'un oxyméthine à δ_{H} 3,15(1H, d, $J=5,7\text{Hz}$).

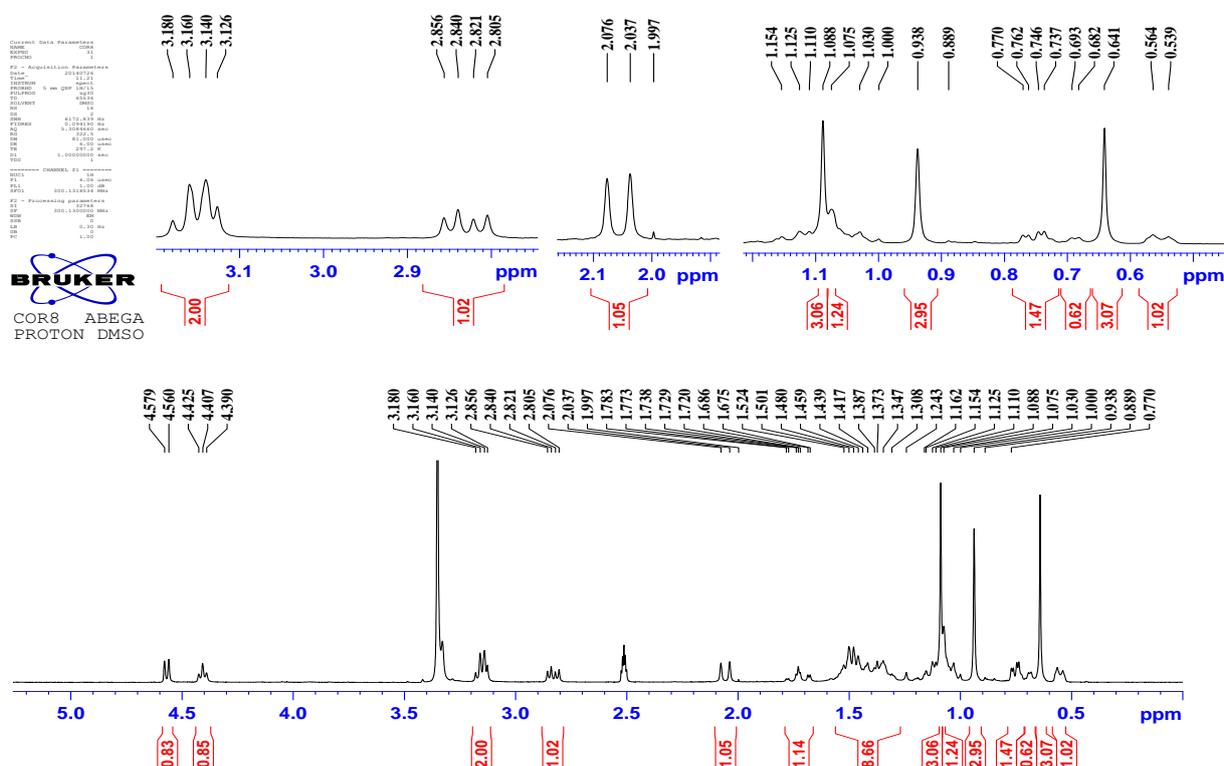


Figure 22: Spectre de RMN ^1H (300MHz, DMSO) de COR8.

Le spectre de RMN ^{13}C (75MHz, DMSO, Tableau XIV, Figure 23) de COR8 présente les signaux de 20 atomes de carbones qui ont été attribués à 4 carbones quaternaires, 5 methines, 8 méthylènes et 3 méthyles grâce au spectre DEPT 135(Figure 24). Sur le spectre de RMN ^{13}C on observe particulièrement :

- le signal du carbone d'un oxyméthylène à δ_{C} 70,6 et celui d'un oxyméthine à δ_{C} 82,3.
- Trois signaux à δ_{C} 19.9 ; 20,6 et 25,0 attribuables aux carbones du cyclopropane.

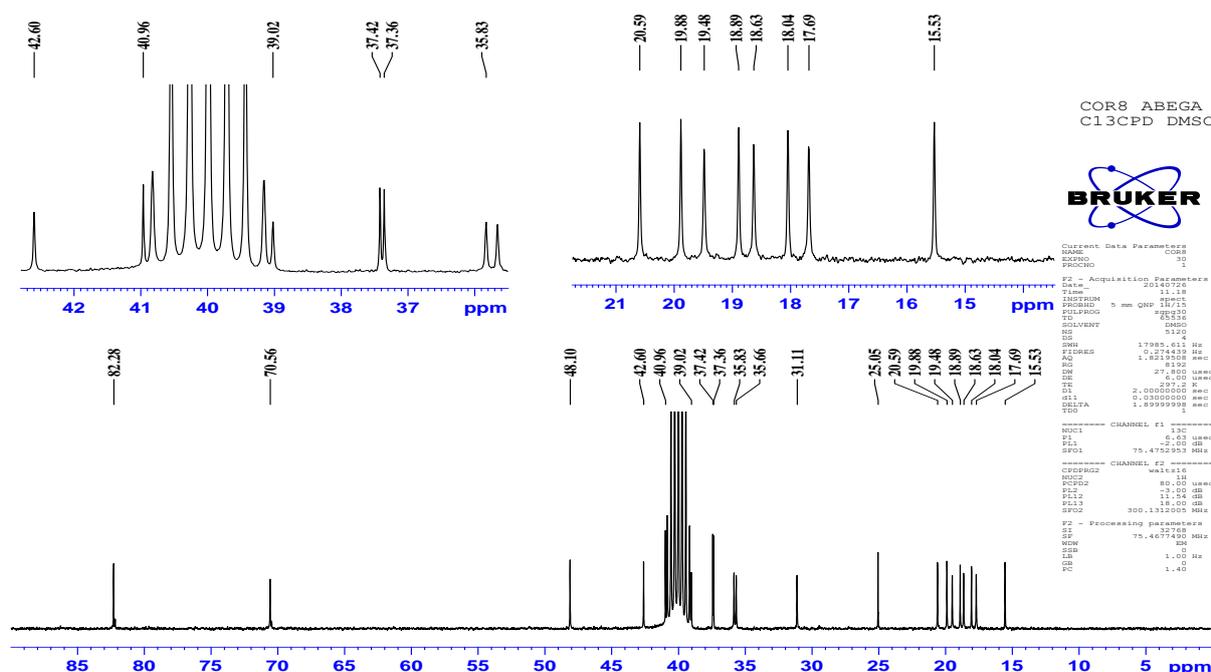


Figure 23 : Spectre de RMN ^{13}C (75MHz, DMSO) de COR8

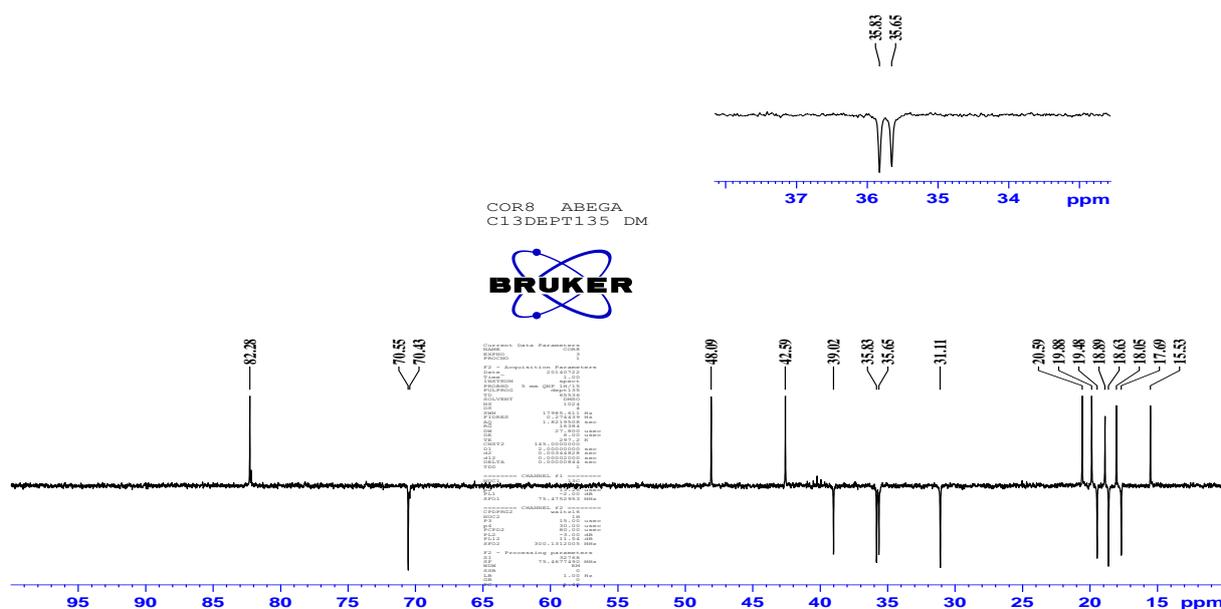


Figure 24 : Spectre DEPT 135 (75MHz, DMSO) de COR8

Sur le spectre COSY de COR8 (**Figure 26**), on observe des taches de corrélation entre le proton de l'oxyméthine à δ_H 3,15(1H, d, $J=5,7\text{Hz}$) et le proton à δ_H 4,57(1H, d, $J=5,7\text{Hz}$) ; ce dernier qui ne présente aucune tache de corrélation sur le spectre HMQC serait donc lié à un atome d'oxygène. Ces informations permettent de conclure que l'oxyméthine est voisin de deux carbones quaternaires.

Sur le spectre HMBC de COR8 (**Figure 25**) on observe des taches de corrélation entre les protons du méthyle à δ_H 1,09 et le carbone de l'oxyméthine à δ_C 82,3 d'une part, entre les protons du méthyle à δ_H 0,64(3H, s) et le carbone de l'oxyméthylène à δ_C 70,6 d'autre part.

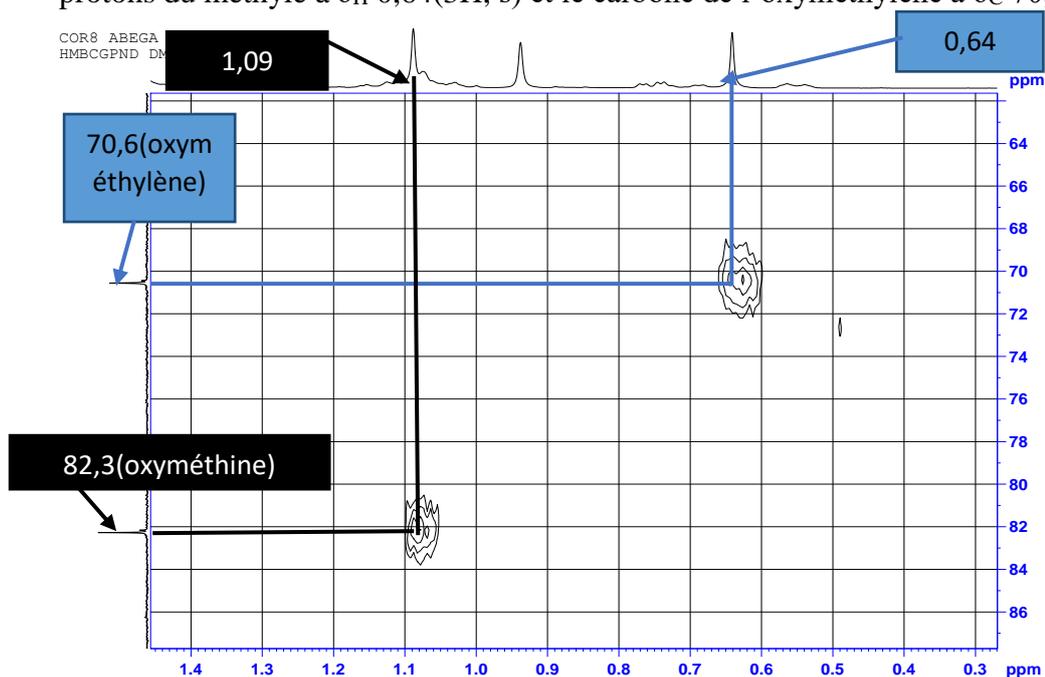


Figure 25 : Spectre HMBC partiel de COR8

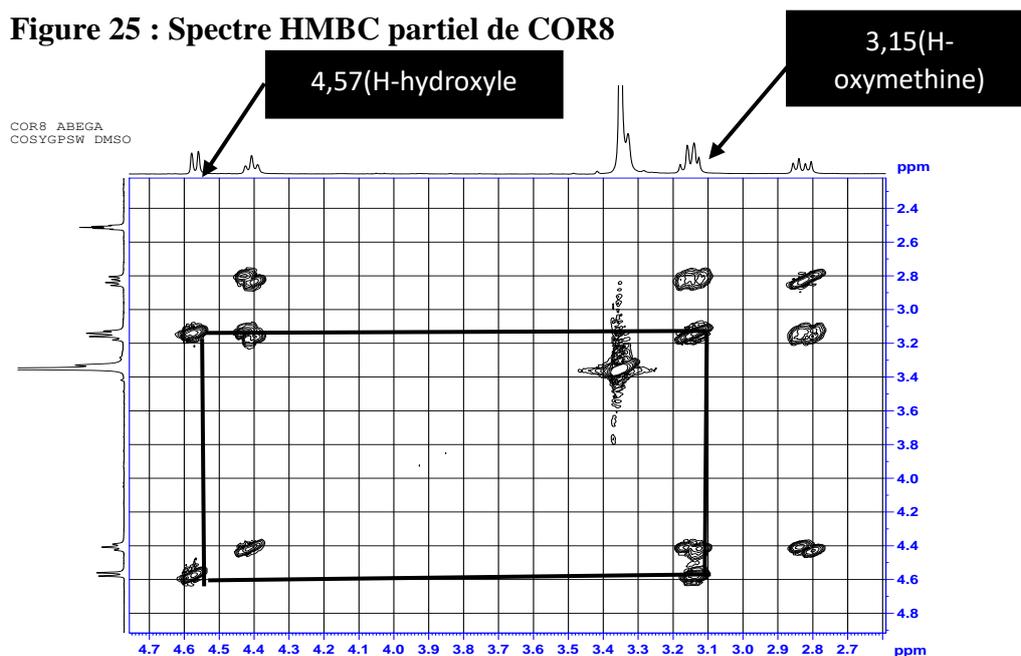
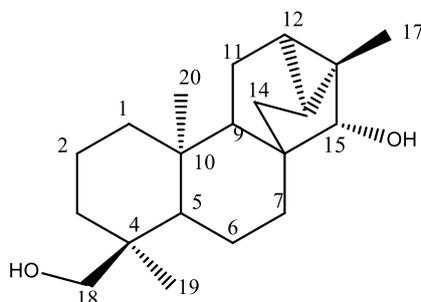


Figure 26 : Spectre COSY partiel de COR8

Toutes ces données nous permettent d'attribuer à COR8 la structure **81** qui est celle de la Ent-trachylobane-15 α , 18-diol isolé pour la première fois de *Viguiera cordata* (Bohlmann et al., 1984).



81

Tableau XIV : Données de RMN ^1H (300MHz, CDCl_3) et ^{13}C (75MHz, CDCl_3) de COR8.

N°	δ_{H}	δ_{C}
1		39,0
2		18,6
3		35,8
4		37,4
5		48,1
6		17,7
7	2,06	31,1
8		41,0
9		42,6
10		37,4
11		19,5
12	0,55	20,6
13	0,75	19,9
14		35,6
15	3,15	82,3
16	-	25,0
17	1,09	18,9
18	3,15 et 2,83	70,5
19	0,64	18,0
20	0,94	15,5

II-2-3-2-Identification de COR10 : Trachinodiol.

COR10 se présente sous forme de poudre blanche dans le méthanol. Il est soluble dans le chloroforme. La formule brute $C_{20}H_{32}O_2$ qui renferme 5 insaturations lui a été attribuée sur la base de ses spectres de RMN 1H , ^{13}C et DEPT135.

Les similitudes observées entre les spectres de RMN 1H , ^{13}C et DEPT135 de COR8 et ceux de COR10 permettent de suggérer que COR10 serait un isomère de COR8.

En effet, sur son spectre de RMN 1H (300MHz, $CDCl_3$, Tableau XV, Figure 27) on observe quasiment les mêmes systèmes que ceux identifiés pour COR8 :

- Les signaux caractéristiques d'un groupement cyclopropanique tétrasubstitué à δ_H 0,62(1H, d, $J=7,8$ Hz) et δ_H 0,90(1H, dd, $J=3,8$ et $7,8$ Hz).
- Les signaux des protons d'un oxyméthylène formant un système AB à δ_H 2,92(1H, d, $J=11,4$ Hz) et δ_H 3,49(1H, d, $J=10,5$ Hz).
- Le signal du proton d'un oxyméthine à δ_H 3,56(1H, t, 2,4Hz).
- Les signaux des protons de trois méthyles tertiaires à δ_H 0,70(3H,s) ; 0,99(3H,s) et 1,20(3H,s).

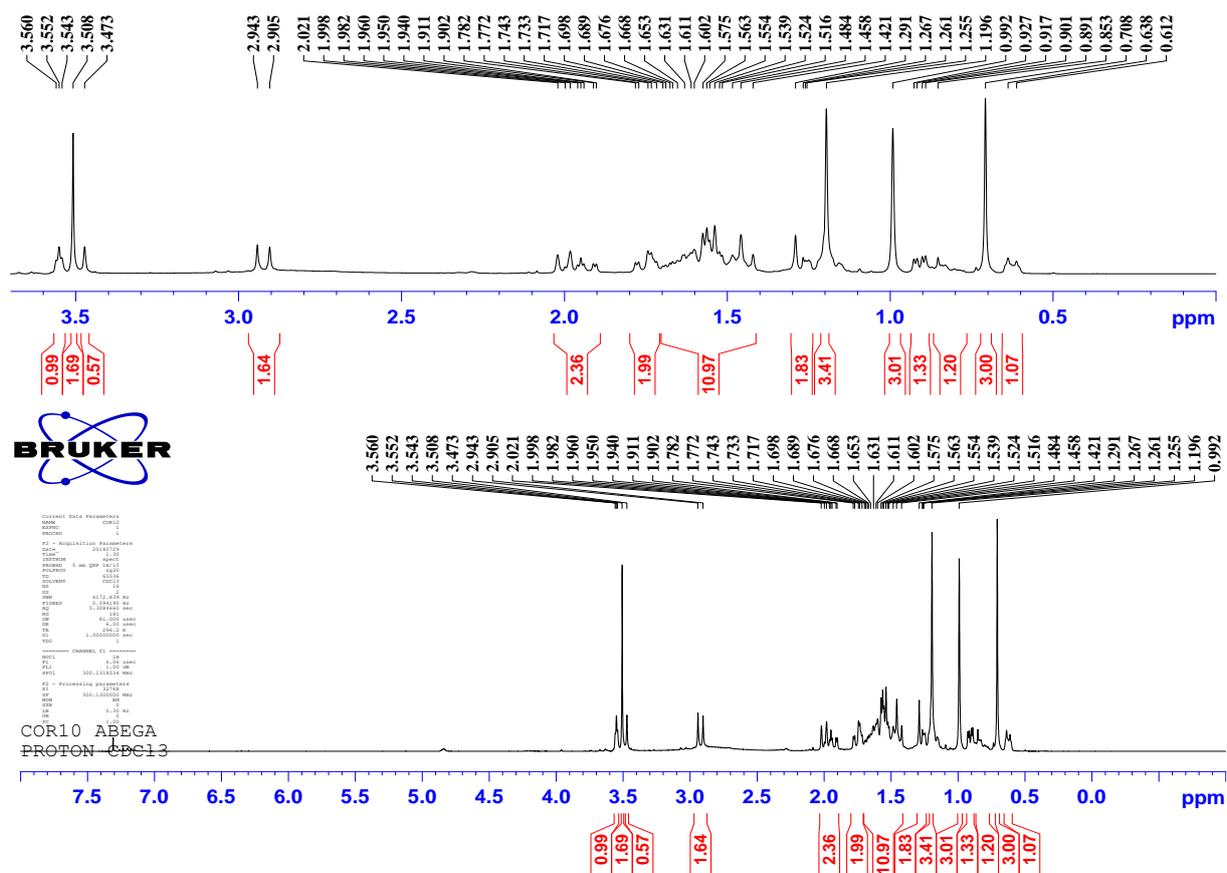


Figure 27 : Spectre de RMN 1H (300MHz, $CDCl_3$) de COR10.

Le spectre de RMN ^{13}C de COR10 présente les signaux de 20 atomes de carbones et qui ont été attribués à 4 carbones quaternaires, 5 methines, 8 méthylènes et 3 méthyles grâce au spectre DEPT 135(**figure 29**). Sur le spectre de RMN ^{13}C (75MHz, CDCl_3 , **Tableau XV**, **Figure 28**), on observe :

- Les signaux caractéristiques du cyclopropane à δ_{C} 20,6 ; 23,0 et 24,4 (**Uchôa et al., 2013**).
- Le signal du carbone d'un oxyméthylène à δ_{C} 70,6 et celui du carbone d'un oxyméthine à δ_{C} 76,0.

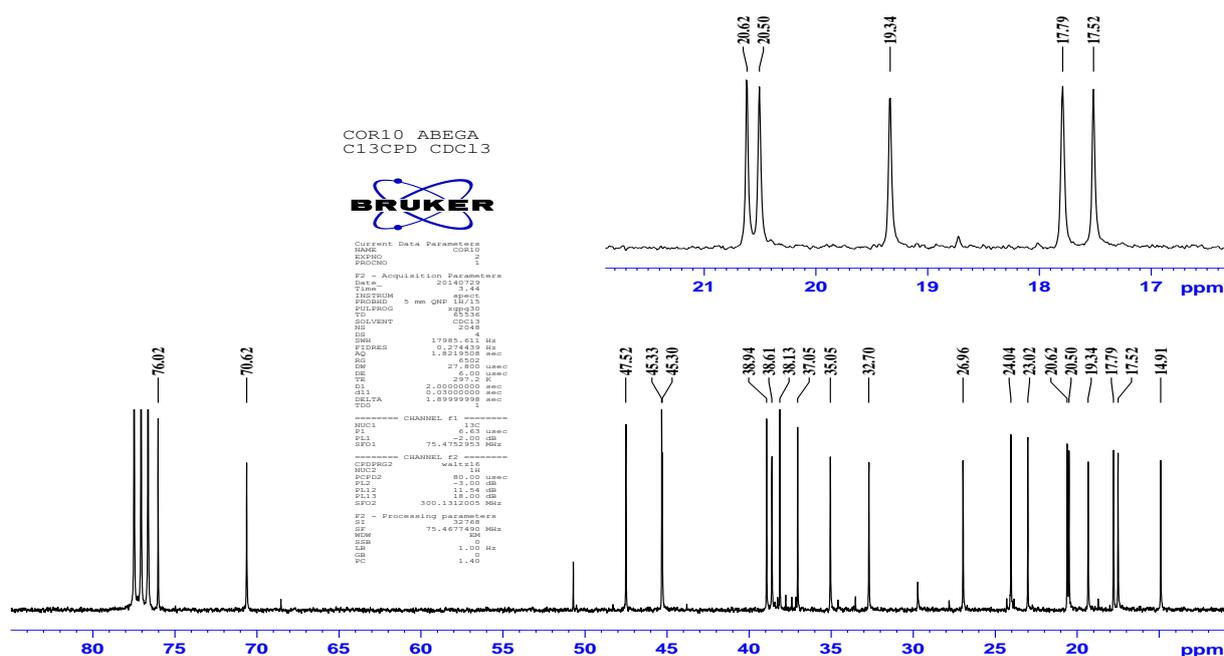


Figure 28 : Spectre de RMN ^{13}C (75MHz, CDCl_3) de COR10.

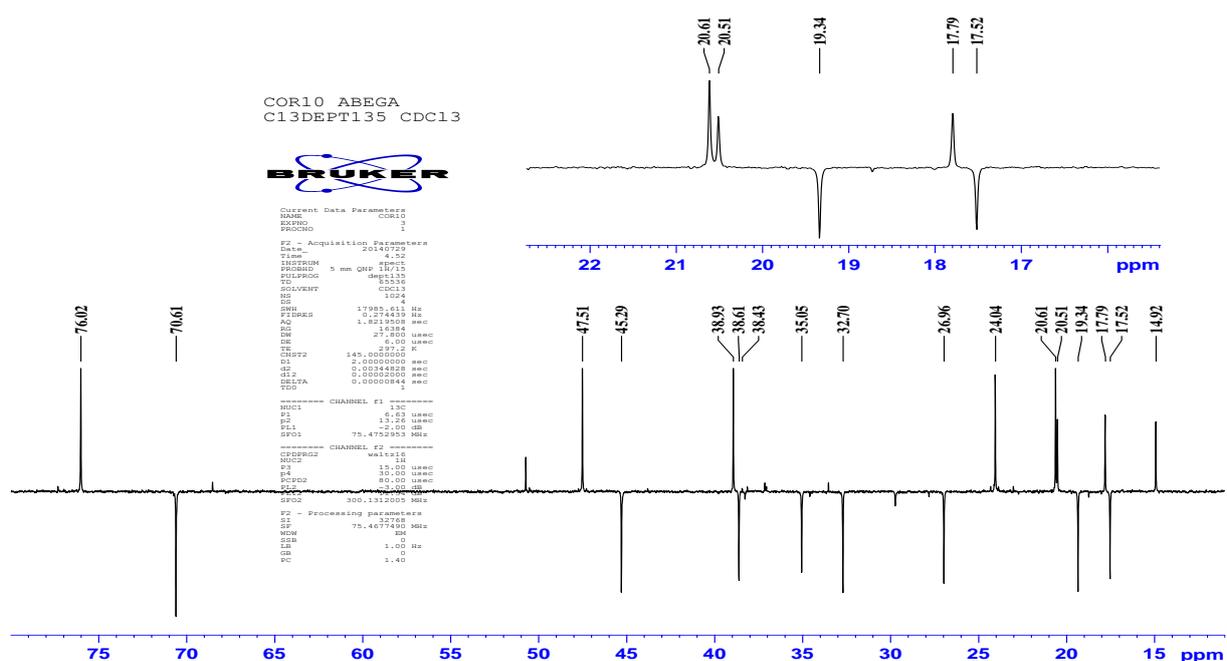


Figure 29 : Spectre DEPT 135 (75MHz, CDCl₃) de COR10.

Le spectre HMBC (**Figure 30**) de COR10 montre des taches de corrélation entre le proton de l'oxyméthine à δ_H 3,56 et les carbones à δ_C 38,9(C-5) ; 47,5(C-9) ce qui permet de positionner l'oxyméthine en C-7. On observe également des taches de corrélation entre les protons du méthyle tertiaire à δ_H 0,70 et le carbone de l'oxyméthylène à δ_C 70,6 d'une part, et entre les protons de l'oxyméthylène à δ_H 2,92 et 3,49 et les carbones à δ_C 35,0(C-3) ; 37,0(C-4) d'autre part ; ce qui montre que l'oxyméthylène est en position 18.

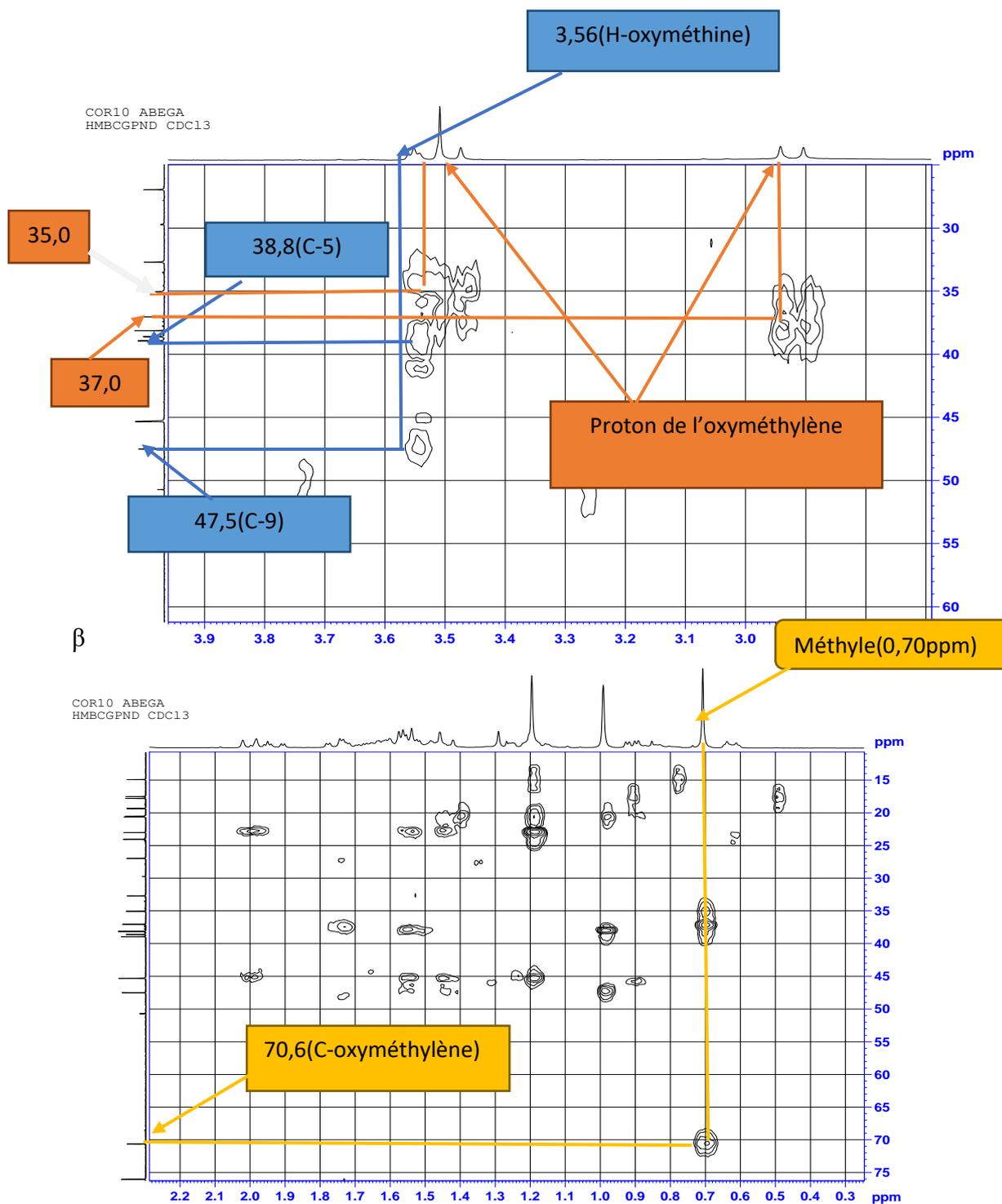
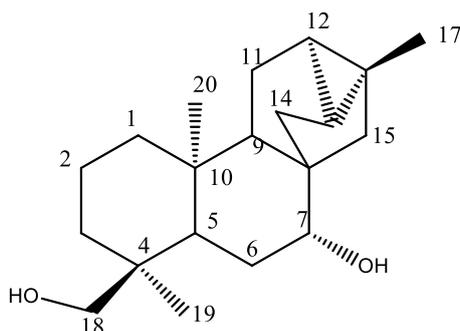


Figure30 : Spectre HMBC partiel de COR10

L'ensemble de ces données nous a permis d'attribuer à COR10 la structure **82** qui est celle de la Ent-tra chylobane-7 α , 18-diol ou trachinodiol déjà isolé de *Sideritis canariensis* (Fraga et al., 1991).



82

Tableau XV : Données de RMN ^1H (300MHz, CDCl_3) et ^{13}C (75MHz, CDCl_3) de COR10 comparées à celles de la littérature.

N°	δ_{H}	δ_{C}	δ_{C} de trachinodiol (Fraga, 1994)
1		38,6	38,7
2		17,5	17,6
3		35,0	35,1
4	-	37,0	37,1
5		38,9	39,0
6		27,0	27,1
7	3,56	76,0	76,1
8	-	45,3	45,4
9		47,5	47,5
10	-	38,1	38,2
11		19,3	19,4
12	0,62	20,6	20,7
13	0,90	24,0	24,1
14		32,7	32,8
15		45,3	45,4
16	-	23,0	23,0
17	1,20	20,5	20,6
18	2,92 et 3,49	70,6	70,5
19	0,70	17,8	17,9
20	0,99	14,9	15,0

II-2-3-3-Identification de CO4 : l'acide 7 α -acetoxy-trachyloban-18-oïque.

Le composé CO4 obtenu sous forme de poudre blanche dans le mélange Hexane/Acétate d'éthyle (7,5 :2,5) est soluble dans le chloroforme.

Sur son spectre de masse en impact électronique, on observe le pic de l'ion moléculaire à m/z 360,2. L'analyse de cet ion couplée aux données de RMN ^1H et ^{13}C , nous a permis d'attribuer à CO4 la formule brute $\text{C}_{22}\text{H}_{32}\text{O}_4$ renfermant 7 insaturations.

Sur son spectre de RMN ^1H (Figure 31, Tableau XVI) on observe :

- deux signaux à δ_{H} 0,64 (1H, d ; $J=7,8\text{Hz}$) et 0,92 (2H, dd ; $J=7,8$ et 3Hz) caractéristiques des protons du cyclopropane tétra substitué suggérant que CO4 est un diterpène de la série des trachylobanes (Uchôa *et al.* , 2013).
- quatre signaux à δ_{H} 1,02(3H, s) ; 1,13(3H, s) ; 1,18(3H, s) et 2,07(3H, s) attribuables aux protons de quatre méthyles tertiaires. Celui à δ_{H} 2,07 étant attribuable aux protons du méthyle d'un groupement acétyle.
- un signal à δ_{H} 4,65 (1H, t ; $J=2,7\text{Hz}$) attribuable au proton d'un oxyméthine.

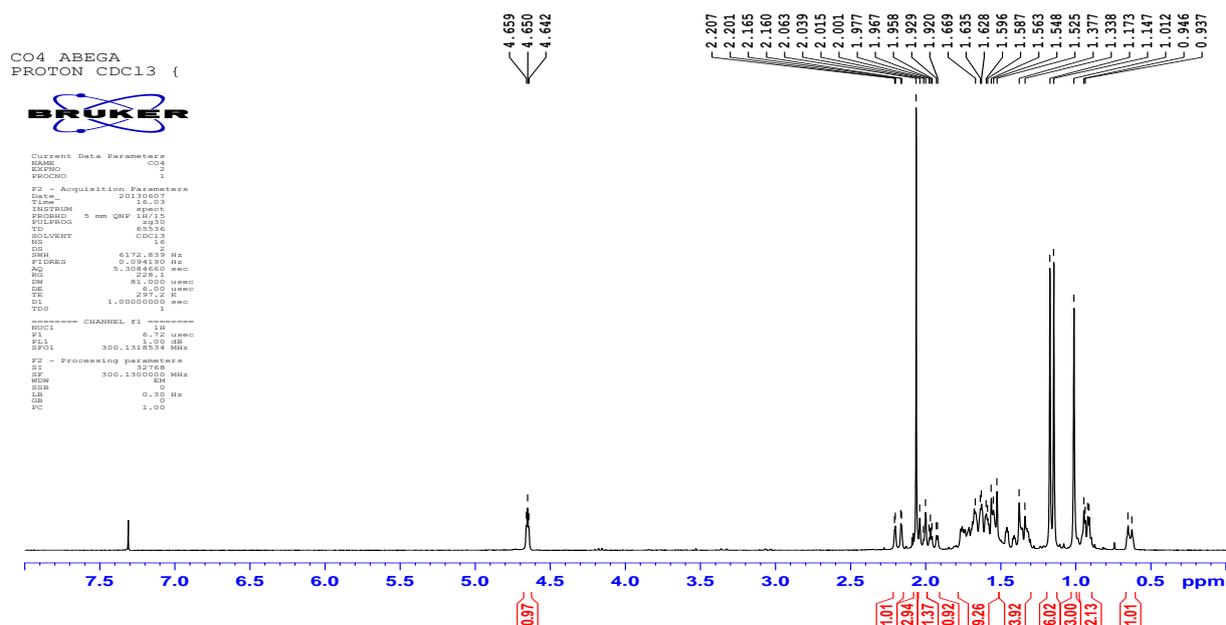


Figure 31 : Spectre de RMN ^1H (300MHz, CDCl_3) de CO4.

L'analyse combinée de ses spectres de RMN ^{13}C (figure 32 ; tableau XVI) et DEEPT 135 (figure 33) permet d'observer :

- Deux signaux à δ_{C} 184,5 et 170,8 attribuables respectivement à un carbonyle d'acides carboxyliques et à un carbonyle d'esters.
- Un signal à δ_{C} 78,1 attribuable au carbone d'un oxyméthine.

Le spectre HMBC de CO4 (**Figure 34**) montre :

- Une tache de corrélation entre les protons du méthyle à δ_H 1,14(3H, s) et le carbone à δ_C 184,5. Indiquant que la fonction acide carboxylique serait en C-18.
- Une tache de corrélation entre le proton à δ_H 4,64(1H, t; $J=2,7\text{Hz}$) de l'oxyméthine et le carbone à δ_C 37,5(C-10).

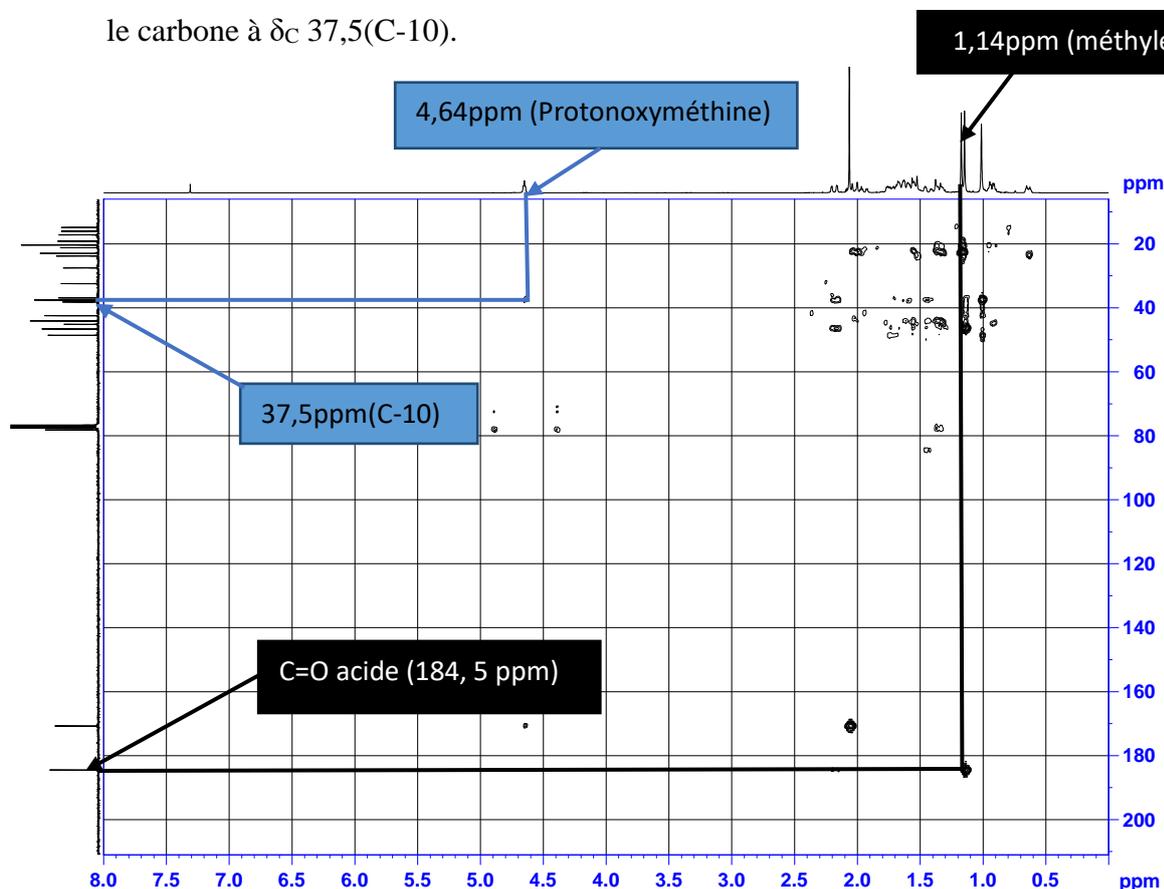
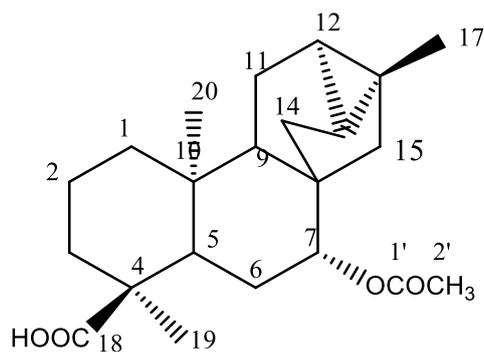


Figure 34 : Spectre HMBC partiel de CO4

La comparaison de toutes ces données avec celles observées dans la littérature nous a permis d'attribuer à CO4 la structure **83** qui est celle de l'acide 7β -acetoxy-trachyloban-18-oïque, un diterpène isolé pour la première fois des écorces des branches de *Xylopiya quintasii* (Hasan et al., 1982). L'acide 7β -acetoxy-trachyloban-18-oïque possède une activité cytotoxique modérée (Castello Branco et al., 2009).



83

Tableau XVI : Données de RMN ¹H (300MHz, CDCl₃) et ¹³C (75MHz, CDCl₃) de CO4 comparées à celles de la littérature.

N°	δ _H	δ _C	δ _C acide 7β-acetoxy-trachyloban-18-oïque (Hasan et al., 1982)
1		38,1	38,4
2		17,1	16,1
3		36,9	37,0
4	-	44,6	46,8
5		42,4	48,8
6		27,5	21,1
7	4,64	78,1	78,3
8	-	44,0	44,3
9		42,4	42,7
10	-	37,6	37,7
11		19,1	19,2
12		20,3	20,4
13		23,8	23,9
14		32,4	33,1
15		48,6	50,4
16	-	22,9	22,4
17	1,18	20,3	20,4
18	-	184,5	184,7
19	1,14	16,0	28,9
20	1,02	14,8	12,5
1'	-	170,7	
2'	2,07	21,1	

II-2-3-4-Identification de CO6 : Crotonadiol

CO6 se présente sous forme de cristaux blancs dans le mélange hexane/acétate d'éthyle (7 :3). Il est soluble dans le méthanol. Il fond autour de 123°C.

Sur son spectre de masse en impact électronique, on observe le pic de l'ion moléculaire à m/z 306,2550 compatible avec la formule brute $C_{20}H_{34}O_2$ renfermant 4 insaturations.

Son spectre IR présente des bandes de vibrations caractéristiques des groupements hydroxyle à 3219 cm^{-1} et de la fonction alcène à 1645 et 897 cm^{-1} .

L'analyse de son spectre de **RMN ^1H (300MHz, CDCl_3 , Tableau XVII, Figure 35)** permet d'observer :

- Le signal d'un proton vinylique à δ_{H} 5,34(1H, tq, $J=6,6$ et $1,2$ Hz).
- Deux signaux attribuables aux protons d'un méthylène terminal à δ_{H} 4,92(1H, sl) et 4,62(1H, sl).
- Un signal à δ_{H} 3,75(1H, m) attribuable au proton d'un oxyméthine.
- Un signal à δ_{H} 4,10(2H, d, $J=6,6\text{ Hz}$) attribuable aux protons d'un oxyméthylène.
- Quatre signaux attribuables aux protons de quatre méthyles tertiaires à δ_{H} 0,74(3H,s) ; 1,03(3H, s) ; 1,19(3H, s) et 1,69(3H,s) Celui à δ_{H} 1,69 étant attribuable aux protons d'un méthyle vinylique.

CO6 ABEGA
 PROTON MeOD



```

Current Data Parameters
NAME          CO6
EXPNO        1
PROCNO       1

F2 - Acquisition Parameters
Date_        20130604
Time         9.59
INSTRUM      spect
PROBHD       5 mm QNP 1H/15
PULPROG      zg30
TD           65536
SOLVENT      MeOD
NS           16
DS           2
SWH          6172.830 Hz
FIDRES       0.094190 Hz
AQ           5.3084660 sec
RG           456.1
DM           81.000 usec
DE           6.00 usec
TE           296.2 K
D1           1.00000000 sec
TDO          1

----- CHANNEL f1 -----
NUC1         1H
P1           6.72 usec
PL1          1.00 dB
SFO1         300.1318534 MHz

F2 - Processing parameters
SI           32768
SF           300.1300000 MHz
WDW          EM
SSB          0
LB           0.30 Hz
GB           0
PC           1.00
  
```

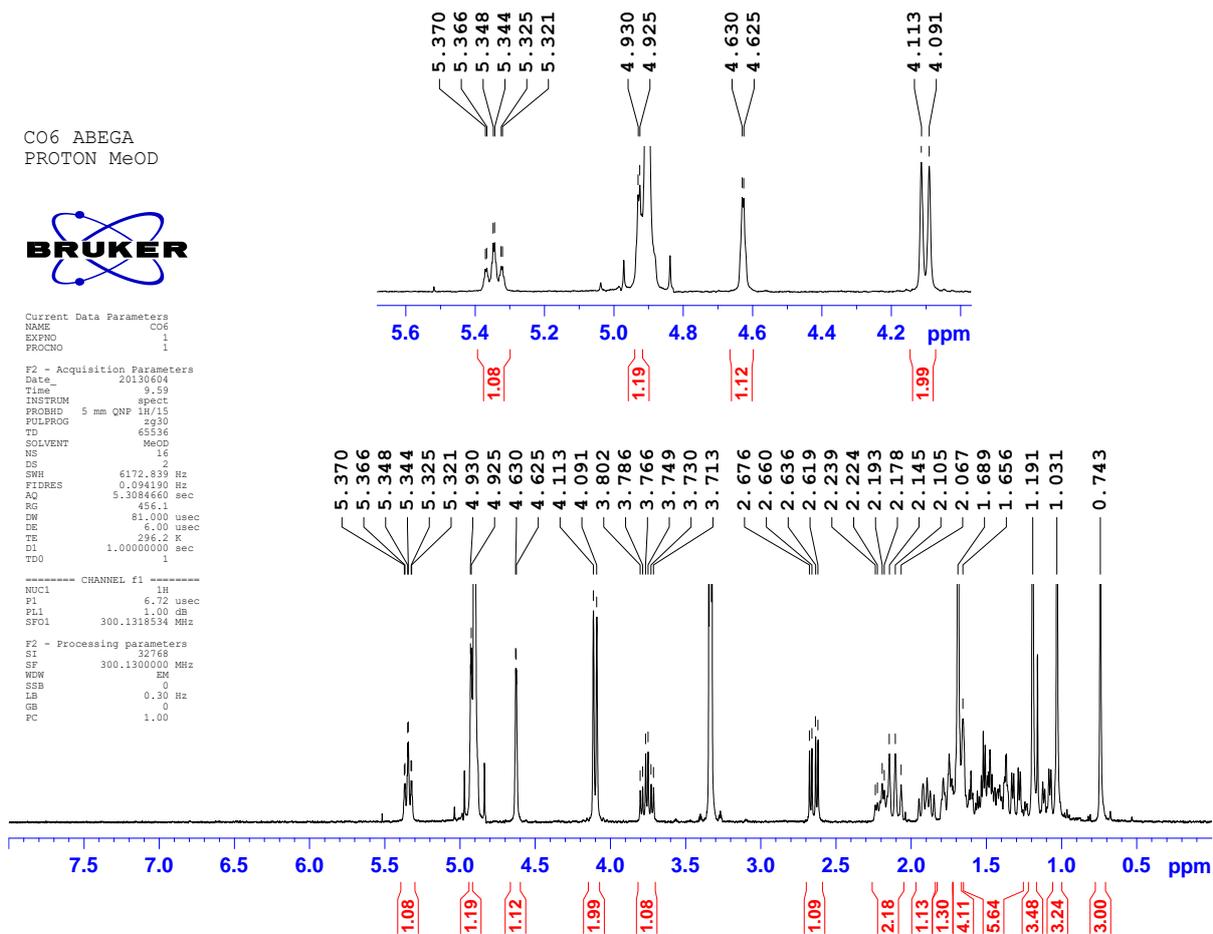


Figure 35 : Spectre de RMN ¹H (300MHz, MeOD) de CO6.

Sur son spectre de RMN ¹³C (75MHz, CDCl₃, Tableau XVII, Figure 36) on observe :

- Les signaux de quatre carbones éthyléniques caractéristiques d'un squelette de diterpène de la série des labda-8(17),13-diène à δ_C 108,3(C-17) ; 147,5(C-8) ; 124,9(C-14) et 140,0(C-13) (Ngadjui et al.,1999).
- Le signal du carbone d'un oxyméthylène à δ_C 59,4 et celui du carbone d'un oxyméthine à δ_C 72,2.

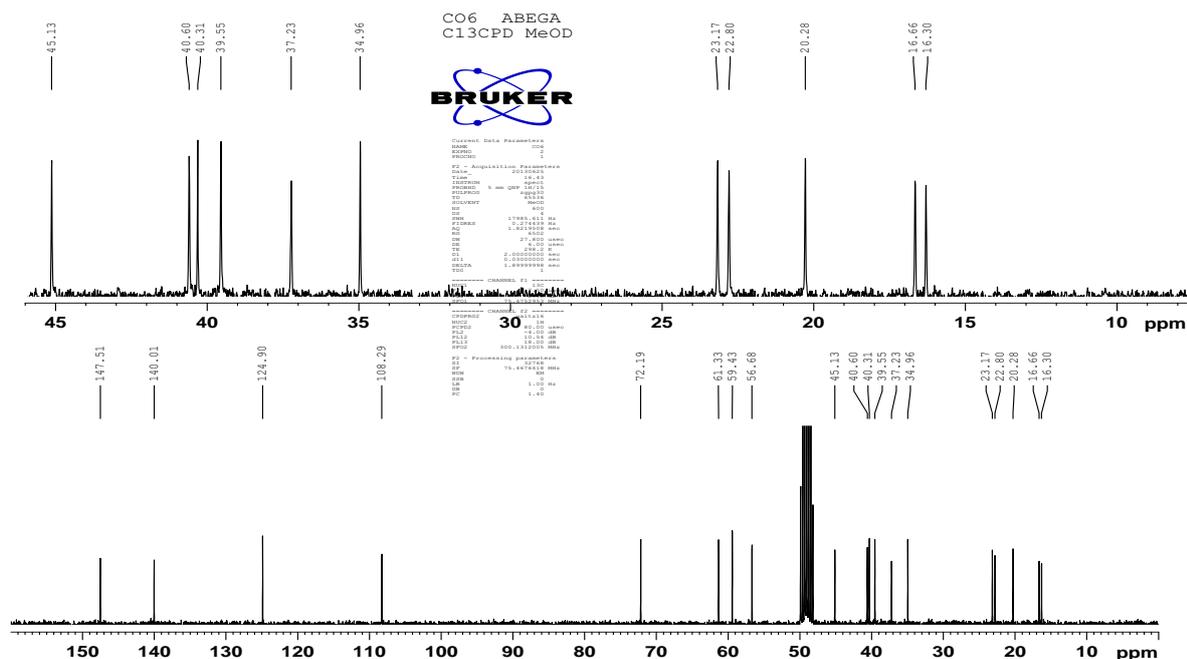


Figure 36 : Spectre de RMN ^{13}C (75MHz, MeOD) de CO6.

Sur le spectre COSY (Figure 37) de CO6, on observe des taches de corrélation entre les protons de l'oxyméthylène à δ_{H} 4,10(2H, d, $J=6,6\text{Hz}$) et le proton vinylique à δ_{H} 5,34(1H, tq, $J=6,6$ et $1,2\text{Hz}$). Ceci suggère que l'oxyméthylène est en position 15. Ce spectre montre également que le proton de l'oxyméthine à δ_{H} 3,75(1H, m) couple à la fois avec les protons diastérotopiques d'un méthylène à δ_{H} 2,12 (1H, tl, $J=12\text{Hz}$) ; 2,64(1H, dd, $J=4,8$ et 12Hz) et le proton d'un méthine à δ_{H} 1,23(1H, d, $J=10,8\text{Hz}$). L'oxyméthine est donc soit en position 11 soit en position 1.

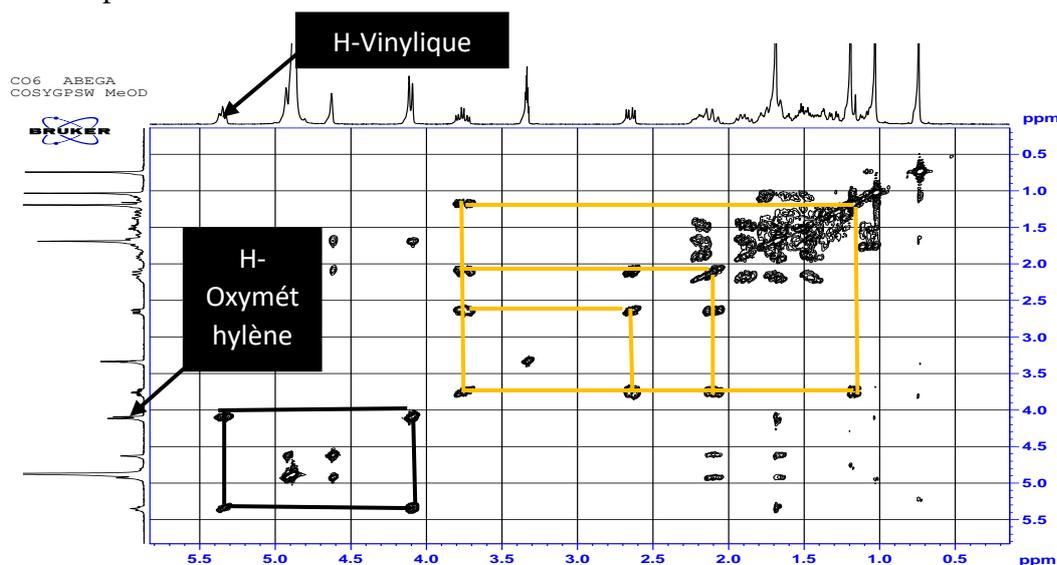


Figure 37 Spectre COSY de CO6.

Cependant la présence sur le spectre de masse en impact électronique de CO6 du pic à m/z 219 qui provient d'un réarrangement de **McLafferty** (**Schéma 9**) nous permet de déduire que l'oxyméthine est en position 6.

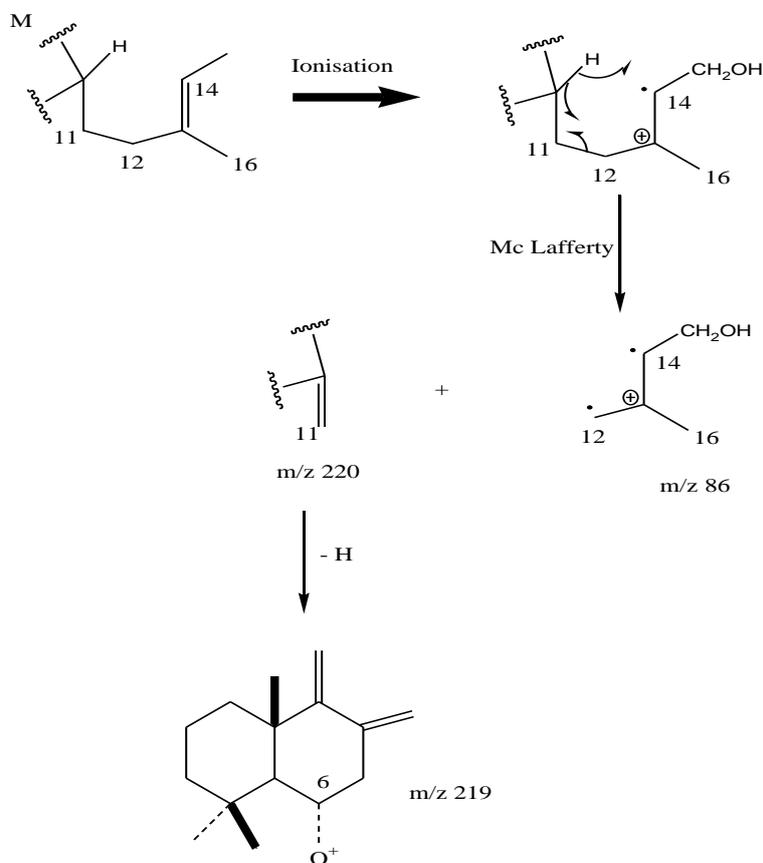
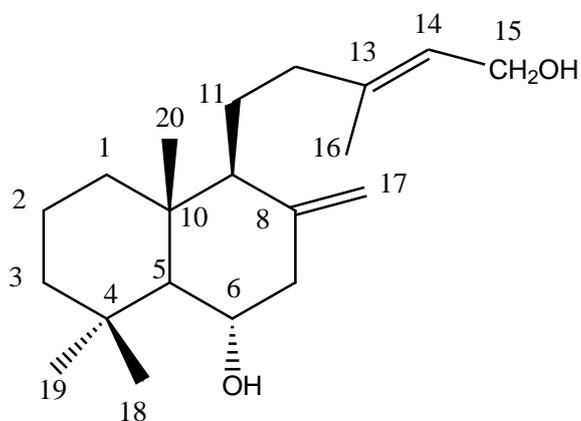


Schéma 5 : Fragmentation de CO6 selon un réarrangement de McLafferty.

Toutes ces données comparées à celles de la littérature nous ont permis d'attribuer à CO6 la structure **84** qui est celle de la labda-8(17),13-dien-6 α , 15-diol (Crotonadiol) isolé pour la première fois des écorces du tronc de *Croton zambezicus* (Ngadjui et al, 1999).



84

Tableau XVII: Données de RMN ¹H (300MHz, MeOD) et ¹³C (75MHz, MeOD) de CO6 comparées à celles de la littérature.

N°	δ _H	δ _C	δ _C de Crotonadiol (Ngadjui et al,1999)
1		40,3	39,3
2		20,3	19,1
3		45,1	43,7
4		34,9	33,9
5	1,23	61,3	60,6
6	3,75	72,2	71,7
7	2,12 et 2,64	49,9	49,2
8	-	147,5	145,5
9		56,7	55,5
10	-	40,6	39,4
11		23,4	22,1
12		39,5	38,4
13		140,0	140,3
14	5,34	124,9	123,2
15	4,10	59,4	59,4
16	1,69	16,7	16,3
17	4,62 et 4,92	108,3	108,2
18	1,19	37,2	36,6
19	1,03	22,8	22,4
20	0,74	16,3	16,1

II-2-3-5-Identification de CO11 : Kayadiol.

CO11 est obtenu sous forme de cristaux blancs dans le mélange hexane/acétate d'éthyle (6,5 : 3,5) ; il fond à 112°C et est soluble dans l'acétone. Son spectre de masse en impact électronique présente le pic de l'ion moléculaire à m/z 306,2552 compatible avec la formule brute C₂₀H₃₄O₂ renfermant 4 insaturations.

Sur le spectre de **RMN¹H (300MHz, acétone-d₆, Tableau XVIII, Figure 38)** on dénombre :

- trois signaux intenses à δ_H : 0,74 (3H, s), 0,76 (3H, s) et 1,65 (3H, s) attribuables à trois méthyles tertiaires ; celui à δ_H 1,65 étant attribuable à un méthyle vinylique.
- Deux signaux d'un proton chacun à un δ_H 4,85(1H, sl) et 4,56(1H, sl) attribuables aux protons d'un exométhylène.
- Un signal à δ_H 4,08 (2H, t ; J=6Hz) attribuable aux protons d'un oxyméthylène.

- Les signaux de deux protons d'un oxyméthylène formant un système AB δ_H 3,39(1H, dd ; $J=5,4$ et $10,5\text{Hz}$) et 2,99(1H, dd ; $J=5,5$ et $10,5\text{Hz}$).
- Un signal à δ_H 5,34(1H, tq, $J=6.0$; 1.2 Hz) attribuable à un proton éthylénique.

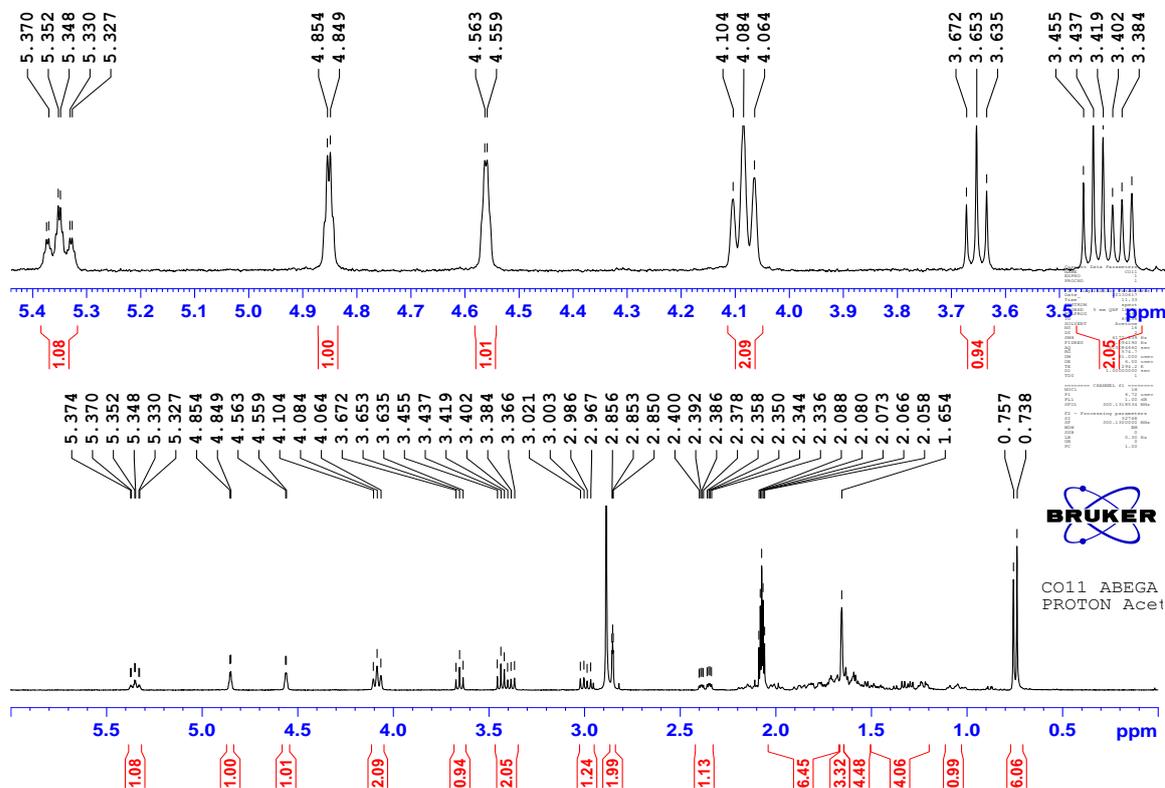


Figure 38 : Spectre de RMN ^1H (300MHz, Acétone- d_6) de CO11.

Le spectre de RMN ^{13}C (75MHz, acétone- d_6 , Tableau XVIII, Figure 39) quant à lui laisse apparaitre :

- les signaux à δ_C 148,8 ; 105,7 ; 137,1 et 125,1 caractéristiques des carbones C-8 ; C-17 ; C-13 et C-14 respectivement des diterpènes type labda-8(17),13-diène (Ngadjui et *al.*, 1999).
- Deux signaux à δ_C 70,8 et 58,3 attribuables aux carbones de deux oxyméthylènes.

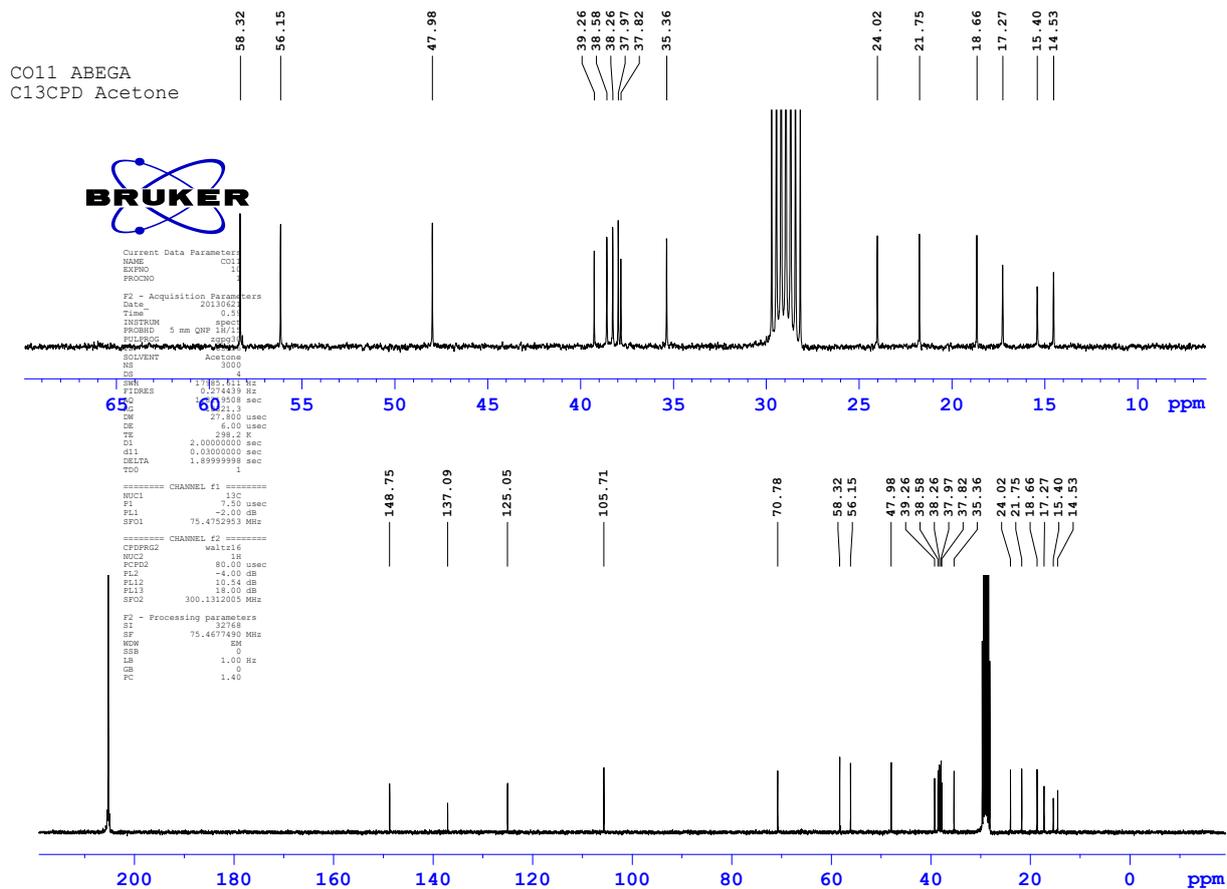


Figure 39: Spectre de RMN ^{13}C (75MHz, Acétone- d_6) de CO11.

L'analyse du spectre HMBC montre une tache de corrélation entre les protons du méthyle à δ_{H} 0,76(3H, s) et le carbone à δ_{C} 70,8. Ceci indique que l'un des oxyméthylènes est en C-18.

Le spectre COSY montre des taches de corrélation entre les protons à δ_{H} 4,08 et le proton à δ_{H} 5,34(H-14). L'autre oxyméthylène est donc en C-15.

Les signaux des protons à δ_{H} 3,65(1H, t ; J=5,7) et 3,41(1H, t ; J=5,4 Hz) qui présentent des taches de corrélations sur le spectre COSY (figure 40) ne présentent aucune tache de corrélation sur le spectre HMQC (figure 41). Ce qui laisse penser que ces protons sont ceux de deux groupes hydroxyles.

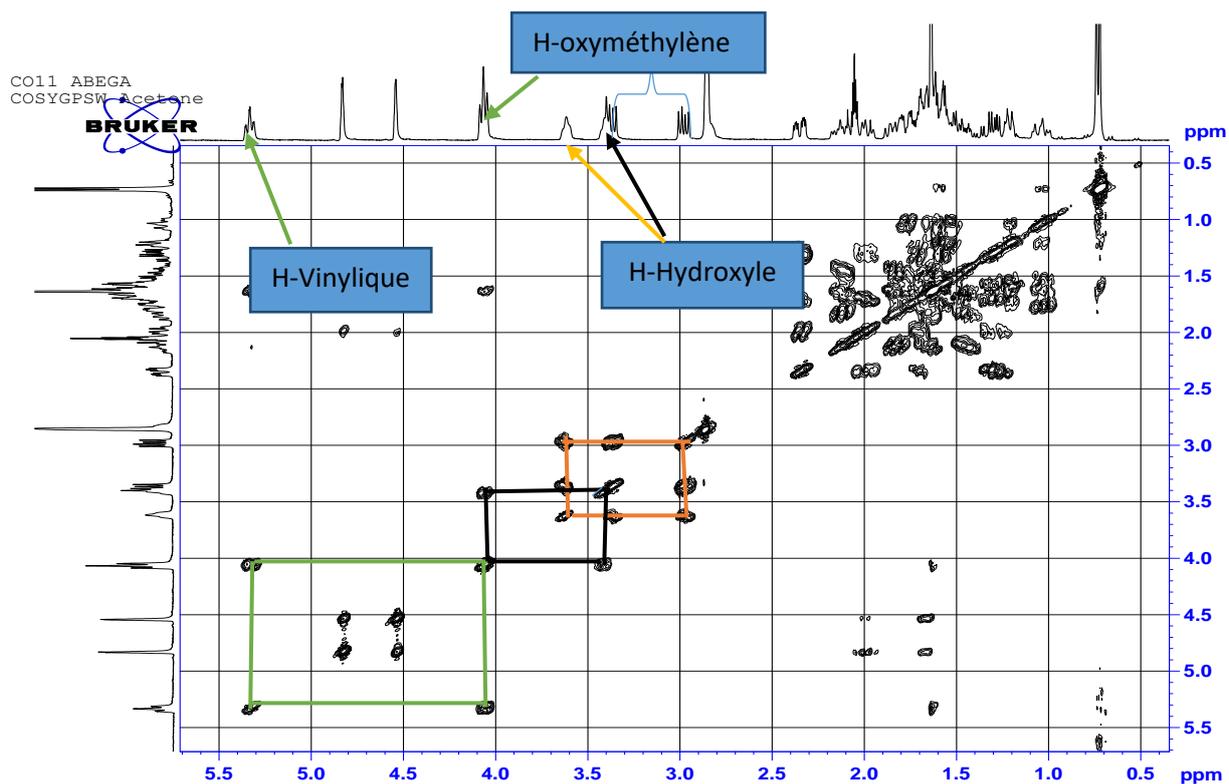


Figure 40: Spectre de COSY de CO11.

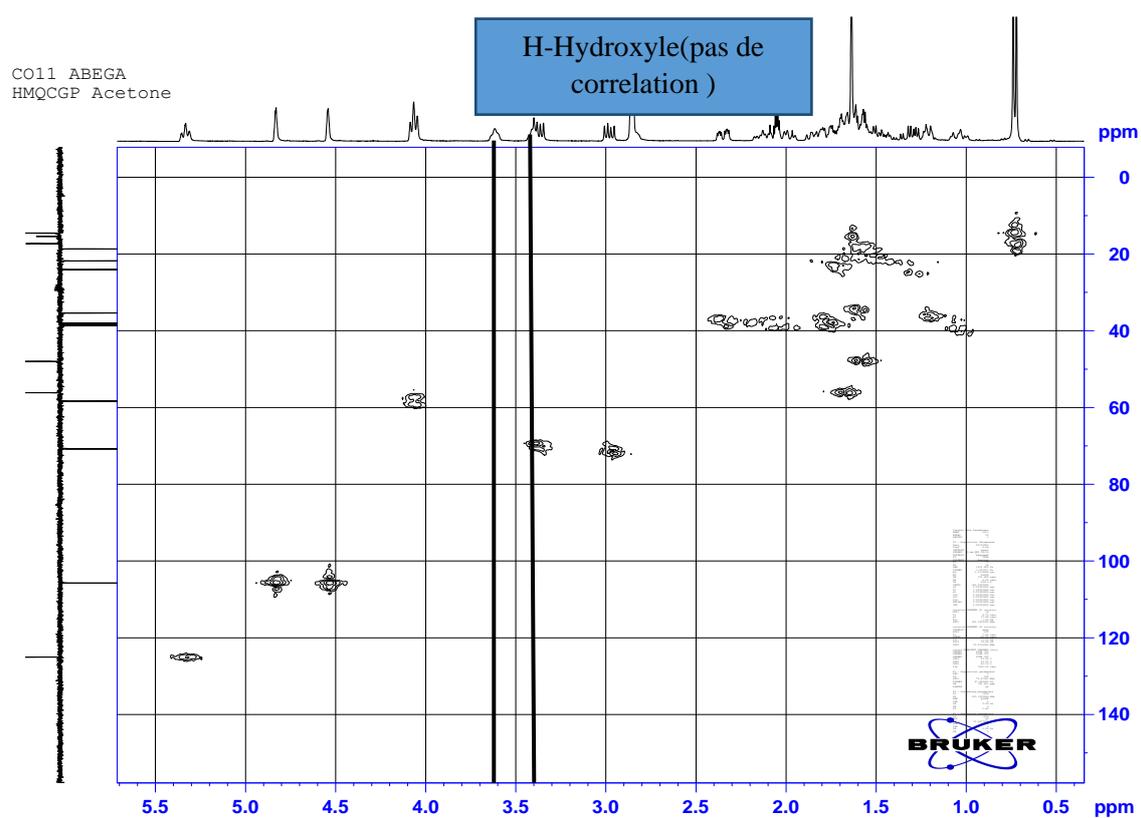
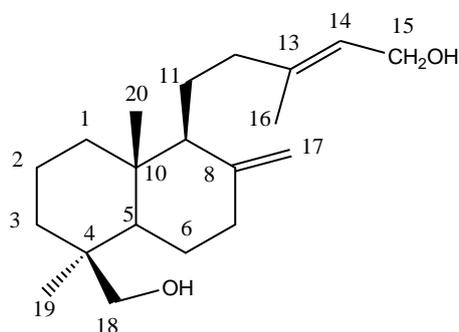


Figure 41: Spectre de HMOC de CO11.

La comparaison de toutes ces informations avec celles de la littérature nous a permis d'attribuer à CO11 la structure **85** qui est celle de la labda-8(17),13-dien-15,18-diol (Kayadiol) déjà isolé de *Torreya nucifera* (Ryu et al., 2010).



85

Tableau XVIII : Données de RMN ¹H (300MHz, Acétone d₆) et ¹³C (75MHz, acétone d₆) de CO11 comparées à celles de la littérature.

N°	δ _H	δ _C	δ _C de Kayadiol (Ryu et al., 2010)
1		37,8	38,1
2		17,3	17,8
3		35,4	35,6
4	-	39,3	39,7
5		48,0	48,6
6		21,7	21,9
7		38,6	38,7
8	-	148,7	148,5
9		56,1	56,4
10	-	38,3	38,5
11		18,7	18,8
12		38,0	38,2
13	-	137,1	140,7
14	5,35	125,0	123,2
15	4,08	58,3	59,6
16	1,65	15,4	16,5
17	4,85 et 4,57	105,5	106,6
18	3,38 et 2,99	70,8	72,2
19	0,76	24,0	24,3
20	0,74	14,4	15,5

II-2-3-6-Identification de CO3 : Crotozambefuran B.

CO3 est obtenu sous forme de cristaux blancs dans le mélange hexane/acétate d'éthyle (7,5 :2,5), il est soluble dans le chloroforme et fond autour de 109°C.

Sur son spectre de masse en impact électronique on observe le pic de l'ion moléculaire à m/z 416,2016 correspondant à la formule brute $C_{23}H_{28}O_7$ renfermant 10 insaturations.

Le spectre IR montre trois bandes d'absorption intenses entre 1703 et 1724 cm^{-1} attribuables à trois carbonyles d'ester, une bande de vibration caractéristique de la double liaison carbone-carbone à 1571,72 cm^{-1} .

L'analyse des spectres de **RMN¹H** (300MHz, $CDCl_3$, Tableau XIX, Figure 42) et **COSY** de CO3 permet d'observer :

- Les signaux de trois protons formant un système ABC à δ_H 6,14(1H, ddd, $J=3,3$; 5,4 et 8,7Hz) ; 6,65(1H, dd, $J=3,0$ et 9,6Hz) et 7,03(1H, d, $J=5,1$ Hz). Celui à δ_H 7,03 étant probablement voisin d'un groupement attracteur.
- Trois signaux d'un proton chacun formant un système ABX à δ_H 6,30(1H, dd, $J=0,9$ et 1,8Hz) ; 7,27(1H, sl) et 7,39(1H, t, $J=1,8$ Hz). Les signaux à δ_H 7,27 et 7,27 étant probablement voisin d'un groupement attracteur.
- Trois signaux intenses attribuables aux protons de trois méthoxyles à δ_H 3,77(3H, s) ; 3,66(3H, s) et 3,60(3H, s).
- Un signal à δ_H 1,37 (3H, d, $J=6,6$ Hz) caractéristiques des protons du méthyle en position 17 des diterpènes de type *trans*-clérodanes (Ngadjui et al., 2002).

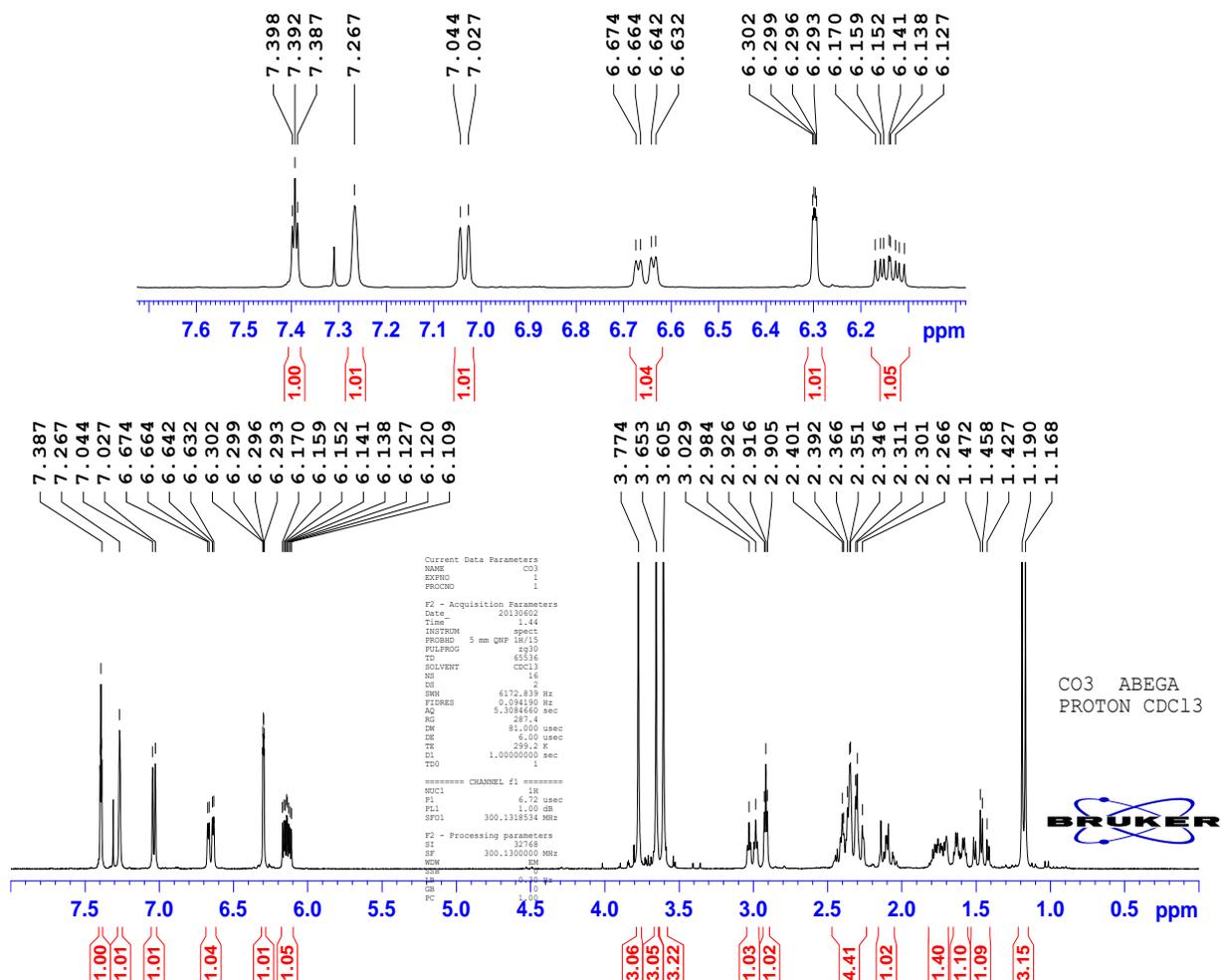


Figure 42 : Spectre de RMN ¹H (300MHz, CDCl₃) de CO3

Ses spectres de RMN¹³C (75MHz, CDCl₃, Tableau XIX, Figure 43) et DEPT135 (Figure 44) montrent :

- Les signaux attribuables à 3 carbonyles d'ester à δ_C 174,5 ; 172,2 et 166,7. Le signal à δ_C 166,7 étant probablement celui d'un carbonyle conjugué.
- Les signaux caractéristiques d'un cycle furanique β -substitué à δ_C 110,8 ; 124,3 ; 138,7 et 143,0 (Ngadjui et al., 2002).
- Quatre signaux attribuables à 4 carbones éthyléniques à δ_C 122,8 ; 134,3 ; 134,4 et 135,2 ainsi que les signaux des carbones de trois méthoxyles à δ_C 51,1 et 51,6.

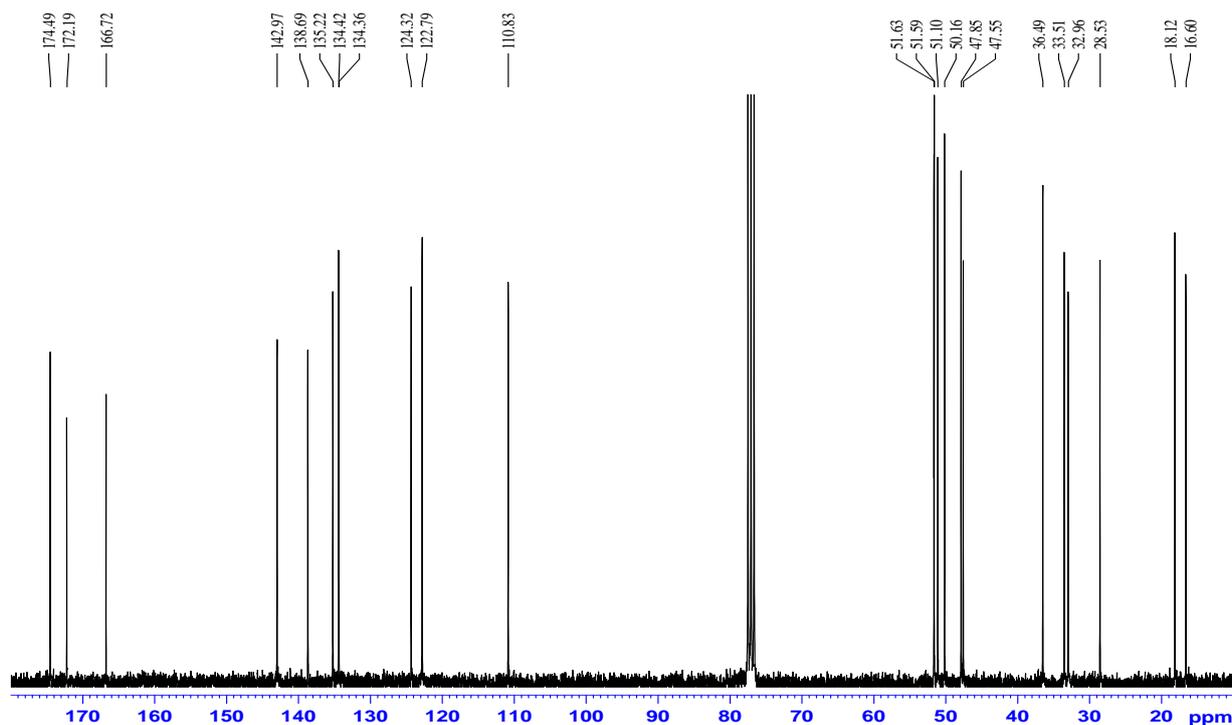


Figure 43 : Spectre de RMN ^{13}C (75MHz, CDCl_3) de CO_3

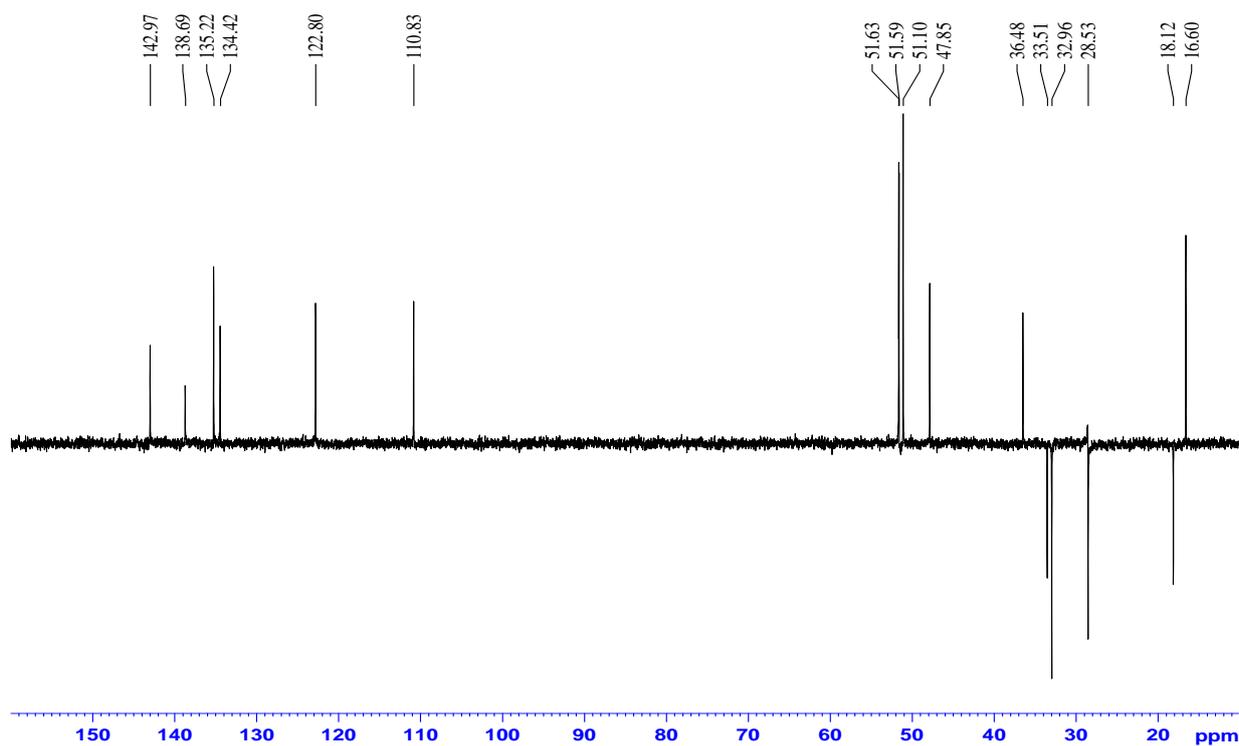
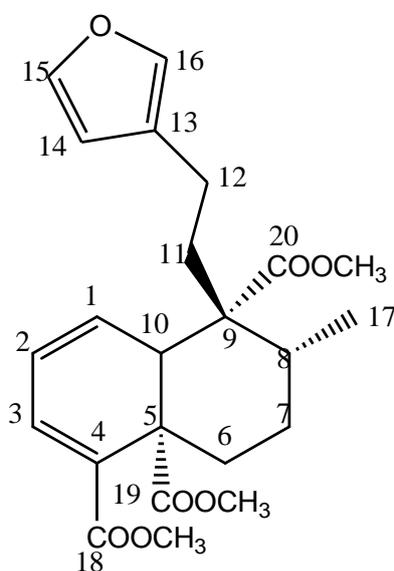


Figure 44: Spectre de DEPT135 (75MHz, CDCl_3) de CO_3 .

L'ensemble de ces informations nous a permis d'attribuer à CO3 la structure **86** qui est celle de la 15,16-époxycléroda-1,3,13(16),14-tétraène-18,19,20-trionate de méthyle (crotozambefuran B) isolé pour la première fois des écorces du tronc de *Croton zambesicus* (Ngadjui *et al.*, 2002).

Crotozambefuran B présente une activité gastroprotective (Schmeda-Hirschmann *et al.*, 2005).



86

Tableau XIX : Données de RMN ¹H (300MHz, CDCl₃) et ¹³C (75MHz, CDCl₃) de CO3 comparées à celles de la littérature.

N°	δ _H	δ _C	δ _C de crotozambefuran B (Ngadjui et <i>al.</i> , 2002)
1	6,65	134,4	134,3
2	6,14	122,8	122,9
3	7,03	135,2	135,3
4	-	134,3	134,8
5	-	47,5	47,1
6		33,0	33,0
7		28,5	28,8
8	1,75	36,5	36,6
9	-	50,2	50,9
10	2,91	47,8	48,1
11	2,30	33,5	33,9
12	2,30	18,1	18,0
13	-	124,3	124,6
14	6,30	110,8	110,7
15	7,39	143,0	143,2
16	7,27	138,7	139,0
17	1,27	16,6	16,0
18	-	166,7	167,4
19	-	172,2	173,1
20	-	174,5	175,1
18OMe	3,77	51,6	51,0
19OMe	3,65	51,6	51,0
20OMe	3,60	5 1,1	50,6

II-2-3-7-Détermination de la structure de CO5

CO5 se présente sous forme de poudre amorphe blanche dans le mélange hexane /acétate d'éthyle (9,3 :0,7). Il est soluble dans le chloroforme. Son pouvoir rotatoire est de -45,8° (MeOH, c=0,1)

L'analyse de son spectre de masse en impact électronique (**Figure 45**) sur lequel on observe le pic de l'ion moléculaire à m/z 430, 1660, couplée aux données des spectres de RMN ¹H et ¹³C nous a permis de lui attribuer la formule brute C₂₃H₂₆O₈ renfermant 11 insaturations.

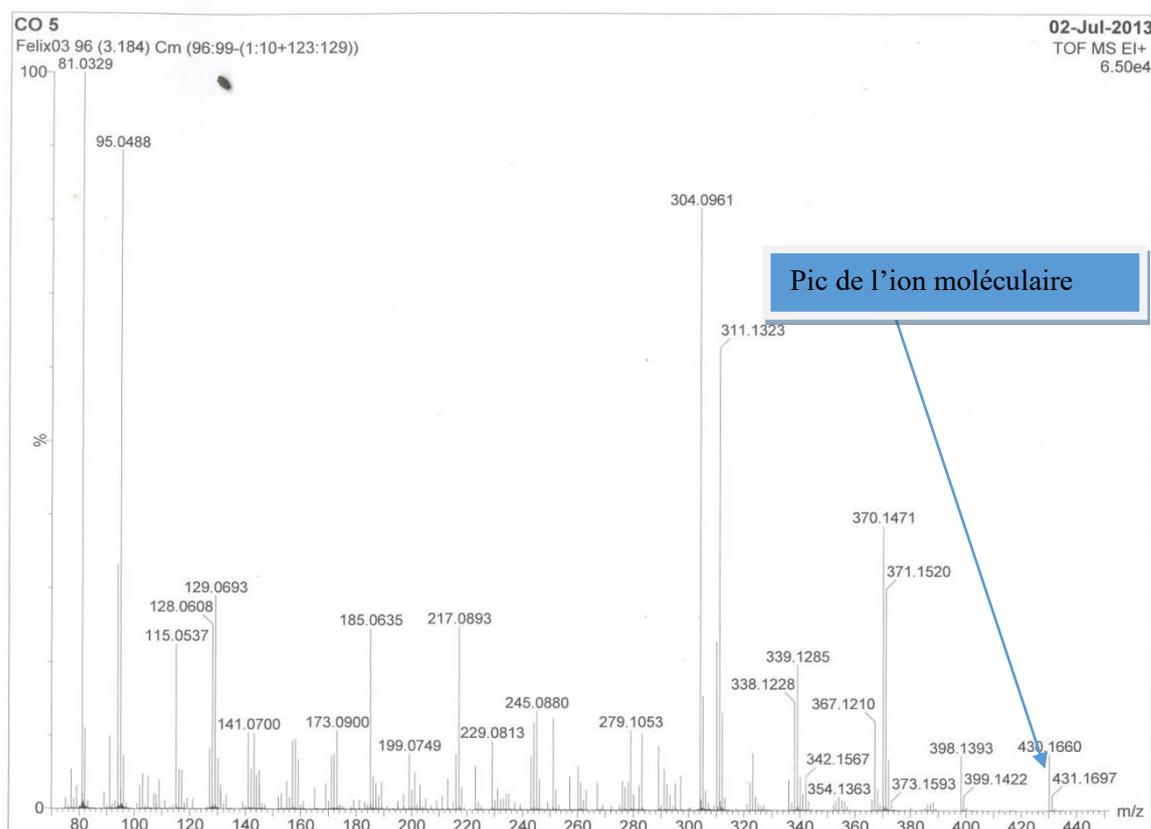


Figure 45 : Spectre de masse de CO5.

Sur son spectre IR (Figure 46) on observe :

- Une bande d'absorption intense caractéristique d'une fonction carbonyle de cétone conjugué à $1663,54\text{cm}^{-1}$.
- Des bandes d'absorption toutes aussi intenses et caractéristiques des fonctions esters à $1721,15\text{cm}^{-1}$; $1748,36\text{cm}^{-1}$ et $1748,12\text{cm}^{-1}$.

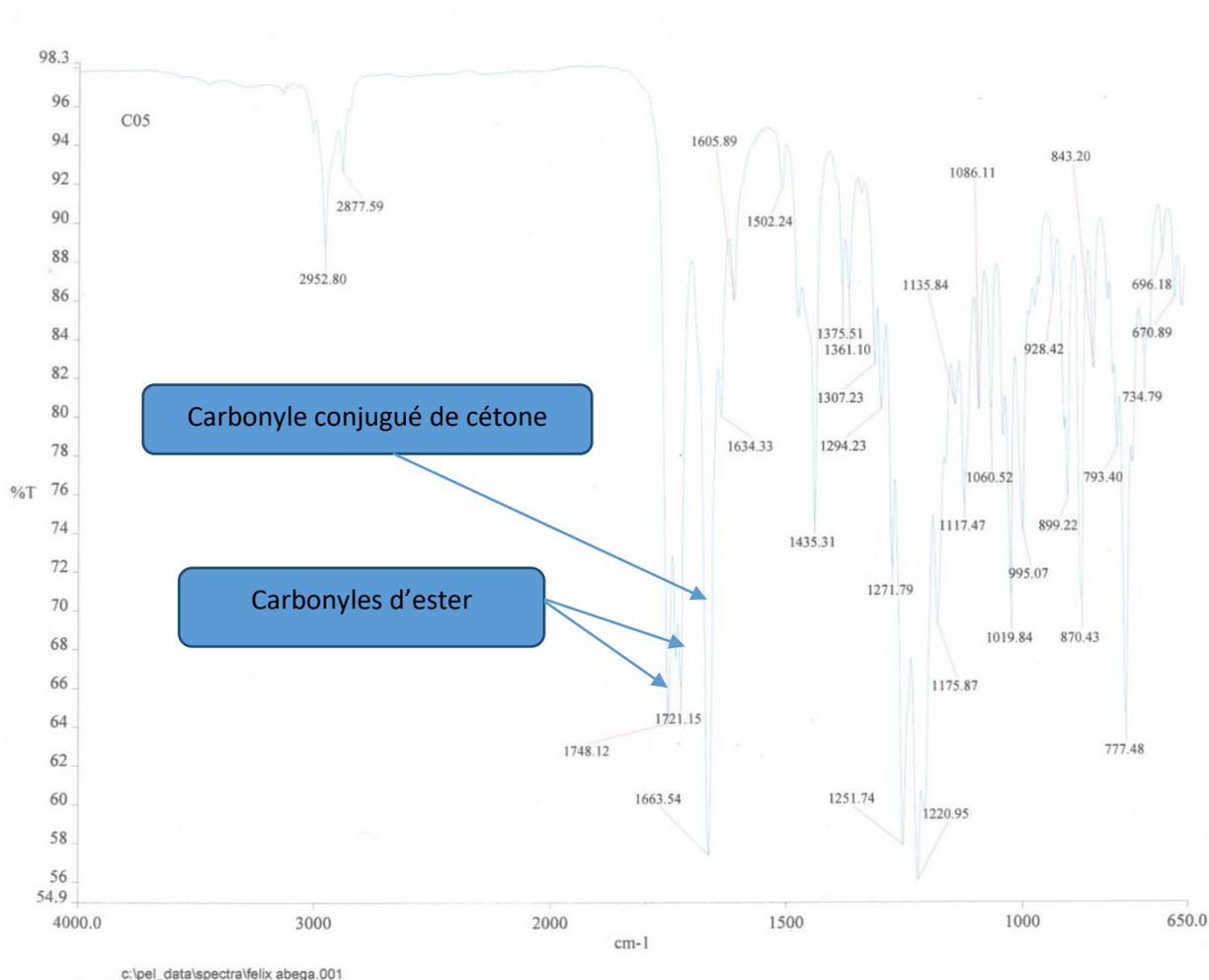


Figure 46: Spectre IR de CO5.

Son spectre de **RMN¹H (300MHz, CDCl₃, Tableau XX, Figure 47)** couplé au spectre **COSY (Figure 52)** révèle :

- A δ_H 6,45(1H, sl);6,61(1H,s);7,06(1Hs) ; 7,31(1H,sl) et 7,42(1H,sl) les signaux de cinq protons éthyléniques.
- A δ_H 3,63(3H,s) ;3,64(3H,s) et 3,87(3H,s) des signaux attribuables aux protons de trois méthoxyles
- Un signal à δ_H 1,40(3H,d, J=6,6Hz) attribuable aux proton H-17 des *trans*-clérodanes.

(Ngadjui et al., 2002)

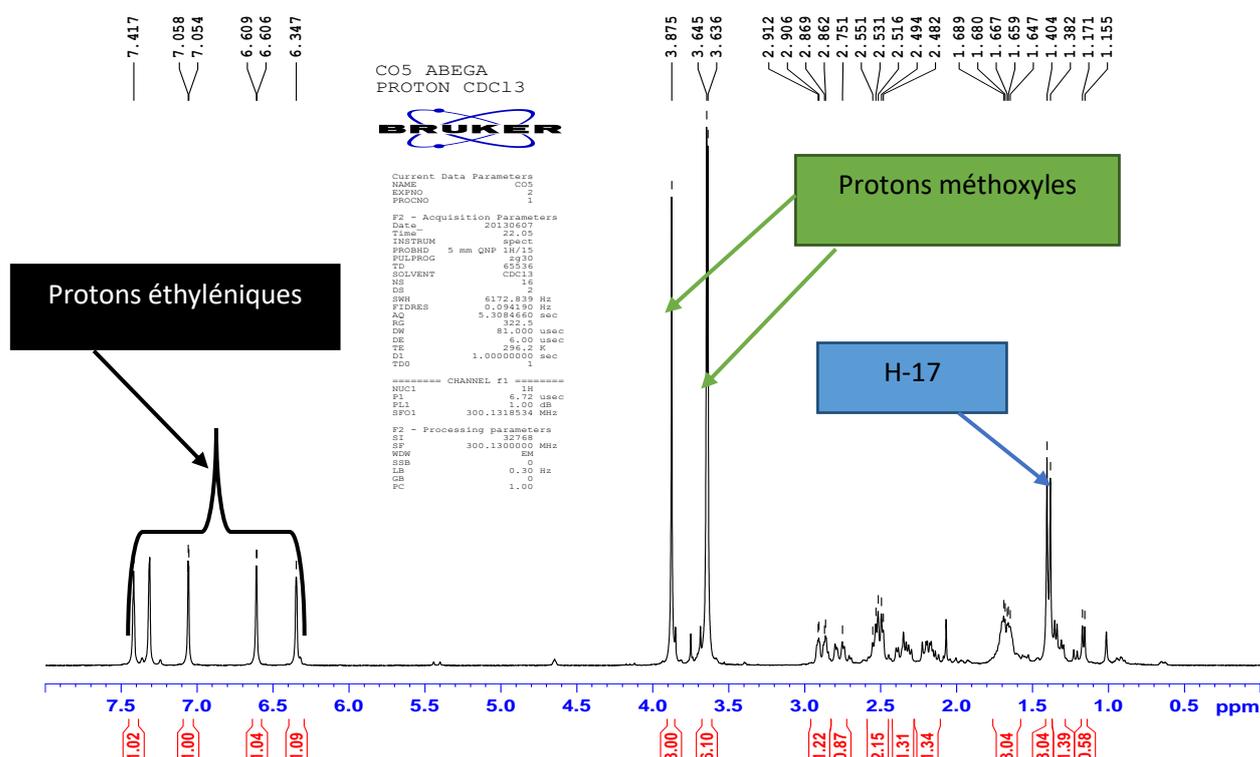


Figure 47 : Spectre de RMN¹H (300MHz, CDCl₃) de CO5.

L'analyse des spectres de **RMN¹³C (75MHz, CDCl₃, Tableau XX, Figure 48)** et **DEPT135 (Figure 49)** de CO5 présente :

- Un signal à δ_C 186,4 attribuable à un carbonyle conjugué de cétone.
- Trois signaux attribuables à trois carbonyles d'esters à δ_C 165,5 ; 169,5 et 172,5 suggérant que celui à δ_C 165,5 est conjugué
- Les signaux caractéristiques du cycle furanique β -substitué à δ_C 110,6 ; 123,7 ; 138,8 et 143,2(Ngadjui et al., 2002).
- Les signaux de deux carbones vinyliques à δ_C 128,8 et 131,9.

- Les signaux attribuables aux carbones des trois méthoxyles mentionnés plus haut à δ_C 52,1 ; 52,8 et 53,0.
- Le signal du carbone d'un méthyle secondaire à δ_C 14,8(C-17).

Les données spectrales de CO5 sont très similaires à celles de CO3 ou 15,16-époxycléroda-1, 3,13(16),14-tétraène-18,19,20-trionate de méthyle (crotozambefuran B). La comparaison des données spectrales de CO5 et de CO3 montre quasiment les mêmes déplacements chimiques, à l'exception des signaux des protons du cycle A. Un examen minutieux des spectres de CO5 nous permet de suggérer la présence dans sa structure d'une insaturation supplémentaire qui se manifeste par l'augmentation d'une double liaison carbone- oxygène conjugué. Ceci a été confirmé par :

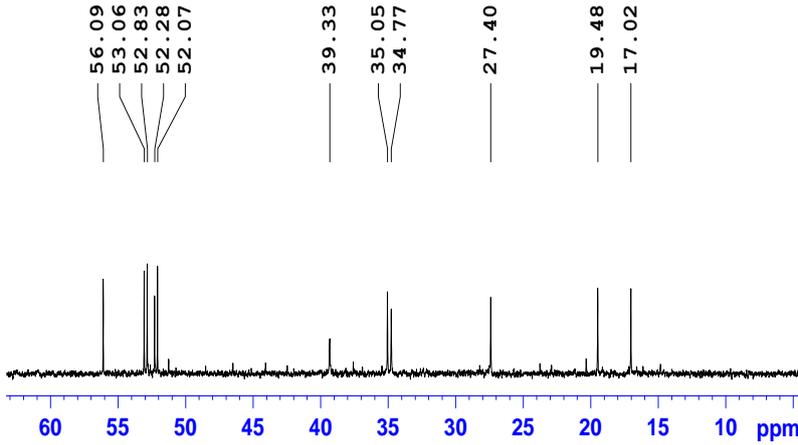
- La présence dans la formule brute de CO5 d'un atome d'oxygène en plus mais avec deux atomes d'hydrogène en moins par rapport à CO3.
- La présence sur les spectres de RMN de CO5 de deux méthines vinyliques au lieu de quatre comme sur les spectres de CO3 ; deux carbones quaternaires à δ_C 150,1 et 157,5 que l'on peut attribuer aux atomes de carbones de deux systèmes carbonyles- α,β -insaturés adjacents.

CO5 ABEGA
C13CPD CDC13



Current Data Parameters
NAME CO5
EXPRO 3
PROCNO 1

F2 - Acquisition Parameters
Date_ 20130607
Time_ 22.12
INSTRUM spect
PROBHD 5 mm QNP 1H/13
PULPROG zgpg30
TD 65536
SOLVENT CDCl3
NS 1024
DS 4
SWH 17985.612 Hz
FIDRES 0.274439 Hz
AQ 1.8219508 sec
RG 1896.5
DW 27.800 usec
DE 6.00 usec



C=O cétone

F1 7.50 usec
FL1 -2.00 dB
RF01 75.4752953 MHz
----- CHANNEL F2 -----
CROSSPO white26
NUC2 13
PCPDZ 80.00 usec
PZ2 +4.00 dB
FL12 10.54 dB
FL13 18.00 dB
RF02 300.132003 MHz
F2 - Processing parameters
SI 32768
SF 75.4677490 MHz
WDW EM
SSB 0
LB 1.00 Hz
GB 0
PC 1.40

C=O ester

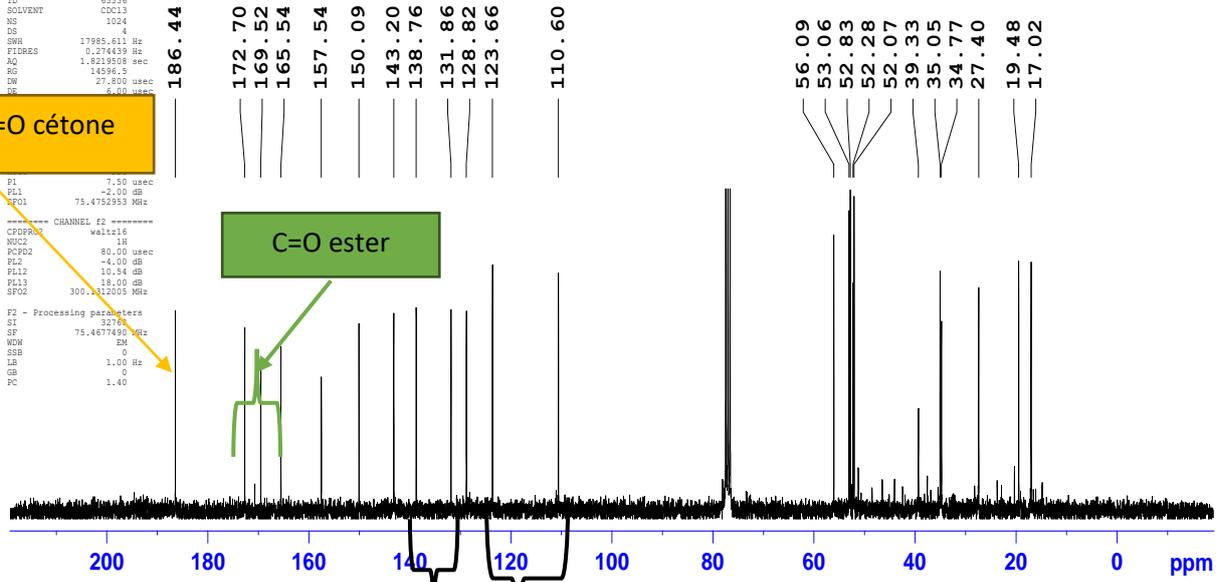


Figure 48 : Spectre de RMN ¹³C (75MHz, CDCl₃)

Carbones du cycle furanique

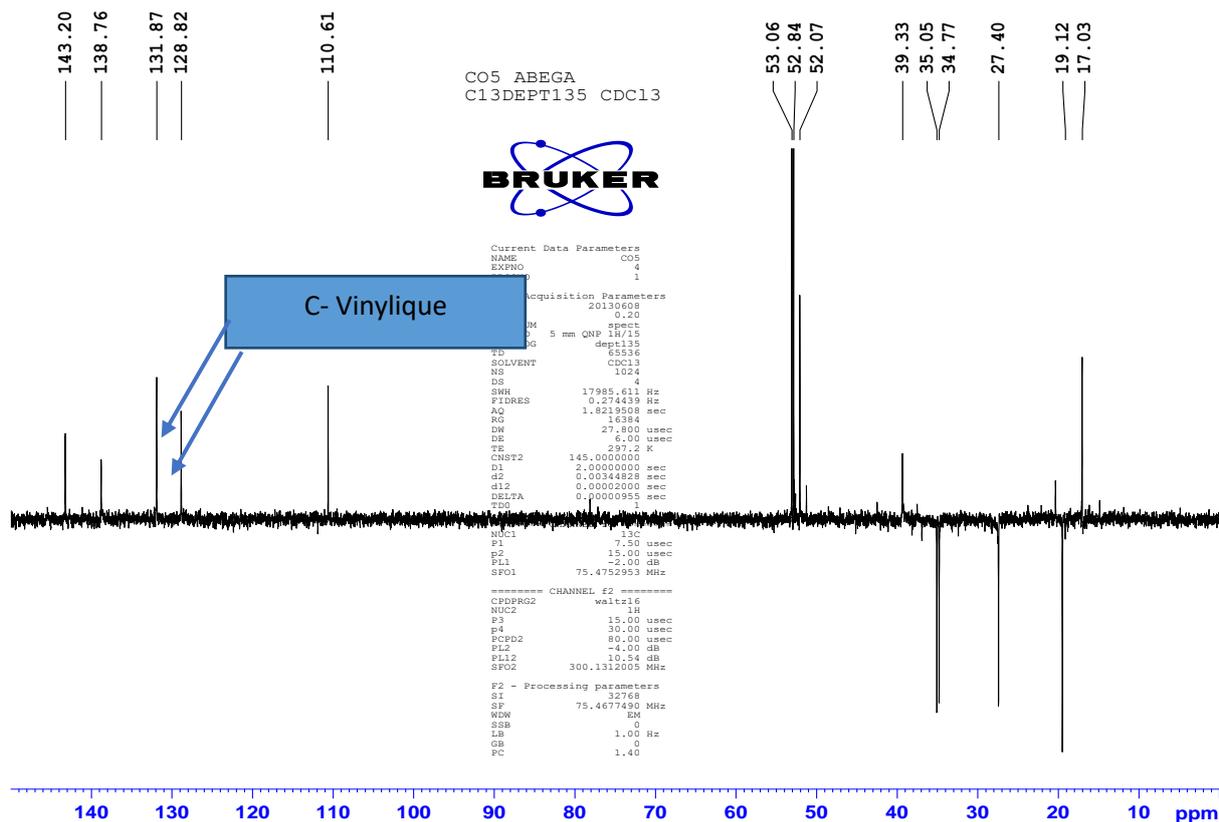


Figure 49 : Spectre de DEPT 135 (75MHz, CDCl₃) de CO5.

L'analyse du spectre HMQC de CO5 (**Figure 50**) permet d'établir les corrélations J¹ proton-carbone.

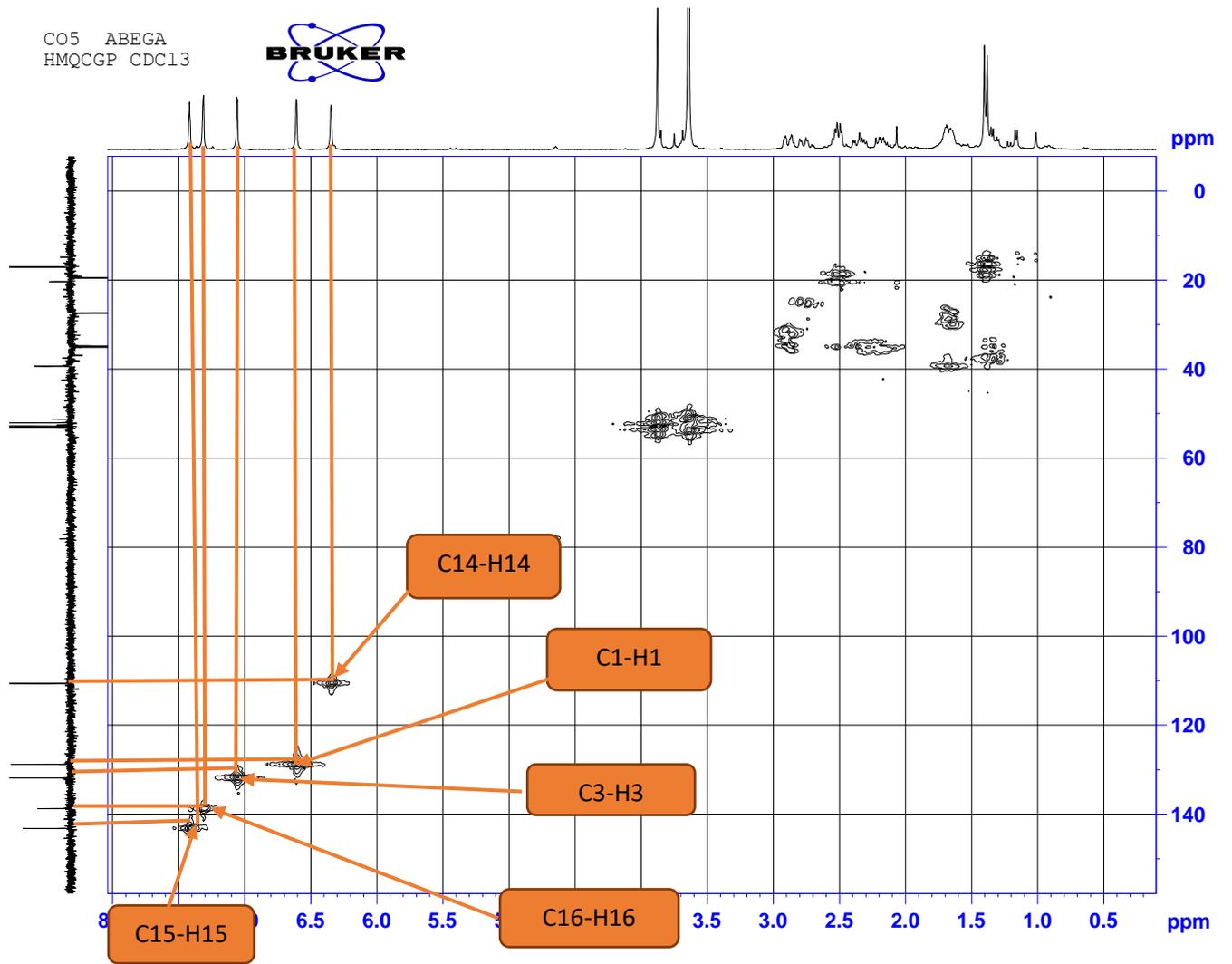


Figure 50 : Spectre HMQC de CO5.

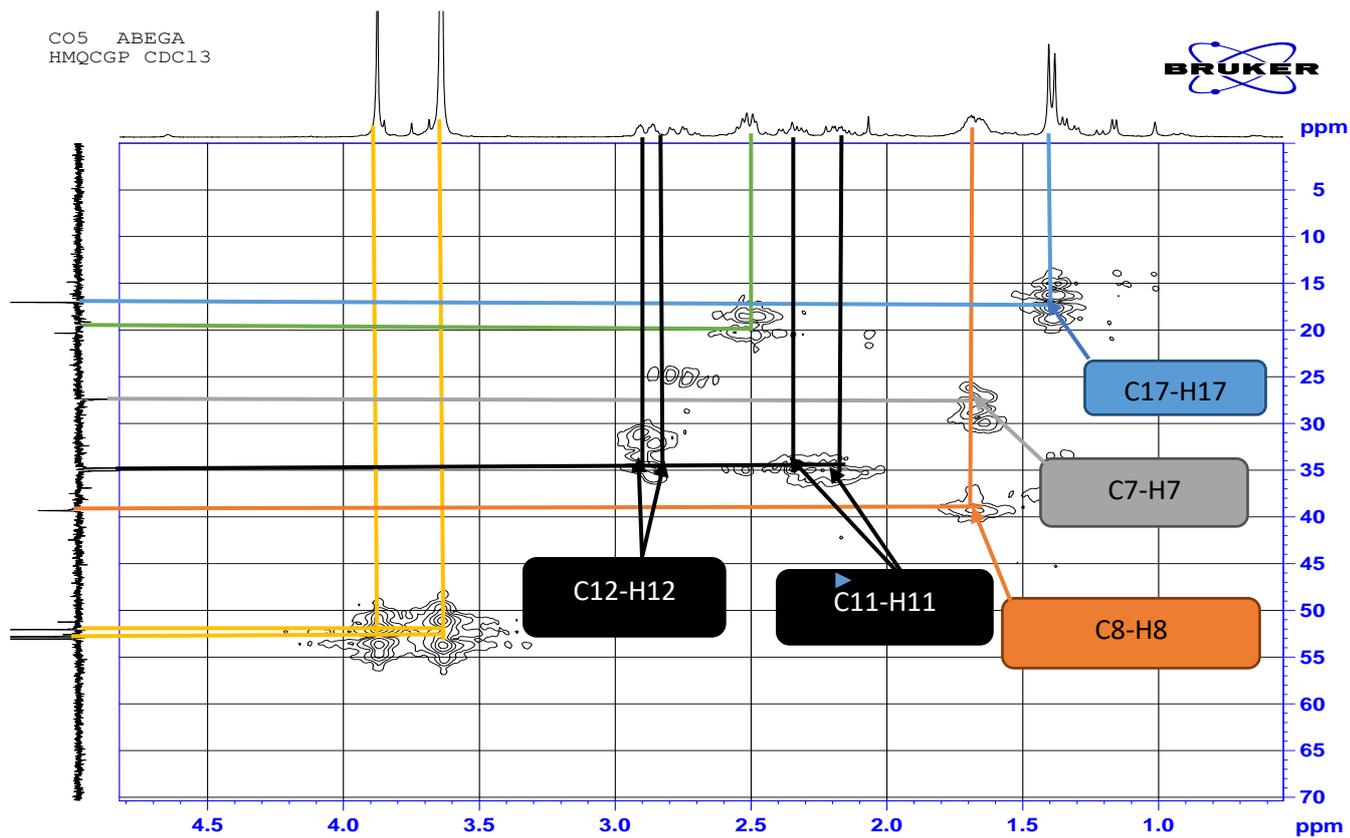


Figure 51 : Spectre HMQC partiel de CO5.

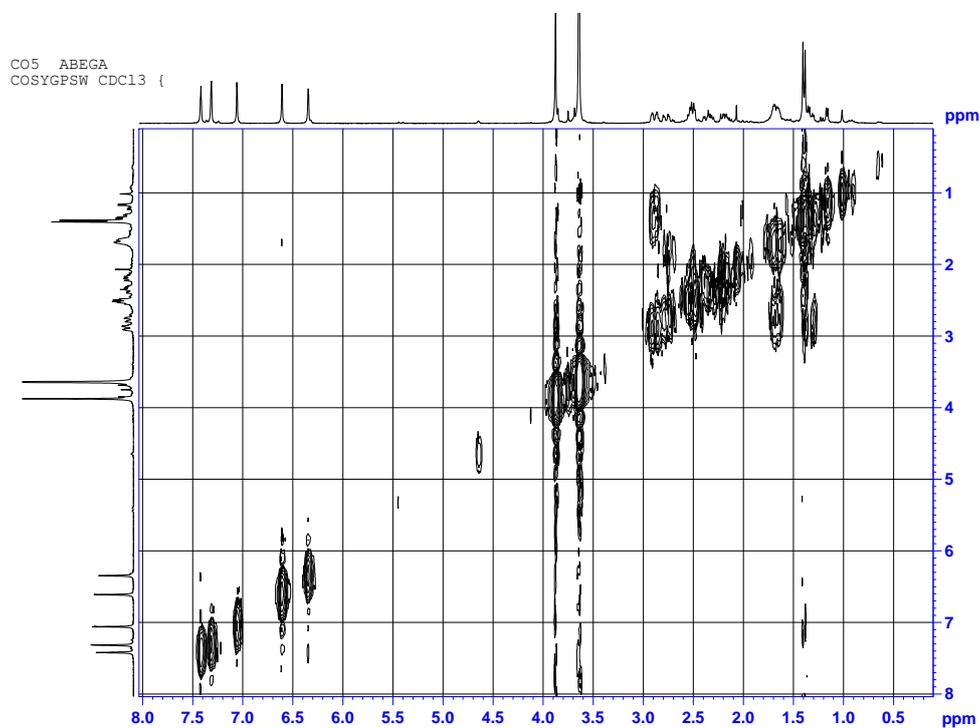


Figure 52 : Spectre COSY de CO5.

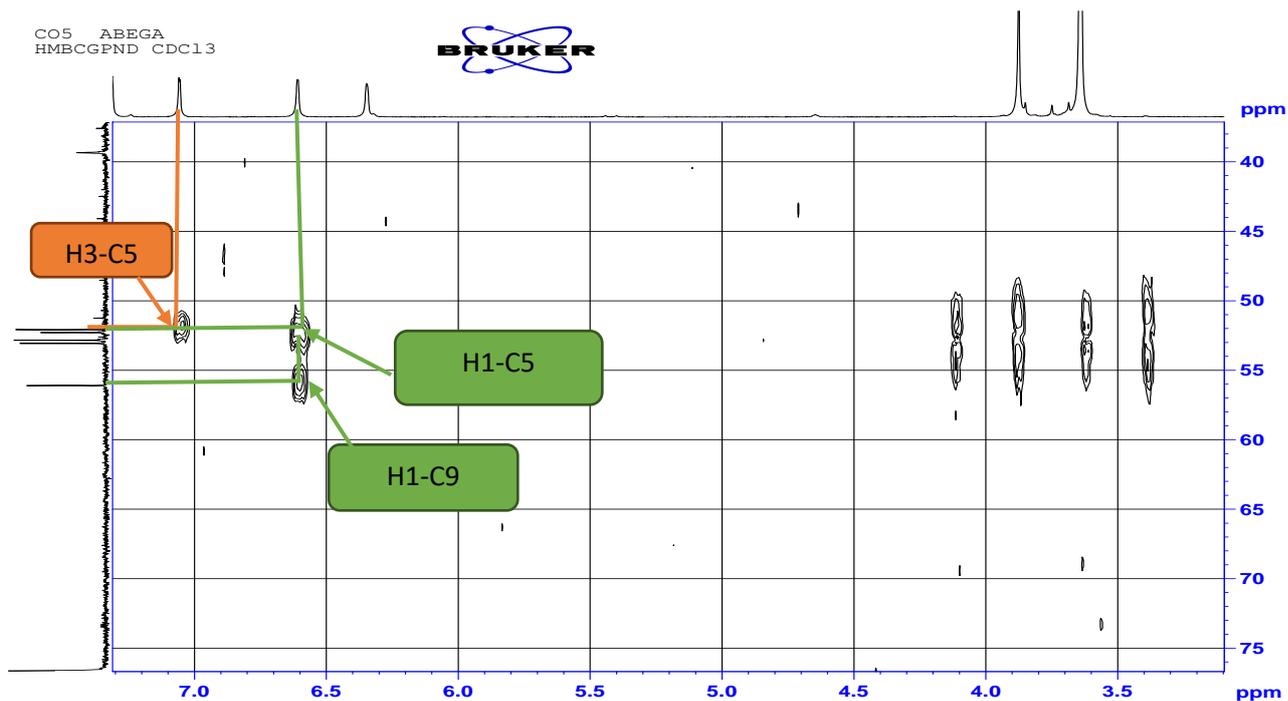


Figure 53 : Spectre HMBC partiel de CO5.

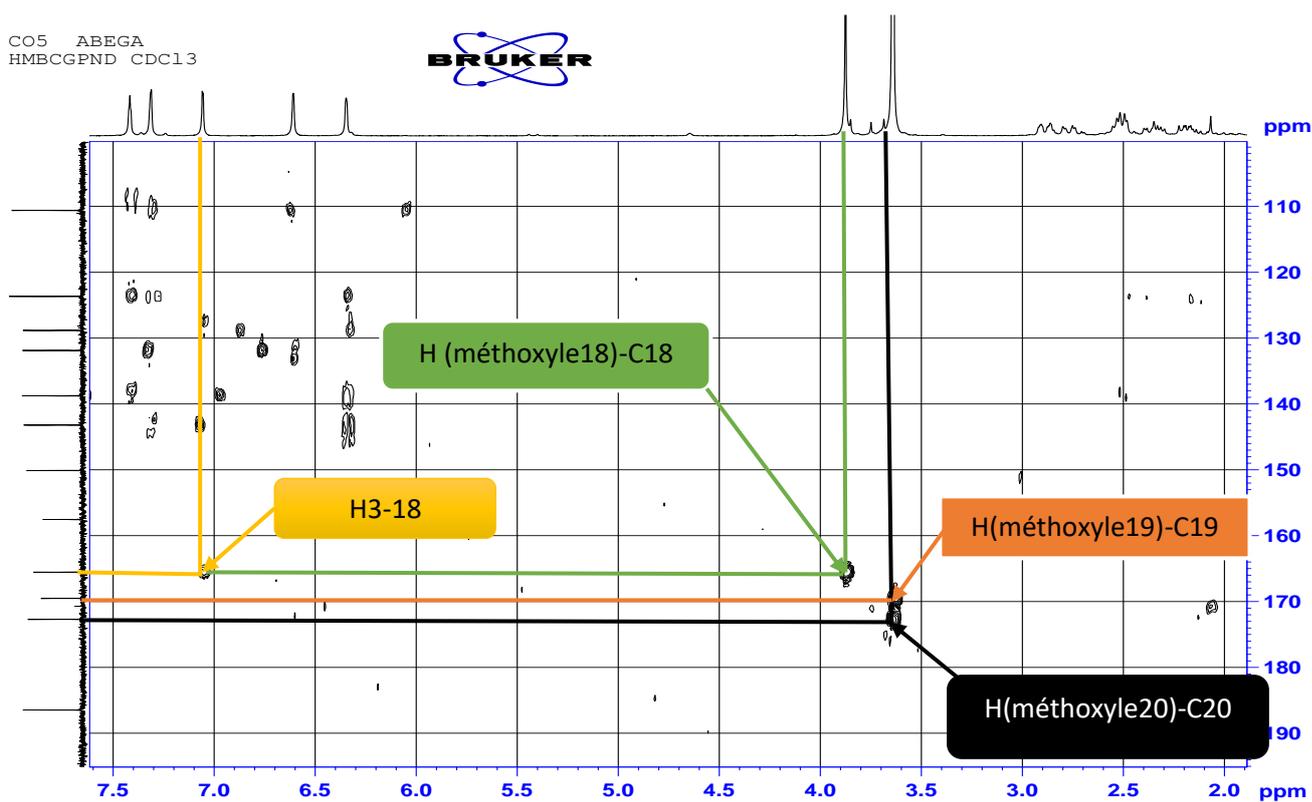


Figure 54 : Spectre HMBC partiel de CO5.

L'ensemble de toutes ces informations nous a permis d'attribuer à CO5 la structure **87** qui est celle de la 15,16-époxy-2-oxocleroda-1(10), 3, 13(16),14-tetraène-18,19,20-trionate de méthyle décrit ici pour la première fois et auquel nous avons attribué le nom de

crotonoligaketone. Les configurations relatives en C-8 et C-9 sont déduites du spectre NOESY (Figure 55, Schéma 10) sur lequel on observe des corrélations entre le proton du méthine à δ_H 1,64(1H,m,H-8) et les protons du méthylène à δ_H 2,25(1H,m,H-11) et 2,35 (1H,m,H-11).

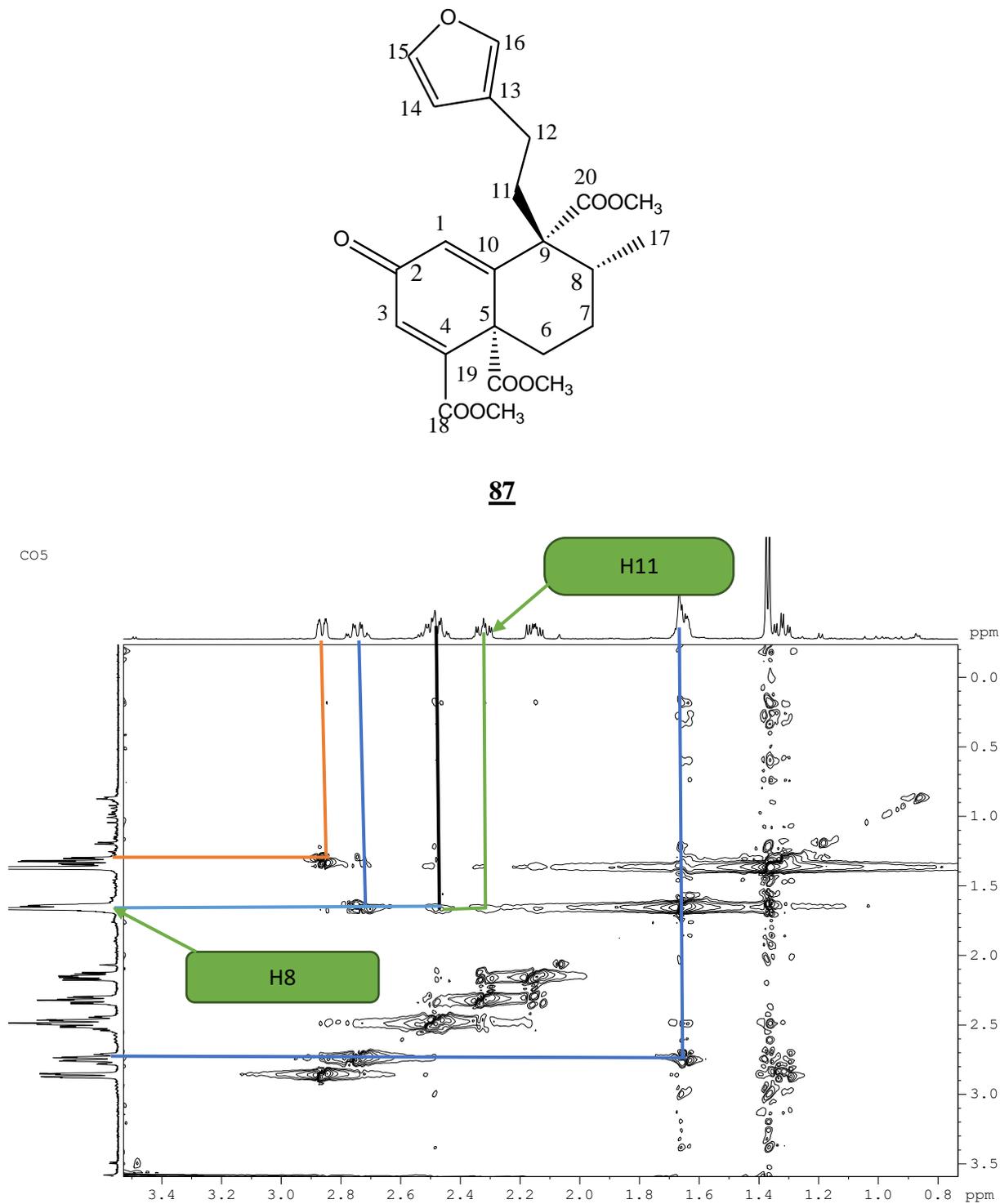


Figure 55: Spectre NOESY partiel de CO5.

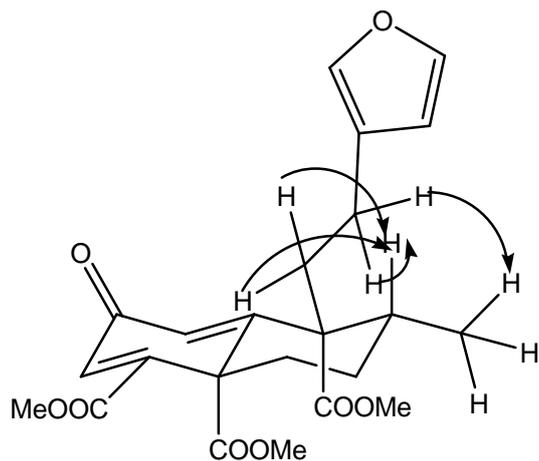


Schéma 10 : Quelques corrélations observées sur le spectre NOESY de CO5.

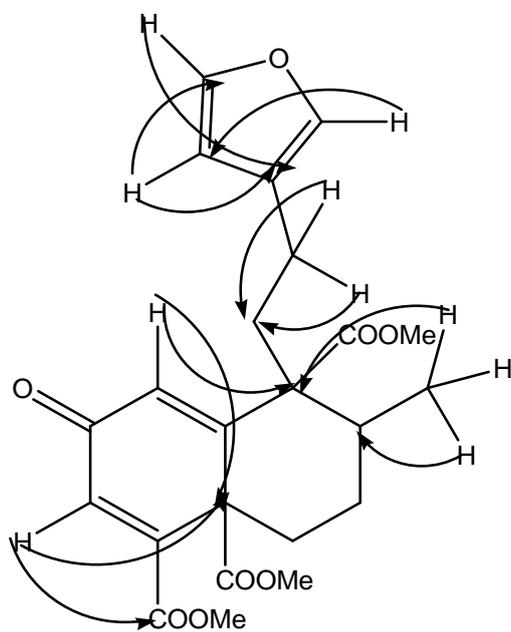


Schéma 11 : Quelques corrélations observées sur le spectre HMBC de CO5.

Tableau XX : Données de RMN ¹H (300MHz, CDCl₃) et ¹³C (75MHz, CDCl₃) de CO5.

N°	δ _H (m ,J en Hz)	δ _C
1	6,61(1H,s)	128,8(d)
2	-	186,4(s)
3	7,06(1H,s)	131,9(d)
4	-	157,5(s)
5	-	52,3(s)
6	2,88(1H,m) et 2,75(1H,m)	34,7(t)
7	1,66(2H,s)	27,4(t)
8	1,64(1H,m)	39,3(d)
9	-	56,1(s)
10	-	150,1(s)
11	2,35(1H,m) et 2,25(1H ;m)	35,0(t)
12	2,54(1H,m) et 2,47(1H ;m)	19,5(t)
13	-	123,7(s)
14	6,35(1H,sl)	110,6(d)
15	7,42(1H,sl)	143,2(d)
16	7,31(1H,sl)	138,8(d)
17	1,40(3H,d,6,6)	14,8(q)
18	-	165,5(s)
19	-	169,5(s)
20	-	172,7(s)
18-OMe	3,87(3H,s)	53,0(q)
19-OMe	3,63(3H,s)	52,1(q)
20-OMe	3,64(3H,s)	52,8(q)

II-2-3-8-Identification de CO12 : Crotozambefuran A.

CO12 se présente sous forme d'une poudre blanche dans le mélange hexane/acétate d'éthyle (7,5 :2,5), il est soluble dans le chloroforme. L'analyse de ses spectres de RMN ¹H, ¹³C, DEPT135 et HMQC nous a permis de lui attribuer la formule brute C₂₂H₂₄O₇ renfermant 11 insaturations.

Son spectre IR présente des bandes d'absorption caractéristiques du carbonyle d'une lactone à $1760,8\text{cm}^{-1}$ et d'esters à 1731cm^{-1} et $1706,6\text{cm}^{-1}$.

L'analyse de ses spectres de **RMN¹H (300MHz, CDCl₃, Tableau XXI, Figure 56)** et COSY nous permet d'identifier :

- Les signaux de trois protons formant un système ABX à δ_{H} 6,46(1H, dd, J=1,8 et 0,9Hz) ; 7,49(1H, d, J=1,8Hz) et 7,52(1H, dd, J=1,5 et 0,9Hz).
- Trois autres signaux d'un proton chacun formant un système ABC à δ_{H} 6,00(1H, dd, J=3,3 et 9,3Hz) ; 6,20(1H, ddd, 3,3 ; 5,4 et 9,6Hz) ; 7,01(1H, dd, J=0,6 et 5,4Hz).
- Un signal à δ_{H} 5,49(1H, t, J=8,4Hz) attribuable au proton d'un oxyméthine.
- A δ_{H} 3,62(3H,s) et 3,74(3H,s) deux signaux intenses attribuables aux protons de deux méthoxyles.
- Un signal à δ_{H} 1,14(3H, d, J=6,9Hz) attribuables aux protons H-17 des *trans*-clérodanes (Ngadjui et al., 2002).

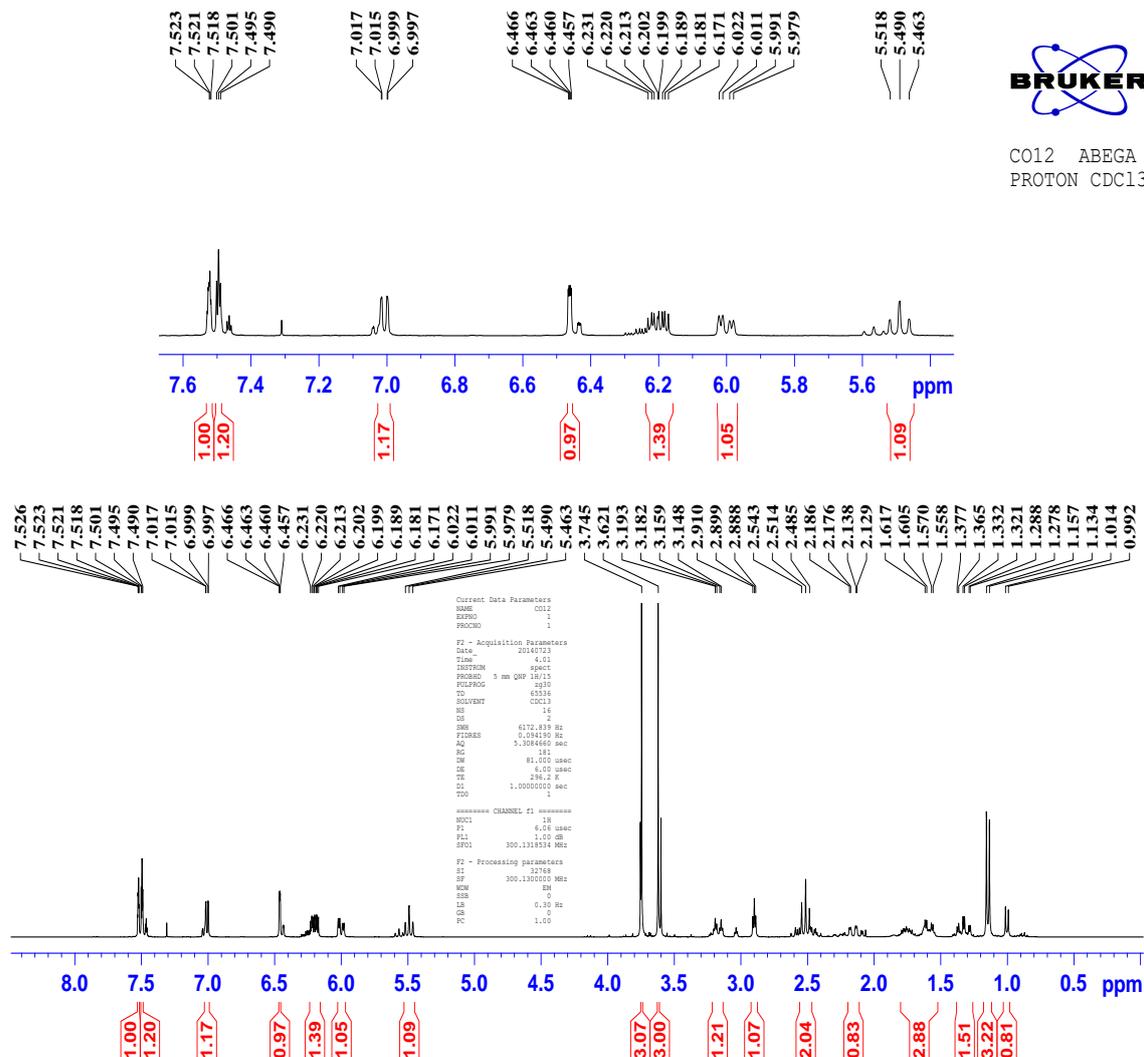


Figure 56 : Spectre de RMN ¹H (300MHz, CDCl₃) de CO12.

Ses spectres de RMN ^{13}C (75MHz, CDCl_3 , Tableau XXI, Figure 57) et DEPT 135(Figure 58) révèlent :

- Trois signaux à δ_{C} 166,5 ; 171,2 et 176,1 attribuables à trois carbonyles d'ester. Celui à δ_{C} 176,1 étant probablement celui d'une lactone.
- Les signaux caractéristiques d'un cycle furanique β -substitué à δ_{C} 108,2 ; 125,4 ; 139,3 et 144,3(Pacheco et al., 2009).
- Les signaux attribuables à quatre carbones éthyléniques à δ_{C} 125,5 ; 132,6 ; 135,4 et 136,1.
- Un signal attribuable au carbone d'un oxyméthine à δ_{C} 72,0.
- Deux signaux attribuables aux carbones de deux méthoxyles à δ_{C} 51,4 et 51,7.

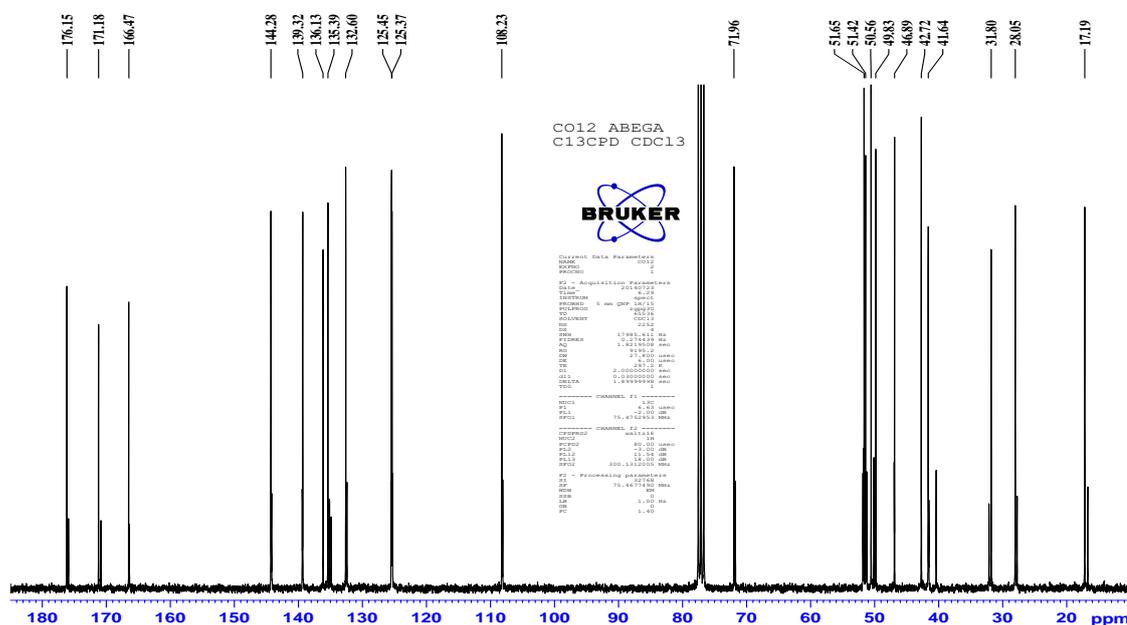


Figure 57: Spectre de RMN ^{13}C (75MHz, CDCl_3) de CO12.

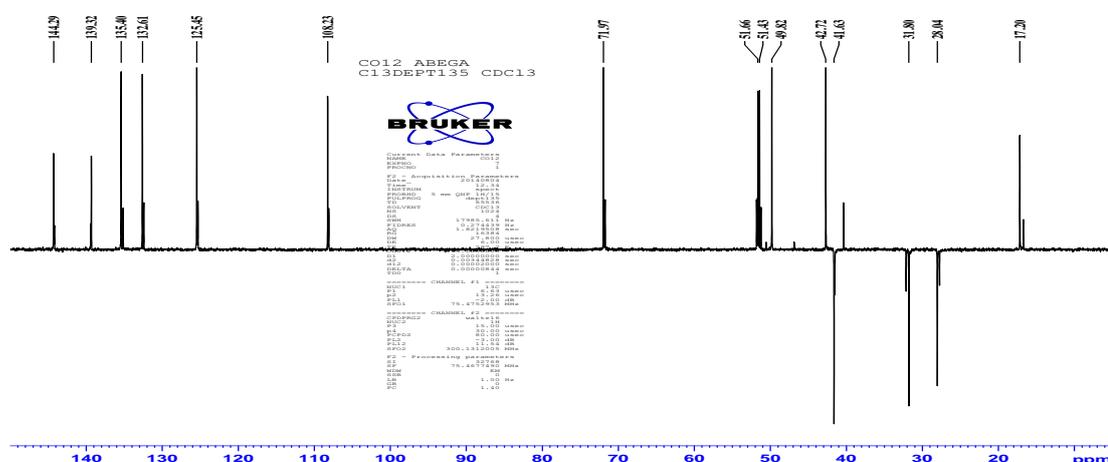


Figure 58: Spectre DEPT 135(75MHz, CDCl_3) de CO12.

Le spectre **HMBC** (Figure 59) de CO12 montre des taches de corrélation entre :

- les protons à δ_H 2,90 (1H, t, $J=3,3\text{Hz}$) ; 2,51(2H, t, $J=8,7\text{Hz}$) et le carbone à 176,1.
- les protons du méthylène à δ_H 2,51(2H, t, $J=8,7\text{Hz}$) et le carbone de l'oxyméthine δ_C 72,0.

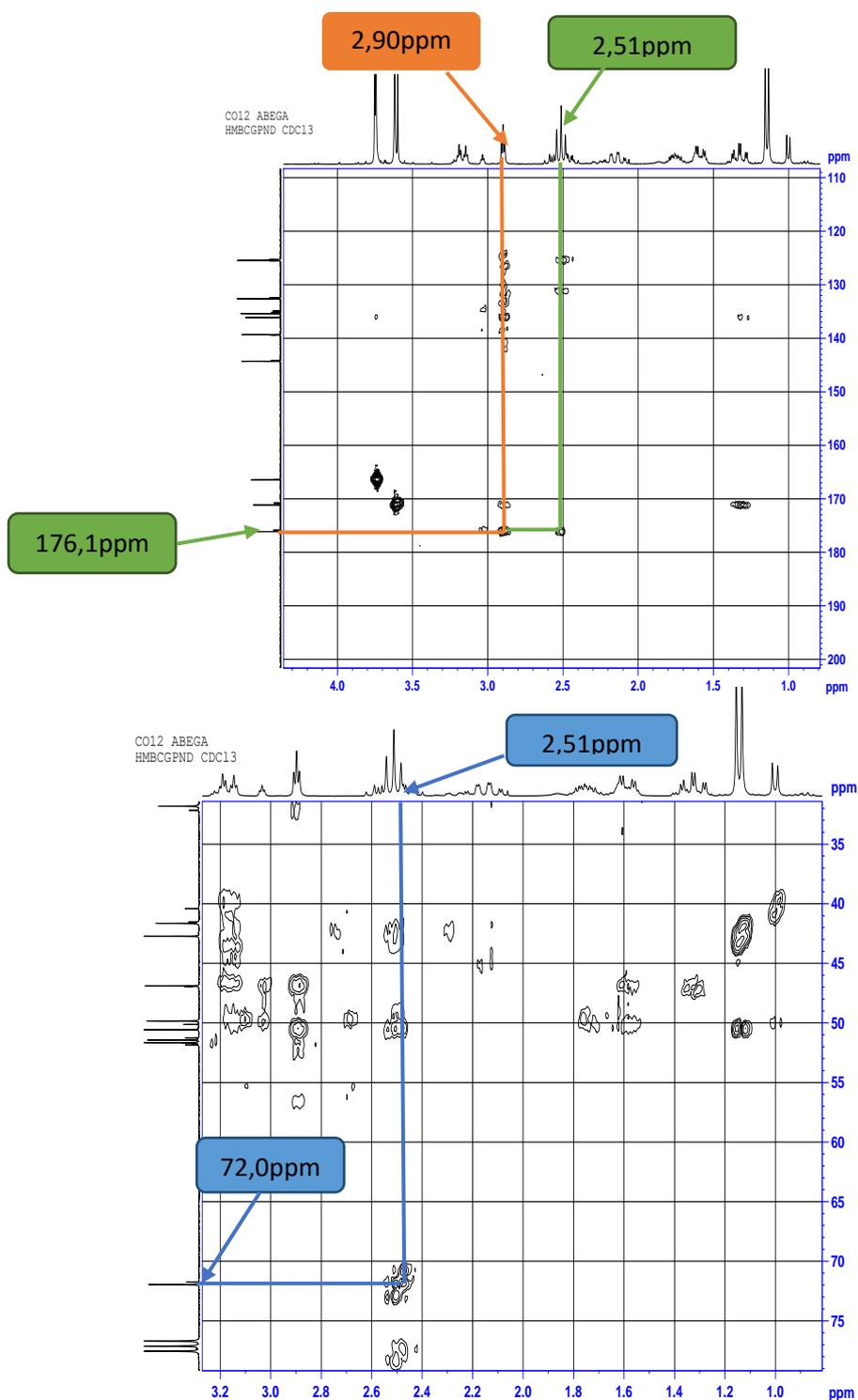
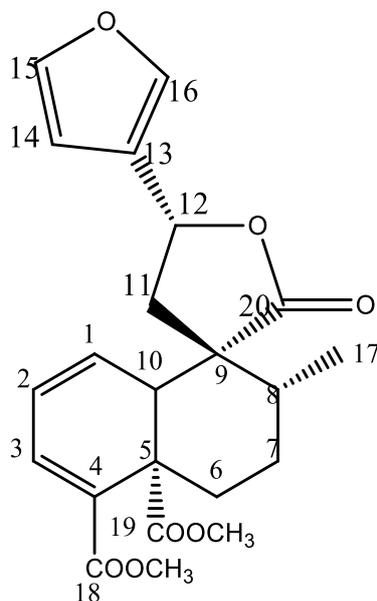


Figure 59 : Spectre HMQC partiel de CO12.

Le spectre COSY quant à lui montre une corrélation entre le proton de l'oxyméthine à δ_H 5,49 (1H, t, J=8,4Hz) et les protons du méthylène à δ_H 2,51(2H, t, J=8,7Hz).

Toutes ces données comparées à celles de la littérature (Ngadjui *et al.*, 2002) nous ont permis d'attribuer à CO12 la structure **88** qui est celle de la 15,16-époxycléroda-1,3,13(16),14-tetraèn-20,12-olide-18,19-diodate de méthyle (crotozambefuran A) isolé pour la première fois de *Croton zambesicus*).

Crotozambefuran A présente une activité gastroprotective (Schmeda-Hirschmann *et al.*, 2005).



88

Tableau XXI : Données de RMN ¹H (300MHz, CDCl₃) et ¹³C (75MHz, CDCl₃) de CO12 comparées à celles de la littérature.

N°	δ_H	δ_C	δ_C de crotozambefuran A (Ngadjui et al., 2002)
1	6,00	132,6	133,1
2	6,20	125,5	125,4
3	7,01	135,4	135,6
4	-	136,1	136,1
5	-	46,9	47,5
6	3,17 et 1,33	31,8	31,8
7	2,16	28,0	28,2
8	1,58	42,7	42,3
9	-	50,6	50,4
10	2,90	49,8	49,6
11	2,51	41,6	41,4
12	5,49	72,0	73,0
13	-	125,4	126,0
14	6,46	108,2	108,2
15	7,49	144,3	144,7
16	7,52	139,3	140,1
17	1,14	17,2	16,5
18	-	166,5	166,9
19	-	171,2	172,5
20	-	176,1	177,8
18-OMe	3,62	51,7	51,2
19-OMe	3,19	51,4	71,1

II-2-3-9- Détermination de la structure de CORF1a.

CORF1a est une huile jaune soluble dans le chloroforme avec un pouvoir rotatoire de $-7,8^\circ$ (c 0.1, MeOH). Sa formule brute $C_{22}H_{22}O_8$ renfermant 12 insaturations, a été déduite de son spectre de masse (ESI-**Figure 60**) sur lequel on observe le pic de l'adduit moléculaire $m/z [M+Na]^+ = 437,150$ et de ses spectres de RMN 1H et ^{13}C .

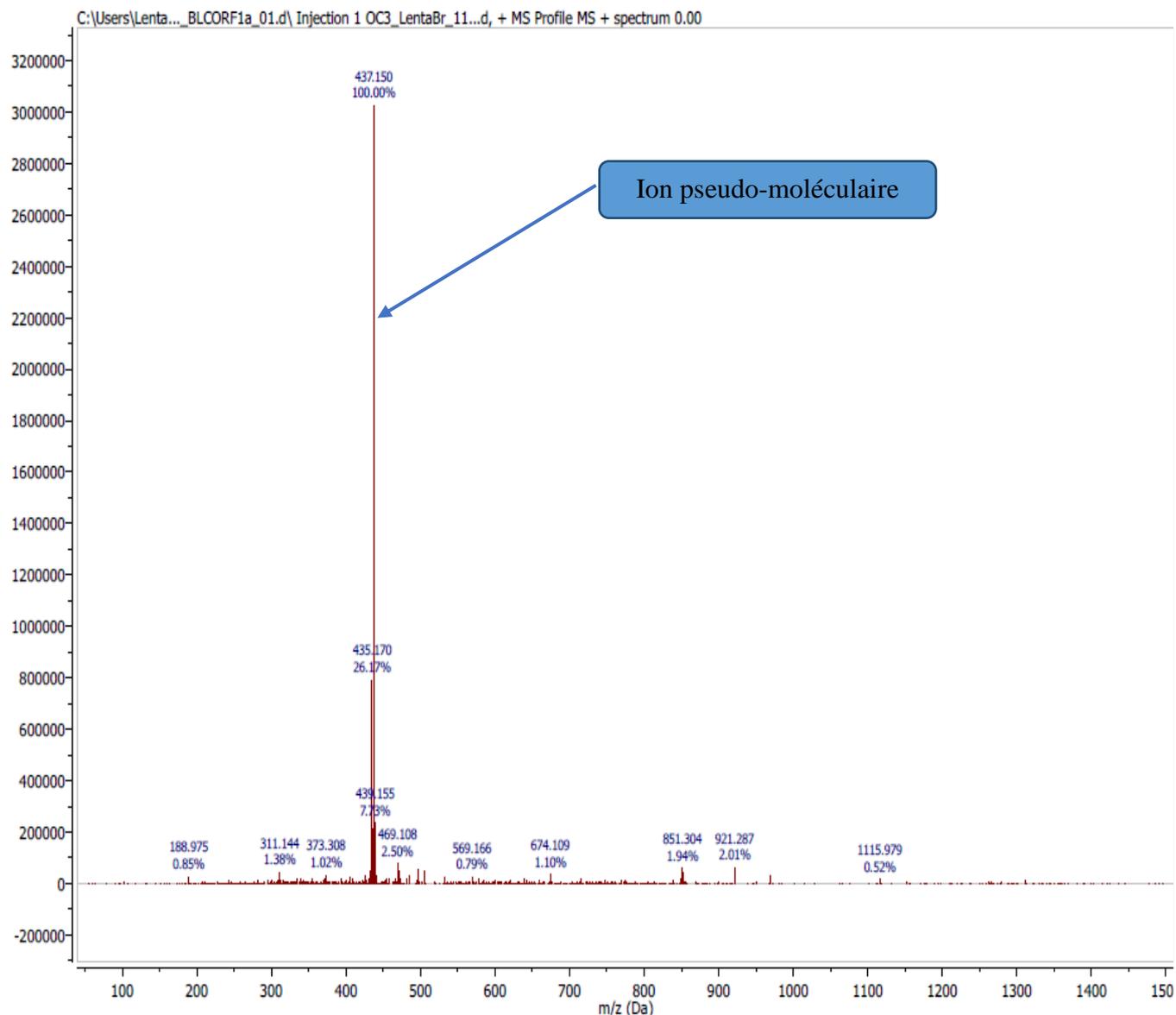


Figure 60 : Spectre de masse (ESI) de CORF1a.

Le spectre IR (Figure 61) de CORF1a montre des bandes d'absorptions intenses caractéristiques d'une cétone conjuguée à $1662,46\text{ cm}^{-1}$; du carbonyle d'un ester à $1729,88\text{ cm}^{-1}$ et du carbonyle d'une lactone à $1765,49\text{ cm}^{-1}$.

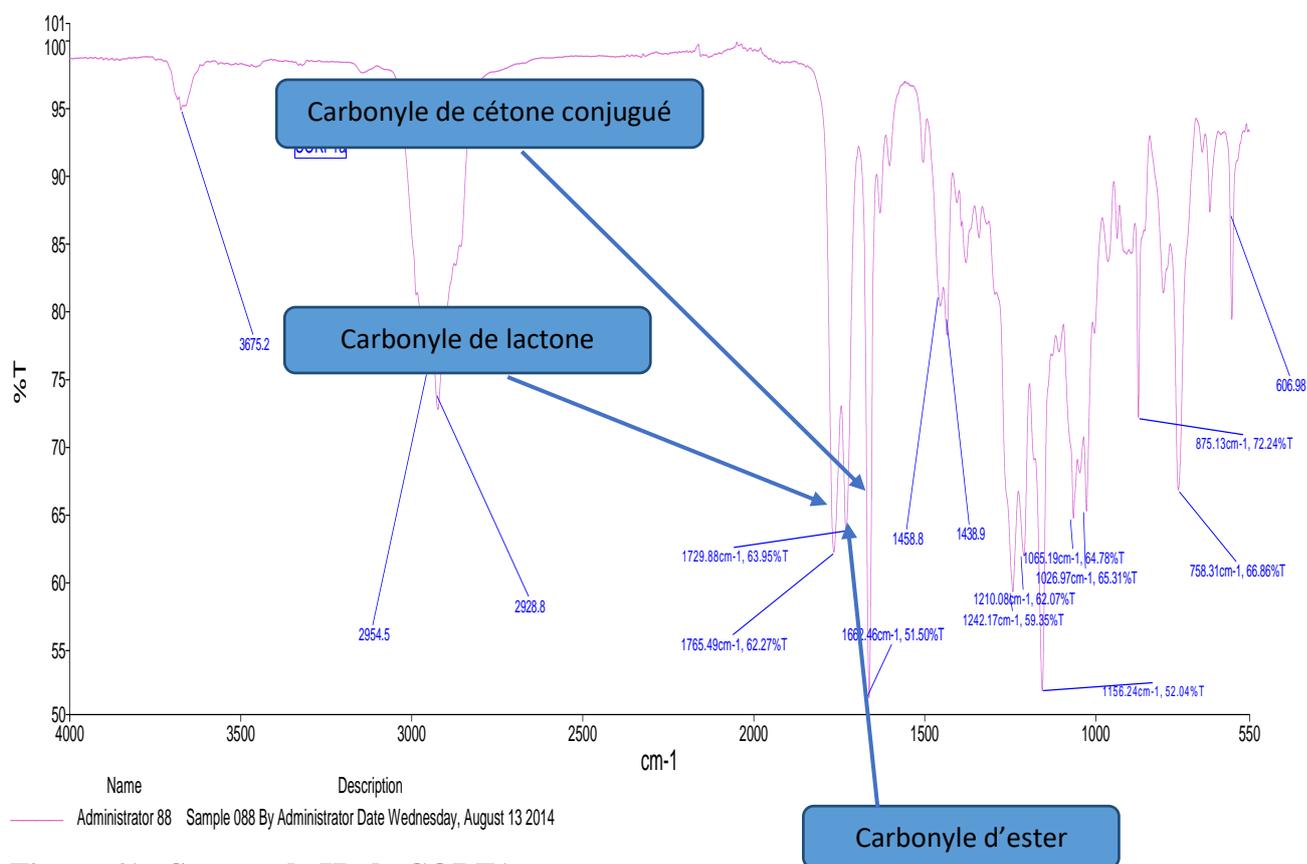


Figure 61 : Spectre de IR de CORF1a.

L'analyse combinée de ses spectres de RMN¹H (300MHz, CDCl₃, Tableau XXII, Figure 62) et COSY (Figure 63 ; 64 et 65, Schéma 13) nous permet d'identifier :

- Les signaux de trois protons formant un système ABX à δ_{H} 6,44 (1H, d, $J=0,9\text{ Hz}$); 7,47 (1H, sl); 7,51 (1H, t, $J=1,8\text{ Hz}$) caractéristiques d'un noyau furanique β -substitué (Ngadjui et al., 2002)..
- Les signaux de deux protons éthyléniques à δ_{H} 6,49 (1H, d, $J=1,2\text{ Hz}$) et 6,80 (1H, d, $J=1,2\text{ Hz}$).
- Un signal à δ_{H} 5,60 (1H, t, $J=7,5\text{ Hz}$) attribuable au proton d'un oxyméthine.
- Deux signaux attribuables aux protons de deux méthoxyles à δ_{H} 3,73(3H,s) et 3,86 (3H,s).
- Un signal à δ_{H} 1, 25(3H, d, $J=6,6\text{ Hz}$) attribuable aux protons H-17 des *trans*-clérodanes (Ngadjui et al., 2002).

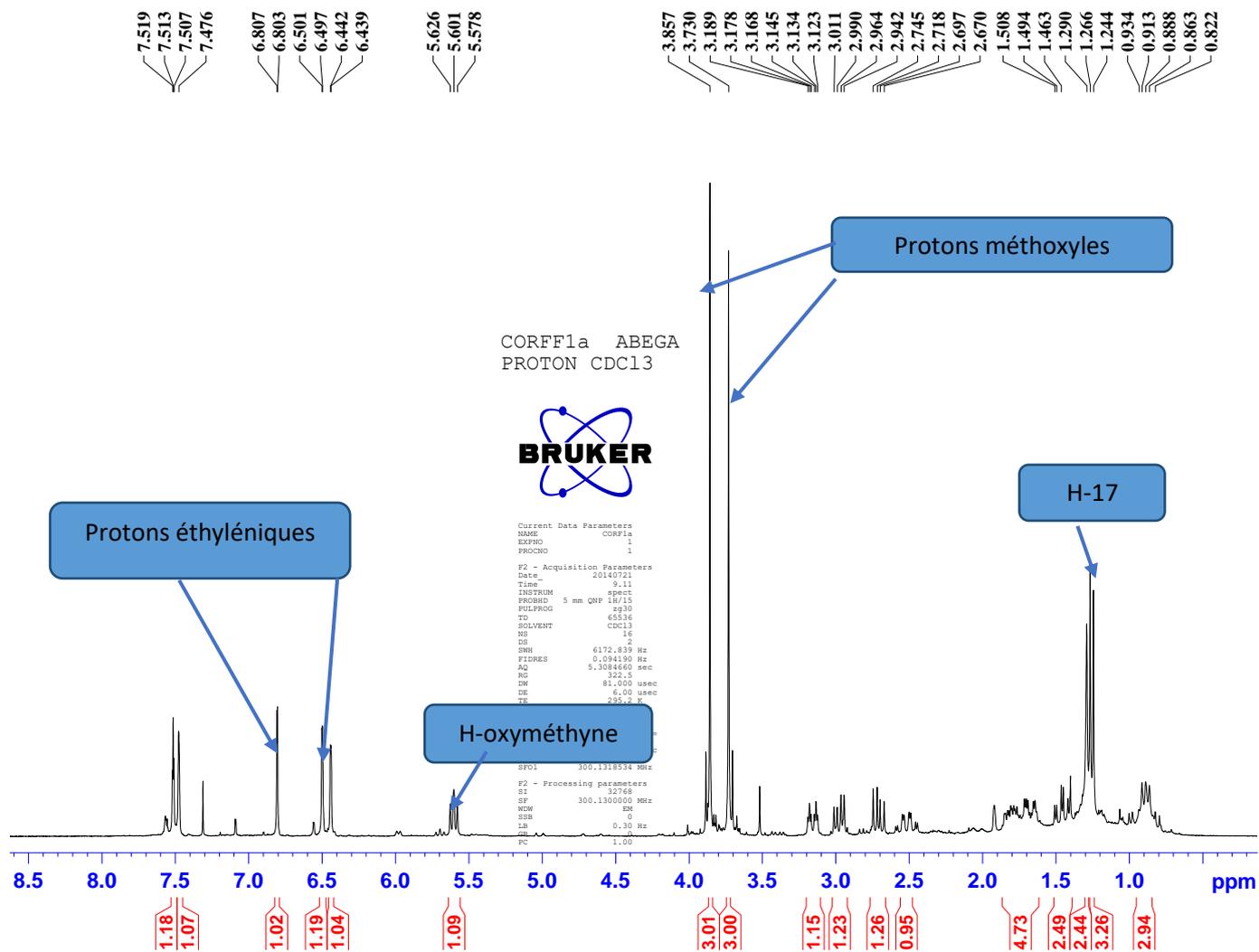


Figure 62 : Spectre de RMN ^1H (300MHz, CDCl_3) de CORF1a.

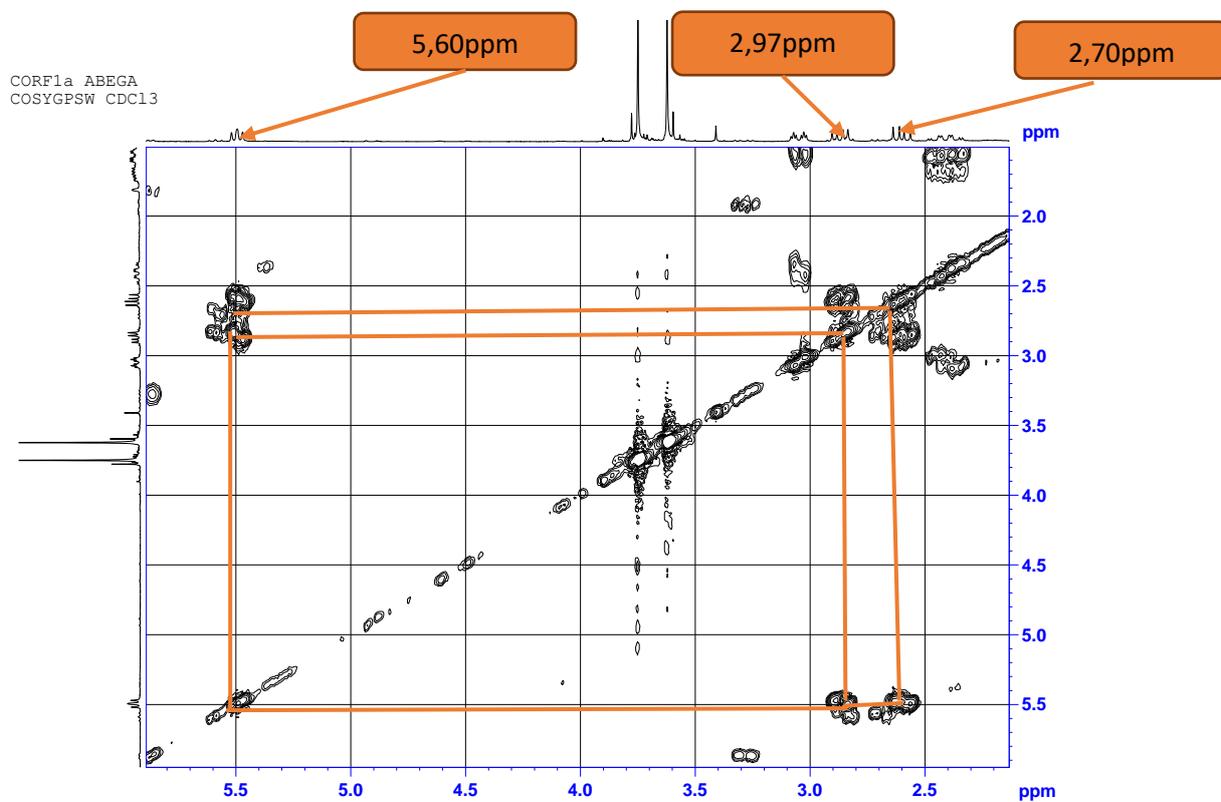
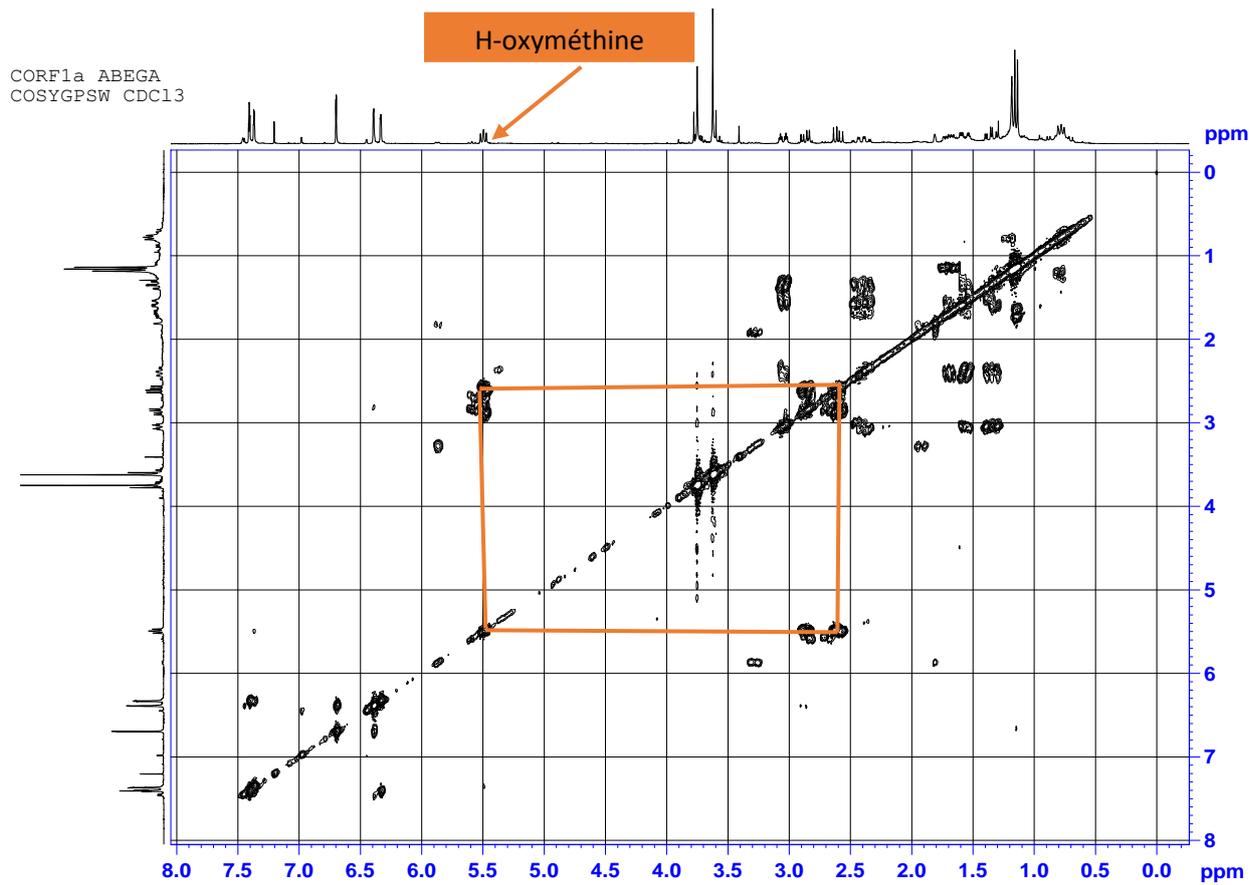


Figure 63 : Spectre COSY total et partiel de CORF1a.

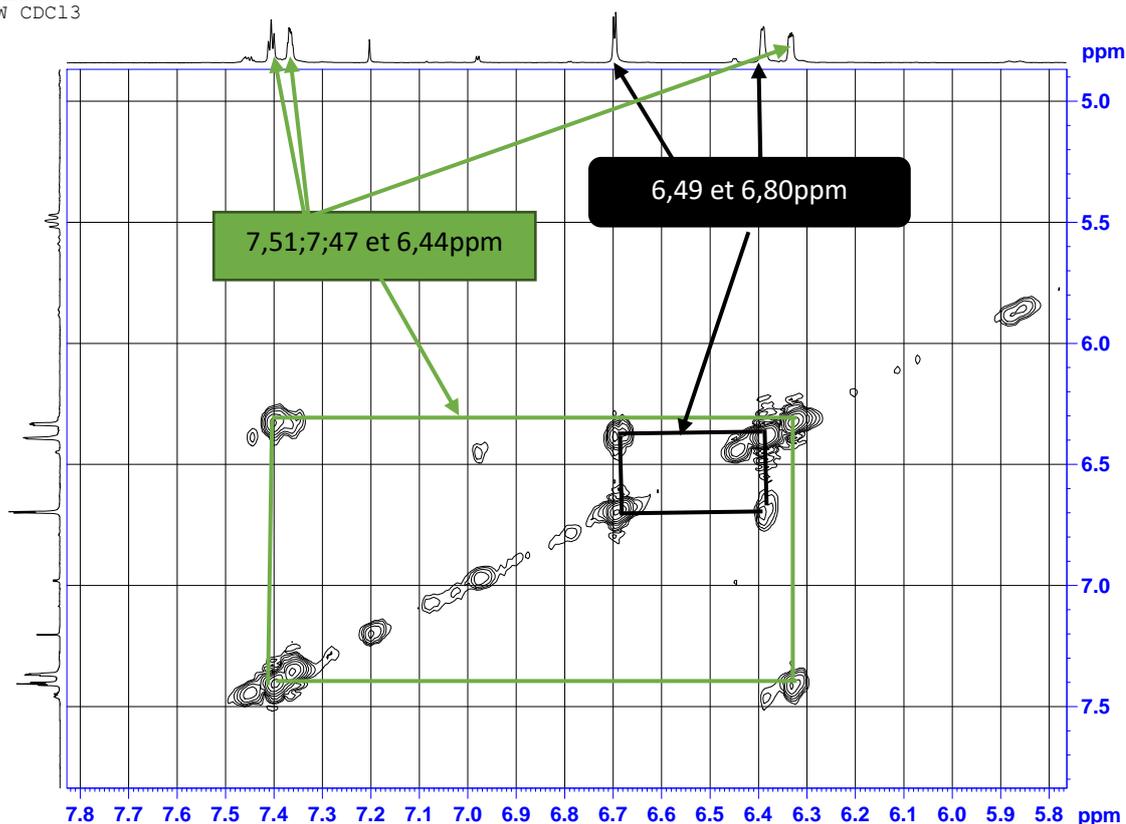


Figure 64 : Spectre COSY partiel de CORF1a

L'analyse couplée de ses spectres de RMN^{13}C (75MHz, CDCl_3 , Tableau XXII, Figure 65) et DEPT 135 (Figure 66) permet de noter.

- Le signal d'un carbonyle de cétone conjuguée à δ_{C} 185,6.
- Les signaux attribuables à trois carbonyles d'esters à δ_{C} 165,4 ; 166,6 et 173,0. Le signal à δ_{C} 165,4 étant probablement conjugué.
- Les signaux caractéristiques des carbones d'un cycle furanique β -substitué à δ_{C} 107,8 ; 124,9 ; 139,6 et 144,4(Pacheco et al., 2009).
- Deux signaux attribuables aux carbones de deux méthines éthyléniques à δ_{C} 129,1 et 130,9.
- Un signal attribuable au carbone d'un oxyméthine à δ_{C} 72,0.
- A δ_{C} 52,9 et 53,3 deux signaux attribuables aux carbones de deux méthoxyles.
- A δ_{C} 17,6 le signal du carbone d'un méthyle secondaire.

Les données spectrales de CORF1a sont très similaires à celles de CO12 (crotozambefuran A). La comparaison des données spectrales de CORF1a et de CO12 montre pratiquement les mêmes déplacements chimiques, à l'exception des signaux des protons du cycle A. Un examen minutieux des spectres de CORF1a nous permet de suggérer la présence

dans sa structure d'une insaturation supplémentaire par l'ajout d'une double liaison carbone-oxygène conjuguée. Ceci a été confirmé par :

- La présence dans la formule brute de CORF1a d'un atome d'oxygène en plus mais avec deux atomes d'hydrogène en moins.
- La présence sur les spectres de RMN de CORF1a de deux méthines vinyliques au lieu de quatre comme sur les spectres de CO12 ; deux carbones quaternaires à δ_C 150,1 et 157,5 que l'on peut attribuer aux atomes de carbones de deux systèmes carbonyles- α,β -insaturés adjacents.

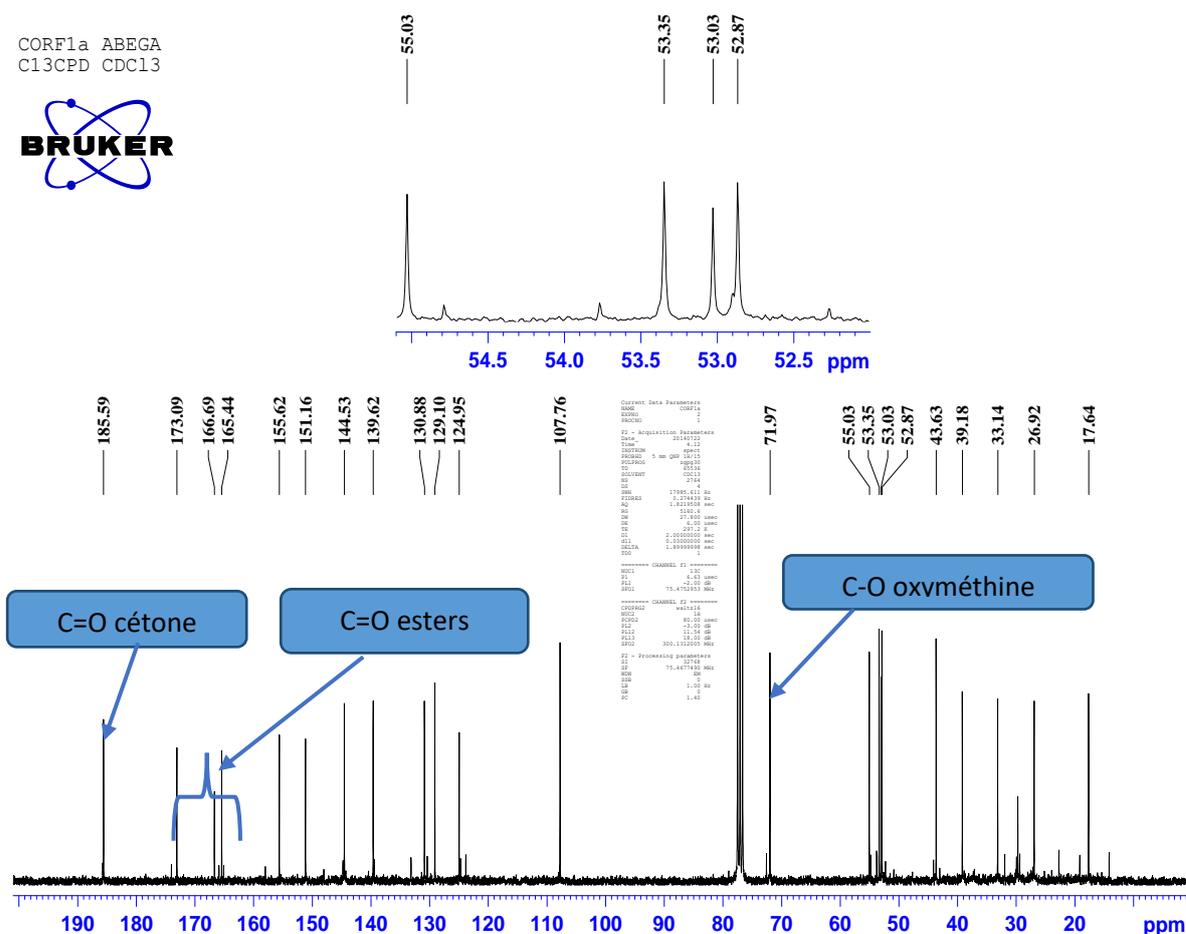


Figure 65: Spectre de RMN ^{13}C (75MHz, CDCl_3) de CORF1a.

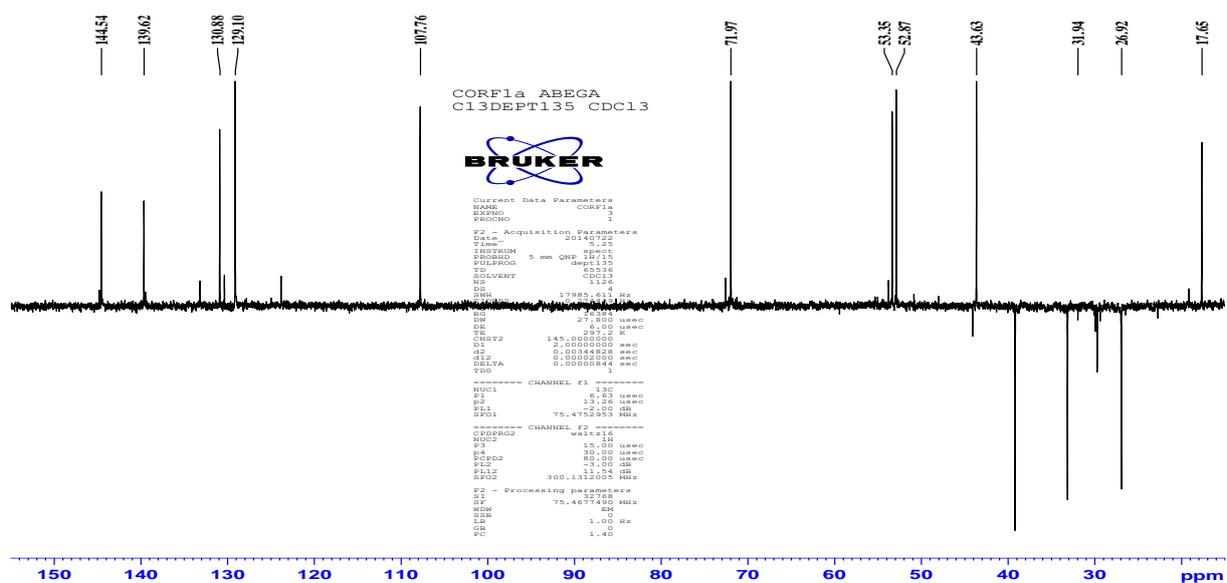
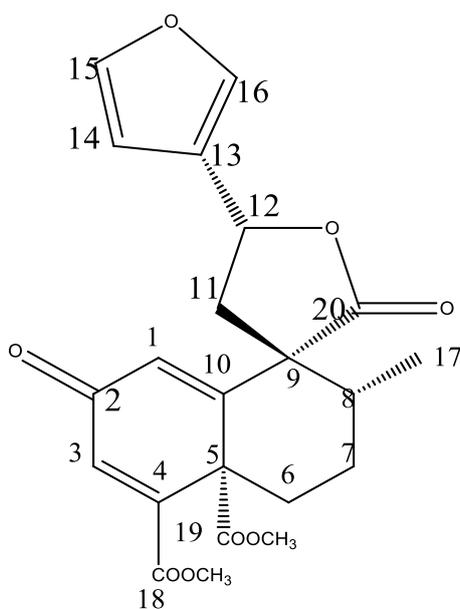


Figure 66 : Spectre DEPT 135(75MHz, CDCl₃) de CORF1a.

L'analyse du spectre **HMOC de CORF1a (Figure 67)** permet d'établir les corrélations J^1 proton-carbone.

L'ensemble de toutes ces informations nous a permis d'attribuer à CORF1a la structure **89** qui est celle de la 15,16-époxy-2-oxocleroda-1(10), 3,13(16) ,14-tetraèn-20,12-olide-18,19-dioate de méthyle décrit ici pour la première fois et auquel nous avons attribué le nom de crotonoligafuranon A.



89

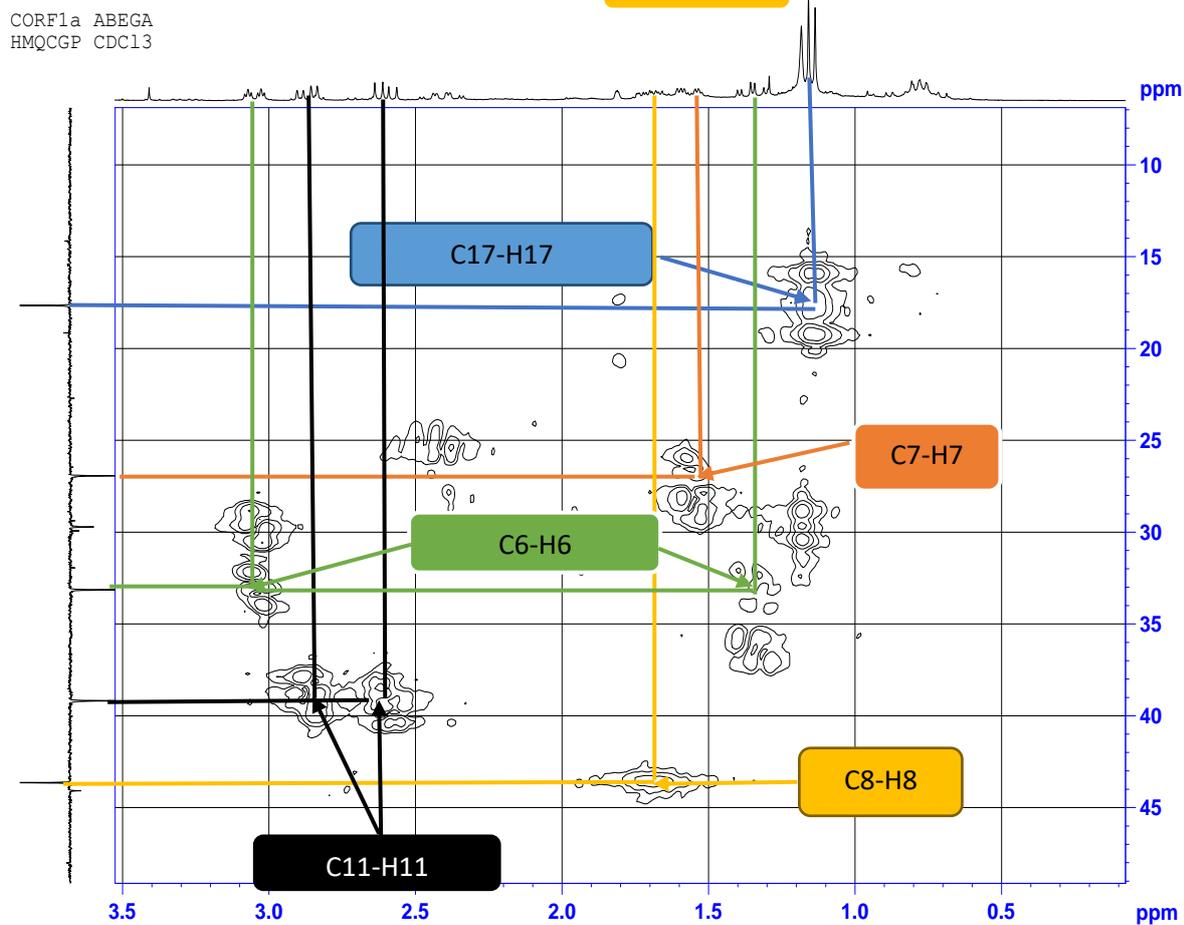
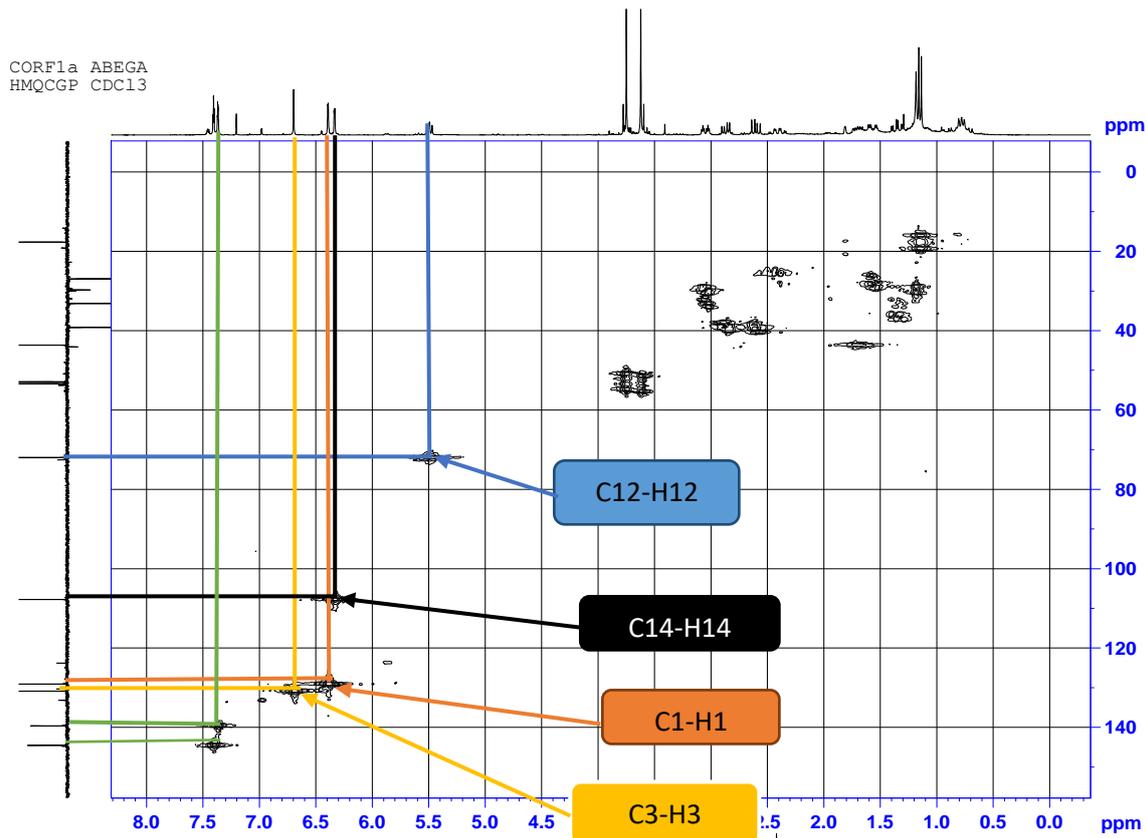


Figure 67 : Spectre HMQC total et partiel de CORF1a.

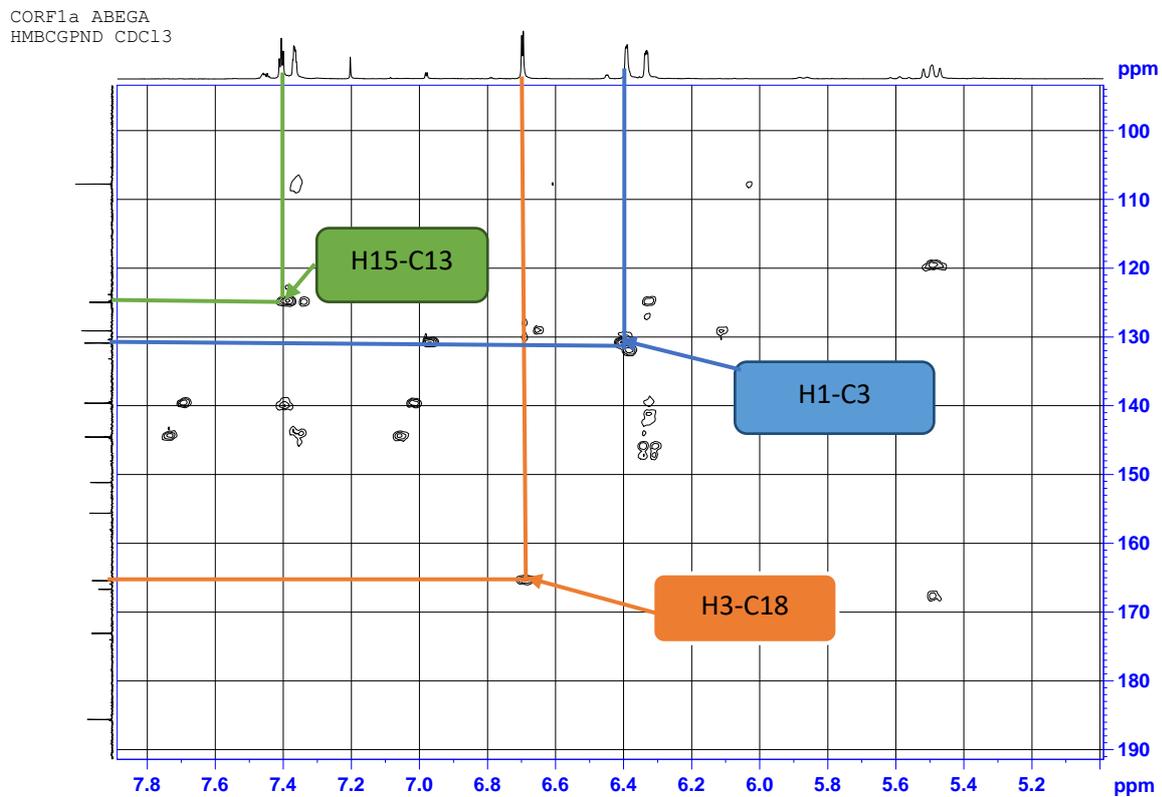
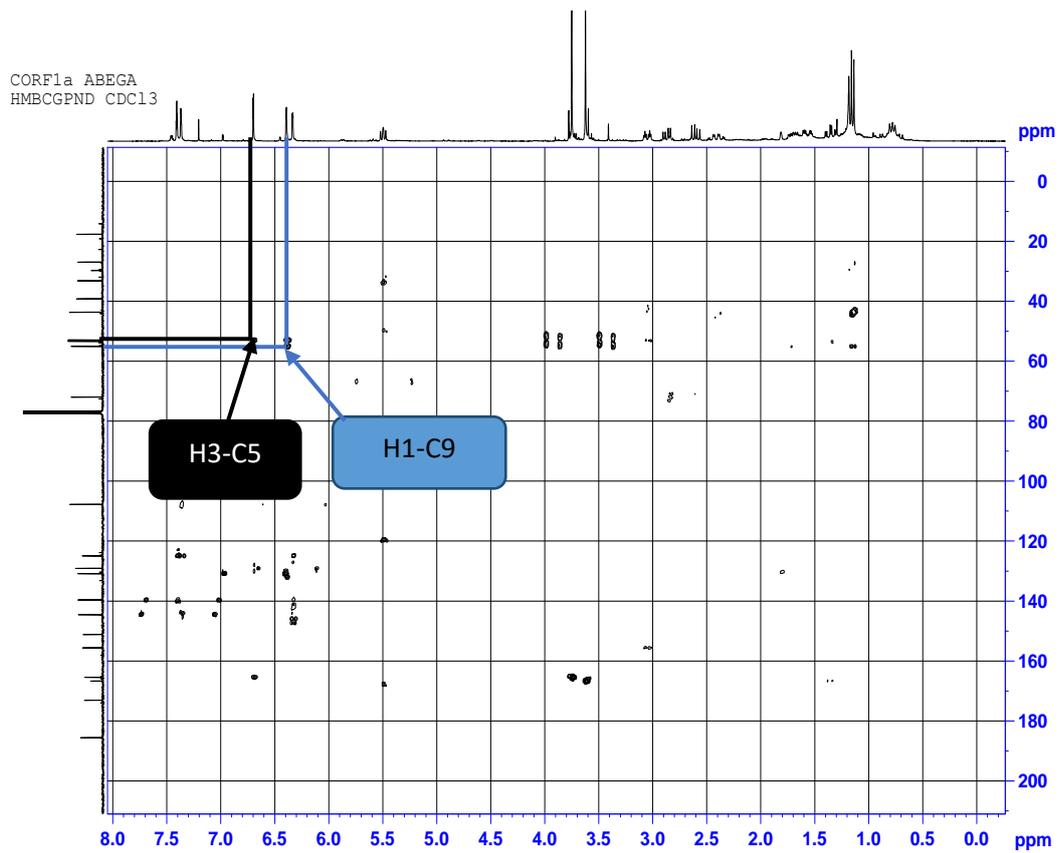


Figure 68 : Spectre HMBC total et partiel de CORF1a.

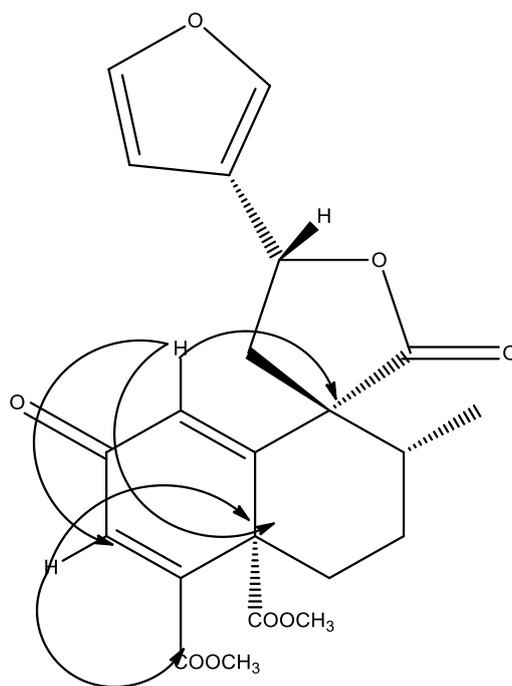


Schéma12 : Quelques corrélations importantes observées sur le spectre HMBC de CORF1a.

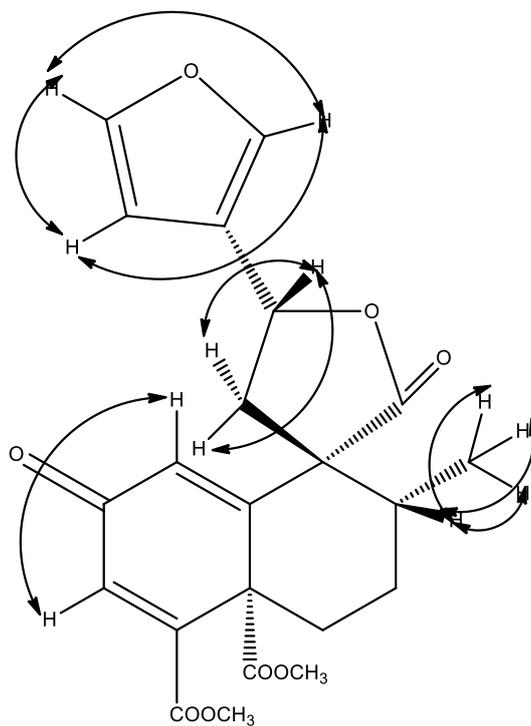


Schéma13 : Quelques corrélations importantes observées sur le spectre COSY de CORF1a.

Tableau XXII : Données de RMN ¹H (300MHz, CDCl₃) et ¹³C (75MHz, CDCl₃) de CORF1a.

N°	δ _H (m, J en Hz)	δ _C
1	6,49 (1H, d, 1,2)	129,1 (d)
2	-	185,6 (s)
3	6,80 (1H, d, 1,2)	130,9 (d)
4	-	155,6(s)
5	-	53,0(s)
6	1,44 (1H, ddd 2,1 ; 9 ; 13,8) et 3,15(1H ,dt, 3,3 ;13,2)	33,1 (t)
7	1,64 (1H, ldd 1,7 ; 9) et 1,49(1H,m)	26,9 (t)
8	1,67 (m)	43,6(d)
9	-	55,0 (s)
10	-	151,2 (s)
11	2,97 (1H, dd,7,2 ; 14,1) et 2,70 (1H, dd, 8,1 ; 14,4)	39,2 (t)
12	5,60 (1H, t, 7,5)	72,0 (d)
13	-	124,9 (s)
14	6,44 (1H, d 0,9)	107,8 (d)
15	7,51 (1H, t, 1,8)	144,5 (d)
16	7,47 (sl)	139,6 (d)
17	1,25 (3H, d, 6,6)	17,6 (q)
18	-	165,4 (s)
19	-	166,7 (s)
20	-	173,0 (s)
18-OMe	3,85 (s)	52,9 (q)
19-OMe	3,73 (s)	53,3 (q)

II-2-3-10- Identification de COR6 : crocorylifurane.

COR6 est obtenu sous forme de poudre blanche dans le mélange hexane/ acétate d'éthyle (7,5 :2.5) et est soluble dans le chloroforme. L'analyse de ses spectres de RMN¹H, ¹³C et DEPT 135 permet de lui attribuer la formule brute C₂₂H₂₆O₇ renfermant 10 insaturations.

Sur son spectre de RMN ¹H (300MHz, CDCl₃, Tableau XXIII, Figure 69) on observe :

- Les signaux attribuables aux protons d'un groupement furanique β-substitué à δ_H 6,43(1H, dd, J=0,8 et 1,8Hz) ; 7,47(1H, d, J=1,8Hz) et 7,48(1H, d, J=0,9Hz).
- Un signal attribuable au proton d'une double liaison tri substituée à δ_H 6,87(1H, t, J=3,3Hz).
- Un signal attribuable au proton de l'oxyméthine d'une γ-lactone à δ_H 5,40 (1H, t, J=8,7Hz).
- Les signaux attribuables aux protons de deux méthoxyles à δ_H 3,73(3H,s) et 3,77(3H,s).
- Le signal des protons d'un méthyle secondaire à δ_H 1,04 (3H, d, J=6,6Hz) attribuable aux protons H-17 des *trans*-clérodanes.

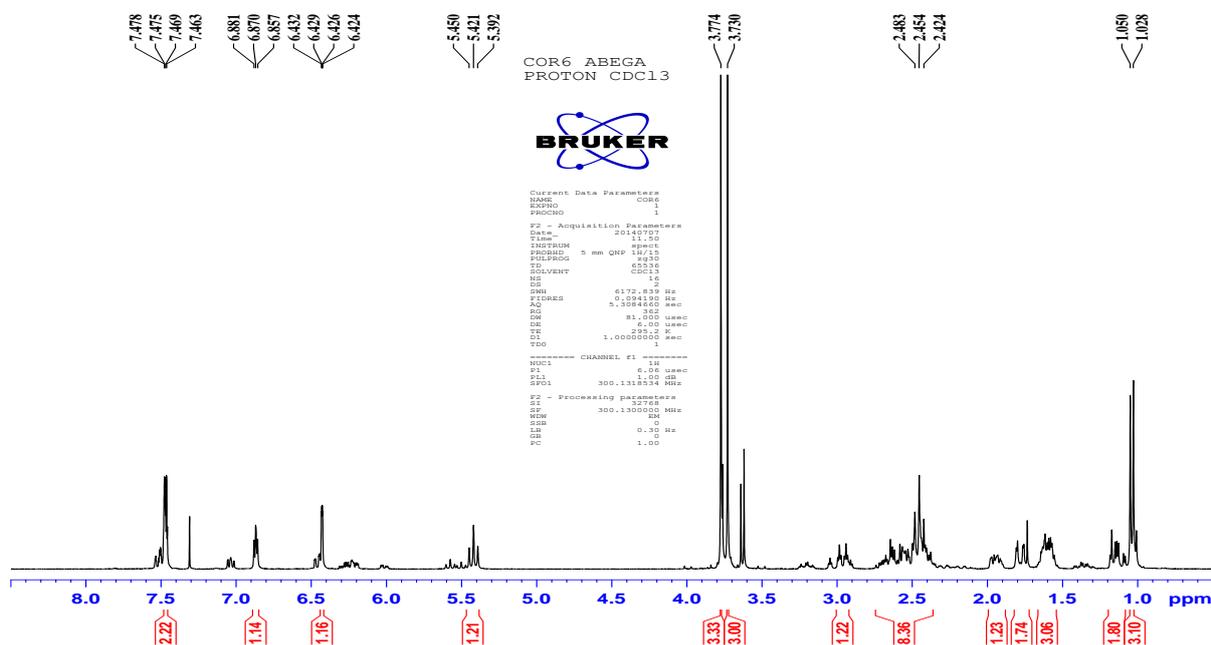
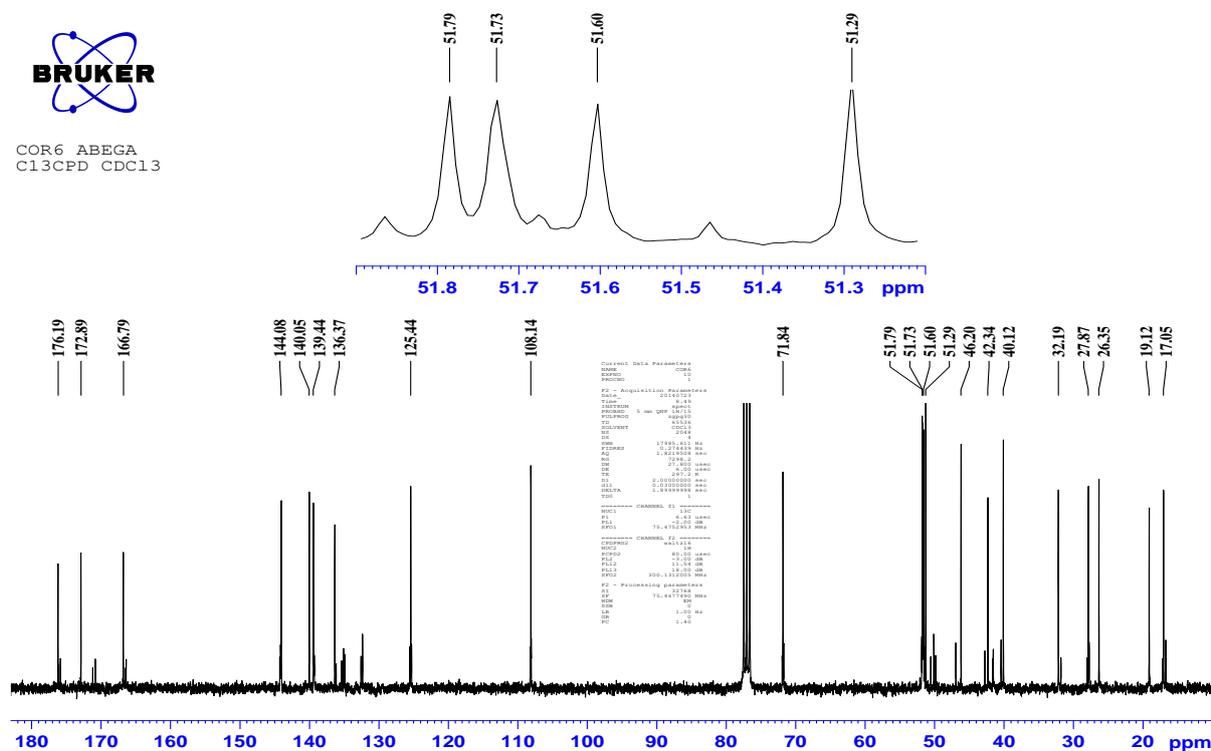
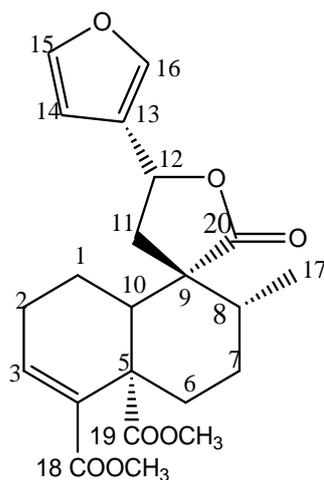


Figure 69 : Spectre de RMN ¹H (300MHz, CDCl₃) de COR6.

Le spectre de RMN ^{13}C (75MHz, CDCl_3 , Tableau XXIII, Figure 70) de COR6 quant à lui montre :

- Les signaux de trois carbonyles d'ester à δ_{C} 166,8 ; 172,9 et 176,2. Celui à δ_{C} 176,2 étant attribuable au carbonyle d'une lactone.
- Les signaux caractéristiques d'un groupement furanique β -substitué à δ_{C} 108,1 ; 125,4 ; 139,4 et 144,0 (Pacheco et al., 2009).
- Les signaux de carbones éthyléniques à δ_{C} 136,3 et 140,0 attribuables respectivement aux carbones C-4 et C-3 des clérodanes (Pacheco et al., 2009).
- Les signaux des carbones de deux méthoxyles à δ_{C} 51,7 et 51,8 ainsi que celui d'un méthyle à δ_{C} 17,0.





90

Tableau XXIII : Données de RMN ¹H (300MHz, CDCl₃) et ¹³C (75MHz, CDCl₃) de COR6 comparées à celles de la littérature.

N°	δ _H	δ _C	δ _C de crocorylifurane (Keumedjio, 2003)
1		19,1	19,1
2		26,3	26,3
3	6,87	140,0	139,8
4	-	136,3	136,4
5	-	51,8	51,7
6		32,2	32,2
7		27,9	27,9
8		40,1	40,0
9	-	46,2	46,3
10		51,6	51,5
11		42,3	42,3
12	5,40	71,8	71,8
13	-	125,4	125,5
14	6,43	108,1	108,1
15	7,48	144,0	144,0
16	7,47	139,4	139,4
17	1,04	17,0	16,9
18	-	166,8	166,7
19	-	172,9	172,8
20	-	176,2	176,0
18- OMe	3,77	51,3	
20- OMe	3,73	51,8	

II-2-3-11- Détermination de la structure de COR7.

COR7 est une poudre blanche dans le mélange hexane/acétate d'éthyle (7 :3). Il est soluble dans le chloroforme et donne un pouvoir rotatoire de $-65,1^\circ$ (c 0.1, MeOH). Sur son spectre de masse (ESI-**Figure 71**), on observe le pic de l'ion pseudo moléculaire à m/z $[M+Na]^+ = 439,175$. L'analyse couplé de ce pic avec les données des spectres de RMN 1H , ^{13}C et DEPT 135 nous a permis de lui attribuer la formule brute $C_{22}H_{24}O_8$ renfermant 11 insaturations.

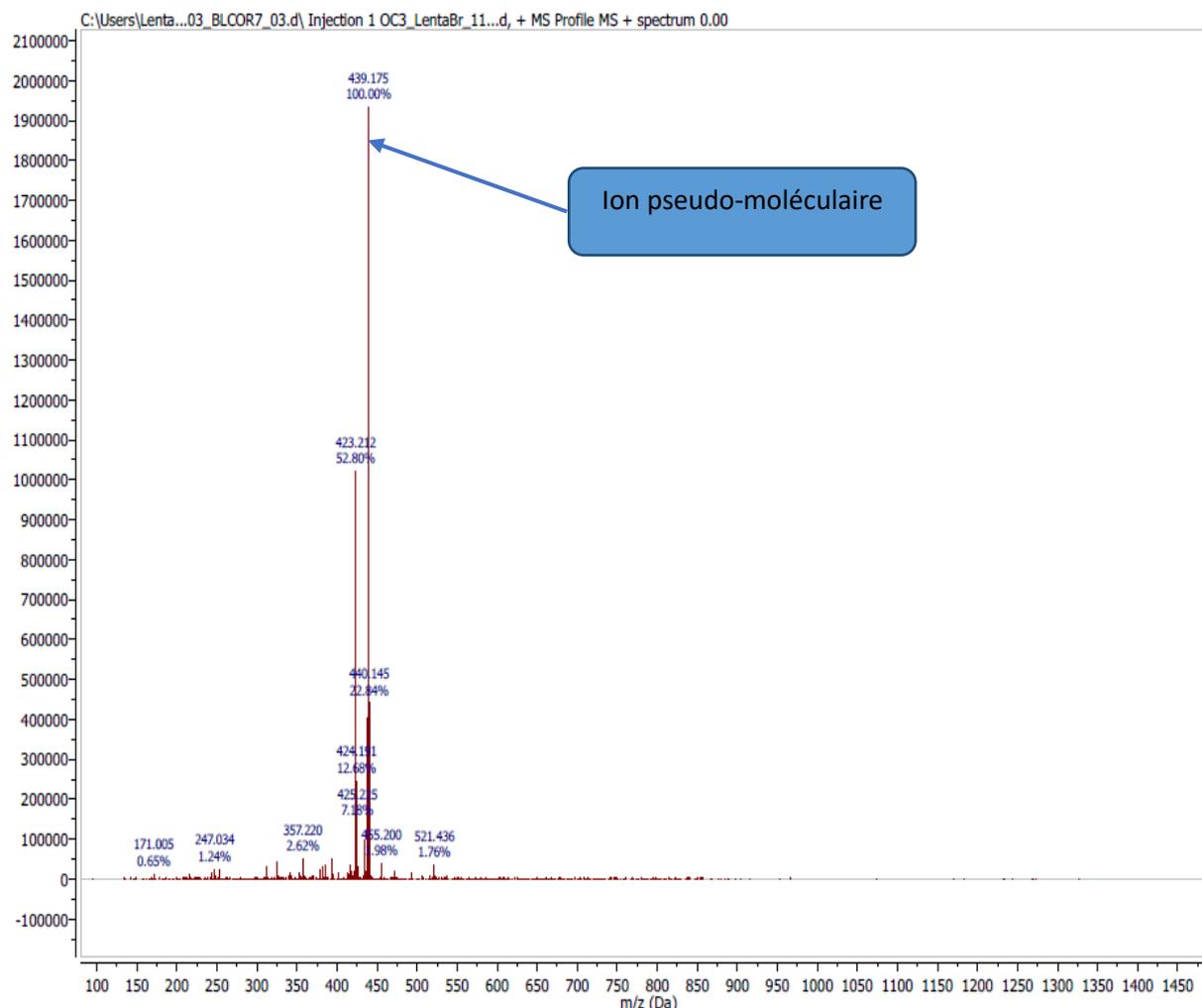


Figure 71 : Spectre de masse en ESI de COR7.

Sur son spectre **IR** (**Figure 72**), on observe des bandes d'absorption intenses à $1720,60\text{cm}^{-1}$ et $1764,78\text{cm}^{-1}$ attribuables aux carbonyles d'ester et de lactone respectivement.

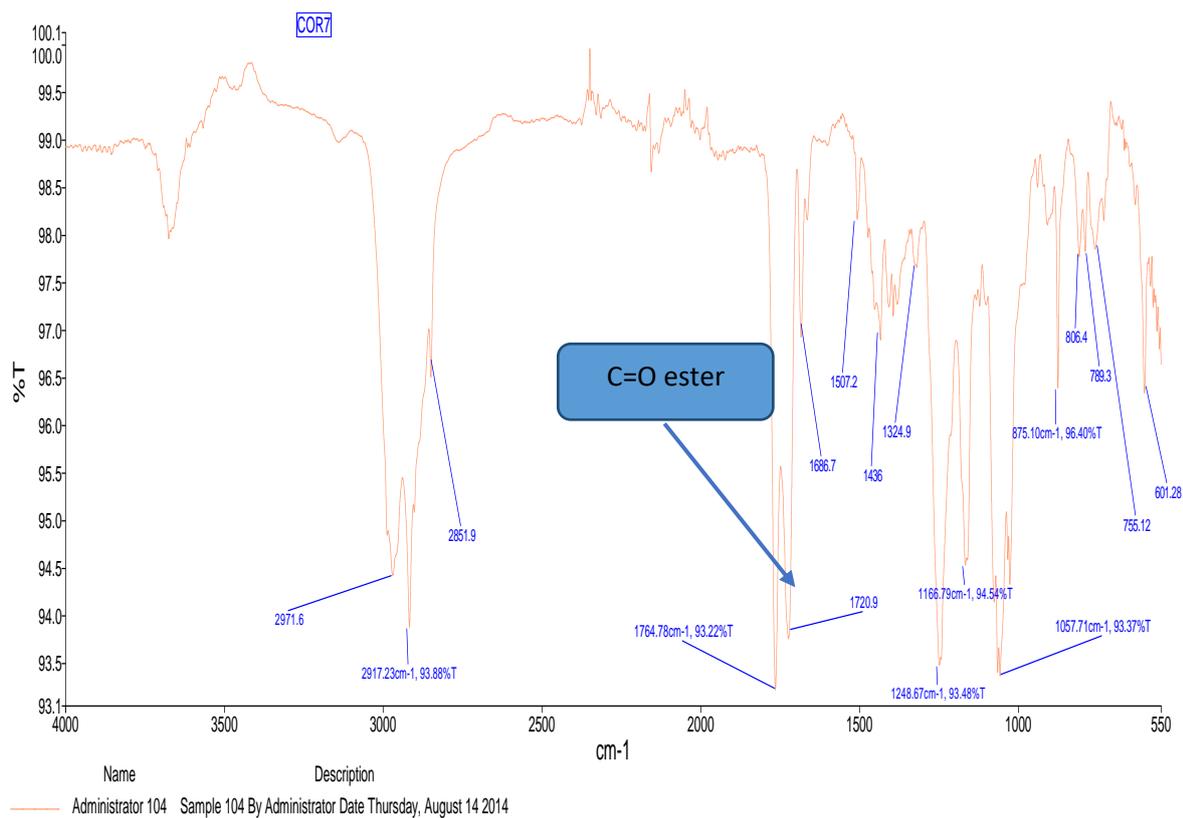
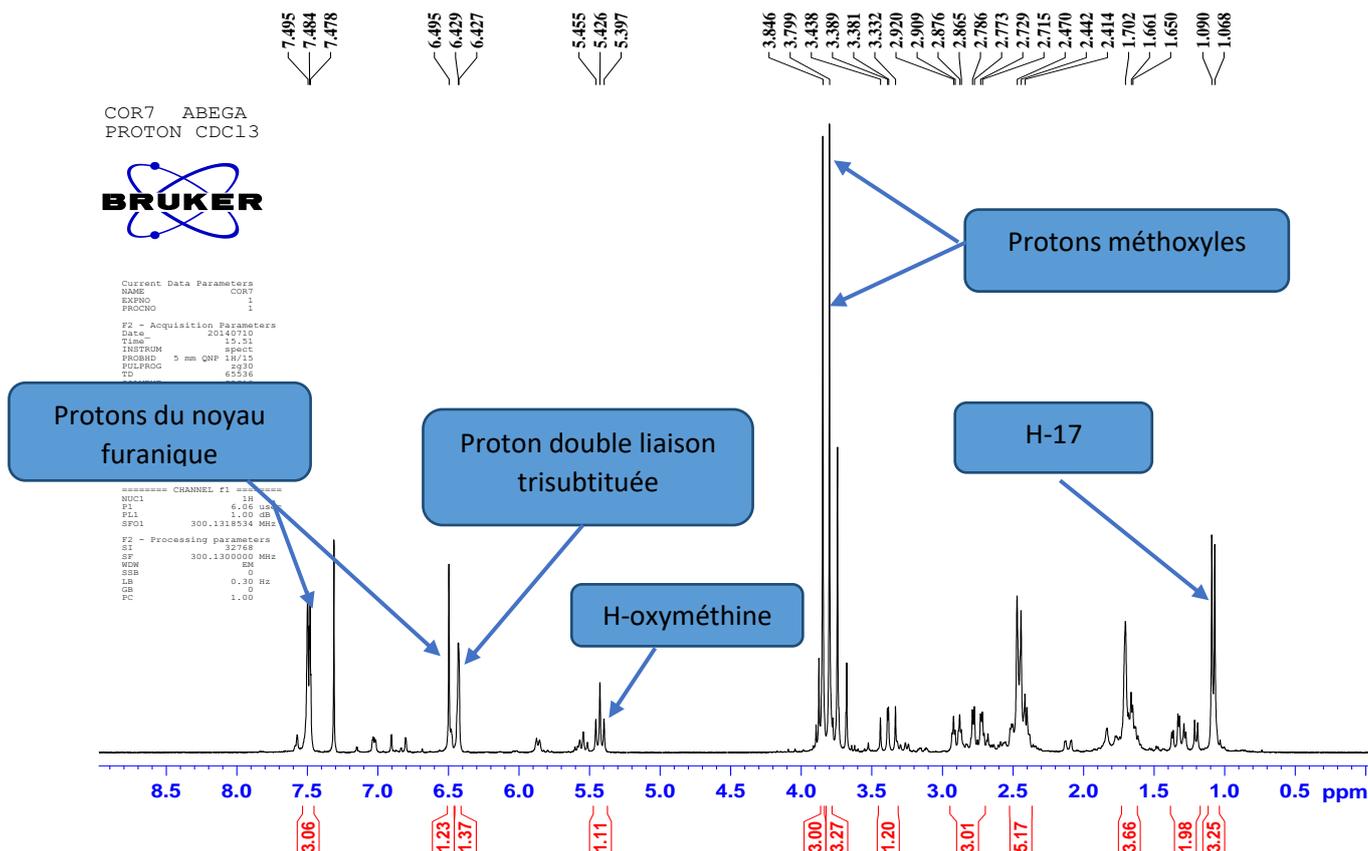


Figure 72 : Spectre de IR de COR7.

Son spectre de RMN ^1H (300MHz, CDCl_3 , Tableau XIV, Figure 73) présente :

- Les signaux des protons d'un groupement furanique β -substitué à δ_{H} 6,42(1H, d, $J=0,9\text{Hz}$) ; 7,48(1H, d, $J=1,8\text{Hz}$) et 7,49(1H, sl).
- Le signal du proton d'une double liaison tri substitué à δ_{H} 6,49(1H, s).
- Le signal du proton de l'oxyméthine d'une γ -lactone à δ_{H} 5.42 (1H, t, $J=8.5\text{Hz}$).
- Les signaux des protons de deux méthoxyles à δ_{H} 3,80(3H, s) et 3,84(3H, s).
- Un signal à 1,08 (3H, d, $J= 6.6\text{Hz}$) attribuables aux protons H-17 des clérodanes.



Le spectre de RMN ¹³C¹H (75MHz, CDCl₃, Tableau XXIV, Figure 74) de COR7 combiné à son spectre DEPT 135 (Figure 75) permet d'identifier :

- Le signal d'un carbonyle de cétone à δ_C 197,8.
- Trois signaux attribuables à trois carbonyles d'ester à δ_C 165,9 ; 169,8 et 175,5. Celui à δ_C 165,9 étant probablement conjugué.
- Les signaux des carbonyles d'une double liaison tri -substitué à δ_C 131,7 et 153,0 attribuables respectivement aux carbonyles C-3 et C-4 des clérodanes portant en C-2 un carbonyle de cétone (Pacheco et al., 2009).
- Les signaux caractéristiques des carbonyles d'un cycle furanique β -substitué à δ_C 108,0 ; 124,8 ; 139,7 et 144,3(Pacheco et al. , 2009).
- Un signal à δ_C 71,8 attribuable au carbone de l'oxyméthine d'une γ -lactone.
- Les signaux attribuables aux carbonyles de deux méthoxyles à δ_C 52,6 et 52,9.
- Le signal du carbone d'un méthyle secondaire à δ_C 16,9 attribuable au carbone C-17 des clérodanes (Ngadjui et al., 2002).

Les données spectrales de COR7 sont très similaires à celles de COR6 (crococorylifurane). La comparaison des données spectrales de COR7 et de COR6 montre

pratiquement les mêmes déplacements chimiques, à l'exception des signaux des carbones et des protons du cycle A. Un examen minutieux des spectres de COR7 nous permet de suggérer la présence dans sa structure d'une insaturation supplémentaire par l'ajout d'une double liaison carbone- oxygène conjuguée. Ceci a été confirmé par :

- La présence dans la formule brute de COR7 d'un atome d'oxygène en plus mais avec deux atomes d'hydrogène en moins.
- La présence sur les spectres de RMN de COR7 de quatre méthylènes au lieu de cinq comme sur les spectres de COR6 ; un carbone quaternaire à δ_c 153,0 que l'on peut attribuer au carbone d'un système carbonyle- α , β -insaturé.

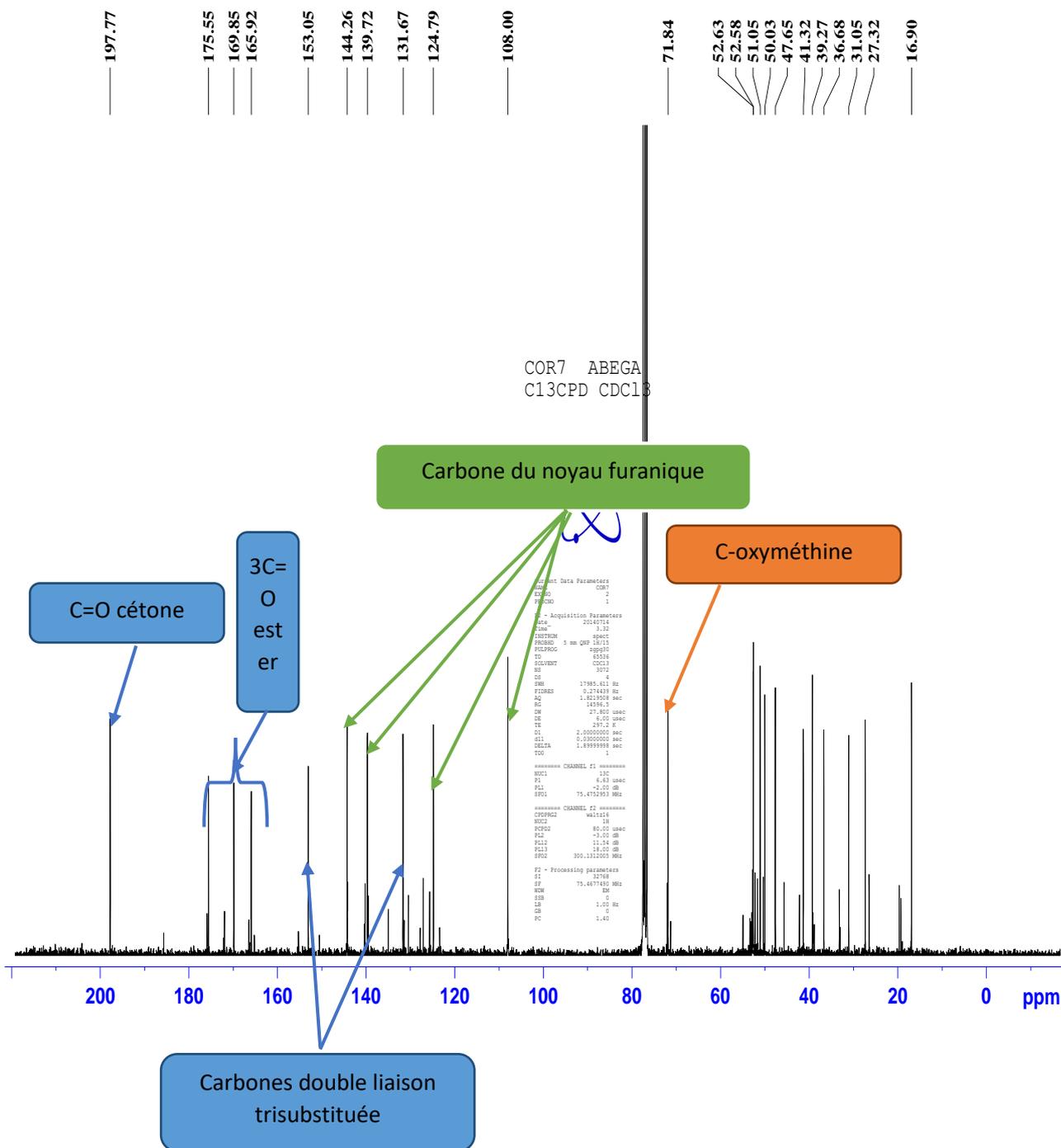


Figure 74 : Spectre de RMN ^{13}C (75MHz, CDCl_3) de COR7.

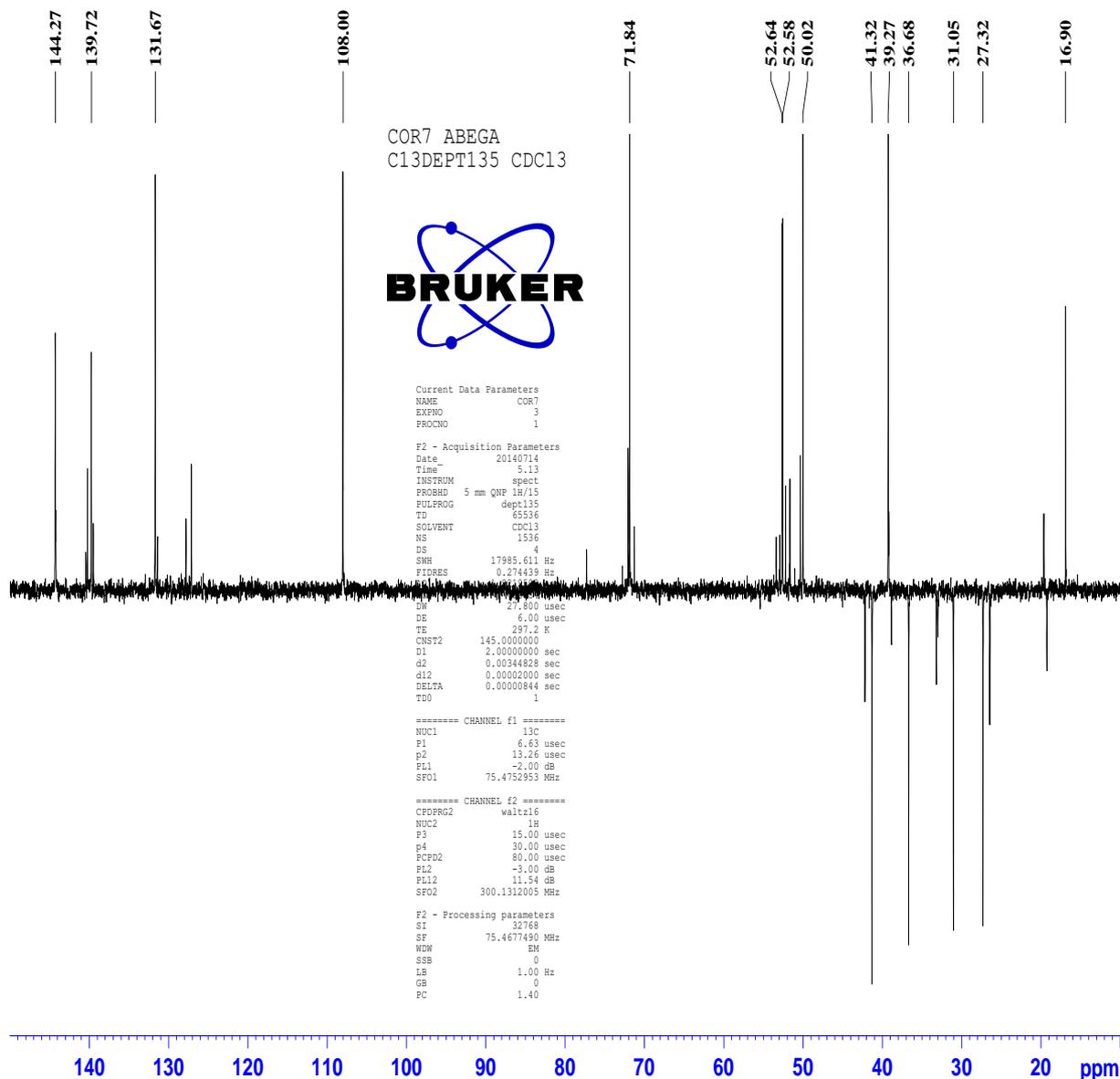


Figure 75 : Spectre DEPT 135(75MHz, CDCl_3) de COR7.

Le spectre **HMBC** (Figure 76, Schéma 15) de COR7 montre des taches de corrélation entre le proton du méthine à δ_{H} 2,46 ; les protons du méthylène à δ_{H} 2,75 ; 3,38 et le carbonyle de cétone à δ_{C} 197,8.

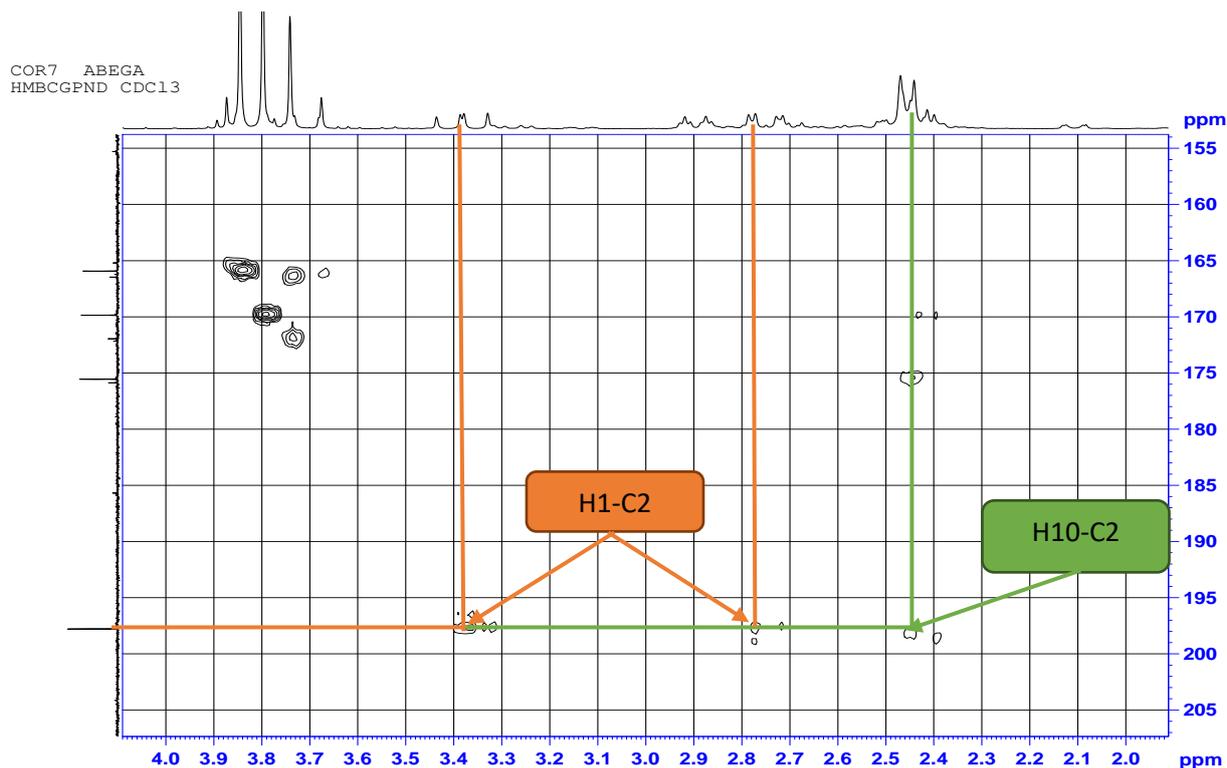
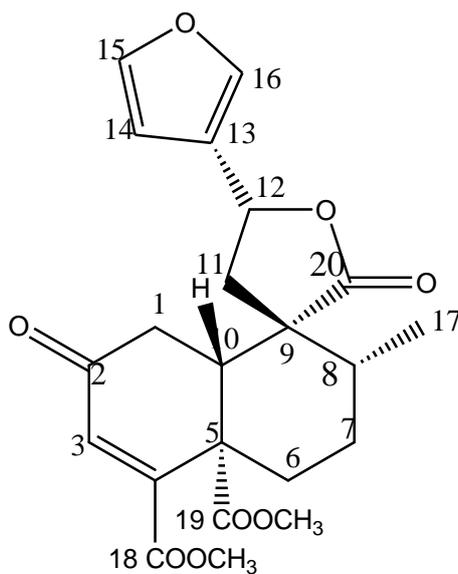


Figure 76 : Spectre HMBC partiel de COR7.

La combinaison de toutes ces informations nous permet d'attribuer à COR7 la structure **91** Qui est celle de 15,16-époxy-2-oxocleroda-3,13(16),14-trièn-20,12-olide-18,19-dioate de méthyle décrit ici pour la première fois et auquel nous avons attribué le nom crotonoligafuranon B.



91

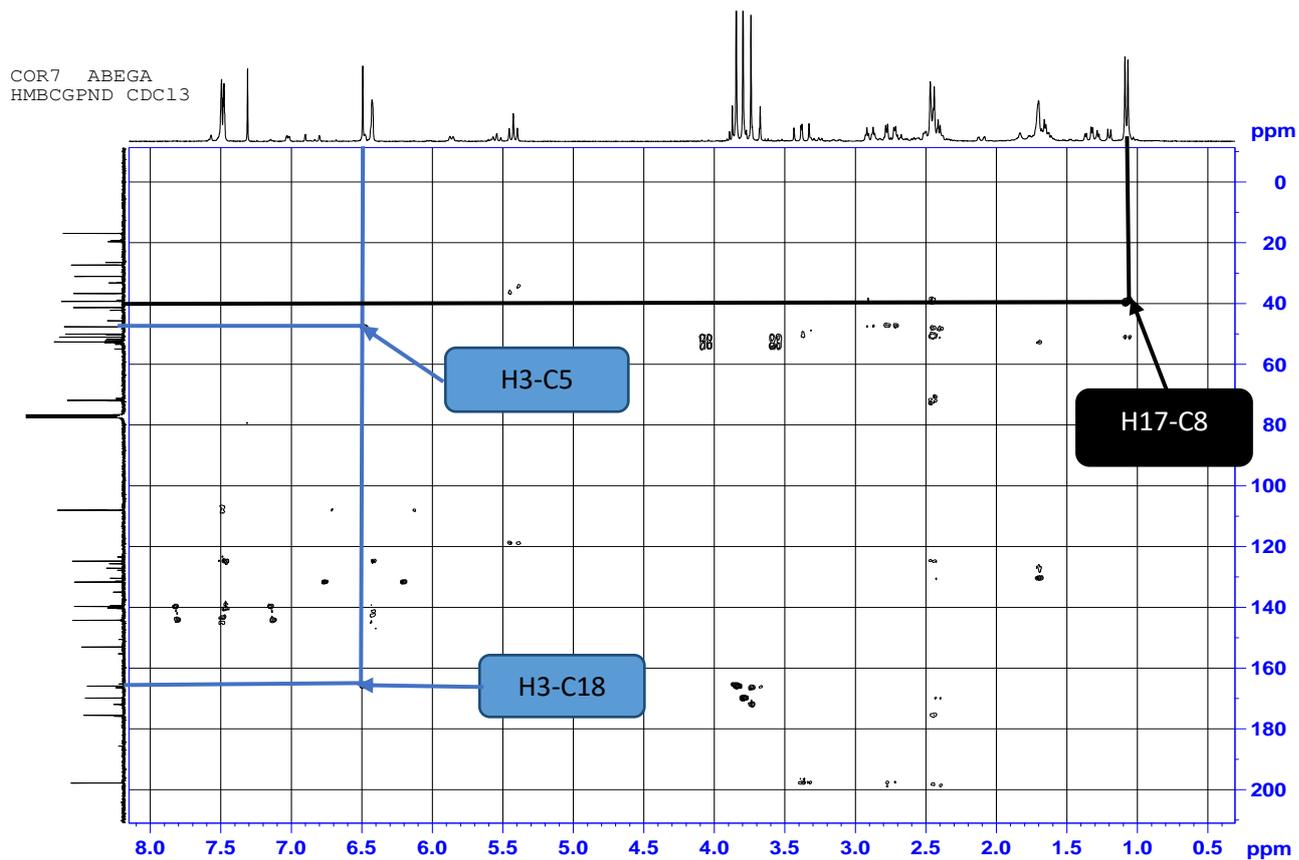


Figure 77 : Spectre HMBC de COR7.

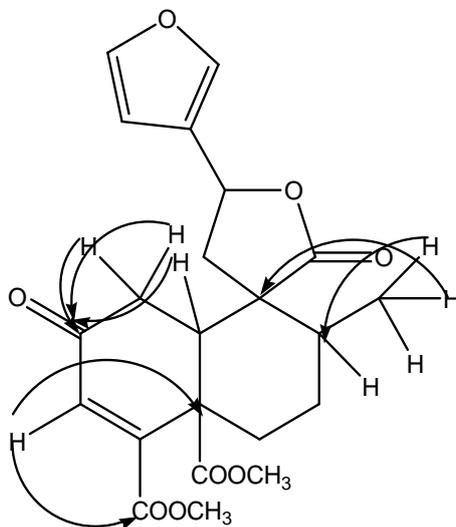


Schéma 14 : Quelques corrélations importantes observées sur les spectres HMBC de COR7.

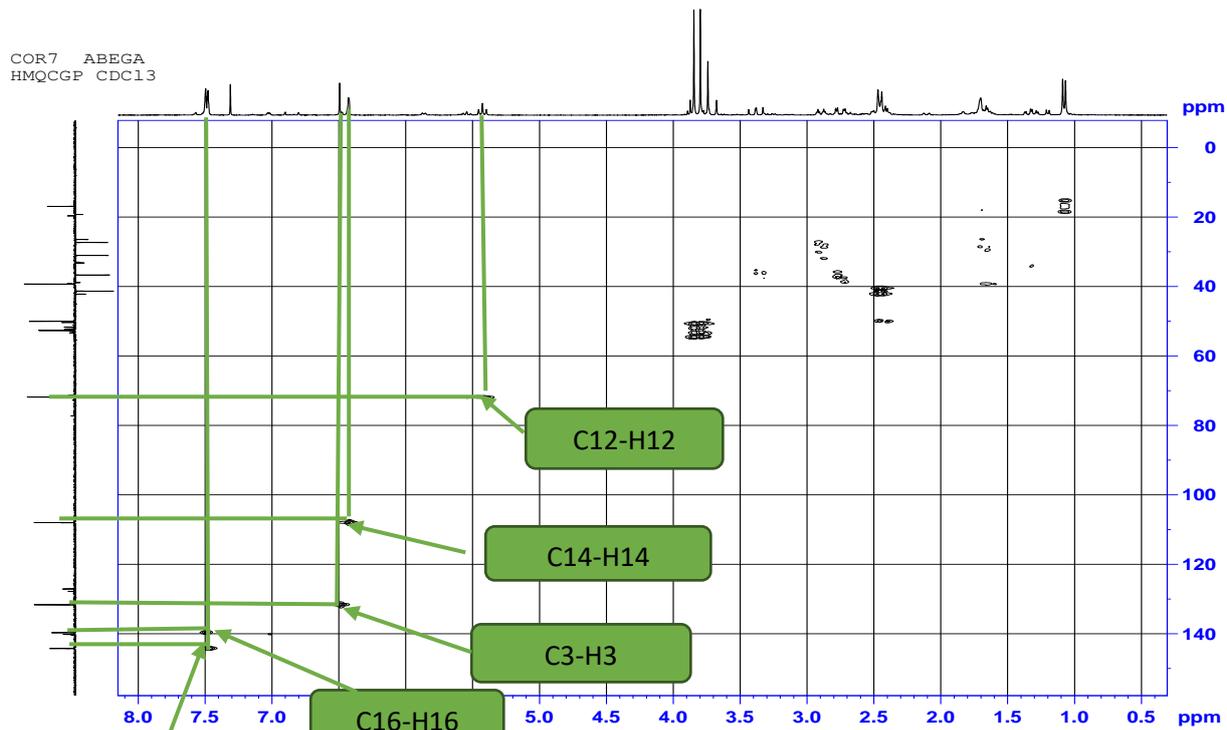


Figure 78 : Spectre HMQC de COR7.

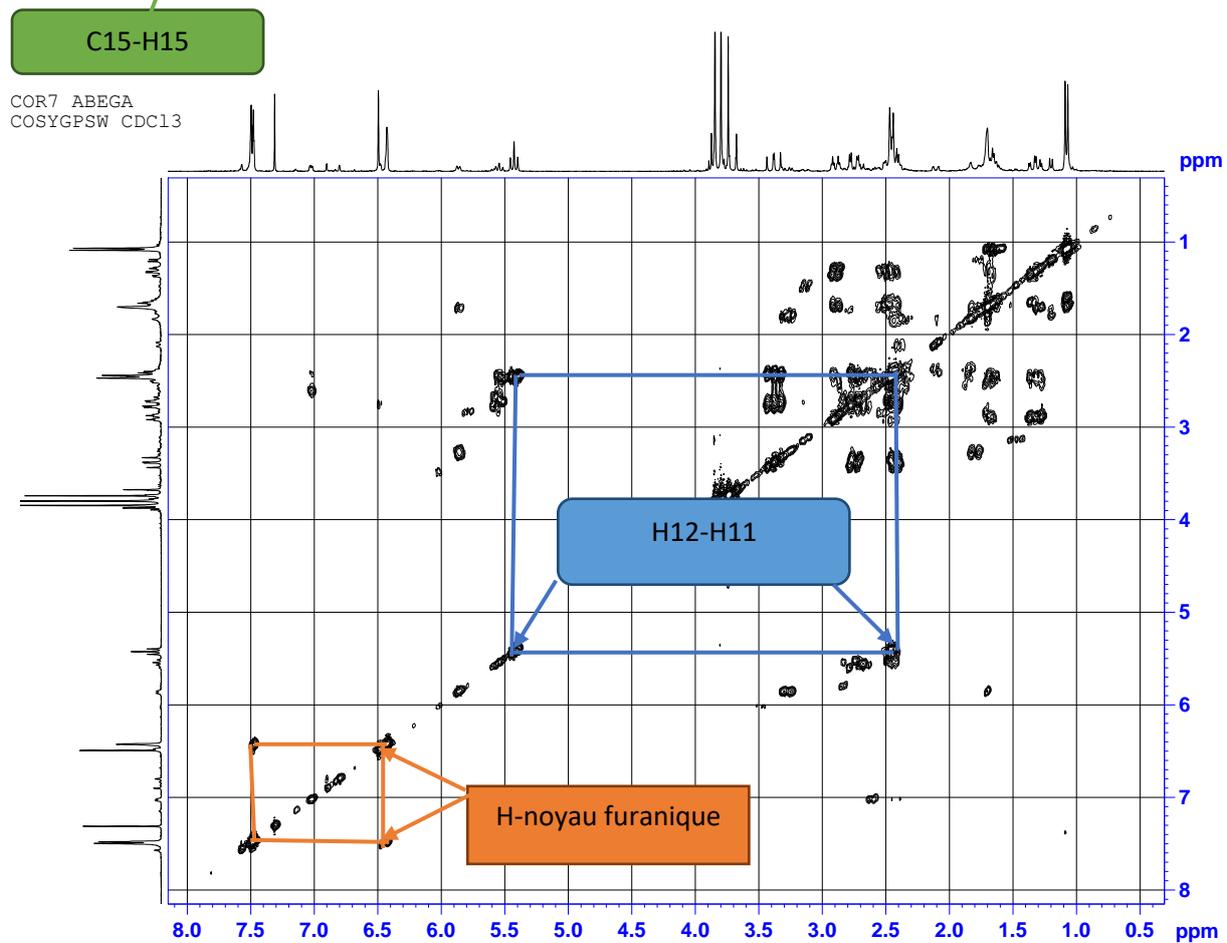


Figure 79 : Spectre COSY de COR7.

Tableau XXIV : Données de RMN ¹H (300MHz, CDCl₃) et ¹³C (75MHz, CDCl₃) de COR7.

N°	δ _H (m, J en Hz)	δ _C
1	3,38 (1H,dd,2,4;17.3) et 2,75 (1H, dd, 3,9;17,4)	36,7 (t)
2	-	197,8(s)
3	6.49 (s)	131,7 (d)
4	-	153,0 (s)
5	-	47,6 (s)
6	1,98 (1H, ddd, 3,3 ; 9,9 ; 13,2) et 2, 90 (1H, dt 3,3 ; 13,2)	31,0 (t)
7	1,64 (1H, m) et 1,50(1H,m)	27,3 (t)
8	1.65 (m)	39,3 (d)
9	-	51,0 (s)
10	2,46(1H,ld, 16,8)	50,0 (d)
11	2.44 (2H, d, 8.4)	41,3 (t)
12	5,42 (1H, t, 8,5)	71,8 (d)
13	-	124,8 (s)
14	6,42 (1H, d, 0,9)	108,0 (d)
15	7,48 (1H, d, 1,8)	144,3 (d)
16	7,49 (sl)	139,7 (d)
17	1,08 (3H, d, 6.6)	16,9 (q)
18	-	165,9 (s)
19	-	169,8 (s)
20	-	175,5 (s)
18-OMe	3,84 (3H, s)	52,6 (q)
19-OMe	3,80 (3H, s)	52,9 (q)

II-2-3-12- Identification de CO13: Crotozambefuran C.

CO13 se présente sous forme d'une poudre blanche dans le mélange hexane/acétate d'éthyle (4 :6). Il est soluble dans le DMSO. L'analyse de ses spectres de RMN ^1H , ^{13}C et DEPT 135 nous a permis de lui attribuer la formule brute $\text{C}_{21}\text{H}_{22}\text{O}_7$ renfermant 10 insaturations.

L'analyse de son spectre de RMN ^1H (300MHz, DMSO, Tableau XXV, Figure80) couplée au spectre COSY nous permet d'identifier :

- Les signaux des protons d'un cycle furanique β -substitué à δ_{H} 7,89(1H,s) ; 7,75(1H,t, $J=1,5\text{Hz}$) et 6,72(1H,d, $J=1,2\text{Hz}$).
- Le signal du proton d'une double liaison trisubstituée à δ_{H} 6,64(1H,s).
- Les signaux attribuables aux protons de deux oxyméthines à δ_{H} 5,45(1H, t, $J=9,3\text{Hz}$) et 4,57(1H, sl).
- Un signal intense à δ_{H} 3,67(3H, s) attribuable aux protons d'un méthoxyle.
- Un signal attribuable aux protons d'un méthyle secondaire à δ_{H} 1,01(3H, d, $J=5,7\text{Hz}$) caractéristique des protons H-17 des *trans* clerodanes.

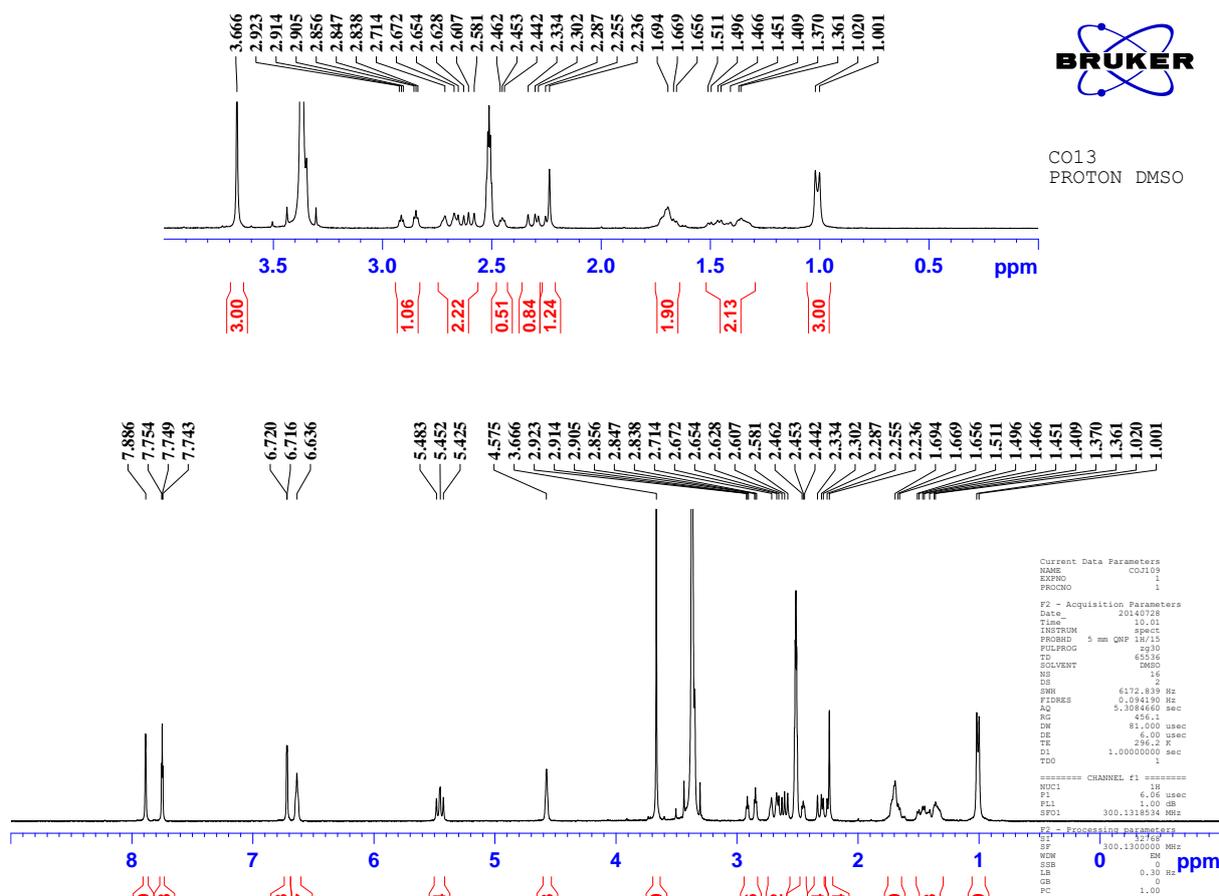


Figure 80 : Spectre de RMN ^1H (300MHz, DMSO) de CO13.

Les spectres de RMN ^{13}C (75MHz, DMSO, Tableau XXV, Figure 81) et DEPT 135 de CO13 nous permettent d'identifier :

- Les signaux attribuables aux carbonyles de lactone à δ_{C} 175,1 ; 175,7 et d'ester à δ_{C} 165,2.
- Les signaux attribuables aux carbones d'un groupement furanique β -substitué à δ_{C} 109,5 ; 125,0 ; 141,5 et 144,9 (Pacheco *et al.*, 2009).
- Les signaux de deux carbones éthyléniques à δ_{C} 136,6 et 137,5.
- Les signaux attribuables aux carbones de deux oxyméthines à δ_{C} 72,0 et 74,6.
- Le signal du carbone d'un méthoxyle à δ_{C} 52,2.
- Le signal du carbone d'un méthyle secondaire à δ_{C} 17,3.

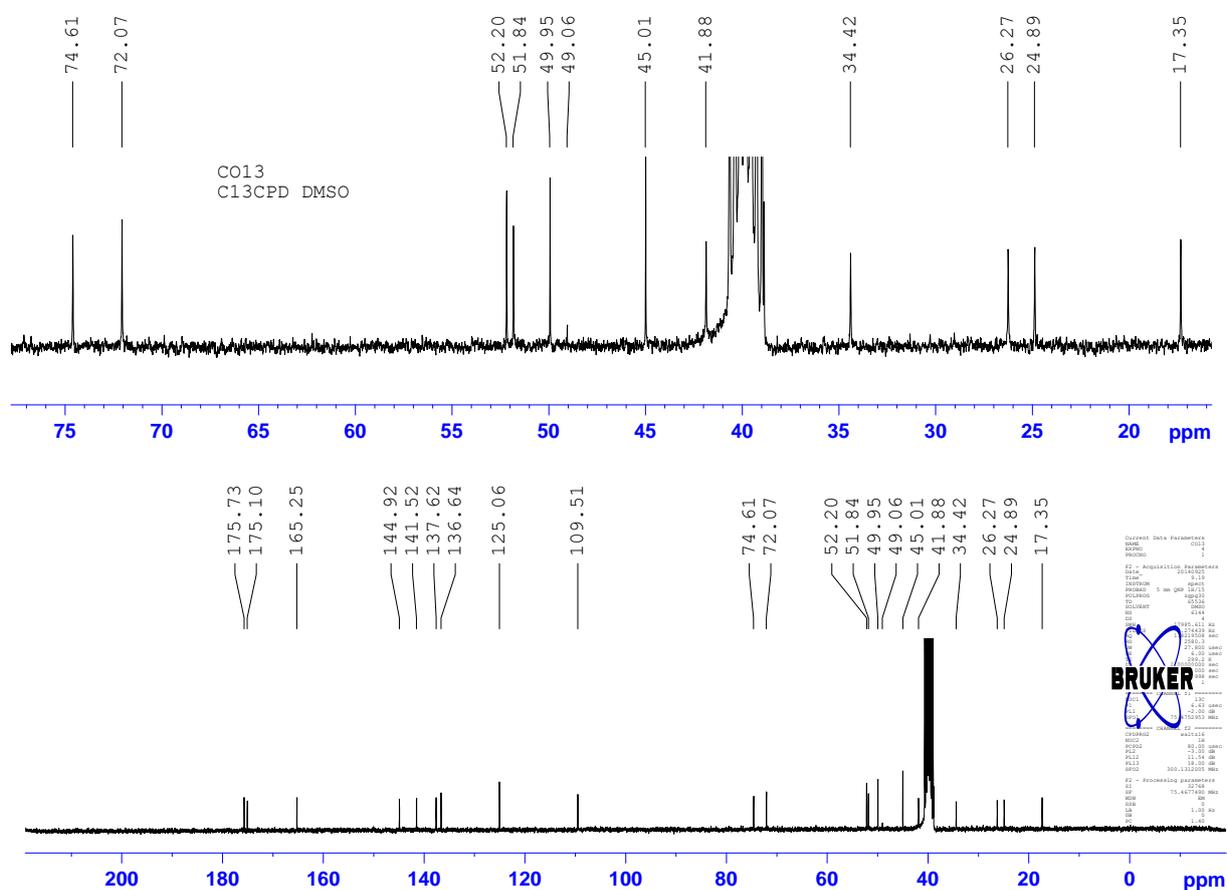


Figure 81 : Spectre de RMN ^{13}C (75MHz, DMSO) de CO13.

Sur le spectre COSY (Figure 82) de CO13 on observe des taches de corrélation entre les protons d'un méthylène à δ_{H} [2,88(1H, dt, J=2,7 et 22,8Hz) ; 2,45(1H, dt, J=2,7 et 22,8Hz)] et le proton vinylique à δ_{H} 6,64(1H, sl ; H-3). Ces deux protons corrélient également avec le proton de l'oxyméthine à δ_{H} 4,51(1H,sl). Cette information suggère que l'un des oxyméthines est en C-1 l'autre étant probablement en C-12.

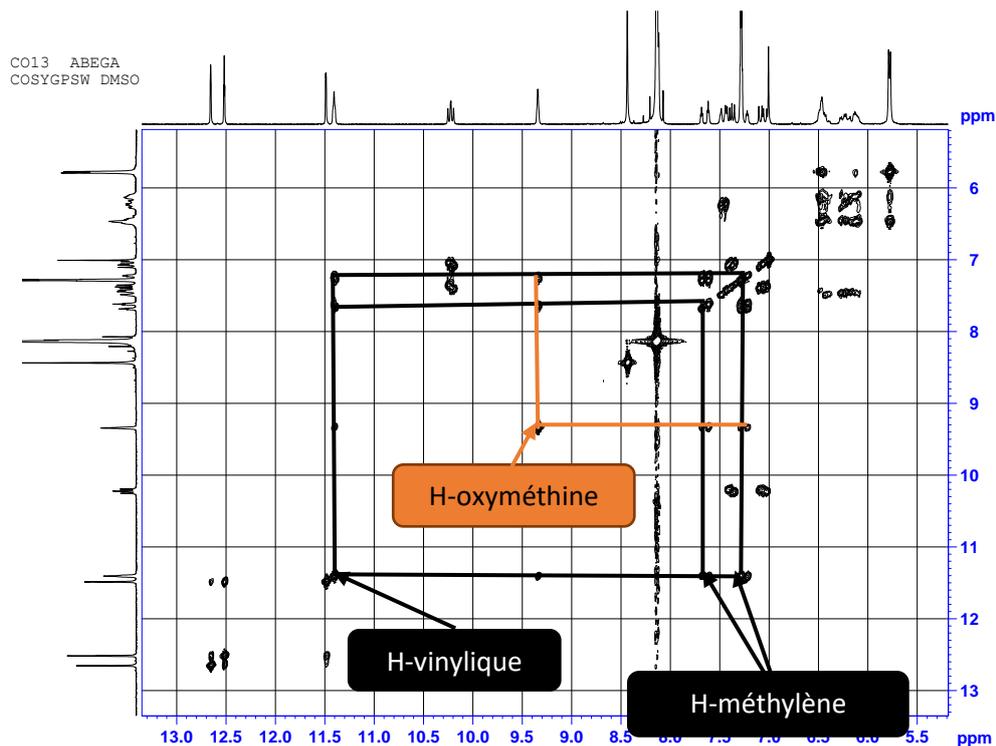
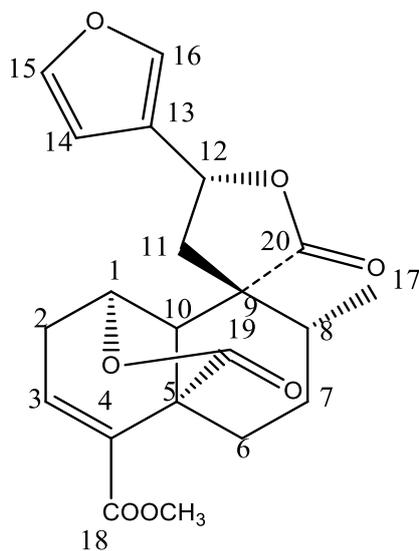


Figure 82 : Spectre COSY de CO13.

Toutes ces informations nous permettent d'attribuer à CO13 la structure **92** qui est celle de la crotozambefuran C isolé pour la première fois de *Croton zambesicus* (Ngadjui et al., 2002).



92

Tableau XXV : Données de RMN ¹H (300MHz, DMSO) et ¹³C (75MHz, DMSO) de CO13 comparées à celles de la littérature.

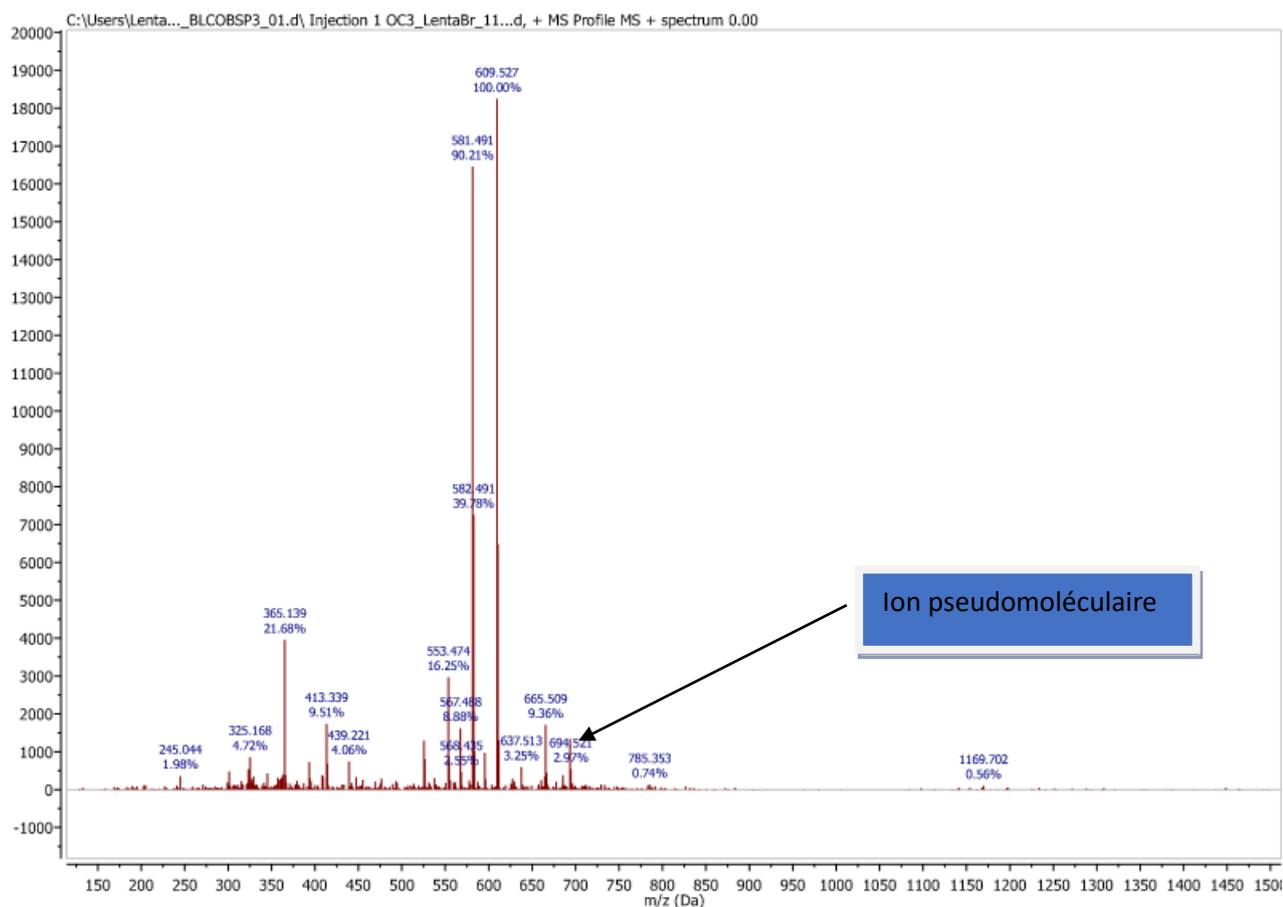
N°	δ _H	δ _C	δ _C de crotozambefuran C (Ngadjui et <i>al.</i> , 2002)
1	4,57	74,6	75,0
2	2,88 et 2,45	34,4	34,8
3	6,64	137,6	138,0
4	-	136,6	137,1
5	-	45,0	45,4
6		24,9	25,3
7		26,3	26,7
8		38,9	39,3
9	-	49 ;9	50,3
10		51,8	52,2
11		41,9	42,3
12	5,45	72,0	72,4
13	-	125,0	125,5
14	6,72	109,5	109,9
15	7,75	144,9	145,3
16	7,89	141,5	141,9
17	1,01	17,3	17,8
18	-	165,2	165,6
19	-	175,1	174,4
20	-	175,7	176,0
18-OMe		52,2	52,6

II-2-3- Les composés phénoliques

II-2-3-1- Détermination de la structure de COBSP3.

Isolé des écorces des racines de *Croton oligandrum*, COBSP3 est une poudre amorphe blanche dans le mélange hexane/acétate d'éthyle (9 :1) il est soluble dans le chloroforme et donne un test positif au chlorure ferrique indiquant la présence dans sa structure d'hydroxyde phénolique.

Sur son spectre de masse (ESI **Figure 83**) on observe le pic de l'ion pseudomoléculaire $[M+Na]^+$ m/z 694.521. L'analyse de cet ion couplée aux données de RMN 1H et ^{13}C permet d'attribuer à COBSP3 la formule brute formula $C_{44}H_{78}O_4$ renfermant 6 insaturations.



Sur son spectre IR (Figure 84) on observe les bandes d'absorption à

- 3393 cm^{-1} caractéristique d'un hydroxyde phénolique ;
- 1704 cm^{-1} caractéristique d'un carbonyle d'ester conjugué.

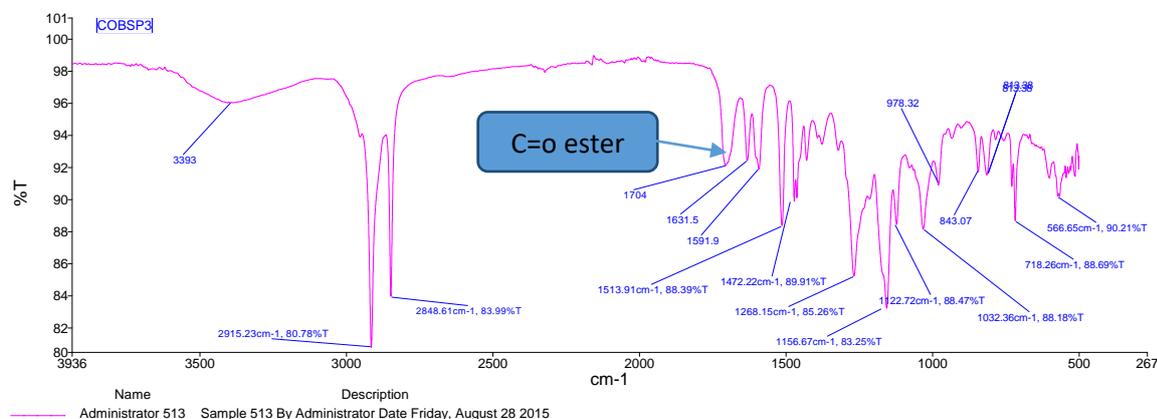


Figure 84 : Spectre IR de COBSP3

L'analyse combinée de ses spectres de RMN ^1H (300MHz, CDCl_3 , Tableau XXVI, Figure 85) et COSY (Figure 86) nous permet d'identifier :

- Les signaux de deux protons éthyléniques formant un système AB à δ_{H} 7,54(1H, d, $J=15,9\text{Hz}$) et δ_{H} 6,22(1H, d, $J=15,9$). La grande valeur de la constante de couplage indique que la stéréochimie autour de la double liaison est E.
- Les signaux de trois protons aromatiques formant un système ABX à δ_{H} 7,00(1H, dd, $J=1,8$ et $8,1\text{Hz}$) ; 6,96(1H, d, $J=1,8\text{Hz}$) et 6,84(1H, d, $J=8,1\text{Hz}$).
- Un signal à δ_{H} 4,11(2H, t, $J=6,9\text{Hz}$) attribuable aux protons d'un oxyméthylène.
- Un signal intense à δ_{H} 3,85 (3H, s) attribuable aux protons d'un méthoxy.
- Un signal intense à δ_{H} 1,18 (6H, s) attribuable aux protons des méthylènes d'une chaîne aliphatique. Le signal attribuable aux protons du méthyle terminal d'une chaîne aliphatique à δ_{H} 0,80(3H, t, $J=6,6\text{Hz}$).

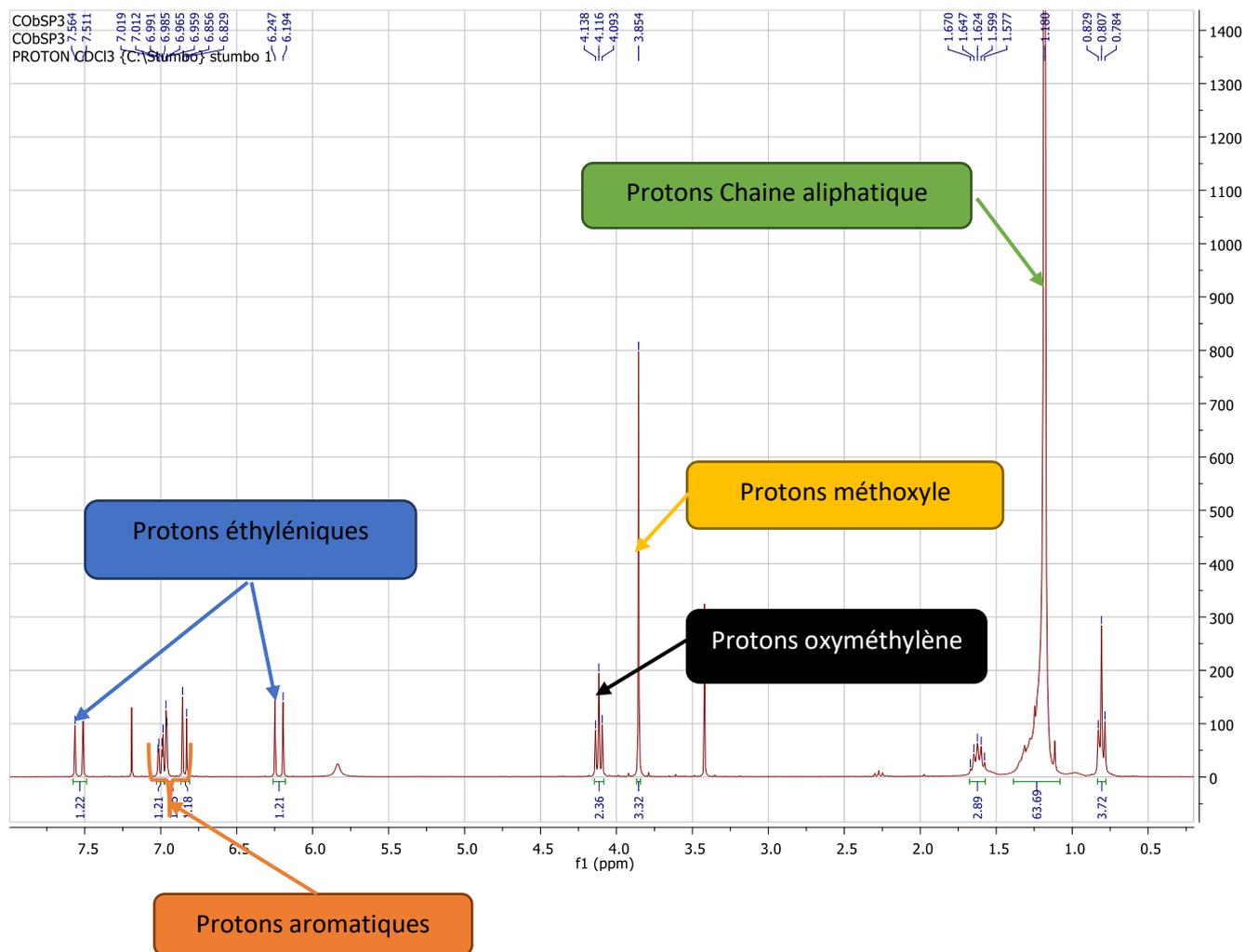


Figure 85 : Spectre de RMN ^1H (300MHz, CDCl_3) de CObSP3.

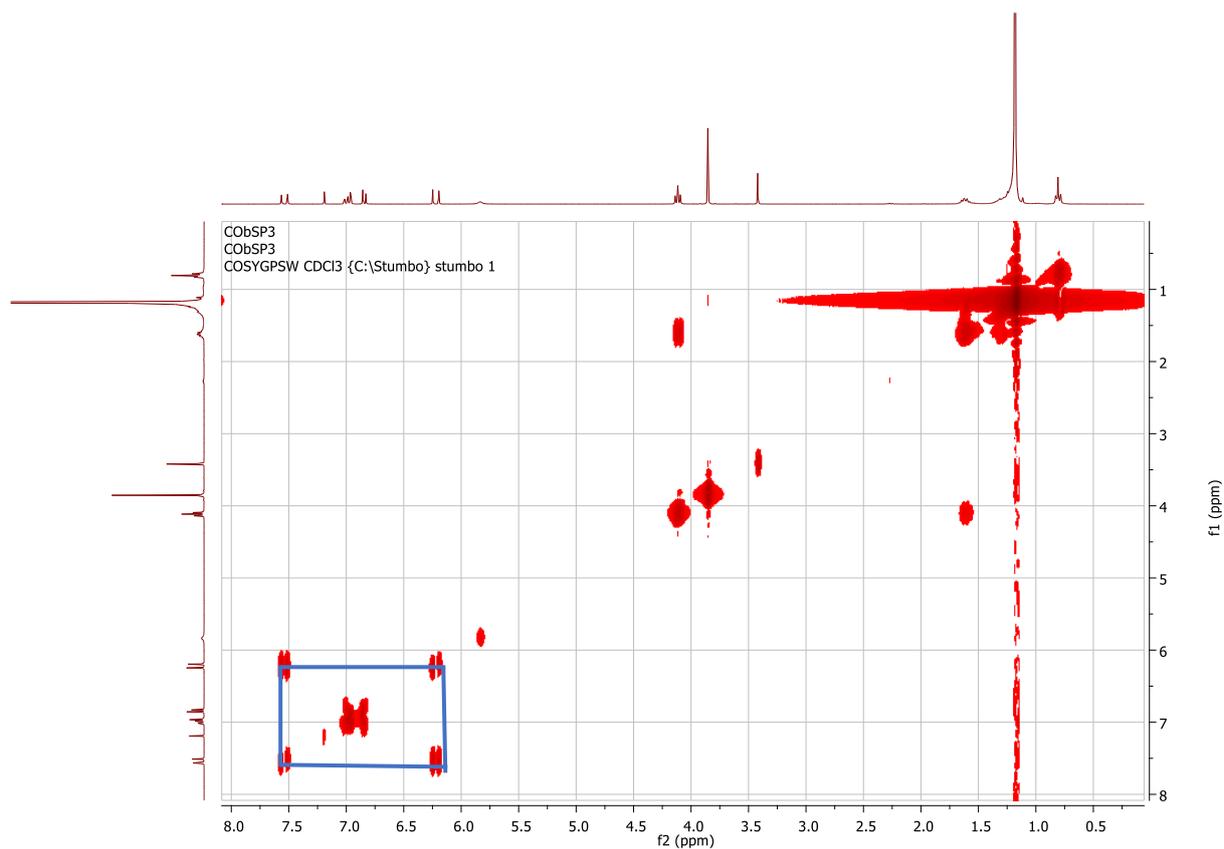


Figure 86 : Spectre COSY de CObSP3.

Ses spectres de RMN ^{13}C (75MHz, CDCl_3 , Tableau XXVI, Figure 87) et HMQC (Figure 88) permettent d'identifier en plus des signaux attribuables aux carbones d'un cycle aromatique à δ_{C} 109,3 ; 114,7 ; 123,0 ; 127,1 ; 146,8 et 147,9 ; d'une double liaison éthylénique à δ_{C} 115,7 et 144,7, un signal à δ_{C} 64,6 attribuable au carbone d'un oxyméthylène ; un signal attribuable à un carbonyle d'ester conjugué à δ_{C} 167,4.

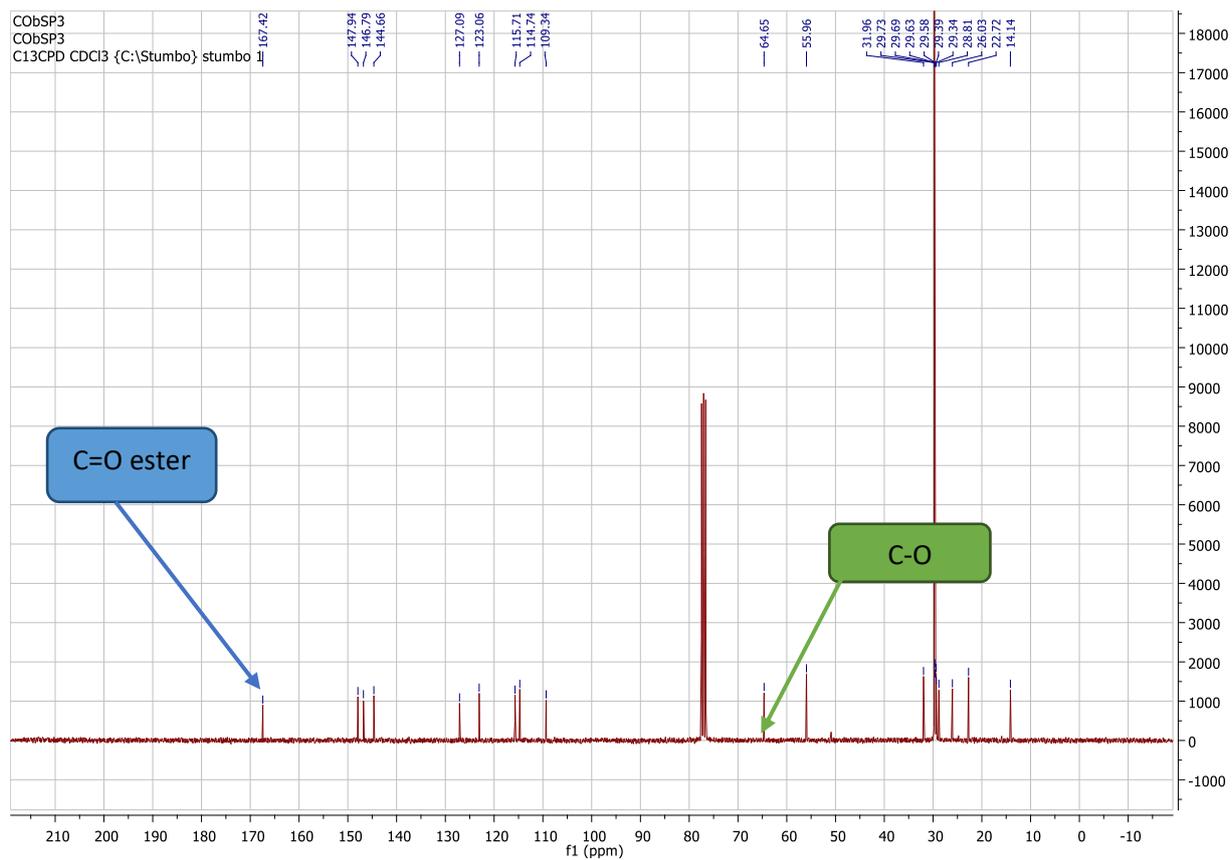


Figure 87 : Spectre de RMN ^{13}C (75MHz, CDCl_3) de CObSP3.

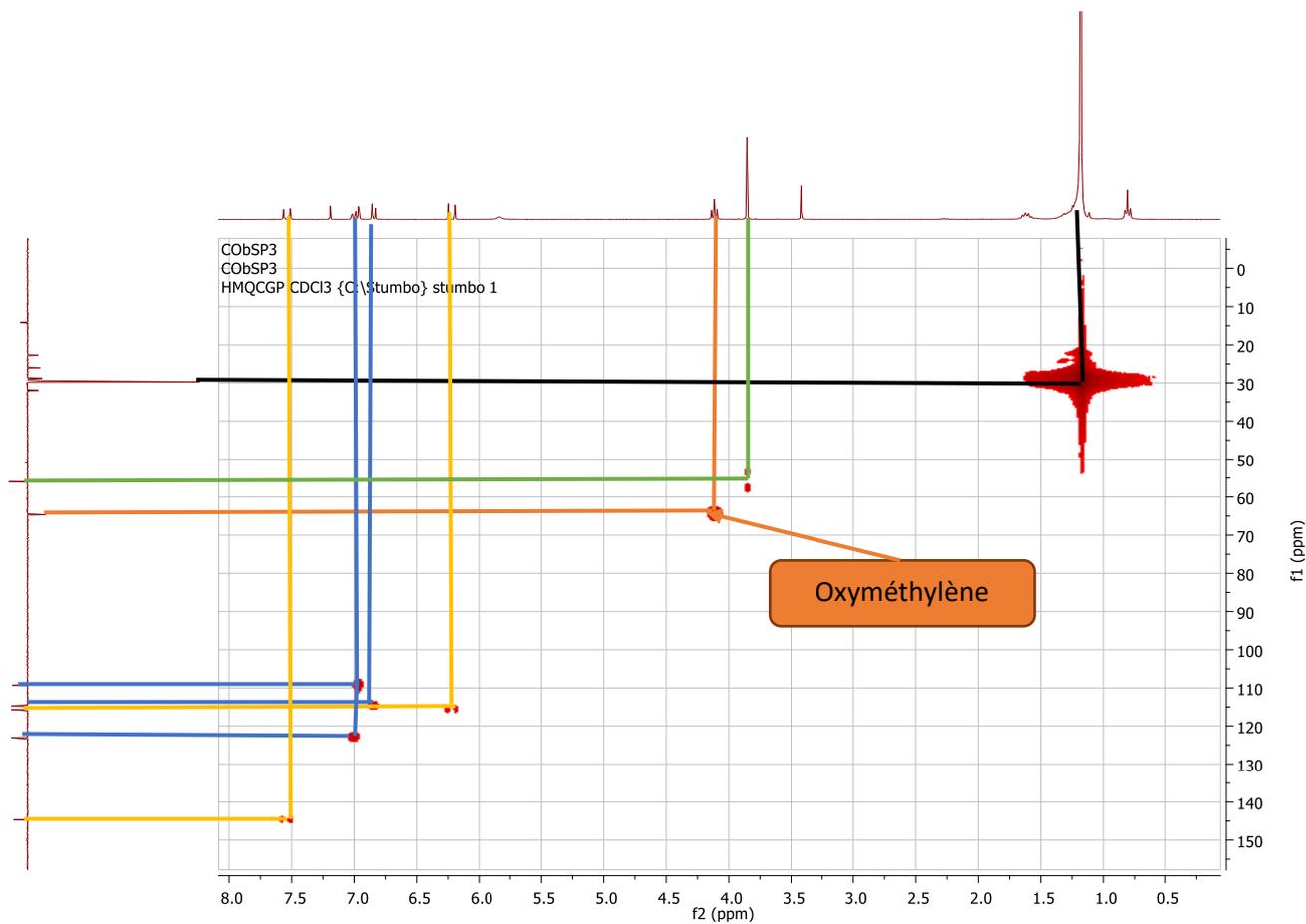


Figure 88 : Spectre de HMQC de CObSP3.

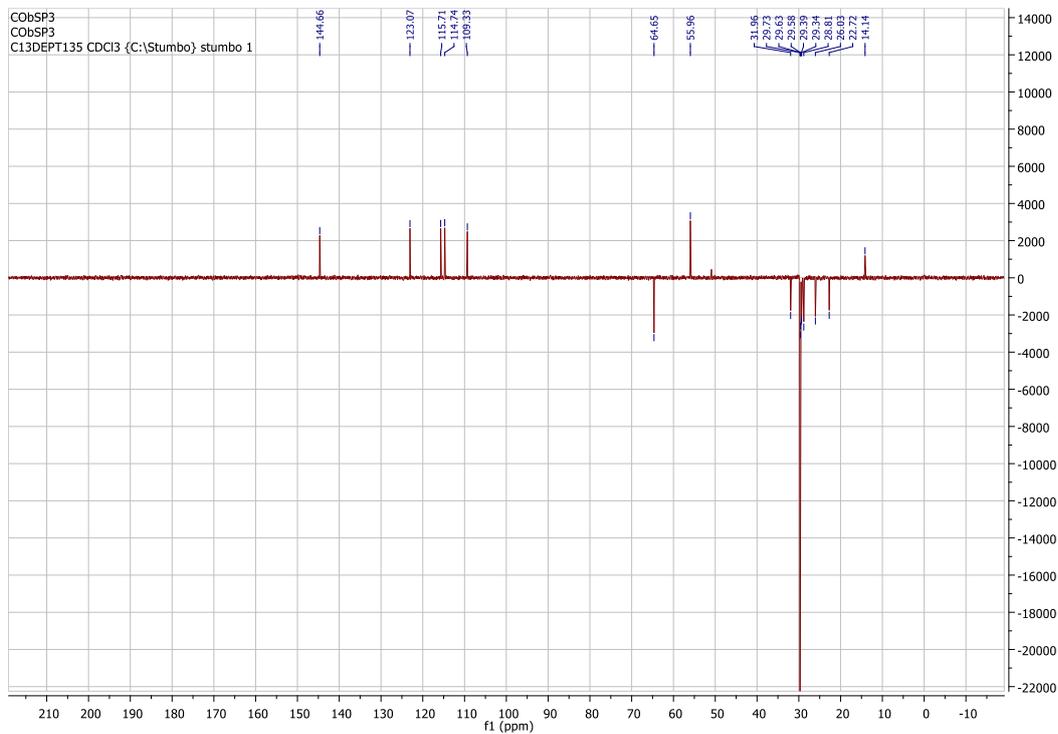


Figure 89 : Spectre de DEPT135 de CObSP3.

Le spectre **HMBC** (**Figure 90, Schéma 16**) de CObSP3 montre des taches de corrélation entre le proton à δ_H 6,96(1H, d, $J=1,8\text{Hz}$) et les carbones à δ_C 144,9 et 146,8 ; entre le proton à δ_H 6,84(1H, d, $J=8,1\text{Hz}$) et le carbone à δ_C 147,9.

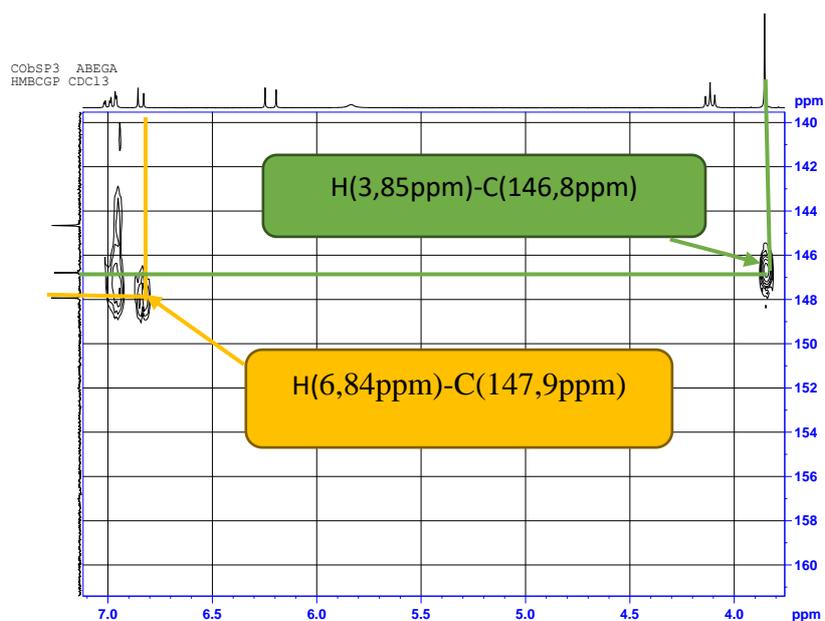
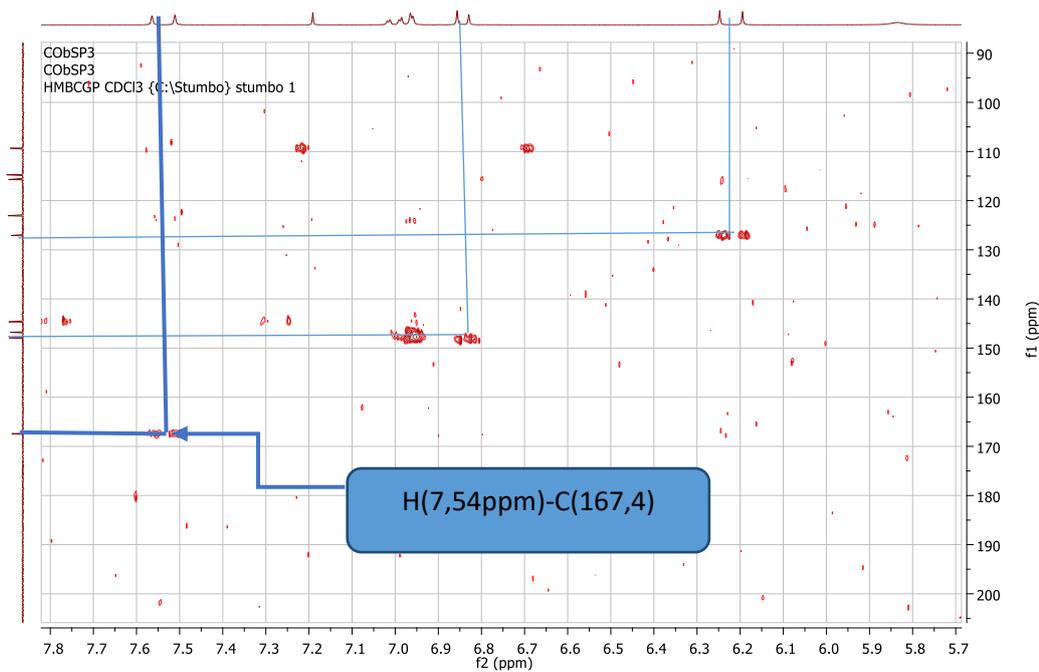
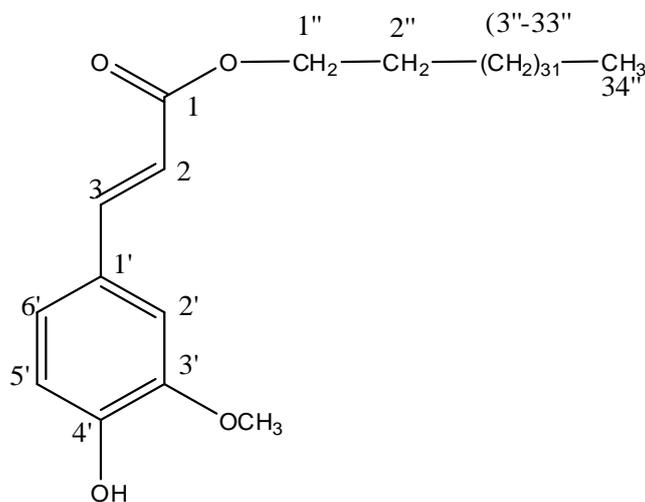


Figure 90 : Spectre HMBC de CObSP3.

Toutes ces informations nous permettent d'attribuer à CObSP3 la structure **93** qui est celle du ferulate de tetratriacontyle un ester de l'acide ferulique qui est décrit ici pour la première fois et auquel nous avons donné le nom trivial de ferulicrotonoate.



93

Tableau XXVI : Données de RMN ¹H (300MHz, CDCl₃) et ¹³C (75MHz, CDCl₃) de CObSP3 comparées à celles de la littérature.

N°	δ _H (m, J en Hz)	δ _C	δ _C de l'acide ferulique (Takeo et al., 2004)
1	-	167,4(s)	169,5
2	6,22(d ; 15,9)	115,7(d)	114,8
3	7,54(d ; 15,9)	144,9(d)	146,7
1'	-	127,1(s)	127,6
2'	6,96(d ; 1,8)	109,3(d)	115,1
3'	-	146,8(s)	149,3
4'	-	147,9(s)	146,6
5'	6,84 d ; 8,1)	114,7(d)	116,4
6'	7,00(dd ; 8,1 et 1,8)	123,0(d)	122,7
1''	4,11(t ; 6,9)	64,6(t)	
2''	1,61(m)	31,9(t)	
3''-33''	1,18(sl)	29,7-22,7	
34''	0,80(t ; 6,6)	14,1(q)	
OCH₃	(3,85, s)	55,9(q)	

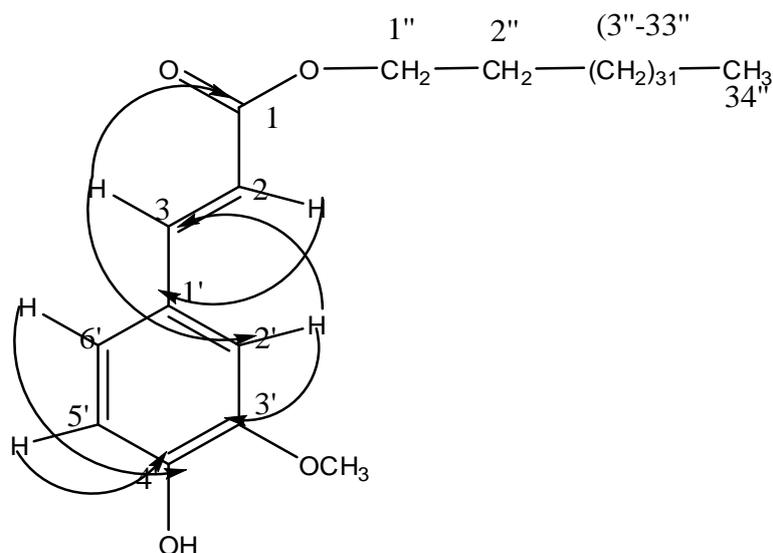


Schéma 16 : Quelques corrélations observées sur le spectre HMBC de CObSP3.

II-2-3-2- Détermination de la structure de COR2

COR2 est une huile jaune soluble dans le chloroforme. L'analyse combinée de ses spectres de RMN ^1H , ^{13}C , DEPT135 et HMQC nous a permis de lui attribuer la formule brute $\text{C}_{20}\text{H}_{20}\text{O}_6$.

Sur son spectre IR (Figure 91), on observe des bandes de vibration intenses à :

- $3381,8\text{ cm}^{-1}$ caractéristique d'un groupement hydroxyle.
- $1662,69\text{ cm}^{-1}$ attribuable à un carbonyle d'aldéhyde.
- $1592,67\text{ cm}^{-1}$ attribuable à une double liaison carbone.
- $1131,23\text{ cm}^{-1}$ attribuable à une simple liaison carbone oxygène.

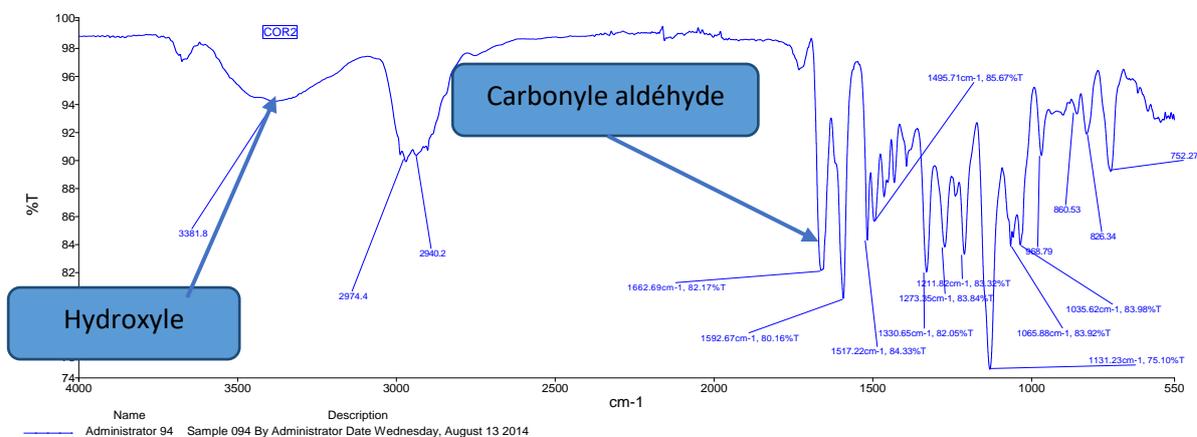


Figure 91 : Spectre IR de COR2

L'analyse de son spectres RMN ^1H (Tableau XXVII, Figure 92) permet d'identifier :

- Le signal d'un proton à δ_{H} 9,35(1H, d, $J=7,8\text{Hz}$) attribuable au proton d'un groupement aldéhyde.
- Les signaux de deux protons d'une double liaison de stéréochimie *trans* à δ_{H} 7,34(1H, d, $J=15,9\text{Hz}$) et 6,52(1H, dd, $J=15,9$ et $7,8\text{Hz}$).
- Les signaux attribuables à cinq protons aromatiques à δ_{H} 7,06(1H, sl) ; 6,95(1H, sl) ; 6,82(1H, sl) et 6,81(1H, sl).
- A δ_{H} 5,57(1H, d, $J=7,2\text{Hz}$) un signal attribuable au proton d'un oxyméthine.
- Un signal à δ_{H} 3,89(2H, m) attribuable aux protons d'un oxyméthylène.
- Deux signaux intenses à δ_{H} 3,79(3H, s) et 3,85(3H, s) attribuables aux protons de deux groupements méthoxyle. On observe également à δ_{H} 3,60(1H, dd, $J= 12.3, 6.3$ Hz) un signal attribuable au proton d'un méthine.

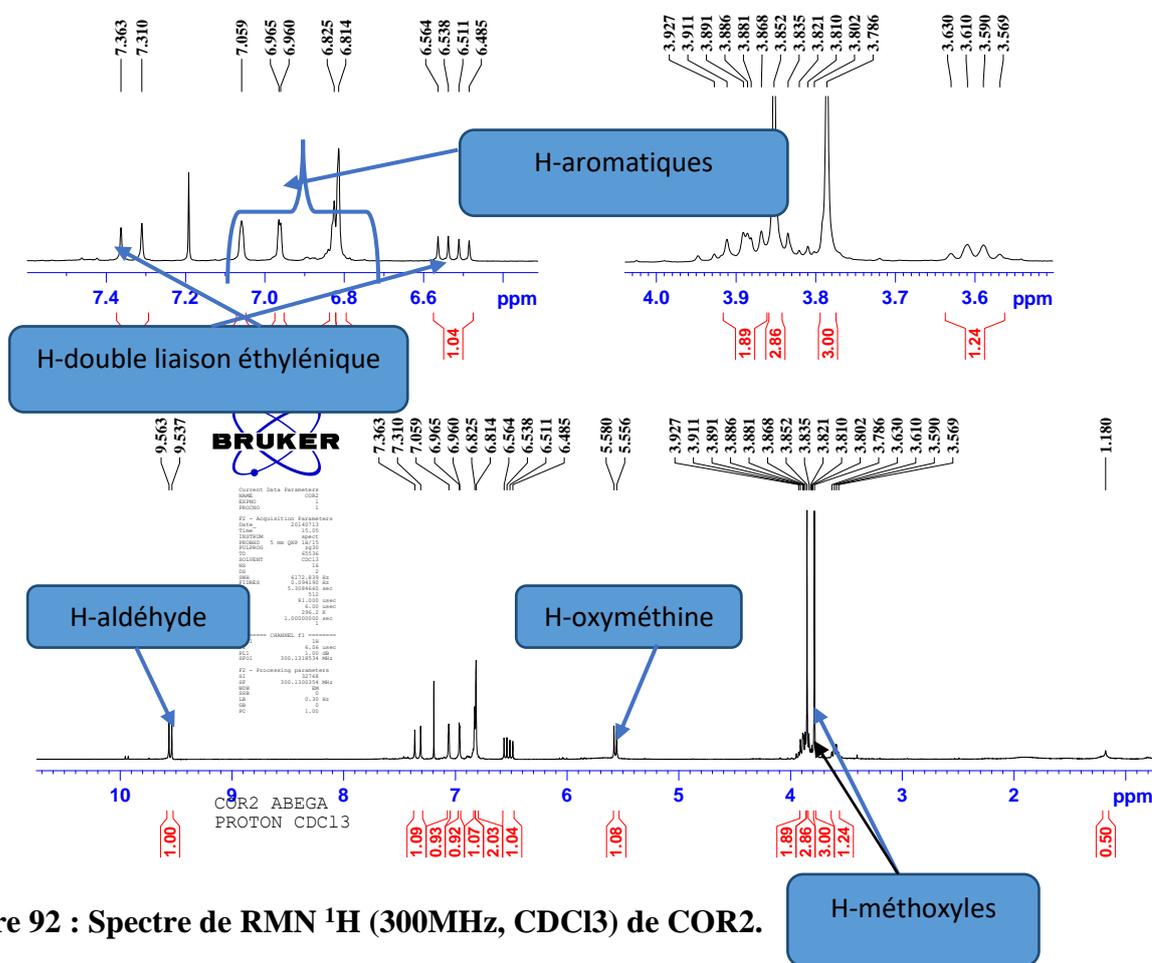


Figure 92 : Spectre de RMN ^1H (300MHz, CDCl_3) de COR2.

L'analyse combinée de ses spectres de RMN ^{13}C (Tableau XXVII, Figure 93), DEPT 135 (Figure 94) et HMQC (Figure 95) nous permet d'identifier :

- Un signal à δ_{C} 197,7 attribuable au carbone d'une fonction aldéhyde.

- Quatre signaux attribuables à 4 carbones aromatiques oxygénés à δ_C 144,8 ; 146,0 ; 146,8 et 151,6.
- Deux signaux à δ_C 153,2 et 126,4 attribuables aux carbones d'une double liaison éthylénique conjuguée.
- Cinq signaux attribuables à 5 carbones aromatiques hydrogénés à δ_C 108,8 ; 112,3 ; 114,5 ; 118,2 et 119,4.
- Un signal attribuable au carbone d'un oxyméthine à δ_C 89,0 ainsi que celui du carbone d'un oxyméthylène à δ_C 63,9.

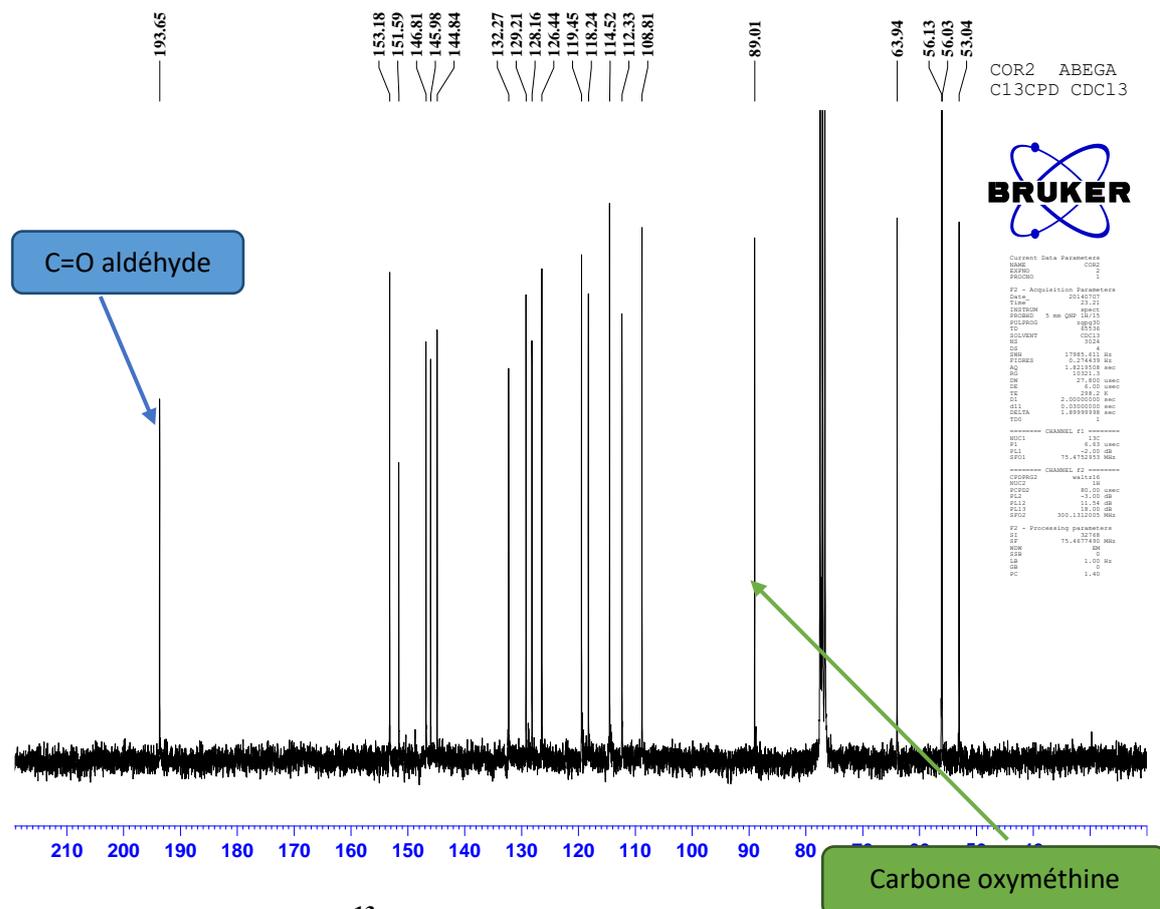


Figure 93 : Spectre de RMN ^{13}C (75MHz, $CDCl_3$) de COR2.

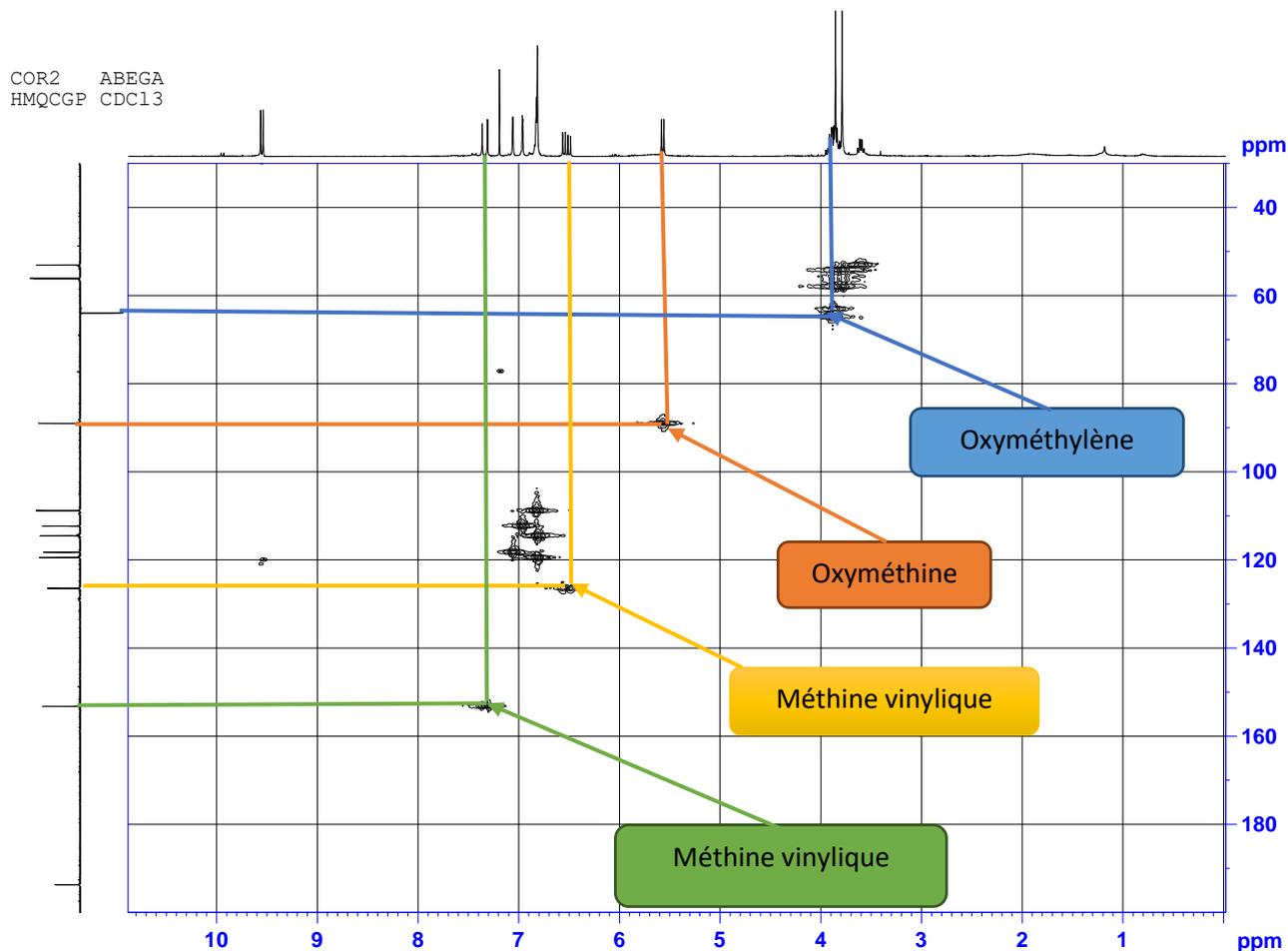
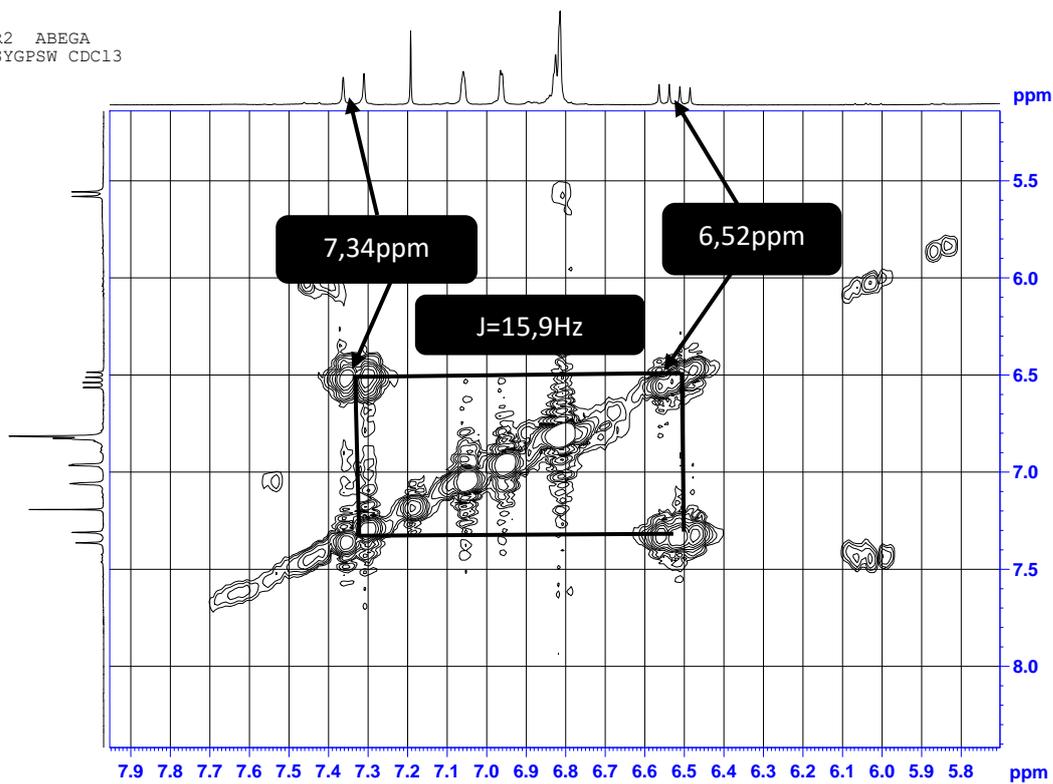


Figure 95 : Spectre HMQC de COR2.

Le spectre **COSY** (**figure 96, schéma 17**) de COR2 montre des taches de corrélation entre

- le proton à δ_H 6,52(1H, dd, $J=7,8$ et $15,9$ Hz) et les protons à δ_H 7,34(1H, d, $J=15,9$ Hz) et 9,35(1H, d, $J=7,8$ Hz).
- Le proton du méthine à δ_H 3,60(1Hdd, $12,3$; $6,3$ Hz) et les protons de l'oxyméthylène à 3,89(2H, m) ainsi que celui de l'oxyméthine δ_H 5,57(1H, d, $J=7,2$ Hz).

COR2 ABEGA
COSYGPSW CDC13



COR2 ABEGA
COSYGPSW CDC13

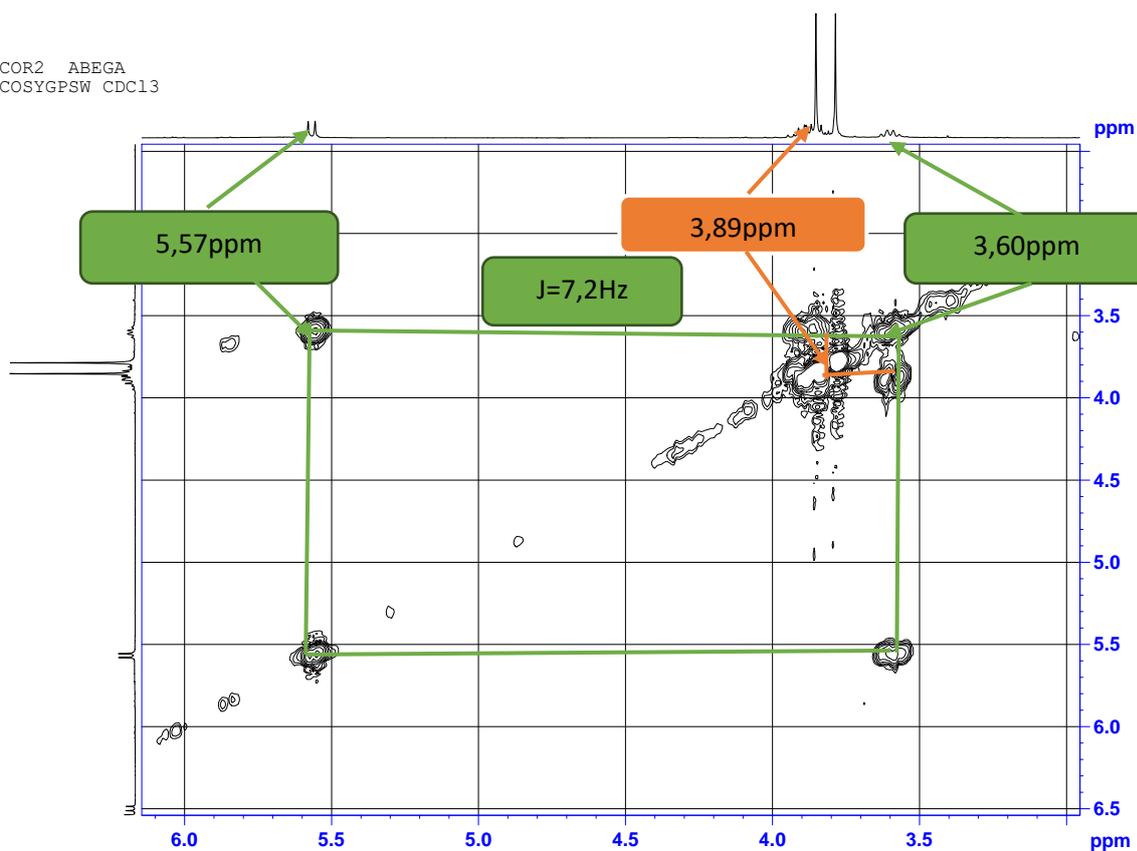


Figure 96: Spectre COSY de COR2.

Le spectre **HMBC** (Figure 97, Schéma 18) montre des taches de corrélation entre le proton à δ_H 6,81 et les carbones à δ_C 89,0 et 132,3.

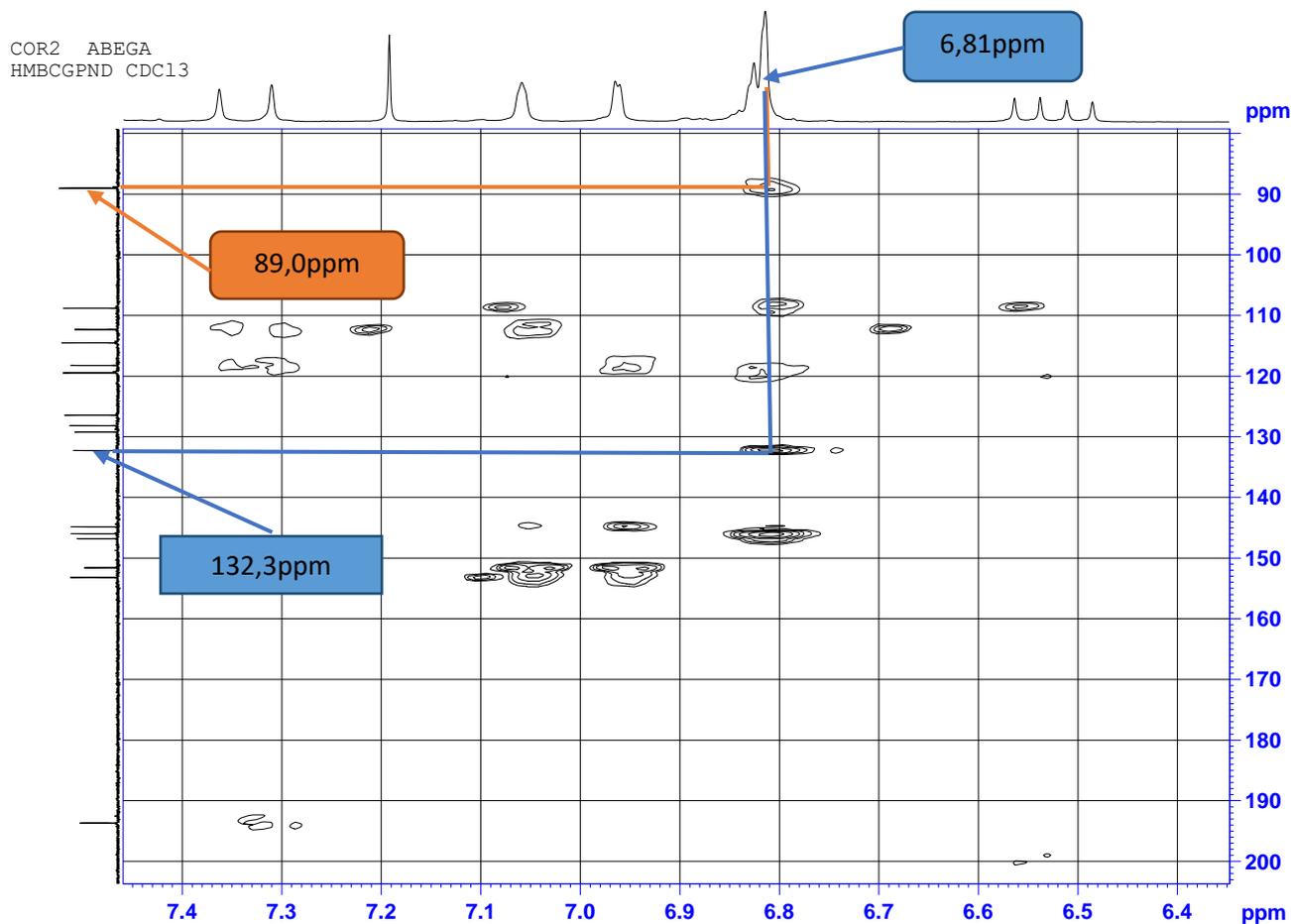
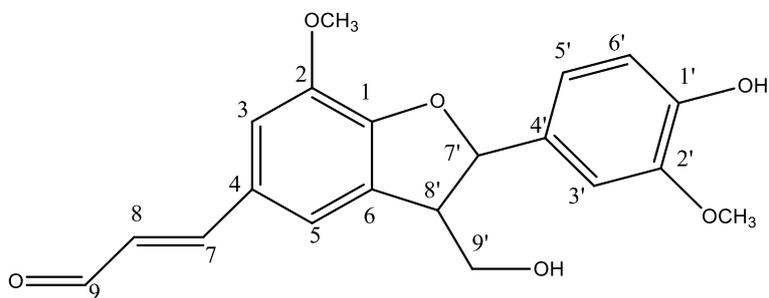


Figure 97 : Spectre HMBC de COR2.

La comparaison de Toutes ces informations à celles de la littérature (**Qing-Huang et al., 2010**) nous a permis d'attribuer à COR2 la structure plane **94**.



94

Le spectre NOESY (Figure 98) de COR2 montre des taches de corrélation entre le proton du méthine à δ_H 3,60 et le proton de l'oxyméthine à δ_H 5,57. Cette information nous permet de conclure que ces deux protons sont en *cis*.

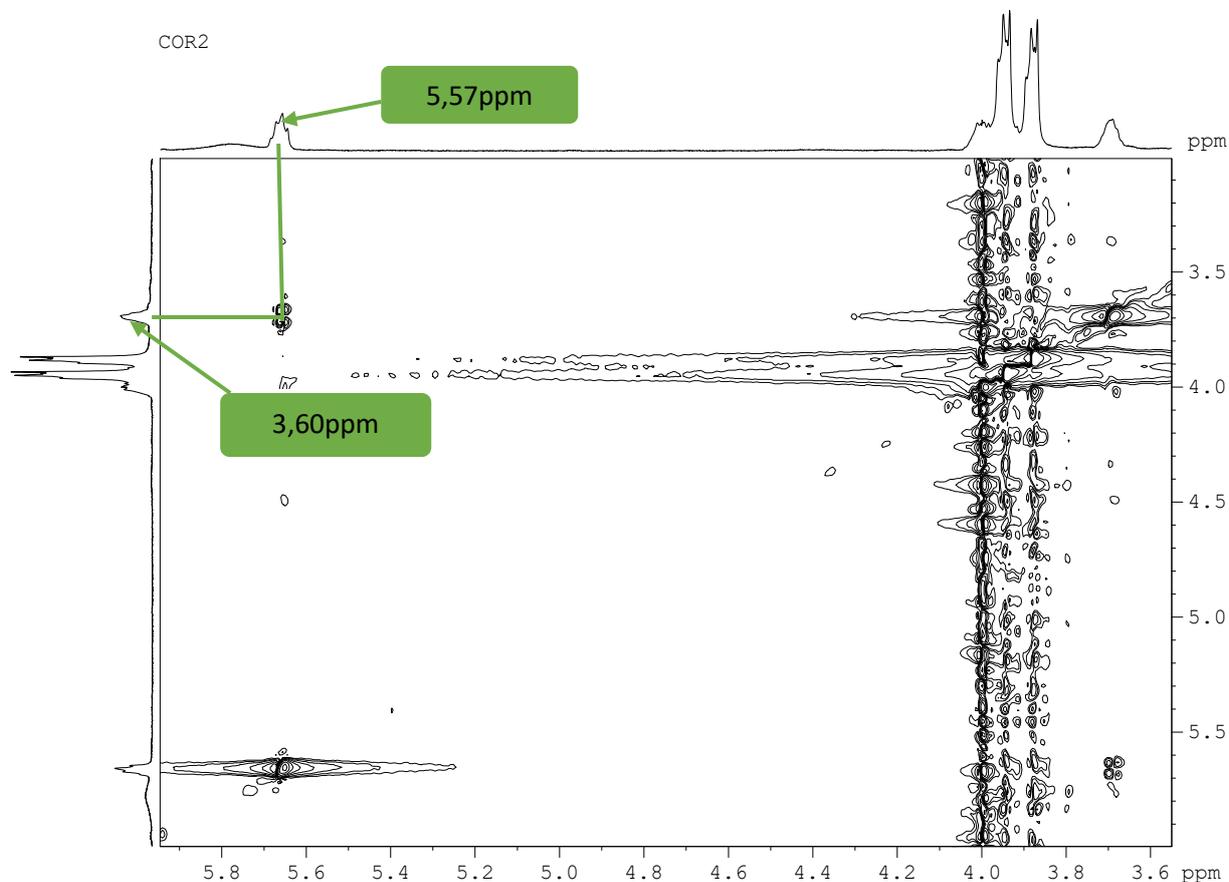


Figure 98 : Spectre NOESY de COR2.

La combinaison de toutes ces informations nous a permis de proposer pour COR2 les structures **95** ou **96** qui sont celles de deux métabolites secondaires isolés pour la première fois d'une plante et auxquels nous avons donné le nom trivial *cis*-balanopholin. Des analyses supplémentaires sont en cours en vue de déterminer les configurations relatives autour des centres asymétriques. Ce qui nous permettra de retenir l'une des deux structures.

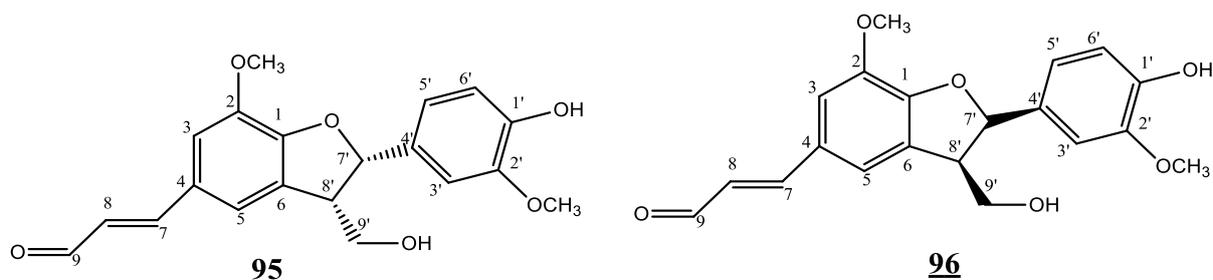


Tableau XXVII : Données de RMN ^1H (300MHz, CDCl_3) et ^{13}C (75MHz, CDCl_3) de COR2.

N°	δ_{H} (m ; J en Hz)	δ_{C}
1	-	151,6(s)
2	-	144,8(s)
3	7,06(sl)	112,3(d)
4	-	128,2(s)
5	6,96(sl)	118,2(d)
6	-	129,2(s)
7	7,34(d ; 15,9)	153,2(d)
8	6,52(dd ; 7,8 et 15,9)	126,4(d)
9	9,55(d ; 7,8)	193,7(d)
1'	-	146,0(s)
2'	-	146,8(s)
3'	6,82(sl)	108,8(d)
4'	-	132,3(s)
5'	6,81(sl)	119,4(d)
6'	6,81(sl)	114,5(d)
7'	5,57(d ; 7,2)	89,0(d)
8'	3,60(q)	53,0(d)
9'	3,89(m)	63,9(t)
1-OCH3	3,85(s)	56,0(q)
2-OCH3	3,79(s)	56,1(q)

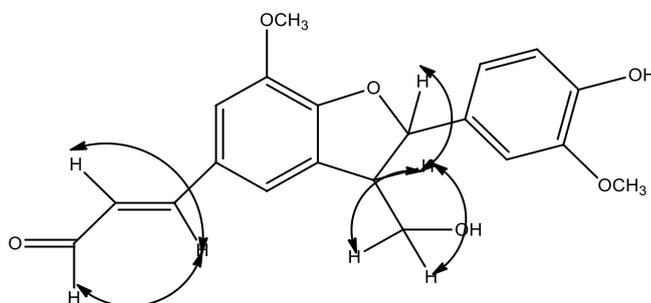


Schéma 17 : Quelques corrélations observées sur le spectre COSY de COR2.

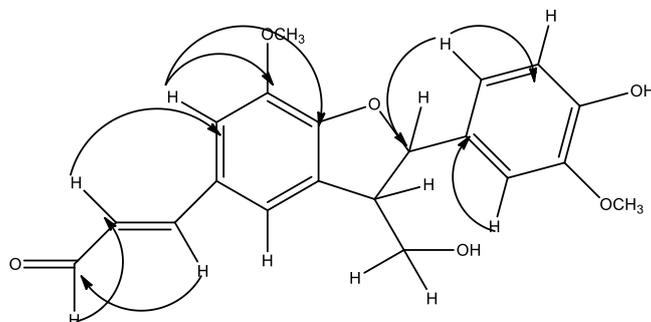


Schéma 18 : Quelques corrélations observées sur le spectre HMBC de COR2.

II-2-3-3- Identification de la structure de CORF1b.

CORF1b se présente sous forme d'une huile jaune. Il est soluble dans le chloroforme. L'analyse de ses spectres de RMN ^1H et ^{13}C permet de lui attribuer la formule brute $\text{C}_8\text{H}_8\text{O}_3$ renfermant 5 insaturations.

Sur le spectre de RMN ^1H (Tableau XXVIII, Figure 99) de CORF1b on observe :

- Un signal à δ_{H} 9,88 attribuable au proton d'une fonction aldéhyde.
- Trois signaux attribuables à trois protons d'un cycle aromatique formant un système ABX à δ_{H} 7,49(1H, d, $J=1,8\text{Hz}$) ; 7,47(1H, dd, $J=8,7$ et $1,8\text{Hz}$) et 7,09(1H, d, $J=8,7\text{Hz}$).
- Un signal attribuable aux protons d'un groupe méthoxyle à δ_{H} 4,02.

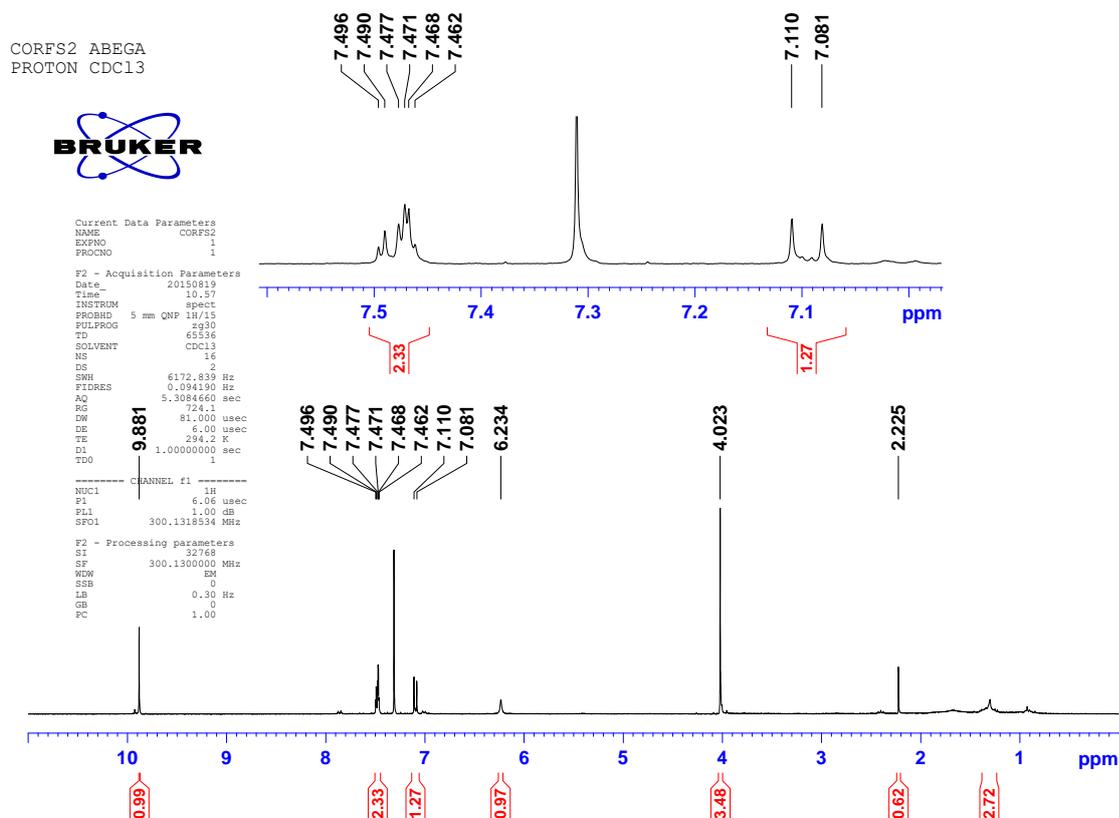


Figure 99 : Spectre de RMN ^1H (300MHz, CDCl_3) de CORF1b.

Le spectre de RMN ^{13}C (Tableau XXVIII, Figure 100) présente :

- Un signal à δ_{C} 190,9 attribuable au carbonyle d'une fonction aldéhyde.
- Deux signaux à δ_{C} 151,7 et 147,7 attribuables à deux carbones oxygénés en position *ortho* d'un noyau benzénique.

Un signal attribuable à un carbone quaternaire aromatique à δ_{C} 129,9.

CORFS2-ABEGA
C13CPD CDC13

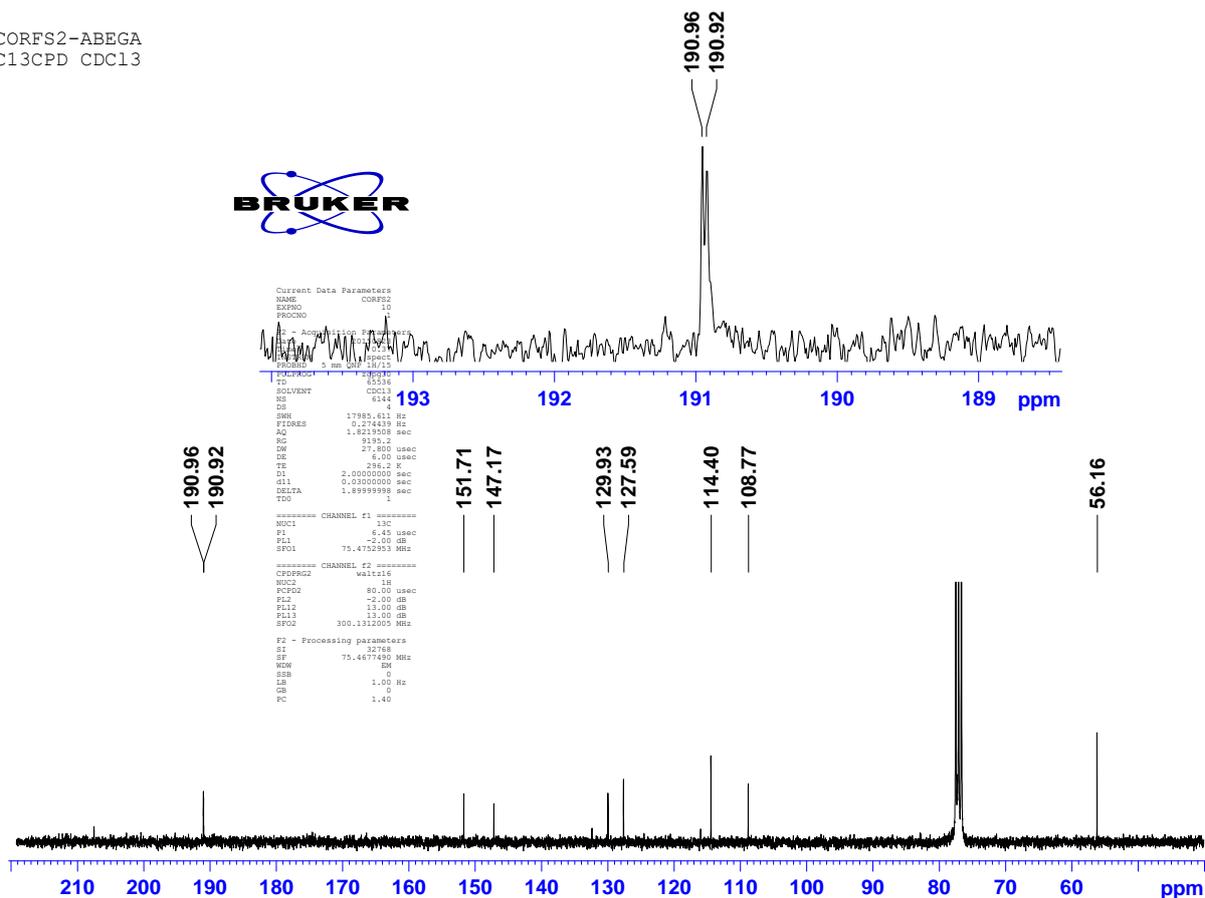
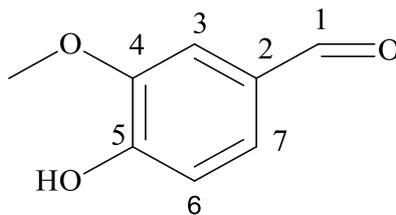


Figure 100 : Spectre de RMN ^{13}C (75MHz, CDCl_3) de CORF1b.

L'ensemble de toutes ces données nous a permis d'attribuer CORF1b la structure 97 qui est celle de la 4-hydroxy-3-méthoxybenzaldéhyde.



97

Tableau XXVIII : Données de RMN ^1H (300MHz, CDCl_3) et ^{13}C (75MHz, CDCl_3) de CORF1b.

N°	δ_{H}	δ_{C}
1	9,88	190,9
2	-	129,9
3	7,49(d, J= 1,8 Hz)	114,4
4	-	147,7
5	-	151,7
6	7,09 (d, J= 8,7Hz)	108,8
7	7,47 (dd, J=8,7 et 1,8Hz)	127,6
OCH_3	4,02	56,2

II-3- REACTION D'ACÉTYLATION.

Dans l'optique d'améliorer leurs activités biologiques, nous avons réalisé l'acétylation de kayadiol et de Ent-trachylobane-15 α , 18-diol.

II-3-1- Acétylation de Kayadiol (CO11)

CO11 a été agité dans le mélange pyridine-anhydride acétique (1 :1 en volume) à température ambiante pour donner un produit indexé CO11r, qui a été identifié sur la base de ses données spectrales à l'acétate de kayadiol **98**. L'équation bilan de la réaction est la suivante :

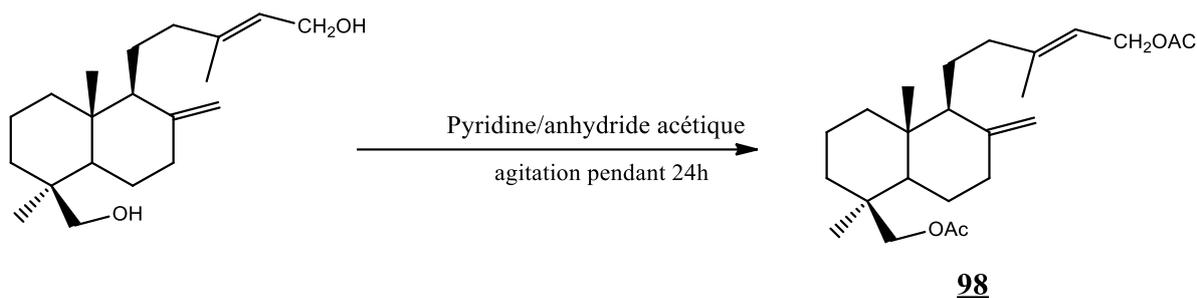


Schéma 19 : Equation chimique de la réaction d'acétylation de CO11.

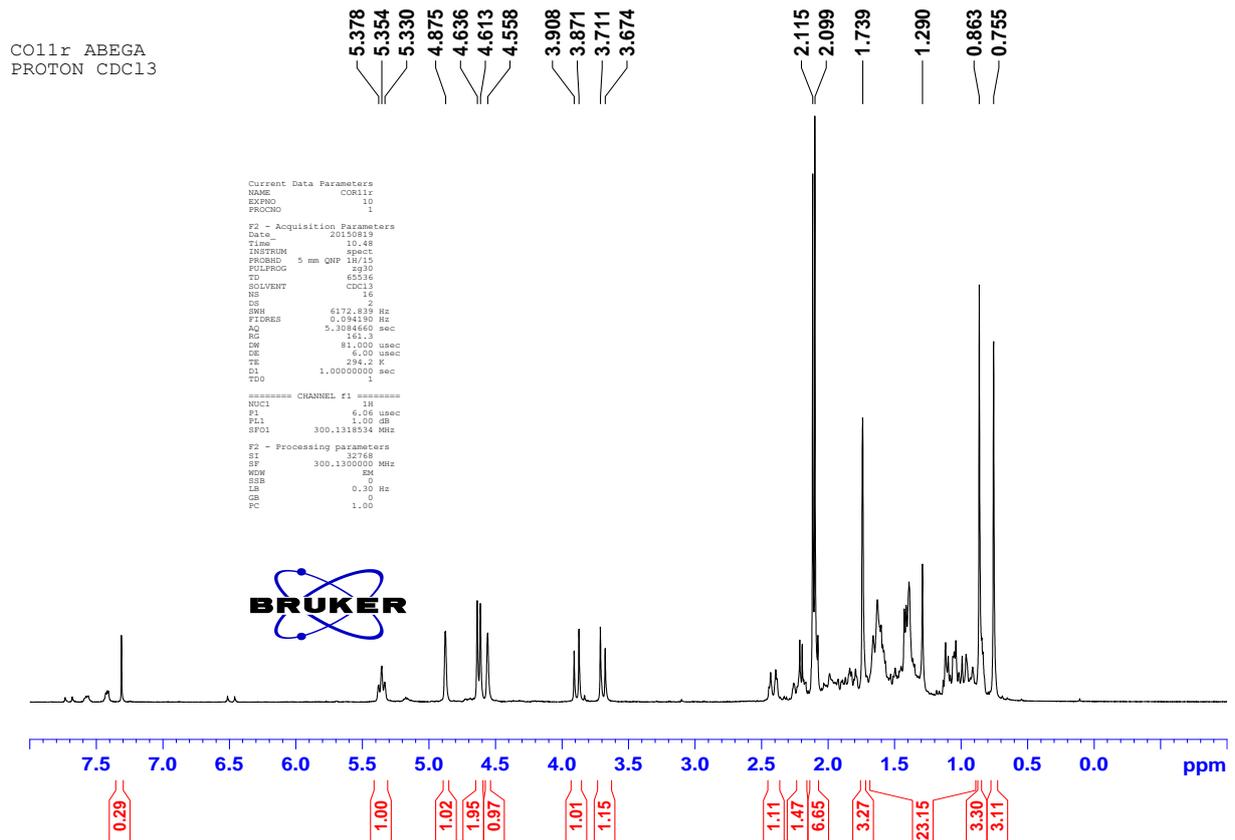


Figure 101: Spectre de RMN ^1H de CO11r.

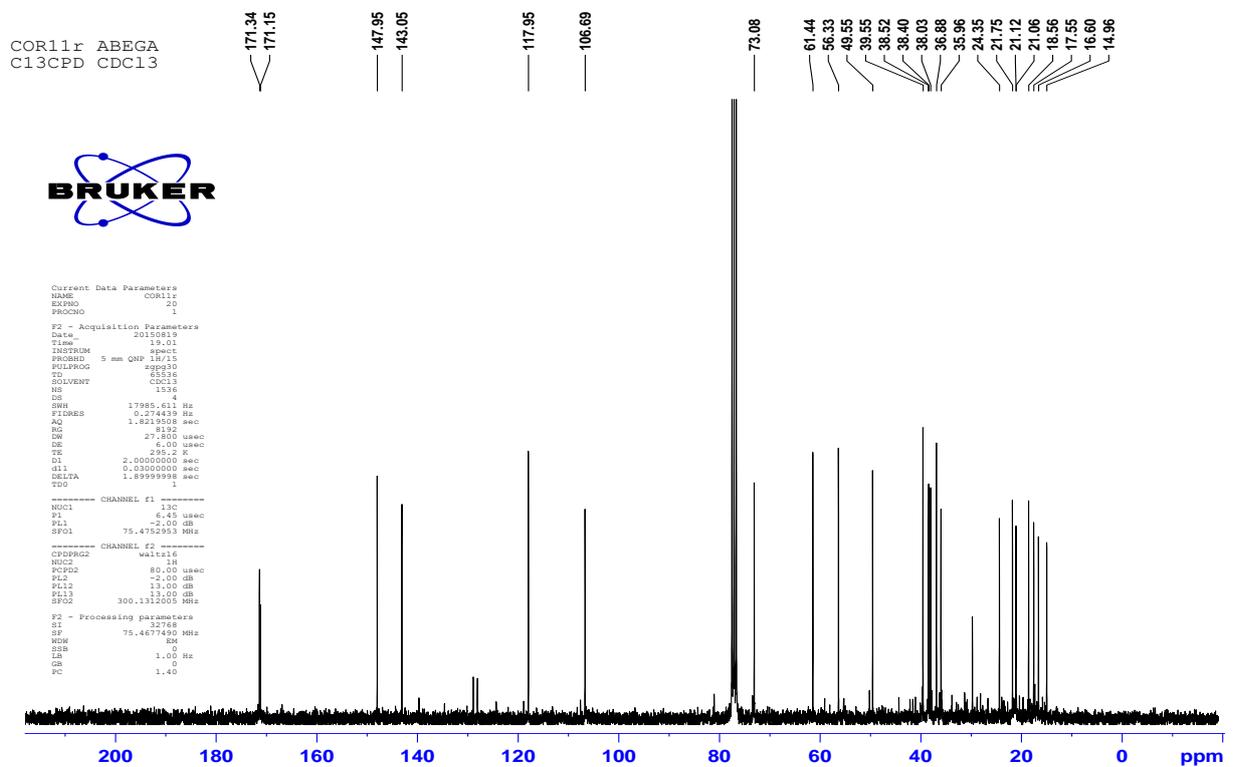


Figure 102: Spectre de RMN ^{13}C de CO11r.

II-3-2- Acétylation Ent-trachylobane-15 α , 18-diol (COR8).

COR8 a été agité dans le mélange pyridine-anhydride acétique (1 :1 en volume) à température ambiante pendant 24 heures pour donner un produit indexé COR8r, qui a été identifié sur la base de ses données spectrales à la 15 α , 18-diacétoxy Ent-trachylobane **99**. L'équation bilan de la réaction est la suivante :

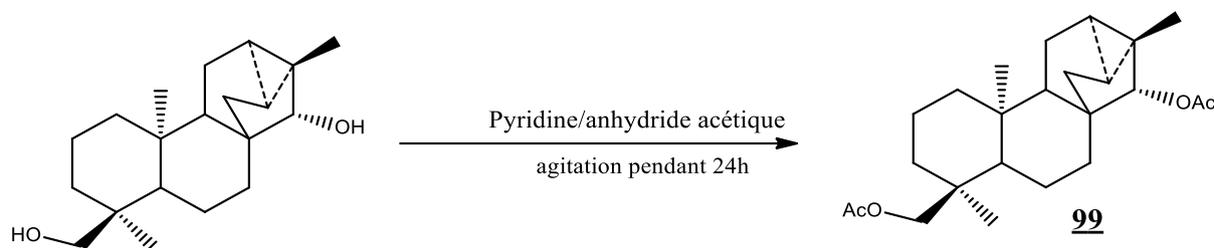


Schéma 20 : Equation chimique de la réaction d'acétylation de COR8.

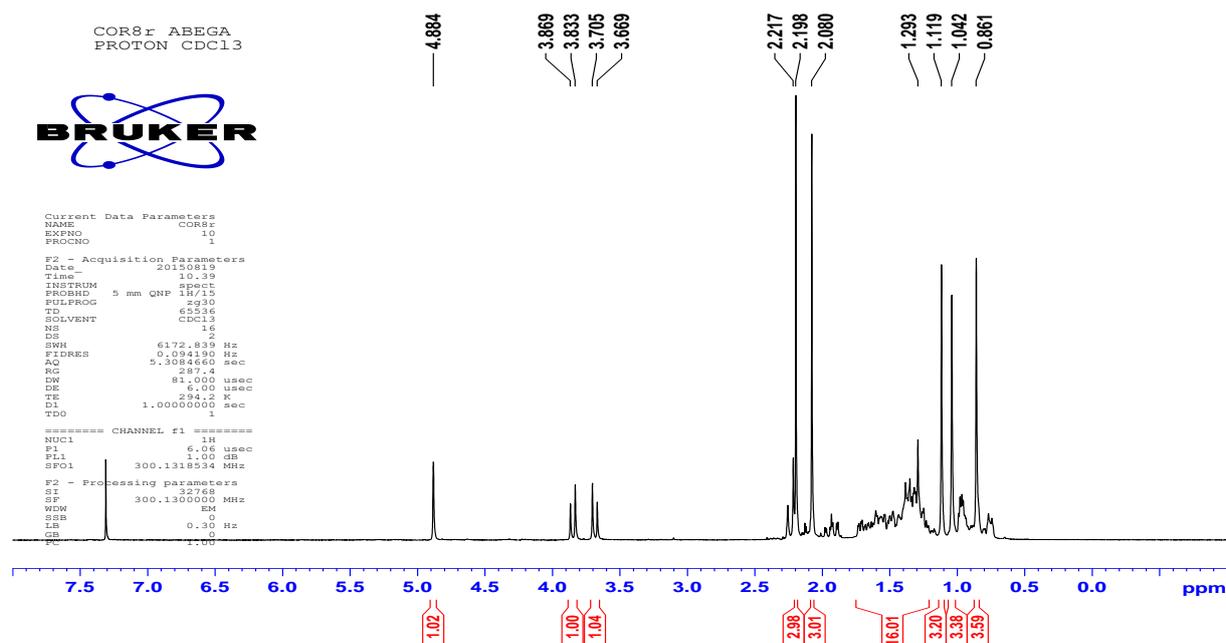


Figure 103 : Spectre de RMN 1H de COR8r.

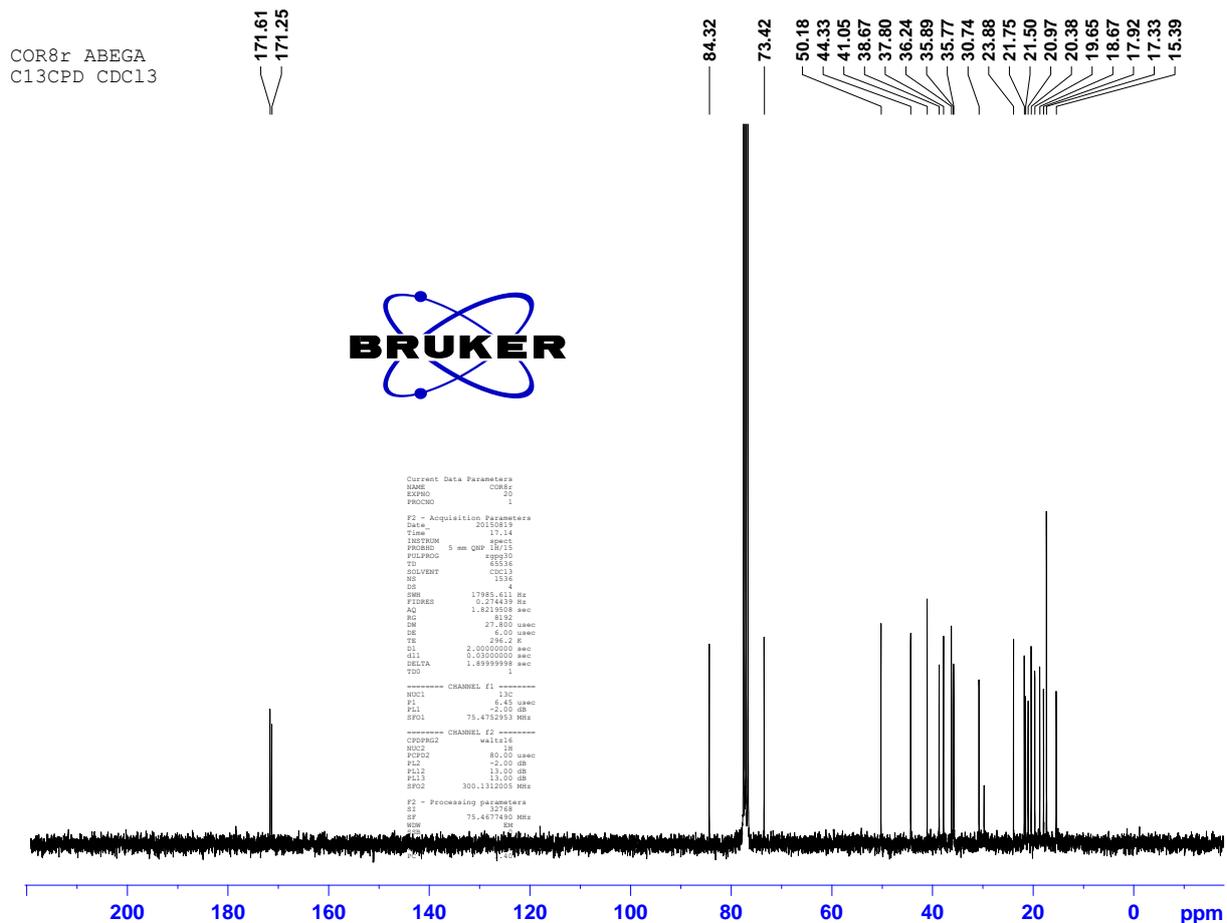


Figure 104: Spectre de RMN ^{13}C de COR8r.

II-3-2- Mécanisme de la réaction d'acétylation.
Le mécanisme de la réaction d'acétylation est le suivant :

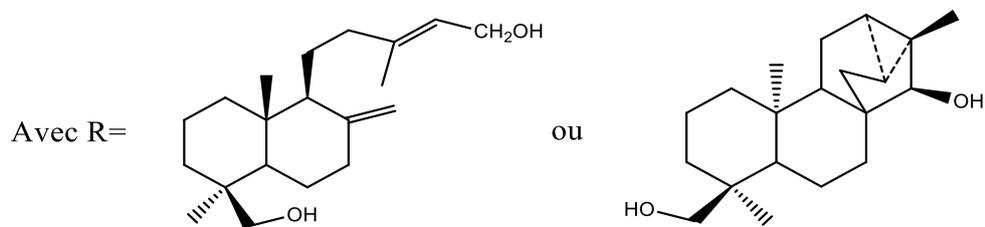
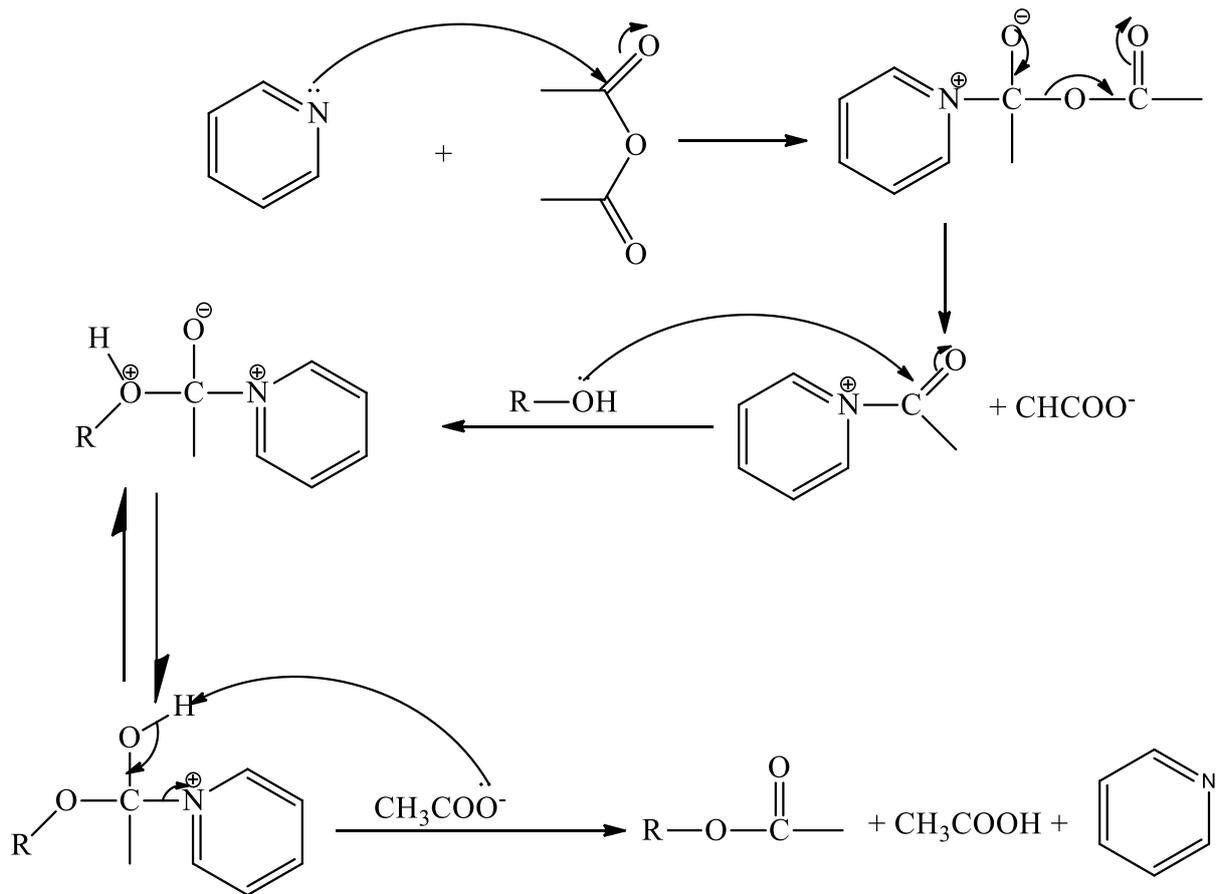


Schéma 20 : Mécanisme de la réaction d'acétylation.

II-4-TESTS BIOLOGIQUES SUR LES COMPOSES ISOLEES

II-4-1-Evaluation de l'activité antioxydante

II-4-1-1-Résultats

Les activités antioxydantes des composés CO3, CO4, CO5, CO6 et CO11 ont été évaluées et les résultats sont consignés dans le tableau ci-dessous.

Table XXIX : Activité antioxydante des diterpènes isolés des écorces du tronc de *Croton oligandrum*

Matériel	DPPH IC ₅₀ (mg/mL)	Activité chélatrice (% d'inhibition à 2mg/mL)
CO5	33.25 ± 2.15 ^d	6.0 ± 0.5 ^f
CO6	12.07 ± 0.15 ^c	9.5 ± 0.4 ^e
CO11	11.38 ± 0.18 ^c	13.3 ± 0.3 ^d
CO3	Na	17.7 ± 0.3 ^c
CO4	7.75 ± 0.88 ^b	26.5 ± 0.5 ^b
BHT	0.02 ± 0.00 ^a	Nt
EDTA	nt	93.7 ± 0.3 ^a

na: non actif à la concentration testée,

nt: non testé.

II-4-1-2-Interprétation

Les résultats du tableau ci-dessus montrent que des 5 composés testés avec la DPPH, seul CO3 présente un test négatif. Les quatre autres bien que présentant un test positif montrent cependant une faible activité anti radicalaire comparée à celle de la BHT prise comme référence ; CO4 étant le composé qui présente la meilleur activité anti radicalaire avec une IC₅₀=7,75 ± 0,88mg/mL.

L'activité de chélation est positive pour tous les composés testés ; Crotonoligaketone (CO5) présentant la plus faible activité tandis que l'acide 7-acetoxytrachyloban-18-oïque(CO4) présente la meilleur capacité chélatrice qui reste cependant très faible comparée à celle de l'EDTA pris comme référence.

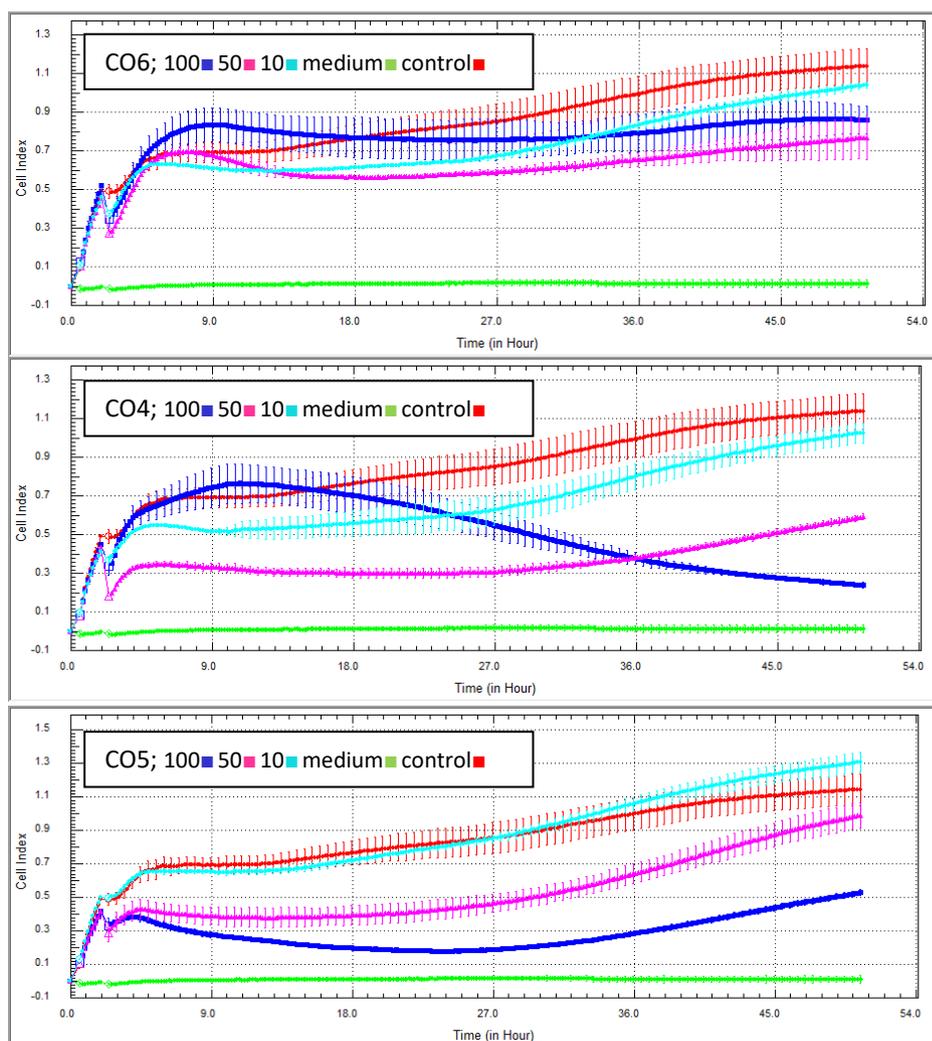
II-4-1-3-Relation structure activité anti oxydante.

Il ressort aussi du tableau que les deux labdanes Crotonadiol (CO6) et Kayadiol. (CO11) qui possèdent les mêmes fonctions chimiques (doubles liaison et fonction alcool) présentent les activités anti oxydantes quasi similaires. La meilleure activité anti oxydante de l'acide 7-acetoxytrachyloban-18-oïque (CO4) serait due à la double présence dans sa structure de la fonction acide carboxylique et du groupement acéthoxyle qui sont inexistantes dans les autres composés.

II-4-2-Evaluation de l'activité antiproliférative.

II-4-2-1-Résultats.

L'effet anti prolifératif des diterpènes isolés des écorces du tronc de *Croton oligandrum* a été évalué sur les cellules cancéreuses du cerveau. Les résultats obtenus sont présentés dans la **figure 105** ci-dessous.



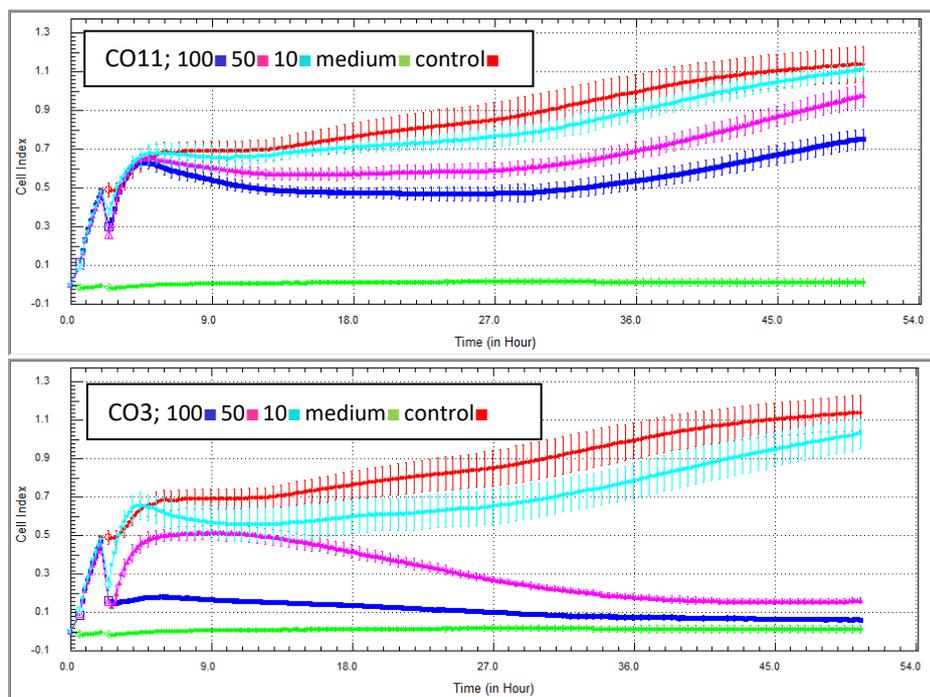


Figure 105: Coube d'évaluation antiproliférative

II-4-2-2-Interprétation

Nos données montrent que Crotonadiol (CO6) possède un effet anti prolifératif relativement faible. Des résultats similaires ont été obtenus pour Kayadiol.CO11). Toutefois, Crotonzambefuran B a montré l'activité antiproliférative la plus élevée avec une IC50 comprise entre 10,0 et 100,0 μ M. Les autres diterpènes testés à savoir Crotonoligaketon et l'acide 7-acetoxy trachyloban-18-oïque(CO4) sont très peu actifs.

II-4-2-3-Relation structure activité antiproliférative.

Il ressort de ces résultats que seul Crotonzambefuran B présente une activité antiproliférative intéressante. Lorsqu'on compare cette activité à celle des autres diterpènes, il apparait que la deuxième plus importante activité antiproliférative a été montrée par Crotonoligaketon. L'activité antiproliférative la plus importante de CO3 serait donc due à la présence simultanée dans sa structure du cycle furanique et de trois fonctions esters ; la présence de la fonction cétone dans la structure de CO5 pourrait expliquer la diminution de l'activité antiproliférative.

II-4-3- Evaluation de l'activité antimicrobienne.

II-4-3-1-Résultats.

Le **tableau 31** présente les activités antibactériennes de cinq diterpènes isolés des écorces du tronc de *C.oligandrum.*: Crotonoliganketon (CO5), CrotozambefuranB, Crotonadiol, Kayadiol, et l'acide 7-acetoxy trachyloban-18-oïque(CO4).

TableauXXX : Activités antimicrobiennes des diterpènes isolés des écorces du tronc de *Croton oligandrum.*

Matériel	<i>S. aureus</i>	<i>S. aureus</i>	<i>E.coli</i>	<i>E.coli</i>
	ATCC 25923	ATCC 29213	ATCC 35218	ATCC 25322
Crotonoligaketon (CO5)	6.5 ± 0.1 ^a	na	Na	na
Crotonadiol (CO6)	na	na	Na	na
Kayadiol (CO11)	na	na	Na	na
Crotonzambefuran B (CO3)	7.0 ± 0.1 ^b	6.9 ± 0.1 ^a	Na	na
7-acetoxytrachiloban-18-oicacid (CO4)	6.6 ± 0.1 ^a	7.4 ± 0.0 ^b	Na	na
Tetracycline (positive control)	21.5 ± 0.1 ^c	20.5 ± 0.0 ^c	22.5 ± 0.1	12.9 ± 0.1
DMSO (negative control)	na	na	Na	na

na:non actif .

II-4-3-2- Interprétation.

Les résultats ci-dessus montrent que les diterpènes isolés des écorces du tronc de *C.oligantrum* n'inhibent pas la croissance des bactéries Gram positifs testées. Toute fois les composés CO3, CO4 et CO5 inhibent faiblement la croissance des bactéries gram négatifs testées ; La plus grande activité antibactérienne étant observée avec les composés CO4 (7.4 ± 0.0)et CO3 (7.0 ± 0.1).

II-4-3-3-Relation structure activité antimicrobienne.

Les résultats du**Tableau XXX** montrent que les composés ayant les mêmes squelettes présentent des activités antimicrobiennes similaires. Ainsi les deux labdanes CO6 et CO11 sont inactifs sur les souches microbiennes testées ; tandis que les deux clérodanes CO3 et CO5 sont tous actifs sur les souches grams négatifs. Mais on constate tout de même que CO3 est actif sur *S.aureus*ATCC25923 et sur *S. aureus* ATCC 29213 tandis que CO5 n'est actif que sur *S. aureus* ATCC 25923.Cette différence pourrait être due à la présence de la fonction cétone dans la structure de CO5.

CONCLUSION GENERALE ET PERSPECTIVES

CONCLUSION GENERALE ET PERSPECTIVES

L'utilisation des méthodes chromatographiques usuelles appliquées sur les différentes parties de *Croton oligandrum*, une plante de la famille des *Euphorbiaceae*, nous a permis d'isoler vingt quatre métabolites secondaires. Ces composés ont été caractérisés sur la base de leurs données spectroscopiques, physiques et par comparaison avec les informations de la littérature. Quatre de ces composés sont décrits ici pour la première fois et un est isolé d'une plante pour la première fois. Ces différents composés sont regroupés en quatre classes structurales dans le tableau ci-dessous.

Tableau XXXI : Composés isolés de *croton oligandrum*

Classes	Numéros	Noms	Remarques
Triterpènes pentacycliques	<u>72</u>	acide acétyle aleuritolique.	Connu
	<u>73</u>	Lupéol	Connu
	<u>74</u>	Taraxerol	Connu
	<u>75</u>	3 α -acétoxy-15 β -hydroxyoléanan-28,13-olide	Connu
Stéroïdes	<u>76</u>	β -sitostérol	Connu
	<u>77</u>	stigmastérol	Connu
	<u>78</u>	Palmitate de β -sitosterol	Connu
	<u>79</u>	Glucoside de β -sitostérol	Connu
	<u>80</u>	Sitoindoside I	Connu
Diterpènes	<u>81</u>	Ent-trachylobane-15 β , 18-diol	Connu
	<u>82</u>	Trachinodiol.	Connu
	<u>83</u>	l'acide 7 β -acetoxy-trachyloban-18-oïque	Connu
	<u>84</u>	Crotonadiol.	Connu
	<u>85</u>	Kayadiol	Connu
	<u>86</u>	Crotozambefuran B	Connu
	<u>87</u>	crotonoligaketone	Nouveau
	<u>88</u>	Crotozambefuran A.	Connu
	<u>89</u>	crotonoligafuranon A	Nouveau
	<u>90</u>	Crococorylifurane	Connu
	<u>91</u>	crotonoligafuranon B.	Nouveau
<u>92</u>	Crotozambefuran C	Connu	
Composés phénoliques	<u>93</u>	ferulicrotonoate.	Nouveau
	<u>95</u> ou <u>96</u>	isobalufoline	Nouveau
	<u>97</u>	4-hydroxy-3-méthoxybenzaldéhyde	Connu

Nous avons effectué l'acétylation de deux diterpènes : kayadiol (CO11) et Ent-trachylobane-15 β , 18-diol (COR8), isolés des écorces du tronc et des écorces des racines, respectivement.

Cinq des douze diterpènes isolés ont été testés biologiquement. Ces tests ont montré que les diterpènes testés présentent une activité, antibactérienne, antiproliférative ainsi qu'une activité antioxydante très peu intéressante. Toutefois, tous les diterpènes testés présentent une activité antiproliférative la plus importante activité étant présentée par crotonzambefuran B. Il en ressort également de ces tests que l'acide 7 β -acetoxy-trachyloban-18-oïque présente la meilleure activité antimicrobienne, antiradicalaire et de chélation des métaux.

Les résultats obtenus au cours de ce présent travail sont encourageants et méritent un approfondissement, car ils nous montrent que *Croton oligandrum* est un grand réservoir de métabolites secondaires potentiellement actifs contre certaines affections comme les cancers et les infections bactériennes. Nous envisageons étendre les tests antiprolifératifs, antiradicalaires, antimicrobiens et de chélation de métaux aux autres composés isolés ainsi qu'aux extraits bruts en particulier les extraits à l'acétate d'éthyle et au méthanol.

CHAPITRE III :
MATERIELS ET METHODES

III.1- APPAREILLAGE, MATERIEL VEGETAL ET TECHNIQUES DE SEPARATION.

III.1.1- Appareillage

Les balances utilisées sont de marque COBOS précision, modèle D-600-SX et SARTORIUS précision 1/10000.

Les points de fusion ont été déterminés sur un appareil de marque Büchi 535.

Les spectres de RMN 1D et 2D ont été enregistrés avec les spectromètres Bruker Avance 300 (figure106) et Bruker Avance 600 (figure 107) opérant aux fréquences de 300 MHz et 600 MHz pour le proton, et 75 MHz et 150 MHz pour le carbone 13. Les solvants deutérés utilisés étaient le CDCl_3 , le CD_3OD , le CD_3COCD_3 et le $\text{DMSO-}d_6$. La température de travail a été de 26 °C pour toutes les mesures effectuées et les pics résiduels des solvants ont été utilisés comme références internes.



Figure 106: Spectromètre de RMN 300 MHz de marque Bruker (source : photo Abega)

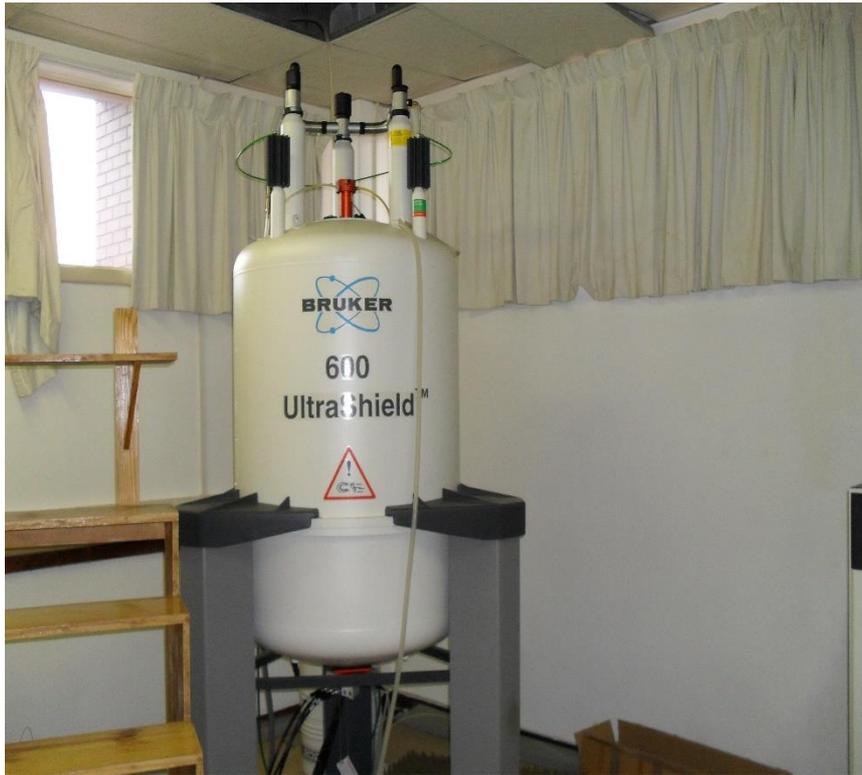


Figure 107: Spectromètre de RMN 600 MHz de marque Bruker (source : photo Abega)

Les spectres de masse en impact électronique ont été enregistrés sur des spectromètres de marque API QSTAR pulsar (figure 107, JEOL MSRoute alors que les spectres de masse en « electrospray ionisation » sont enregistrés sur un spectromètre de masse Bruker FTMS 4.7T.

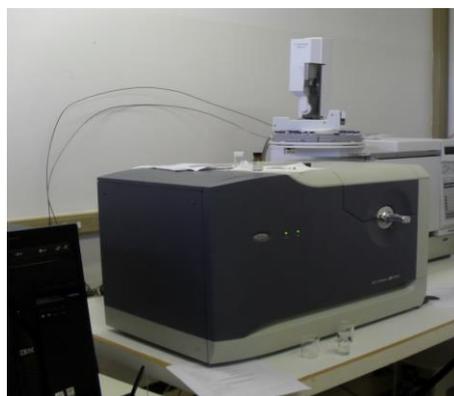


Figure 108 : Spectromètre de masse (source : photo Abega)

Les spectres UV ont été obtenus sur des spectrophotomètres Shimadzu UV-2401 PC et Thermo-Evolution 300.



Figure 108 : spectrophotomètres Shimadzu UV-2401 PC(source : photo Abega)

Les spectres IR ont été enregistrés sur des spectromètres Shimadzu FTIR-8700 et Shimadzu 8900 contenant les disques de KBr.



Figure 109: Spectromètre IR Shimadzu 8900(source : photo Abega).

Les rotations optiques ont été mesurées sur un polarimètre Polartronic D eloptron Schmid + Haensch, sur un polarimètre automatique Autopol IV et sur un polarimètre JASCO P-2000 utilisant un prisme Glan-Taylor comme polariseur.

Les plaques d'aluminium recouvertes de gel de silice 60 F₂₅₄ d'épaisseur 0,2 mm et de fabrication Merck ont été utilisées pour les CCM. Les spots ont été visualisés par les deux

lumières UV (254 et 366 nm) et pulvérisés par le mélange acide sulfurique/eau 1/9, suivi de la calcination.

Les plaques utilisées pour la CCM préparative sont obtenues en déposant une couche de gel de silice 60 HF₂₅₄₊₃₆₆ d'épaisseurs 0,5-1mm sur des lames de verre. L'alumine basique utilisée en CCM est de fabrication Merck (70-230 mesh ASTM) de granulométrie comprise entre 0,063 et 0,200 mm.

La silice utilisée pour les chromatographies sur colonne est de fabrication Merck avec comme granulométrie 0,025-0,040 mm ; 0,040-0,063 mm et 0,063-0,2 mm. Le Séphadex LH-20 a aussi été utilisé.

Le tableau XXXII ci-dessous présente quelques propriétés des colonnes utilisées.

Tableau XXXII : Quelques propriétés des colonnes utilisées.

Colonne	Diamètre(en cm)	Hauteur (en cm)	Porosité
Colonne 1	8	80	Non définie
Colonne 2	6,5	90	2
Colonne 3	4,4	90	2
Colonne 4	2,8	100	3
Colonne 5	2,6	46	2

III.1.2- Matériel végétal

Les écorces du tronc de *Croton oligandrum* ont été récoltées deux fois. La première récolte a eu lieu en Mars 2013 et la deuxième en Janvier 2014. Le bois et les écorces des racines et de *Croton oligandrum* ont été récoltés respectivement en Janvier et en Avril 2014 tandis que les feuilles ont été récoltées en Janvier de la même année. Toutes ces récoltes ont eu lieu dans le village Nkol-Nkoumou situé dans la région du Centre (Cameroun).

III.2-EXTRACTION, ISOLEMENT DES PRODUITS

III.2.1- Extraction

Les écorces de la première récolte ont été découpées, séchées et broyées. Nous avons ainsi obtenu 3kg de poudre qui ont été extraites au mélange chlorure de méthylène/méthanol (1 :1) à température ambiante pendant 48 heures puis au méthanol pendant 48 heures. Après évaporation sous pression réduite, nous avons obtenu respectivement 110g et 90g d'extrait

qui ont été combinées sur la base des CCM puis chromatographiées sur colonne de gel de silice.

Les écorces de la deuxième récolte ont été découpées séchées et broyées. Les 2,5kg de poudre obtenue ont été extraits au mélange chlorure de méthylène/méthanol (1 :1) à température ambiante pendant 48 heures. L'évaporation sous pression réduite nous a permis d'obtenir 100g d'extrait qui ont subi la solubilisation différentielle à l'hexane et l'acétate d'éthyle. 22,8g et 50g d'extraits ont été respectivement obtenus. L'extrait à l'acétate d'éthyle a été chromatographié sur colonne de gel de silice.

Les écorces des racines ont été découpées, séchées et broyées. Nous avons ainsi obtenu 2,5kg de poudre qui ont été extraites au mélange chlorure de méthylène/méthanol (1 :1) à température ambiante pendant 48 heures. Après évaporation sous pression réduite, nous avons obtenu 180g d'extrait dont 160g ont été chromatographiés sur colonne de gel de silice.

Les feuilles de *Croton oligandrum* ont été, séchées et broyées. Nous avons obtenu 2,5kg de poudre qui ont été extraits au méthanol à température ambiante pendant 48 heures. L'évaporation sous pression réduite, nous a permis d'obtenir 100g d'extrait qui ont été chromatographiés.

Le bois de *Croton oligandrum* a été découpé, séché et broyé. Nous avons ainsi obtenu 2kg de poudre qui ont été extraits au méthanol à température ambiante pendant 72 heures. Après évaporation sous pression réduite, nous avons obtenu 10g d'extrait qui ont été chromatographiés.

III.2.2-Isolement des produits

III.2.2.1-Isolement des produits de l'extrait au méthanol et au mélange chlorure de méthylène/méthanol (1 :1) des écorces du tronc de *Croton oligandrum*.

110 g d'extrait fixé sur 120g de silice ont subi une chromatographie sur colonne de gel de silice (750g) élué à l'hexane et au mélange hexane/acétate d'éthyle et acétate d'éthyle/méthanol de polarité croissance. 122 fractions de 300 ml chacune sont recueillies, concentrées et regroupées sur la base de CCM analytiques pour donner huit principales séries indexées de COF1 à COF8 comme l'indique le tableau 33. CO1 (5g) et CO2 (100mg) ont directement été filtrés des fractions éluées avec les systèmes hexane/acétate d'éthyle (9 :1) et (8,5 :1,5) respectivement.

**Tableau XXXIII: Chromatogramme de l'extrait au chlorure de méthylène / méthanol
(1 :1) des écorces du tronc de *Croton oligandrum***

Eluant	Fractions	Série	Remarques
Hex / AE 9,5/0,5	1-14	F1	Huile jaune
Hex / AE 9/1	15-21	F2	16 à 20 laissent apparaître une poudre blanche. 24 et 25 laissent apparaître une poudre blanche.
Hex / AE 8,5/1,5	22-27		
Hex / AE 8/2	28-34		
Hex / AE 7,5/2,5	35-42	F3	Mélange d'environ 8 composés
Hex / AE 7/3	43-50	F4	Mélange d'environ 5 composés
Hex / AE 6,5/3,5	51-62	F5	Mélange complexe
Hex / AE 6/4	63-72	F6	Mélange complexe
Hex / AE 5,5/4,5	73-81	F7	Mélange complexe
Hex / AE 1/1	82-88		
Hex / AE 4/6	89-93	F8	Mélange complexe.
Hex / AE 2,5/7,5	94-102		
AE	103-112		
AE/MeOH 9,5/0,5	112-122		

La série **F2** (25g) a été fixée sur 30g de silice et éluee sur une colonne de gel de silice avec le système hexane/acétate d'éthyle. Cinquante fractions de 100mL chacune ont été recueillies (**Tableau XXXIV**)

Tableau XXXIV : Chromatogramme de la série F2.

Eluant	Fractions	Série	Remarques
Hex/AE 9,9/0,1	1-5	A1	Mélange d'environ 7 composés
Hex/AE 9,6/0,4	6-11		
Hex/AE 9,3/0,7	12-17	A2	Mélange d'environ 3 composés
Hex/AE 9/1	17-22	A3	22 laisse apparaitre une poudre blanche
Hex/AE 8,7/1,3	23-28		23 et 24 laissent apparaitre une poudre blanche
Hex/AE 8,4/1,6	29-34	A4	31 et 32 laissent apparaitre une poudre blanche
Hex/AE 8/2	35-40		36 ; 37 et 38 laissent apparaitre une poudre blanche
Hex/AE 7,8/2,2	41-46	A5	Mélange complexe
Hex/AE 7,5/2,5	46-48		
Hex/AE 7/3	49-50	A9	Trainées

Les fractions 22 ; 23 ; 24 ; 31 ; 32 ; 36 ; 37 et 38 laissent apparaitre des poudres blanches qui ont été filtrées et regroupées sur la base d'une CCM en COF2116 (18mg), CO3(50mg) et CO4(30mg).

La série **A2** (100mg) a été éluée sur colonne de séphadex LH-20 avec le système CHCl₃/MeOH (7 :3). Vingt fractions de 10mL chacune ont été recueillies et regroupées sur la base des CCM. Les fractions 8 à 12 ont laissé apparaitre après évaporation du solvant une poudre amorphe blanche qui a été indexée CO5.

La série **F3** (10g) a été fixée sur 12g de silice et élué sur une colonne de gel de silice avec le système chloroforme/méthanol. Vingt fraction de 50mL chacune ont été collectées et regroupées sur la base des CCM (**Tableau XXXV**).

Tableau XXXV : Chromatogramme de la fraction COF3.

Eluant	Fractions	Séries	Remarques
Chloroforme	1-5	B1	Mélange complexe
Chloroforme/MeOH 9,5 / 0.5	6-11	B2	Mélange d'environ 4 composés
Chloroforme//MeOH 9/ 1	12-17		
Chloroforme//MeOH 8,5/1,5	17-20	B3	Trainées

La série **B2** (500mg) a été élué sur colonne de séphadex LH-20 avec le système chloroforme/méthanol (7 :3). Quarante fractions de 10mL chacune ont été collectées. Les fractions 11 à 16, 18 à 23 ont laissé apparaître après évaporation du solvant des poudres qui ont été regroupées sur la base de CCM et indexées CO6 (50mg) et CO11 (30mg).

III.2.2.2-Isolement des produits de l'extrait à l'acétate d'éthyle des écorces du tronc de *Croton oligandrum*.

50g d'extrait fixé sur 60g de silice ont subi une chromatographie sur colonne de gel de silice (350g) élué à l'hexane et au mélange hexane/acétate d'éthyle de polarité croissante 120 fractions de 300 ml chacune sont recueillies, concentrées et regroupées sur la base de CCM analytiques pour donner six principales séries indexées de **C1** à **C6** comme l'indique le **tableau 36**. CO1 (20 mg) , CO2 (1g) ,CO3 (20mg) et CO14 (5mg) ont directement été filtrés des fractions éluées avec les systèmes hexane/acétate d'éthyle (9 :1) ; (8,5 :1,5) ; (8 :2) et (7,5 :2,5) respectivement.

Tableau XXXVI : Chromatogramme de l'extrait à l'acétate d'éthyle des écorces du tronc de *Croton oligandrum*.

Eluant	Fractions	Série	Remarques
Hex / AE 9,5/0,5	1-6	C1	Huile jaune
Hex / AE 9/1	7-17	C2	10 à 11 laissent apparaître une poudre blanche. 15 à 18 laissent apparaître une poudre blanche. 24 et 25 laissent apparaître une poudre blanche
Hex / AE 8,5/1,5	18-28		
Hex / AE 8/2	29-30		
Hex / AE 7,5/2,5	31-41	C3	32 laisse apparaître une poudre blanche
Hex / AE 7/3	42-52		Mélange complexe
Hex / AE 6,5/3,5	53-63		Mélange complexe
Hex / AE 6/4	64-74	C4	Mélange complexe
Hex / AE 5,5/4,5	75-82	C5	Mélange complexe
Hex / AE 1/1	83-90		
Hex / AE 4/6	90-100	C6	Mélange complexe.
Hex / AE 2,5/7,5	101-110		
AE	110-115		
AE/MeOH 9,5/0,5	116-120		

La série **C3** (15g) a été fixée sur 20g de silice, a subi une chromatographie sur colonne de gel de silice avec le système hexane/ acétate d'éthyle comme éluant. Soixante fractions de 100mL chacune ont été recueillies et regroupées en 6 séries sur la base de CCM

(Tableau XXXVII). Les composés CO12 et CO13 ont directement été filtrés des fractions éluées au système hexane/acétate d'éthyle (8 :2) et (7,1 :2,9) respectivement.

Tableau XXXVII : Chromatogramme de la série C3

Eluant	Fractions	Série	Remarques
Hex/AE 9/1	1-3	A1	Mélange de plusieurs composés.
Hex/AE 8,7/1,3	3-10		
Hex/AE 8,4/1,6	11-18	A2	Mélange d'environ 9 composés.
Hex/AE 8/2	19-23	A3	20 ; 21 et 22 laissent apparaitre une poudre blanche.
Hex/AE 7,7/2,3	24-30		
Hex/AE 7,4/2,6	31-37	A4	37 laissent apparaitre une poudre blanche
Hex/AE 7,1/2,9	38-42		
Hex/AE 7/3	43-48	A5	Mélange complexe
Hex/AE 6,7/3,3	49-54		
Hex/AE 6/4	55-60	A9	Trainées

La série **A3** (2g) a été divisée en 2 parties égales. L'une des parties a été élué sur une colonne de séphadex LH-20 avec le système chloroforme méthanol (7 :3). Quatre-vingt-dix fractions de 10mL chacune ont été recueillies et regroupées sur la base de CCM. Les fractions 34 à 42 laissent apparaitre après évaporation du solvant à température ambiante, une poudre amorphe blanche indexée CO5.

III.2.2.3-Isolement des produits de l'extrait au chlorure de méthylène / méthanol (1 :1) des écorces des racines de *Croton oligandrum*.

160g d'extrait fixé sur 160g de silice a subi une chromatographie sur colonne avec les systèmes hexane/acétate d'éthyle et acétate d'éthyle/ méthanol, de polarité croissante comme éluant. 140 fractions ont été recueillies et regroupées sur la base de CCM en 11 séries

indexées de **R1** à **R11** (**Tableau XXXVIII**). Les composés COR1, COR2, COR3, COR4, COR5 et COR9 ont directement été filtrés des fractions éluées avec les systèmes hexane acétate/d'éthyle (9,5 :0,5) ; (9 :1) ;(8,5 :1,5) et (6 :4).

Tableau XXXVIII : chromatogramme de l'extrait au chlorure de méthylène / méthanol (1 :1) des écorces des racines de *Croton oligandrum*.

Eluant	Fractions	Séries	Remarques
Hexane	1-3	R1	Les fractions 3 à 5 laissent apparaître une poudre blanche.
Hex/AE 9,5/0,5	4-14		
Hex/AE 9/1	15-30	R2	Les fractions 16 à 17 laissent apparaître une poudre blanche. Les fractions 19 et 20 laissent apparaître une poudre blanche. Les fractions 23 à 28 laissent apparaître une poudre blanche.
Hex/AE 8,5/1,5	31-36	R3	Les fractions 32 à 34 laissent apparaître une poudre blanche.
Hex/AE 8/2	37-47	R4	Mélange complexe.
Hex/AE 7,5/2,5	48-63	R5	Mélange d'environ 8 composés.
Hex/AE 7/3	64-80	R6	Mélange d'environ 7 composés.
Hex/AE 6,5/3,5	81-91	R7	Mélange complexe.
Hex/AE 6/4	92-102	R8	Les fractions 98 à 100 laissent apparaître une poudre blanche.
Hex/AE 1/1	103-113		
Hex/AE 2/8	114-124	R9	Mélange complexe
AE	125-135	R10	Mélange complexe
AE/MeOH 9,5/0,5	136-140	R11	Trainée

La série **R5** (25g) a été fixée sur 30g de silice et éluée sur une colonne de gel de silice avec le système hexane/acétate d'éthyle comme éluant 60 fractions de 50mL chacune ont été recueillies et regroupées sur la base des CCM en 9 séries (**tableau XXXIX**). Les composés

COR6, COR7 et COR10 ont directement été obtenus des fractions éluées avec les systèmes hexane/acétate d'éthyle (7,2 :2,8) et (7,1 :2,9) respectivement.

Tableau XXXIX : Chromatogramme de la série COR5.

Eluant	Fractions	Série	Remarques
Hex/AE 9/1	1-3	E1	Mélange de plusieurs composés.
Hex/AE 8,7/1,3	3-10		
Hex/AE 8,4/1,6	11-18	E2	Mélange de plusieurs composés.
Hex/AE 8/2	19-23	E3	Mélange de plusieurs composés
Hex/AE 7,7/2,3	24-30		
Hex/AE 7,2/2,8	31-37	E4	31 à 35 laissent apparaître une poudre blanche. 37 laisse apparaître une poudre blanche. 39 à 43 laissent apparaître une poudre blanche.
Hex/AE 7,1/2,9	38-45		
Hex/AE 7/3	46-50	E5	Mélange complexe
Hex/AE 6,7/3,3	51-54		
Hex/AE 6/4	54-60	E9	Trainées

La série E4 (3g) a été divisée en trois parties égales. L'une d'elle a été éluée sur colonne de séphadex LH-20 avec le système chloroforme méthanol (7 :3) comme éluant. Quatre-vingt-deux fractions de 10mL chacune ont été recueillies, puis regroupées sur la base de CCM. Les fractions 31 à 40 laissent apparaître après évaporation du solvant une poudre blanche indexée COR11.

La série **R6** (3g) a été fixée sur 3g de silice et éluée sur colonne de gel de silice avec le système chloroforme/méthanol comme éluant. Quarante-quatre fractions de 25mL chacune

ont été recueillies et regroupées sur la base CCM en 4 séries indexées de **G1** à **G4** (**Tableau XXXX**). Les composés CORF1a, COR8 et COR12 ont directement été obtenus des fractions éluées au chloroforme, au mélange chloroforme/méthanol (9,95 :0,05) respectivement. La série **G4** (120mg) a été éluée sur colonne de Séphadex LH-20. Vingt-huit fractions de 10mL chacune environ ont été collectées et regroupées sur la base de CCM. Les fractions 22 à 26 laissent apparaître après évaporation du solvant une huile jaune indexée CORF1b.

Tableau XXXX : Chromatogramme de la fraction CR6.

Eluant	Fractions	Séries	Remarques
Chloroforme	1-5	G1	Huile jaune
Chloroforme/MeOH 99.5 / 0.5	6-20	G2	Fractions 7 -10 poudre blanche. Fractions 13-14 poudre blanche
Chloroforme//MeOH 9,9/ 0,1	21-33	G3	Mélange d'environ 3 composés
Chloroforme//MeOH 9,85/0,15	34-44	G4	Trainées

III.2.2.4-Isolement des produits de l'extrait au méthanol des feuilles de *Croton oligandrum*.

100 g d'extrait ont été fixés sur 150g de silice et chromatographiés sur colonne de gel de silice flash avec comme éluant le système hexane/acétate d'éthyle de polarité croissante 55 fractions ont été recueillies et regroupées en sept séries indexées de **F1** à **F7** (**Tableau XXXXI**). Quatre composés indexés de COFe1 à COFe4 ont été directement filtrés des fractions éluées avec les systèmes hexane/acétate d'éthyle (9 :1), (8 :2) et à l'acétate d'éthyle.

Tableau XXXXI: chromatogramme de l'extrait au méthanol des feuilles de *Croton oligandrum*.

Eluant	Fractions	Séries	Remarques
Hex/AE 9/1	1-10	F1	Les fractions 3 et 4 laissent apparaître une poudre blanche.
Hex/AE 8/2	11-21	F2	La fraction 13 laisse apparaître une poudre blanche La fraction 16 laisse apparaître une poudre blanche
Hex/AE 7/3	22-30	F3	Mélange complexe
Hex/AE 6/4	31-40	F4	Mélange complexe.
Hex/AE 4/6	41-45	F5	Mélange d'environ complexe
Hex/AE 2/8	46-50	F6	Mélange d'environ complexe.
AE	51-55	F7	Mélange complexe.

III.2.2.4-Isolement des produits de l'extrait au méthanol du bois de *Croton oligandrum*.

10 g d'extrait fixés sur 15g de silice ont subi une chromatographie sur colonne en utilisant comme éluant le système acétate d'éthyle/méthanol de polarité croissante. Trente fractions de 100mL chacune ont été recueillies et regroupées en trois séries indexées de **H1** à **H3** sur la base de CCM (**Tableau XXXXII**). Un composé indexé Cb1 a directement été obtenu pendant cette opération.

Tableau XXXXII: chromatogramme de l'extrait au méthanol du bois de *Croton oligandrum*.

Eluant	Fractions	Série	Remarques
AE	1-3	H1	La fraction 2 laisse apparaitre une poudre blanche
AE/MeOH 9,5/0,5	3-10		
AE/MeOH 9/1	11-21	H2	Mélange d'environ 8 composés.
AE/MeOH 8,5/1,5	22-30	H3	Trainées

La série **H2** (4g) a été divisée en 4 parties égales. Chacune des parties a été éluée sur colonne de Séphadex LH-20. Quarante fractions de 10mL chacune ont à chaque fois été recueillies et regroupées sur la base de CCM. Les fractions 32 à 48 issues de chaque colonne ont été regroupées pour donner 300mg de produit qui a été élué sur une colonne de Séphadex LH-20 avec le système chloroforme/méthanol (7 :3). Cinquante fractions de 10mL chacune ont été recueillies puis regroupées sur la base de CCM en trois séries de 120 mg chacune ; chaque série a subi une CCMP qui a conduit à l'isolement de trois composés indexés de CObSP1 à CObSP3.

III-3-REACTIONS D'ACÉTYLATION

III-3-1-Acétylation de Kayadiol (CO11)

30 mg de CO11 ont été agités dans un mélange de 2mL de pyridine et 2mL d'anhydride acétique à température ambiante pendant 24h dans un ballon de 50mL. Le milieu réactionnel a ensuite été évaporé sous pression pour laisser apparaître une huile jaune indexée CO11r (31,6mg) ; soit un rendement de 83,5%.

III-3-1-Acétylation de 15 β , 18-dihydroxy Ent-trachylobane (COR8)

16,6 mg de COR8 ont été agités dans un mélange de 2mL de pyridine et 2mL d'anhydride acétique à température ambiante pendant 24h dans un ballon de 50mL. Le milieu

réactionnel a ensuite été évaporé sous pression pour laisser apparaître des paillettes blanches indexée COR8r (5,9mg) ; soit un rendement de 76,0%.

III-4-TESTS BIOLOGIQUES

III-4-1-Produits chimiques

Bouillon de Mueller Hinton, Mueller Hinton Agar et de chlorure de sodium ont été achetés chez Merck (Steinheim, Allemagne). EDTA, DMSO, DPPH, ferrozine, chlorure de fer II, BHT, FBT, pénicillin-streptomycin, Eagles Medium-High Glucose de Dulbecco Modifié ont été achetés chez sigma-Aldrich. GmbH. La tetracycline a été achetée chez Oxoid (Basingstoke, Royaume Uni). Les souches bactériennes ATCC lypophisée ont été achetées chez Meccanti (Italie).

III-4-2-Test antioxydant.

Activité de piégeage des radicaux libres des échantillons a été mesurée en utilisant le 2,2-diphényl- 1-picrylhydrazyl (DPPH) selon la méthode de Blois (1958). Les échantillons ont été ajoutés à une solution de méthanol 0,004% du DPPH. Le mélange a été laissé au repos à température ambiante pendant 30 min dans l'obscurité. L'absorbance des échantillons a été déterminée en utilisant un spectrophotomètre (Hitachi, U-1800, Tokyo, Japon) à 517 nm. L'inhibition de radicaux libres, DPPH, en pour cent (% I) a été calculée selon la formule :

$I\% = (A_{\text{control}} - A_{\text{sample}}) / 100 \times A_{\text{control}}$ où A_{control} est l'absorbance de la réaction témoin (contenant tous les réactifs à l'exception du composé d'essai), et A_{sample} est l'absorbance du composé d'essai. BHT a été utilisé comme témoin positif.

III-4-3-Test antiprolifératif

III-4-3-1-Culture cellulaire

Les tests antiprolifératifs ont été effectués contre les cellules HeLa en utilisant xCELLigence Temps réel Analyseur portable (RTCA) dans un incubateur (5% de CO₂ et de l'humidité, 37 ° C). Milieu Eagle modifié de Dulbecco (DMEM) avec 10% de sérum bovin foetal et 2% de pénicilline-streptomycine a été utilisé comme milieu de culture cellulaire au cours de l'évaluation. Tout d'abord, 50 µl de milieu ont été ajoutés à chaque puits d'E-plaque 96 et la plaque a été laissée dans la hotte pendant 15 min, ensuite dans l'incubateur pendant 15 minutes. Ensuite, le plaque-E a été insérée dans la station de RTCA de l'incubateur et une mesure de fond a été effectuée. Après l'éjection de la plaque de E à partir de la station, 100 µl des suspensions de cellules HeLa ont été ajoutés aux puits pour obtenir une concentration de

2.5×10^4 cellules / puits dans chaque puits à l'exception de trois des puits. Ces trois puits ont été laissés sans cellules pour vérifier s'il y aurait une augmentation de la CI en provenance du milieu. 100 μ l de milieu ont été ajoutés à ces puits au lieu de la suspension de cellules. Après avoir laissé la plaque-E dans la hotte pendant 30 min, la plaque-E a été insérée dans la station RTCA et la seconde étape de mesure a été initiée pendant 80 min. Au cours de cette période, les cellules adaptées à la partie inférieure des puits sont entrées dans une phase de croissance et de division. Après cette étape, la Plate-E a été éjectée de la station et des solutions des composés qui ont été préparés avec du DMSO (concentration finale de DMSO était de moins de 1% dans chacun des puits) et milieu ont été ajoutés aux puits pour obtenir des concentrations finales dans chaque puits, respectivement pour la dose élevée et les mesures de faible dose. À la fin, le volume final des puits était de 200 μ l, y compris le milieu. Après cette étape supplémentaire, la Plaque-E a été insérée dans la station et la période de mesure principale de 48 heures a été initiée. Toutes les mesures ont été effectuées dans des intervalles de 10 min et triplé.

III-4-3-2- Activité de chélation de métal sur les ions ferreux (Fe^{2+})

L'activité de chélation de métal est déterminée selon la méthode de (Decker et Welch, 1990), avec quelques modifications (OKE & Aslim, 2010). Brièvement, 0,5 ml des composés (2 mg / mL) ont été mélangés avec 0,05 mL de FeCl_2 (2 mM) et 5 mL ferrozine (0,1 mM). Le volume total a été dilué avec du solvant. Ensuite, le mélange a été laissé au repos à température ambiante pendant dix minutes. Après que le mélange ait atteint l'équilibre, l'absorbance de la solution a ensuite été mesurée par spectrophotométrie à 562 nm. L'EDTA a été utilisé pour référence.

III-4-3-Test antimicrobien

III-4-3-1- Souches microbiennes et préparation de l'inoculum

Pour la préparation de l'inoculum, deux souches de *Staphylococcus aureus* ; *Staphylococcus aureus* ATCC 29213 et *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 et deux souches *Escherichia coli* ; *E. coli* ATCC 35218 et *E. coli* ATCC 25322 ont été utilisées. Premièrement, les cultures bactériennes ont été faites sur gélose Mueller Hinton à 37 ° C pendant 24 h. Ensuite, les bactéries ont été mises en suspension dans une solution saline stérile 0,875 % (p / v). La suspension a été ajusté à l'échelle de 0,5 McFarland pour obtenir des équivalents de suspension normalisée de 108 ufc / ml.

III-4-3-2- Méthode par diffusion

La détermination des effets inhibiteurs des composés sur les bactéries ont été réalisées en utilisant la méthode de diffusion sur disque. Les inoculum (108 UFC / mL) ont été frottée sur la surface de plaques de gélose Mueller-Hinton à trois reprises, en tournant les plaques d'environ 60 °C avec un coton-tige stérile. Les plaques inoculées ont été laissés au repos pendant au moins 3 minutes avant d'appliquer les disques. Des disques de papier filtre (6 mm de diamètre ; Whatman n °: 1) ont été saturés avec 6 µL de composés à tester (composés ont été dissous dans du DMSO à une concentration finale de 50 mg / mL). Le DMSO a été utilisé comme témoin négatif. Les plaques inoculées ont été incubées pendant 24 h à 37°C. Pour déterminer la croissance microbienne, le diamètre de la zone d'inhibition a été mesuré en utilisant des compas numériques. Un disque d'antibiotique tétracycline (30 µg / disque) a également été utilisé comme témoin positif.

III-5-CARACTERISTIQUES PHYSICO-CHIMIQUES DES COMPOSES ISOLES.

Acide acetylaleuritolique (CO1) 72.

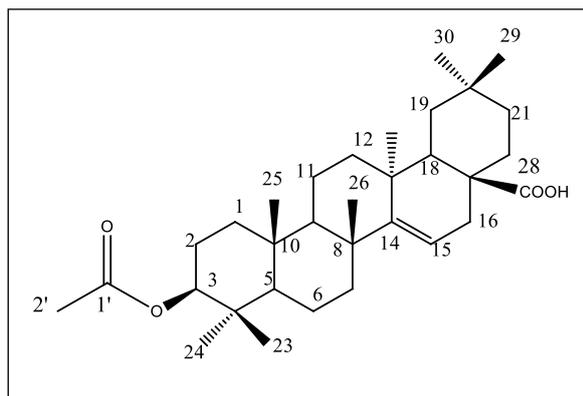
Formule brute: $C_{32}H_{50}O_4$.

Description physique: poudre blanche.

Test de Libermann Burchard: Positif.

Test au $FeCl_3$: Négatif.

Masse molaire : 498,74g/mol.



Spectres de RMN 1H et ^{13}C : Tableau VI, figure 7 et 8

Lupéol (CO2) 73.

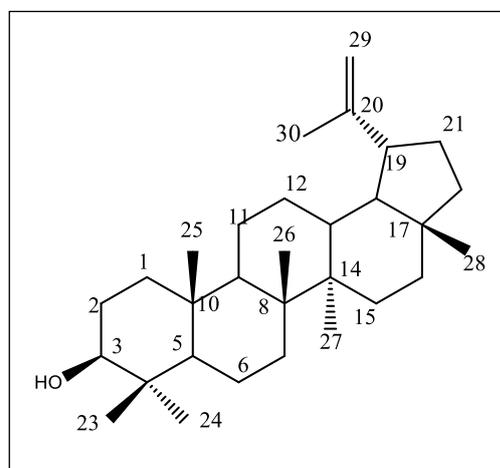
Formule brute: $C_{30}H_{50}O$.

Description physique: poudre blanche.

Test de Libermann Burchard: Positif.

Test au $FeCl_3$: Négatif.

Masse molaire : 426,7g/mol.



Spectres de RMN 1H et ^{13}C : Tableau VII, figure 9 et 10

Taraxerol (COFe1) 74.

Formule brute: C₃₀H₅₀O.

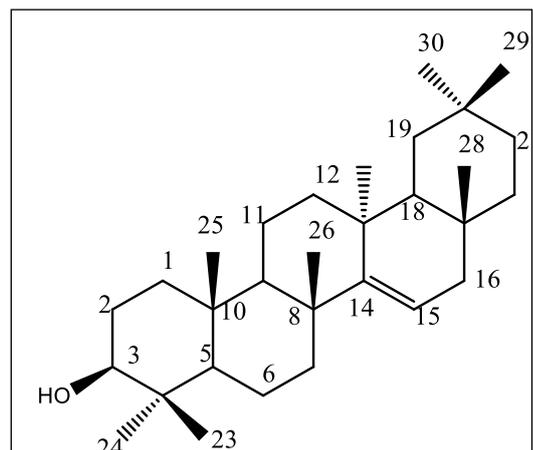
Description physique: poudre blanche.

Test de Libermann Burchard: Positif.

Test au FeCl₃ : Négatif.

Masse molaire : 426,7g/mol.

Spectres de RMN ¹H et ¹³C : Tableau VIII, figure 11 et 12.



3 α -acétoxy-15 α -hydroxyoléanan-28, 13-olide (CO14a)75.

Formule brute: C₃₂H₅₀O₅

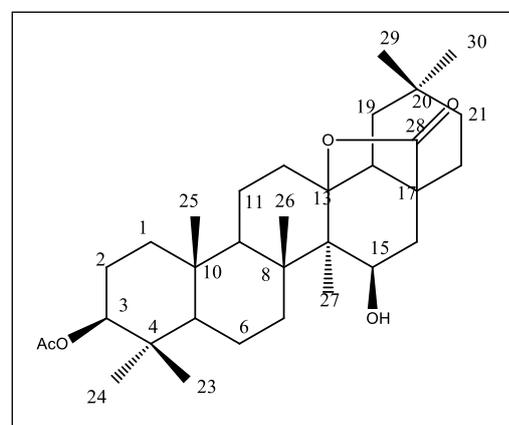
Description physique: poudre blanche.

Test de Libermann Burchard: Positif.

Test au FeCl₃ : Négatif.

Masse molaire ; 514g/mol.

Spectres de RMN ¹H et ¹³C : Tableau IX, figure 13 et 14



β -Sitostérol (COF2116) 76.

Formule brute: C₂₉H₅₀O

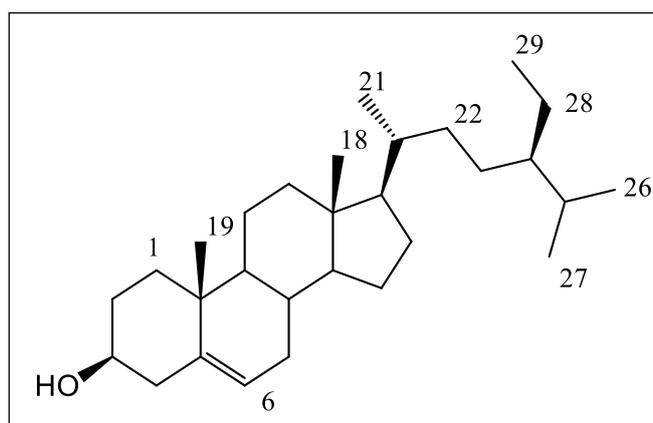
Description physique: poudre blanche.

Test de Libermann Burchard: Positif.

Test au FeCl₃ : Négatif.

Masse molaire ; 414g/mol.

Spectres de RMN ¹H et ¹³C : Tableau X, figure 16 et 17



Stigmastérol (COF2116) 77

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

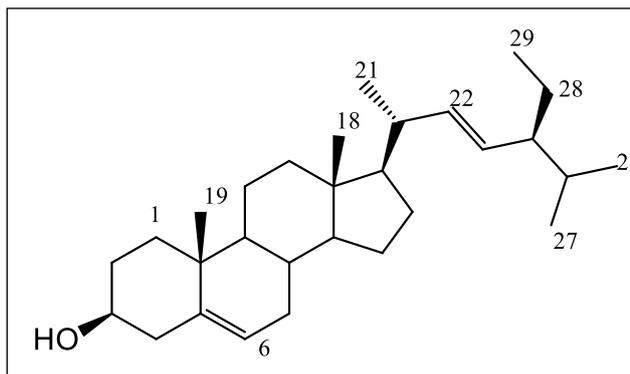
Description physique: poudre blanche.

Test de Libermann Burchard: Positif.

Test au $FeCl_3$: Négatif.

Masse molaire ; 412g/mol.

Spectres de RMN 1H et ^{13}C : Tableau XI, figure 16 et 17.



Palmitate de β -Sitosterol (COR1) 78.

Formule brute: $C_{45}H_{80}O_2$

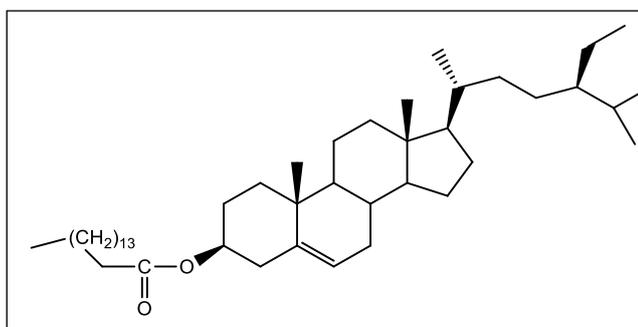
Description physique: poudre blanche.

Test de Libermann Burchard: Positif.

Test au $FeCl_3$: Négatif.

Masse molaire ; 653,1g/mol.

Spectres de RMN 1H et ^{13}C : Tableau XII, figure 18 et 19



Glucoside de β -sitostérol(COFe4) 79.

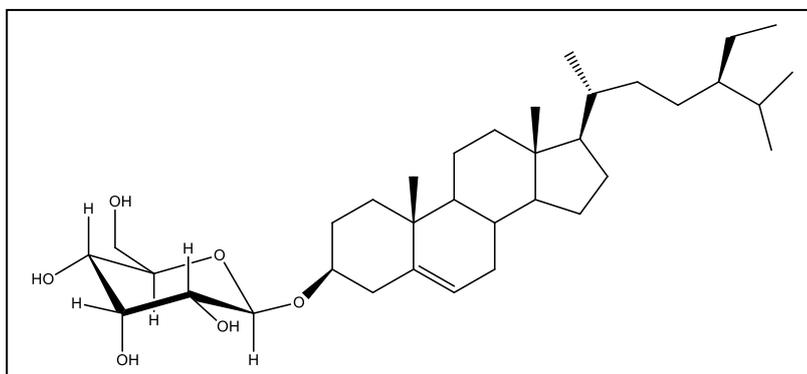
Formule brute: $C_{35}H_{60}O_6$

Description physique: poudre blanche.

Test de Libermann Burchard: Positif.

Test au $FeCl_3$: Négatif.

Masse molaire ; 576g/mol.



Sitoindoside I (COR9) 80.

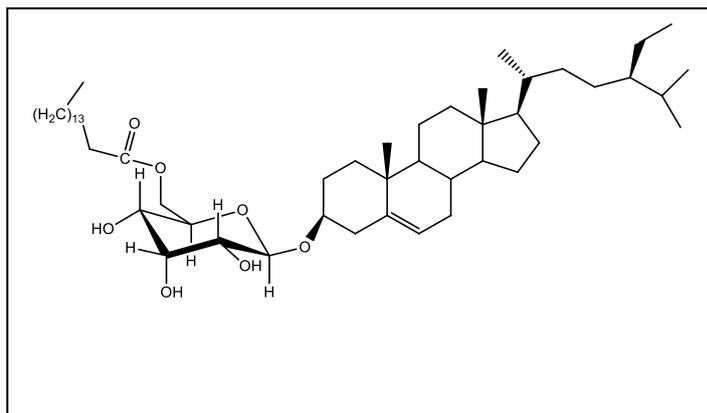
Formule brute: $C_{51}H_{90}O_7$

Description physique: poudre amorphe blanche.

Test de Libermann Burchard: Positif.

Test au $FeCl_3$: Négatif.

Masse molaire ; 814,641g/mol.



Spectres de RMN 1H et ^{13}C : Tableau XIII, figure 20 et 21.

Ent-trachylobane-15 β , 18-diol (COR8) 81.

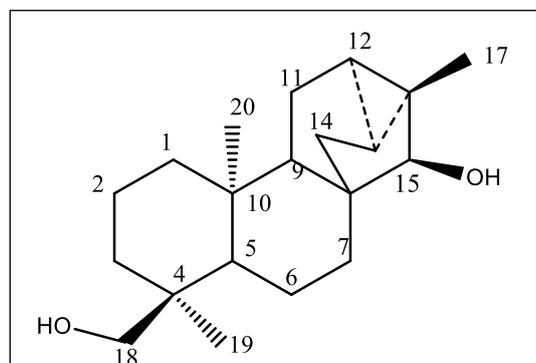
Formule brute: $C_{20}H_{32}O_2$.

Description physique: poudre blanche.

Test de Libermann Burchard: Négatif

Test au $FeCl_3$: Négatif.

Masse molaire ; 304g/mol.



Spectres de RMN 1H et ^{13}C : Tableau XIV, figure 22 et 23.

Trachinodiol (COR8) 82.

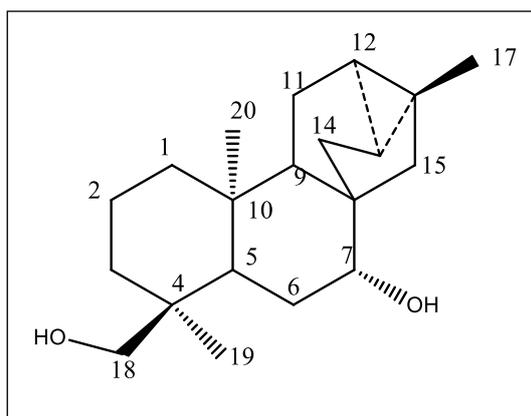
Formule brute: $C_{20}H_{32}O_2$.

Description physique: poudre blanche.

Test de Libermann Burchard: Négatif

Test au $FeCl_3$: Négatif.

Masse molaire ; 304g/mol.



Spectres de RMN 1H et ^{13}C : Tableau XV, figure 24 et 25.

Acide 7β-acetoxy-trachyloban-18-oïque (CO4) 83.

Formule brute: C₂₂H₃₂O₄.

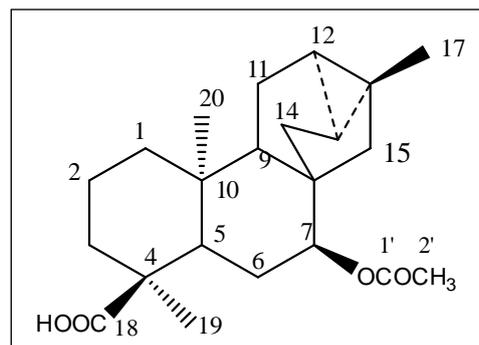
Description physique: poudre blanche.

Test de Libermann Burchard: Négatif

Test au FeCl₃ : Négatif.

Masse molaire ; 360,2g/mol.

Spectres de RMN ¹H et ¹³C : Tableau XVI, figure 31 et 32



Crotonadiol (CO6) 84.

Formule brute: C₂₀H₃₄O₄.

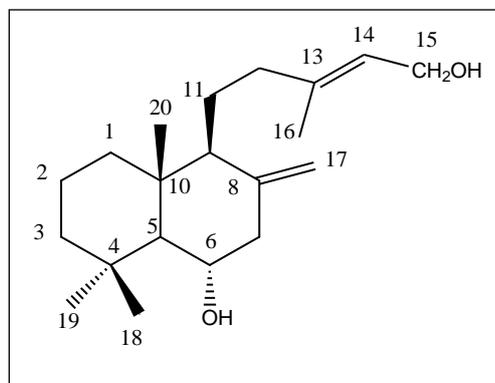
Description physique: Cristaux blancs.

Test de Libermann Burchard: Négatif

Test au FeCl₃ : Négatif.

Masse molaire ; 306,25g/mol.

Spectres de RMN ¹H et ¹³C : Tableau XVII, figure 35 et 36.



Kayadiol (CO11) 85.

Formule brute: C₂₂H₃₂O₄.

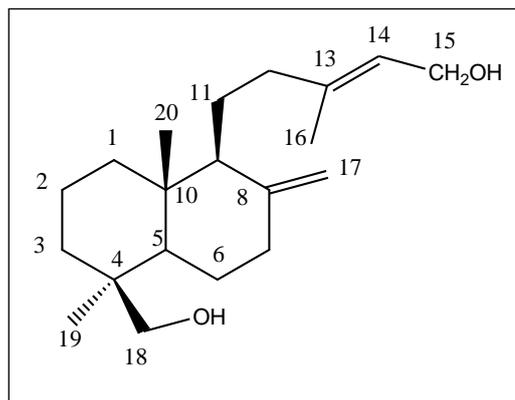
Description physique: Cristaux blancs.

Test de Libermann Burchard: Négatif

Test au FeCl₃ : Négatif.

Masse molaire ; 306,25g/mol.

Spectres de RMN ¹H et ¹³C : Tableau XVIII, figure 38 et 39.



Crotozambefuran B (CO3) 86.

Formule brute: $C_{23}H_{28}O_7$.

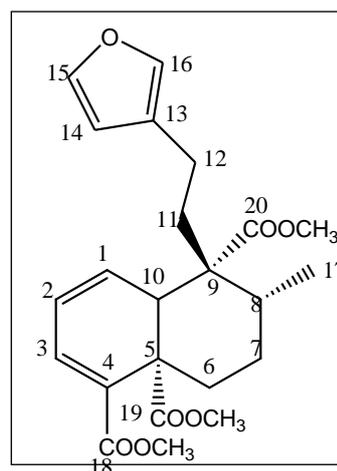
Description physique: Cristaux blancs.

Test de Libermann Burchard: Négatif

Test au $FeCl_3$: Négatif.

Masse molaire ; 416,20g/mol.

Spectres de RMN 1H et ^{13}C : Tableau XIX, figure 40 et 41.



Crotonoligaketone (CO5) 87.

Formule brute: $C_{23}H_{26}O_8$.

Description physique: Poudre blanche.

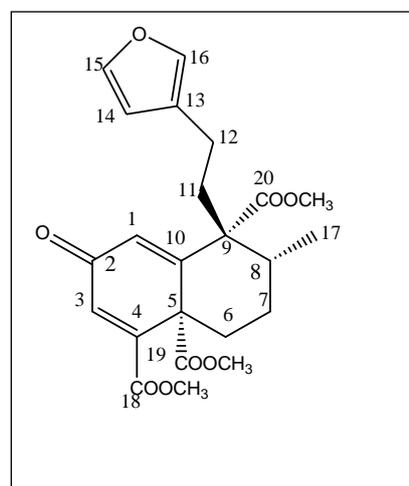
Test de Libermann Burchard: Négatif

Test au $FeCl_3$: Négatif.

Masse molaire ; 430,1660g/mol.

Spectres de RMN 1H et ^{13}C , HMQC, HMBC, COSY

et NOESY : Tableau XX, figure 45 ;46 ;48 ;49 ;50 et54.



Crotozambefuran A (CO12) 88.

Formule brute: $C_{22}H_{24}O_7$.

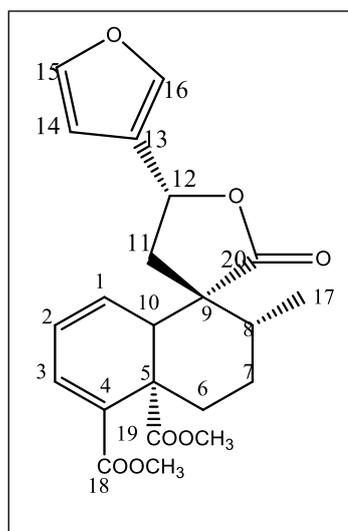
Description physique: Poudre blanche.

Test de Libermann Burchard: Négatif

Test au $FeCl_3$: Négatif.

Masse molaire ; 400g/mol.

Spectres de RMN 1H et ^{13}C : Tableau XXI, figure 55 et 56.



Crotonoligafuranon A (CORF1a) 89.

Formule brute: C₂₂H₂₂O₈.

Description physique: Huile jaune.

Test de Libermann Burchard: Négatif

Test au FeCl₃ : Négatif.

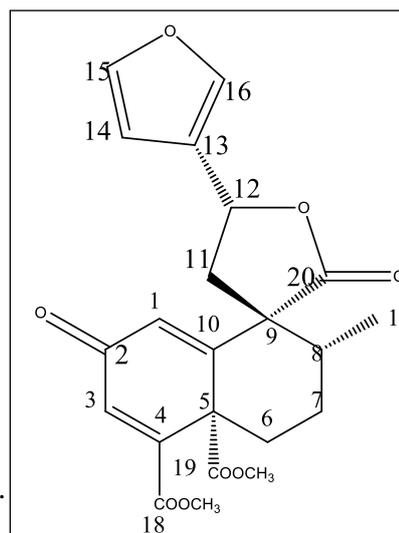
Masse molaire ; 414,15g/mol.

Spectres de RMN ¹H et ¹³C : Tableau XXII, figure 61 et 65.

[α]²⁵_D = -7,8° (c 0.1, MeOH).

UV (MeOH): λ max (logε) = 259,5 ; 305,5 nm.

IR (KBr): ν_{max} = 1765,49 ; 1729,88 ; 1662,46 ; 1242,17 ; 1210,08 ; 1156,24 ; 758,31 cm⁻¹.



Crocorylifurane(COR6) 90.

Formule brute: C₂₂H₂₆O₇.

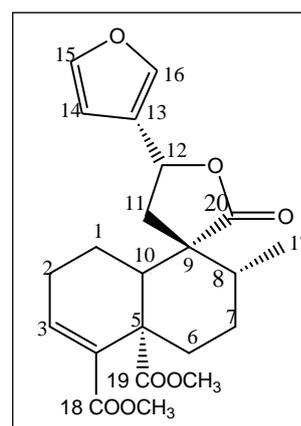
Description physique: Poudre blanche.

Test de Libermann Burchard: Négatif

Test au FeCl₃ : Négatif.

Masse molaire ; 402g/mol.

Spectres de RMN ¹H et ¹³C : Tableau XXIII, figure 69 et 70.



Crotonoligafuranon B(COR7) 91.

Formule brute: C₂₂H₂₄O₈.

Description physique: Poudre blanche.

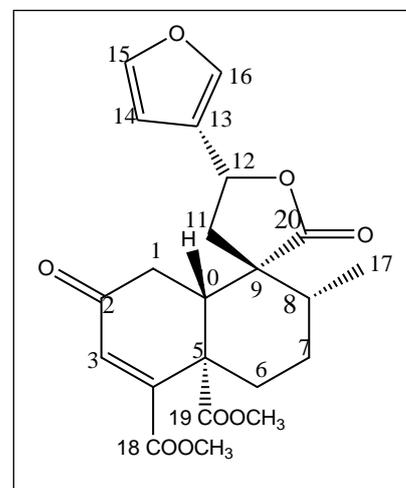
Test de Libermann Burchard: Négatif

Test au FeCl₃ : Négatif.

Masse molaire ; 416,175g/mol.

Spectres de RMN ¹H et ¹³C : Tableau XXIV, figure 73 et 74

[α]²⁵_D = -65,1° (c 0.1, MeOH). –



UV(MeOH): λ_{\max} (log ϵ) =260,0nm;303,5nm.

IR (KBr): ν_{\max} = 1764,78 ; 1720,90 ; 1666,70 ; 1507,20 ; 1248,67 ; 1166,79 ; 1057,71 ; 875,10 cm^{-1} .

Crotozambefuran C(CO13) 92.

Formule brute: $\text{C}_{21}\text{H}_{22}\text{O}_7$.

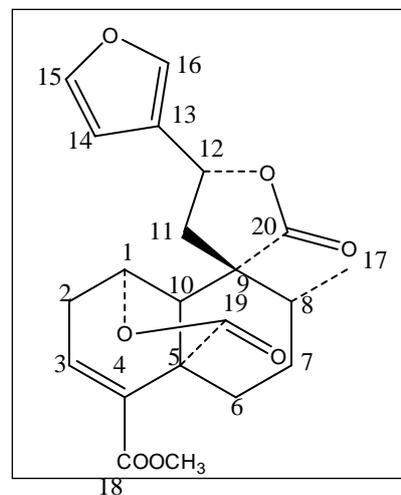
Description physique: Poudre blanche.

Test de Libermann Burchard: Négatif

Test au FeCl_3 : Négatif.

Masse molaire ; 386,4g/mol.

Spectres de RMN ^1H et ^{13}C : Tableau XXV, figure 80 et 81.



Ferulicrononoate(CObsp3) 93.

Formule brute: $\text{C}_{44}\text{H}_{78}\text{O}_4$.

Description physique: Poudre blanche.

Test de Libermann Burchard: Négatif

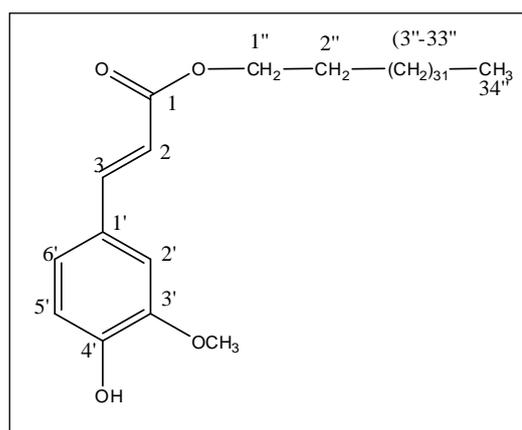
Test au FeCl_3 : Positif.

Masse molaire ; 671,154g/mol.

Spectres de RMN ^1H et ^{13}C : Tableau XXVI, figure 85 et 87.

UV(MeOH): λ_{\max} (log ϵ) =264,0; 291,0;303,5nm

IR (KBr): ν_{\max} =3016,0 ; 1700,3 ; 1513,36 ; 1267,0 ; 1214,60 ; 746,53 ; 668,26 cm^{-1} .

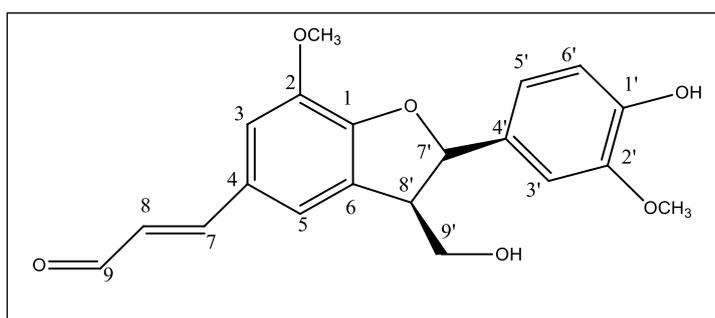


Cis-balanopholin(COR2) 95.

Formule brute: $\text{C}_{20}\text{H}_{20}\text{O}_6$.

Description physique: Poudre blanche.

Test de Libermann Burchard: Négatif



Test au FeCl_3 : Positif.

Masse molaire ; 356,37g/mol.

Spectres de RMN ^1H et ^{13}C : Tableau XXVII, figure 92 et 93.

UV(MeOH): λ_{max} ($\log \epsilon$) =262,0; 290,0;303,5nm.

IR (KBr): ν_{max} = 3381 ; 1662,69 ; 1592,67 ; 1131,23 cm^{-1} .

4-hydroxy-3-méthoxybenzaldéhyde(CORFb1) 97

Formule brute: $\text{C}_8\text{H}_8\text{O}_3$.

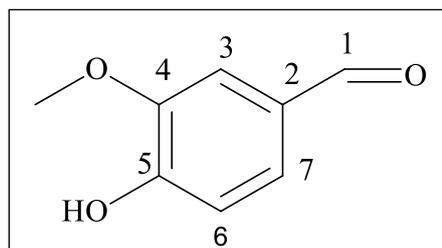
Description physique: Huile jaune.

Test de Libermann Burchard: Négatif

Test au FeCl_3 : Positif.

Masse molaire ; 152g/mol.

Spectres de RMN ^1H et ^{13}C : Tableau XXV, figure 80 et 81



III.6-TESTS CARACTERISTIQUES

III.6.1-Test de Libermann Burchard

Dissoudre quelques milligrammes du composé dans le chlorure de méthylène, ajouter à cette solution quelques gouttes d'anhydride acétique, puis d'acide sulfurique concentré. Les stéroïdes réagissent en donnant une coloration bleue qui vire au vert foncé tandis que les triterpènes pentacycliques donnent une coloration rouge brique qui vire au violet.

III.6.2-Test au chlorure ferrique

A une solution éthanolique du produit à tester, on ajoute quelques gouttes de chlorure ferrique. La présence des phénols se manifeste par un changement de coloration de la solution qui vire du jaune au violet caractéristique du complexe $[\text{Fe}(\text{OAr})_6]^{3-}$.

BIBLIOGRAPHIE

Addea-Mensah I., Achenbach H., Thoithi N.G., Waibel R. and Mwangi W.J., 1992. Epoxychiromodine and other constituents of *Croton megalocarpus*. *Phytochemistry* 31, 2055-2058.

Agnaniet H., Akagah A., Mounzé H., Menut C., and Bessière J.-M., 2005. Aromatic plants of tropical Central Africa. XLI. Volatile constituents of *Croton oligandrum* Pierre ex Hutch. growing in Gabon. *Journal of Essential Oil Resources* 17, 201 – 203.

Aissatou M.D., « Etude des plantes médicinales de Niafunke (region de Tombouctou), Phytochimie et Pharmacologie de *Maerua crassifolia* Forst (*Capparidaceae*) ». Thèse de Doctorat d'Etat, Faculté de médecine, de Pharmacie et d'Onto-stomatologie, Université de Bamako-Mali, pp. 7-54.

Amadou D., 2005. « Etude de la phytochimie et des activités biologiques de *Syzygium guineense* Willd. (Myrtaceae) ». Thèse de Doctorat d'Etat, Faculté de Médecine, de Pharmacie et d'Onto-stomatologie, Université de Bamako-Mali, p.24.

Amaral A., Barnes R., 1998. A tetrahydroprotoberberine alkaloid from *Croton hemiargyreus*. *Phytochemistry* 47, 1445-1447.

Araujo-Junior V., da Silva M., da Cunha E., Agra M., da Silva R., Barbosa J., Braz-Filho R., 2004. Alkaloids and Diterpenes from *Croton moritibensis*. *Pharmaceutical Biology* 42, 62-65.

Aubreville A., 1959. « La flore forestière de Cote d'Ivoire ». Centre Technique Forestier Tropical, France. Tome 2, pp. 86-88.

Baker J. G. and Wright C. H., 1913. "Flora of Tropical Africa", Vol. 6, Part 1. Royal Botanic Gardens, Kew (K), UK, p. 441.

Bayor M., Gbedema S. and Kofi A., 2009. The antimicrobial activity of *Croton membranaceus*, a species used in formulations for measles in Ghana. *Journal of Pharmacognosy and Phytotherapy* 1 (4), 047-051.

Berhaut G., 1975. « Flore illustrée du Sénégal, Dicotylédones », Tome III, Dakar, pp 415-423

Berthe P., Gaillard J.L., Simonet M., 1988. « Bactériologie. Les bactéries des infections humaines ». Edition Flammarion, Médecine-Science, Paris, p.660.

Betti L. J., Yongo D. O., Mbomio O. D., Iponga M. D., and Ngoye A., 2013. Anethnobotanical and floristical study of medicinal plants among the Baka pygmies in the periphery of the Ipasa Biosphere Reserve, Gabon. *European Journal of Medicinal Plants* 3, 174 – 205.

Block S., Baccelli C., Tinant B., Meervelt L., Rosenberg R., Jiwan J-L., Llabrès G., DePauw-Gillet M-C., Quetin-Leclercq J., 2004. Diterpenes from the leaves of *Croton zambesicus*. *Phytochemistry* 65 (8), 1165-1171.

Blois M.S., 1958. Antioxydant determination by the use of a stable free radical. *Nature* 181, 1199-1200.

Bohlmann F., Zdero C., Schmeda-Hirschmann G., Jakupovic J., Castro V., King R.M., Robinson H., 1984. Heliangolides and Trachylobanes and Villanovane derivatives from *Viguiera* species. *Liebigs Annalen der Chemie* 3, 495-502.

Brand-William W., Cuvelier M.E., Betset C., 1995. Use of free radical method to evaluate antioxidant activity. *Lebenswiss. Technol.* 28, 37-297.

Breitmaier E., 2008. « Terpenes, Flavors, Pharmaca, Pheromones », Edition Wiley-VCH, ISBN-13, pp. 978-3527 .

Bruneton J., 1993. « Pharmacognosie, Phytochimie et Plantes Médicinales ». Technique et Documentation Lavoisier. 2e édition, pp. 200-274.

Castello Branco M.V. S., Anazettib M. C., Silvaa M .S., Tavaresa J.F., Melo Diniza M. F. F., Frungillo L., Haunb M. and Melob P. S., 2009. Diterpenes from *Xylopi langsdorffi* ana Inhibit Cell Growth and Induce Differentiation in Human Leukemia Cells. *Zeitschrift für Naturforschung*. 64 c, 650 – 656.

Catalán C.A.N., Heluani C. S., Kotowicz C., Gedris T. E., Herz W., 2003. A linear sesquiterpene, two squalene derivatives and two peptide derivatives from *Croton hieronymi*. *Phytochemistry* 64, 625.

Charles C. D., Manileth L., Daniel L.N., Kenneth J.W., David A.B., 2007. « Floral Gigantism In Rafflesiaceae », Science Express, Usa. P. 3.

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

Clinton C., Stuart, K. L., 1968. Flavinantine and flavinine novel morphinandienone alkaloids from *Croton flavens*. *Chemical Communications* 6, 328-329.

Connolly D.J., Hill A., 1991. "Triterpenoids". *Methods in Plant Biochemistry* 7, 331-356.

Dae-Sup P., Choi S.Z., Ran K.K., Mee L.S., Ro L.K., Suhkneung P., 2004. Immunomodulatory activity of triterpenes and phenolic compounds from *Viscum album* L. *Journal of Applied Pharmacology* 11(1), 1-4.

Decker E.A. and Welch E., 1990. Role of ferritin as a lipid oxidation catalyst in muscle food. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 38(3), 674-677.

Dinda B., Achari B., Arima S., Sato N. and Harigaya Y., 2003. Steroid and nitro phenol ester from *Bignonia unguis-carti* roots. *Indian Journal of Chemistry* 42B, 1514-1518.

Fozing A. (2011). «Etude Chimique des écorces du tronc et des feuilles de *Morus mesozygia* STAPF. (Moraceae), évaluation des activités biologiques et hémisynthèse de quelques composés». Thèse de Doctorat/Ph.D en Chimie Organique, Université de Yaoundé I, p. 16.

Fraga B. M., 1994. The Trachylobane Diterpenes. *Phytochemical Analysis* 5, 49-56

Fraga B. M., Guillermo R., Hernandez M.G., Mestres T., Arteaga J. M., 1991. Diterpenes from *Sideris canariensis*. *Phytochemistry* 30, 3361-3364.

Franco M.S., Cordero C.P., Morantes S.J., 2011. Cytotoxic labdane diterpenoids isolated from the hexane fraction of the *Croton stipuliformis* stem bark. *Vitae, Revista de la Facultad de Química Farmacutica* 18, 173-182.

Geetha T., Varalakshmi P., 2001. Anti-inflammatory activity of lupeol linoleat in rats. *Journal of Ethnopharmacology* 76, 77-80.

Gelaw H., Adane L., Tariku Y. and Hailu A., 2012. Isolation of Crotepoxide from Berries of *Croton macrostachyus* and Evaluation of Its Anti-Leishmanial Activity. *Journal of Pharmacognosy and Phytochemistry* 1, 15-24.

Ghosal S., Kulwant S., 1984. Siterindosides I and II, two new antiulcerogenic sterylacetylglucosides from *Musa paradisiaca*. *Journal of Chemical Research, Synopses* 4, 110.

Ghosh P., Mandal A. and Rasul M.G., 2013. A new bioactive ursane-type triterpenoid from *Croton bonplandianum* Bail. *Journal of Chemical Science* 125(2), 359–364.

Gibbons S., 2008. Phytochemicals for bacterial resistance strengths, weaknesses and opportunities. *Planta Medica* 74, 594-602.

Gulcin I., Huyut Z., Elmastas M. and Aboul-Enein H. Y., 2010. Radical scavenging and antioxidant activity of tannic acid. *Arabian Journal of Chemistry* 3, 43-53.

Hassan C.M., Healey T.M., Waterman P.G., 1982. Acetoxytrachiloban-18-oic acid from *Xylopi quintasii*. *Phytochemistry* 21, 177-179.

Hetie S., 2012. « Etude in vitro des effets antiproliférifs et radicalaire d'extraits de graines de *Abrus precatoricus* L (Fabaceae) ». Université de Ouagadougou, Unité de Formation et de Recherche en Sciences de la Santé, section : Pharmacie, pp.4-5 ; 43-44.

Hutchinson L. J. and Dalziel J. M., 1958. Flora of West Tropical Africa, Revised by R. W. J. White Press, London, UK. Vol. 1, Part 2, 2nd edition, p. 221.

Irvine F. R., 1966. Woody Plants of Ghana. Oxford University Press, London, UK, p. 221.

Itokawa H., Ichihara Y., Shimizu M., Takeya K. and Motidome M., 1990. Cajucarins A and B, new clerodane diterpenes from *Croton cajucara*, and their conformation. *Chemical and Pharmaceutical Bulletin* 38, 701-705.

Jiofack T., Ayissi I., Fokunang C., Nguedje N., and Kemeuze V., 2009. Ethnobotany and phytomedicine of the upper Nyong valley forest in Cameroon. *African journal of pharmacy and pharmacology* 3, 144 – 150.

Kapingu M.C., Dominique G., Mbwambo Z.H., Moshi M.J., Uliiso F.C., Mahunna R.L.A., 2000. Diterpenoids from the roots of *Croton macrostachys*. *Phytochemistry* 54, 767-770.

Kenneth J., 2003. "Review of Sangre de Drago (*Croton lechleri*) a south American tree sap in the treatment of diarrhea, inflammation, insect bites, viral infections, and wounds: traditional uses to clinical research". *Journal of Alternative and Complementary Medicine* 9 (6), 877-896.

Keumedjio F. (2003). « Etude phytochimique de *Croton zambesicus* (Euphorbiaceae) : Quelques transformations chimiques et hémisynthèse de l'acide Ent-kaur-16-en-19-oïque ». Thèse de Doctorat troisième cycle en Chimie Organique, Université de Yaoundé I, p. 49-50.

Khatun M., Billah M., and Md. Abdul Q., 2012. Sterols and Sterol Glucoside from *Phyllanthus* Species. *Dhaka University Journal of Science* 60, 5-10.

Kun-Young P., Jung K.O., Rhee S.H., Yung H.C., 2003. Antimutagenic effects of doenjang (Korean fermented soypaste) and its active compounds. *Mutation Research* 523-524.

Kuo P.C., Yang M.L., Hwang T.L., Lai Y.Y., Li Y.C., Thang T.D. and Wu T.S., 2013. Anti-inflammatory Diterpenoids from *Croton tonkinensis*. *Journal of natural products* 76, 230-236.

Lagnika L., 2005. « Etude Phytochimique et Activité Antipaludique de Substances Naturelles issues de Plantes Béninoises ». Thèse de Doctorat, Faculté de Pharmacie, Université Louis Pasteur de Strasbourg/Faculté des Sciences et Techniques, Université d'Abomey-calavi, Bénin, pp.186-195.

Lawrence J. A. and Zito S.W., 1976. Sterols and triterpenes from the fruits of *Artocarpus altalis*. *Phytochemistry* 15, 829 – 830.

Lawson A., 2006. « Etude phytochimique d'une Fabaceae tropicale, *Lonchocarpus nicou* évaluation biologique préliminaire ». Thèse de Doctorat, Université de Limoges, sciences de la vie et de la santé-sciences pharmaceutiques-phytochimie/biologie, pp. 21-25.

Lefranc F., Kiss R., 2006. Autophagy, the Trojan horse to combat glioblastomas. *Neurosurg Focus* 20(3), 1-6.

Le K., Chui F. and Ng K., 2006. Identification and quantification of antioxidants in *Fructus lycii*. *Food Chemistry* 105, 353-363.

Lopes E. L., Neto M.A., Silveira E.R., Pessoa O.D.L., 2012. Flavonoides e sesquiterpenos de *Croton pedicellatus* Kunth. *Química Nova* 35(11), 2169-2172

Maciel M. A. M., Pinto A. C., and Kaiser C. R., 2003. NMR and structure review of some natural furoclerodanes. *Magnetic Resonance in Chemistry* 41, 278 – 282.

MacMillan J. et Beale M., 2000. Diterpene Biosynthesis. *Comprehensive Natural Products Chemistry* 2, 224-233.

Mahato B. S., Kundu P. A., 1994. ^{13}C NMR Spectra of Pentacyclic Triterpenoids-A compilation and some salient features. *Phytochemistry* 37, 1517-1575.

Mahbulur R. A. H. M., Momata A., 2013. Taxonomic and medical uses of *Euphorbiaceae* (spurge) family of *Rajshahi*, Bangladesh. *Research in plant sciences* 1, 78.

Marc F., Davin A., Deglène-Benbrahim L., Fernand C., Baccaunaud M., Fritsch P., 2004. Méthodes d'évaluation du potentiel antioxydant dans les aliments. *Médecine Science* 20, 458-463.

McLean S., Perpich-Dumont M., Reynolds W. F., Jacobs H., and Lachmansing S. S., 1987. Unambiguous structural and nuclear magnetic resonance spectral characterization of two triterpenoids of *Maprouneaguianensis* by two-dimensional nuclear resonance spectroscopy. *Canadian Journal of Chemistry* 65, 2519 – 2525.

Mechesney J. D., Clark A.M., Silveira E.R., 1991. Antimicrobial diterpenes of *Croton sonderianus*, 1. Hardwickic and 3, 4-secotrachylobanoic acids. *Journal Of Natural Products* 54, 1625-1633.

Millo B., Risco E., Villa R., Iglesias J. and Carrisgual, 2002. Characterization of a fucoarabinogalactan, the main polysaccharide from the gum exudate of *Croton urucurana*. *Journal of Natural Products* 65, 1143-1146.

Mogode D.J., 2005. « Etude phytochimique et pharmacologique de *Cassia nigricans* Vahl (*Cesalpniaceae*) utilisée dans le traitement des dermatoses au Tchad ». Thèse de Doctorat d'Etat, Faculté de Médecine, de Pharmacie et d'Onto-stomatologie, Université de Bamako-Mali, p.24.

Moreno J., 2003. Effect of olive oil minor components on oxidative stress and arachidonic acid mobilization and metabolism by macrophages RAW 264.7. *Free Radical Biology and Medicine* 35, 1073-1081.

Murillo R. M., Jakupovic J., Rival J. and Castro V.H., 2001. Diterpenes and other constituents from *Croton draco* (Euphorbiaceae). *Revista de Biologia Tropical* 49, 259-264.

Ndom J., 2008. « Contribution à l'étude phytochimique de deux plantes médicinales: *Crepis cameroonica* et *Senecio burtonii* (Asteraceae). Activités biologiques des sesquiterpénoïdes isolés ». Thèse de Doctorat /Ph.D, Université de Yaoundé I, Chimie Organique. pp 19-24.

Ngadjui B. T., Folefoc N. G., Keumedjio F., Dongo E., Sodengam B. L., and Connolly J. D., 1999. Crotonadiol, a labdane diterpenoid from the stem bark of *Croton zambesicus*. *Phytochemistry* 51, 17.

Ngadjui B. T., Abegaz B. M., Keumedjo F., Folefoc N. G., and Kapche F. W. G., 2002. Diterpenoids from the stem bark of *Croton zambesicus*. *Phytochemistry* 60, 345 – 349.

Nigam N., Prasad S., George J., Shukla Y., 2009. Lupeol induces and cyclin-B-mediated G2/M arrest and targets apoptosis through activation of caspase in mouse skin. *Biochemical and Biophysical Research Communications* 381, 253-258.

Norizan A. A. H., Ikram M.S., Jalifah L., Laily B.D., Yana M. S. and Euis H. H., 2007. Styryldehydropyrone and Clerodane-type Diterpene from *Croton argyratus*. *The Malaysian Journal of Analytical Sciences* 11(1), 189-192.

Nyasse B., Ngantchou I., Nono JJ., Schneider B., 2006. Antifilarial Activity in Vitro of Polycarpol and 3-O-Acetyl aleuritolic acid from Cameroonian Medicinal plants against *Onchocerca Gutturosa*. *Natural Production Research* 20, 391-397.

Oko F and Aslim B., 2010. Biological potentials and cytotoxicity of various extracts from endemic *Origanum minutiflorum* O.Schwarz and P. H. Dvis. *Food Chemical Toxicology* 48(6), 1728-1733.

Okokon J., Basse L., Obot. J. (2006). Antidiabetic activity of ethanolic leaf extract of *Croton zambesicus* muell. (Thunder plant) in alloxan diabetic rats. *African Journal of Traditional Complementary and Alternative Medicines* 3 (2), 21-26.

OMS 2015. « Cancers » Publié par le site <http://www.who.int/mediacentre/factsheets/fs297/fr> ; page consulté le 14/08/2015 à 00h 30min.

OMS 2012. Cancer la tumeur qui touche l'Afrique. Publié par le site <http://www.Journal du Cameroun.com/article.php?aid=12090> ; consulté le 14/08/2015 à 01h 10min.

Pacheco A.G., de Oliveira P.M., Piló-Veloso D., de Carvalho Alcântara F., 2009. ¹³C-NMR Data of Diterpenes Isolated from *Aristolochia* Species *Molecules* 14, 1245-1262.

Palmeira F., Conserva M., Silveira R., 2005. Two clerodane diterpenes and flavonoïds from *Croton brasiliensis*. *Journal of the Brazilian Chemical Society* 16, (6), 1309-1471.

Pizzolatti M.G., Bortoluzzi A.J., Brighente I.M.C., Zuchinalli A., Carvalho F.K., Ana C. S. Candido A.C.S. and Peres M.T.L.P., 2013. Clerodane Diterpenes from Bark of *Croton urucurana* Baillon. *Journal of the Brazilian Chemical Society* 24 (4), 609-614.

Qing-Huang W., Ke P., Le-He T. and Hao-Fu D., 2010. Aquilarin A, a New Benzenoid Derivative from the Fresh Stem of *Aquilaria sinensis*. *Molecules* 15,4011-4016.

Rahman A. M., Akter M., 2013. Taxonomie et usage médicaux des Euphorbiaceae. *La Recherche en Sciences Médicales* 1, 74- 80.

Raponda-Walker A., Sillans R., 1961. «Les plantes utiles du Gabon : essai d'inventaire et de concordance des noms vernaculaires et scientifiques des plantes spontanées et introduites», *Encyclopédie biologique*, 56, Paris, Lechevalier. P. 614.

Rates S. M. K., 2001. Plants as sources of drugs. *Toxicon* 39, 603-613.

Reynolds W. F., Hughes D. W., Perpich-Dumont M., and Enriquez R. G., 1985. A pulse sequence for establishing carbon-carbon connectivities via indirect polarization transfer modulated by vicinal ^1H - ^1H coupling. *Journal of Magnetic Resonance* 63, 413.

Risco E., Ghia F., Vila R., Iglesias J., Álvarez E., Canigual S., 2003. Immunomodulatory Activity and Chemical Characterisation of Sangre de Drago (Dragon's Blood) from *Croton lechleri*. *Planta Medica* 69, 785-789.

Rüegg T., Calderón A.I., Queiroz E.F., Solís P. N., Marston A., Rivas F., Ortega-Barría E., Hostettmann K., Gupta M.P., 2006. 3-Farnesyl-2-hydroxybenzoic acid is a new anti-Helicobacter pylori compound from Piper multiplinervium. *Journal of Ethnopharmacology* 103, 461-467.

Ryu Y.B., Jeong H.J., Kim J.H., Kim Y.M., Park J.Y., Kim D., Nguyen T.T.H., Park S.J., Chang J.S., Park K.H., Rho M.C., Lee W.S., 2010. Biflavonoids from *Torreya nucifera* displaying SARS-CoV 3CL^{pro} inhibition. *Bioorganic and Medicinal Chemistry* 18, 7940-7947.

Salatino A., Faria-Salatino M. L., and Negri G., 2007. Traditional uses, chemistry and pharmacology of Croton species (Euphorbiaceae). *Journal of the Brazilian Chemical Society* 18, 11 – 33.

Santos H., Barros F.W. A., Albuquerque M.R.J.R., Bandeira P.N., Pessoa C., Braz-Filho R., Monté F. J. Q., Leal-Cardoso J.H. and Lemos T.L.G., 2009. Cytotoxic Diterpenoids from *Croton argyrophyloides*. *Journal of Natural Products* 72, 1884-1887.

Schmeda-Hirschmann G., Astudillo L., Sepulveda B., Rodríguez J. A., Theoduloz C., Yanez T., and Palenzuela J. A., 2005. Gastroprotective effect and cytotoxicity of natural and

semisynthetic labdanoid diterpenes from *Araucaria araucanensis*. *Zeitschrift für Naturforschung* 60c, 511 – 522.

Seto R., Nakamura H., Nanjo F., Hara Y., 1997. Preparation of epimers of tea catechins by heat treatment. *Bioscience, Biotechnology and Biochemistry* 61, 1434-1439.

Sommit D., Petsom A., Ishikawa T., and Roengsumran S., 2003. Cytotoxic activity of natural labdanes and their semi-synthetic modified derivatives from *Croton oblongifolius*. *Planta Medica* 69, 167 – 170.

Takeo Y., Tomohisa I., Shozo F. and Yasuo K., 2004. Phenolic Compounds and Flavonoids as Plant Growth Regulators from Fruit and Leaf of *Vitex rotundifolia*. *Zeitschrift für Naturforschung* 59C, 509-514.

Tala M.F., Tan N.H., Ndontsa B., Tane P., 2013. Triterpenoids and phenolic compounds from *Croton macrostachyus*. *Biochemical Systematics and Ecology* 51, 138-141.

Tene M., Ndontsa B., Tane P., Tamokou J., Kuate J., 2009. Antimicrobial diterpenoids and triterpenoids from the stem bark of *Croton macrostachyus*. *Journal of Biological Chemistry Sciences* 3 (3), 538-544.

Troupin G., (1982). «Flore des plantes ligneuses du Rwanda», Musée Royal de l'Afrique Central, Tervuren (Belgique). PP 240-256.

Uchôa P. K. S., da Silva J. N. Jr., Silveira E. R., Lima M. A. S., 2013. Trachylobane and Kaurane Diterpenes from *Croton floribundus* Spreng. *Química Nova* 36(6), 778-782.

Yoshioka T., Inokuchi T., Fujioka S., and Kimura Y., 2004. Phenolic Compounds and Flavonoids as Plant Growth Regulators from Fruit and Leaf of *Vitex rotundifolia*. *Zeitschrift für Naturforschung* 59c, 509-514.

ANNEXES

LISTE DES PUBLICATIONS

- 1- Abega D. F., Kapche W. F. G. D., Ango P., Mapitse R., Yeboah S., Ngadjui T. B., 2014. Chemical Constituents of *Croton oligandrum* (Euphorbiaceae). *Z. Naturforsch* **69c**, 181-185.
- 2- Kapche W.F.G.D., Abega F.D., Dermitas I., Oke-Altuntas F., Merve-Banu K., Ango Y.P., Ngadjui T.B., 2016. Antiproliferative, antimicrobial, and antioxidant activities of five diterpenes from *Croton oligandrum* stem bark. *BMC Complementary and Alternative Medicine* (in press).

TABLE DES MATIÈRES

DEDICACES	xv
SOMMAIRE	xvii
RESUME	xix
ABSTRACT	xxi
LISTE DES TABLEAUX.....	xxiii
LISTE DES FIGURES	xxv
INTRODUCTION GENERALE	1
CHAPITRE I : REVUE DE LA LITTERATURE	4
I-1-APERÇU BOTANIQUE	5
I.1.1- Aperçu botanique sur la famille des Euphorbiaceae	5
I.1.2- Aperçu botanique sur le genre Croton.....	5
I.1.3-L'espèce Croton oligandrum.....	6
I.1.3.2- Description botanique.	6
I.1.3.3- Répartition géographique.....	8
I.1.4- Quelques usages des espèces du genre Croton	8
I.1.4.1-Usage ornemental.....	8
I.1.4.2-Usage en médecine traditionnelle	8
I.2.1-Les alcaloïdes.	9
I.2.2- Les flavonoïdes	12
I.2.3- Les triterpènes.	15
I.2.4-Les diterpènes	19
I.2.4.1-Définition	19
I.2.4.3- Intérêt biologique des diterpènes.	35
I.2.5-Autres composés isolés du genre Croton.....	35
I.3-ACTIVITES BIOLOGIQUES ET PHARMACOLOGIQUES DE QUELQUES EXTRAITS DE PLANTES ET COMPOSES ISOLES DU GENRE CROTON	35
I.4- LES MICROORGANISMES.	37
I.4.1-Généralités (Seto et al., 1997).....	37
I.4.2-Exemple de classification des bactéries (Aissatou, 2005).....	38
I.4.3-La concentration minimale inhibitrice(CMI) (Berthe et al., 1988).	39
I.5-LES ANTIOXYDANTS ET LES ANTIPROLIFERATIFS	40
I.5.1-Les antioxydants.....	40
I.5.1.1-Généralités sur les antioxydants (Amadou, 2005)	40
I.5.1.2-Mécanismes d'action des antioxydants (Amadou, 2005)	41
I.5.1.3-Classification des antioxydants (Aissatou, 2005)	41
I.5.1.3.1-Les antioxydants naturels.....	41
I.5.1.3.2-Les antioxydants de synthèse.....	42
I.5.1.4-Test pour la mesure du potentiel antioxydant.	42
I.5.1.4.1-Test à la DPPH (Brand-William et al., 1995).	42
I.5.1.4.2-Activité chélatrice.	43
I.5.2-Les antiprolifératifs.....	44

I.5.2.1-Généralités (Hetie ,2012).	44
I.5.2.2-Exemple de méthode d'évaluation de l'activité antiproliférative (Hetier, 2012) .	46
CHAPITREII : RESULTATS ET DISCUSSION	47
II-1-ISOLEMENT DES COMPOSES.	48
II-2-CARACTERISATION DES COMPOSES ISOLEES	56
II-2-1-Les triterpénoïdes	56
II-2-1-1-Identification de CO1 : acide acétylé aleuritolique	56
II-2-1-2-Identification de CO2 : Lupéol.	60
II-2-1-3-Identification de COFe1 : Taraxerol.....	63
II-2-1-4-Identification de CO14a : 3 α -acétoxy-15 α -hydroxyoléanan-28,13-olide.	67
II-2-2-Les stéroïdes.	69
II-2-2-1-Identification de COF2116 : mélange de β -sitostérol et stigmastérol	69
II-2-2-2-Identification de COR1 : Palmitate de β -sitosterol.....	74
II-2-2-3-Identification de COFe4 : Glucoside de β -sitostérol.	77
II-2-2-4-Identification de COR9 : Sitoindoside I	77
II-2-3-Les diterpénoïdes	81
II-2-3-1-Identification de COR8 : Ent-trachylobane-15 β , 18-diol	81
II-2-3-2-Identification de COR10 : Trachinodiol.....	85
II-2-3-3-Identification de CO4 : l'acide 7 β -acétoxy-trachyloban-18-oïque.....	90
II-2-3-4-Identification de CO6 : Crotonadiol	94
II-2-3-5-Identification de CO11 : Kayadiol.....	98
II-2-3-6-Identification de CO3 : Crotozambefuran B.....	103
II-2-3-7-Détermination de la structure de CO5	108
II-2-3-8-Identification de CO12 : Crotozambefuran A.	119
II-2-3-9- Détermination de la structure de CORF1a.	125
II-2-3-10- Identification de COR6 : crocorylifurane.	136
II-2-3-11- Détermination de la structure de COR7.	139
II-2-3-12- Identification de CO13: Crotozambefuran C.....	148
II-2-3- Les composés phénoliques.....	152
II-2-3-1- Détermination de la structure de CObSP3.	152
II-2-3-2- Détermination de la structure de COR2	160
II-2-3-3- Identification de la structure de CORF1b.....	169
II-3- REACTION D'ACÉTYLATION	171
II-3-1- Acétylation de Kayadiol (CO11).....	171
II-3-2- Acétylation de 15β, 18-dihydroxy Ent-trachylobane (COR8).	173
II-3-2- Mécanisme de la réaction d'acétylation.....	174
II-4-TESTS BIOLOGIQUES SUR LES COMPOSES ISOLEES	176
II-4-1-Evaluation de l'activité antioxydante.....	176
II-4-1-1-Résultats.....	176
II-4-1-2-Interprétation	176
II-4-1-3-Relation structure activité anti oxydante.	177
II-4-2-Evaluation de l'activité antiproliférative.....	177
II-4-2-2-Interprétation	178
II-4-2-3-Relation structure activité antiproliférative.	178

II-4-3-1-Résultats.....	179
II-4-3-3-Relation structure activité antimicrobienne.....	179
CONCLUSION GENERALE ET PERSPECTIVES	180
CHAPITRE III : MATERIELS ET METHODES.....	183
III.1.1- Appareillage.....	184
III.1.2- Matériel végétal.....	187
III.2-EXTRACTION, ISOLEMENT DES PRODUITS.....	187
III.2.1- Extraction	187
III.2.2-Isolement des produits.....	188
III.2.2.1-Isolement des produits de l'extrait au méthanol et au mélange chlorure de méthylène/méthanol (1 : 1) des écorces du tronc de Croton oligandrum.....	188
III.2.2.2-Isolement des produits de l'extrait à l'acétate d'éthyle des écorces du tronc de Croton oligandrum.....	191
III.2.2.3-Isolement des produits de l'extrait au chlorure de méthylène / méthanol (1 : 1) des écorces des racines de Croton oligandrum.....	193
III-3-REACTIONS D'ACETYLATION	198
III-3-1-Acétylation de Kayadiol (CO11)	198
III-3-1-Acétylation de 15β, 18-dihydroxy Ent-trachylobane (COR8).....	198
III-4-TESTS BIOLOGIQUES	199
III-4-1-Produits chimiques.....	199
III-4-2-Test antioxydant.....	199
III-4-3-Test antiprolifératif.....	199
III-4-3-1-Culture cellulaire	199
III-4-3-2- Activité de chélation de métal sur les ions ferreux (Fe ²⁺)	200
III-4-3-Test antimicrobien.....	200
III-4-3-1- Souches microbiennes et préparation de l'inoculum.....	200
III-4-3-2- Méthode par diffusion	201
III-5-CARACTERISTIQUES PHYSICO-CHIMIQUES DES COMPOSES ISOLES..	201
III.6-TESTS CARACTERISTIQUES.....	209
III.6.1-Test de Libermann Burchard	209
III.6.2-Test au chlorure ferrique	209
BIBLIOGRAPHIE.....	210
ANNEXES.....	219