



HAL
open science

**Profilage chimique et valorisation pharmacologique
d'*Amanita amerivirosa*, un champignon européen,
Boscia senegalensis et *Chrozophora brocchiana*, deux (2)
plantes antiparasitaires de la pharmacopée
traditionnelle au Niger**

Moctar Chaibou

► **To cite this version:**

Moctar Chaibou. Profilage chimique et valorisation pharmacologique d'*Amanita amerivirosa*, un champignon européen, *Boscia senegalensis* et *Chrozophora brocchiana*, deux (2) plantes antiparasitaires de la pharmacopée traditionnelle au Niger. *Sciences du Vivant [q-bio]*. Université Abdou Moumouni, Niamey, 2022. Français. NNT : . tel-04486896

HAL Id: tel-04486896

<https://hal.science/tel-04486896v1>

Submitted on 28 Mar 2024

HAL is a multi-disciplinary open access archive for the deposit and dissemination of scientific research documents, whether they are published or not. The documents may come from teaching and research institutions in France or abroad, or from public or private research centers.

L'archive ouverte pluridisciplinaire **HAL**, est destinée au dépôt et à la diffusion de documents scientifiques de niveau recherche, publiés ou non, émanant des établissements d'enseignement et de recherche français ou étrangers, des laboratoires publics ou privés.



Université Abdou Moumouni de Niamey

Ecole doctorale des Sciences Exactes et Techniques



Faculté des Sciences et Techniques

Département de Chimie

N° de thèse	
-------------	--

Thèse de Doctorat Unique

Pour obtenir le grade de

Docteur de l'Université Abdou Moumouni

Mention : Sciences et Techniques

Option : Chimie Organique

Spécialité : Chimie des Substances Naturelles : Phytochimie

Présentée par

Moctar CHAIBOU

Profilage chimique et valorisation pharmacologique d'*Amanita amerivirosa*, un champignon européen, *Boscia senegalensis* et *Chrozophora brocchiana*, deux (2) plantes antiparasitaires de la pharmacopée traditionnelle au Niger

Date de soutenance : 16/12/2022

Jury

M. Dominique SOHOUNHLOUE :

Professeur Emérite, Université Abomey-Calavi (Benin)

Président

M. Amadou Tidjani ILAGOUMA :

Maitre de conférences, Université Abdou Moumouni (Niger)

Rapporteur

M. Roger NEBIE :

Directeur de recherches, CNRST (Burkina Faso)

Rapporteur

M. Pierre LE POGAM-ALLUARD :

Maitre de conférences, Université Paris-Saclay (France)

Examineur

M. Idrissa MOUSSA :

Maitre de conférences, Université Abdou Moumouni (Niger)

Co-directeur

M. Khalid IKHIRI :

Professeur Emérite, Université Abdou Moumouni (Niger)

Directeur

Dédicaces

A ma mère, mon deuxième souffle, qui a su me transmettre ses valeurs et son chaleureux amour durant toutes ces années, qui m'a encouragé et qui a veillé à ce que je réussisse mes études, qui m'a permis de donner le meilleur de moi-même et me surpasser. Je t'aime maman aujourd'hui plus qu'hier mais bien moins que demain. **Qu'ALLAH te garde pour nous.**

A mon très agréable père, qui s'est tant sacrifié pour moi, qui s'est toujours donné du mal pour assurer mon bien être. J'espère que je suis à la hauteur de ce que tu attends de moi. **Je t'aime papa.**

A ma gentille tutrice, qui ne s'est jamais fatiguée de me donner les conseils, tu es mon remonte moral.

A mes adorables frères et sœurs, j'apprécie toujours votre présence dans ma vie, car vous avez été là pour moi.

A mes ami(e)s, la vie m'a souri en vous mettant sur mon chemin.

Le chemin est long et plein de périples mais ceci n'est rien face à votre patience.

A tous nos disparus, je ne vous oublie pas.

Remerciements

Je remercie tout d'abord **ALLAH tout puissant** à qui appartient toute louange de m'avoir donné la patience, la détermination, la santé et la volonté afin de réaliser ce mémoire.

Mes remerciements se doivent au Professeur Emérite **Khalid IKHRI**, enseignant-chercheur au département de chimie de la Faculté des Sciences et Techniques (**FAST**) de l'Université Abdou Moumouni (**UAM**) de Niamey, qui a dirigé ce travail et a su m'apporter l'encadrement nécessaire. Je tiens à lui exprimer ma très grande gratitude et ma reconnaissance la plus sincère.

Je remercie également Monsieur **Idrissa MOUSSA**, Maître de conférences, enseignant-chercheur à l'Université A. Moumouni (Niger) d'avoir accepté d'être co-directeur de cette thèse et pour ses précieuses remarques constructives pendant mon parcours au sein de ladite Université.

Je remercie Monsieur **Dominique SOHOUNHLOUE**, Professeur Emerite à l'Université Abomey-Calavi (Benin) d'avoir accepté de faire partie du jury de cette thèse en tant que Président.

Mes remerciements se doivent également à Monsieur **Roger NEBIE**, Directeur de recherches au Centre National de la Recherche Scientifique et Technologique (CNRST/Burkina-Faso) pour avoir accepté de faire partie du jury en tant que Rapporteur.

Je remercie Monsieur **A. Tidjani ILAQUOMA**, maître de conférences, à l'Université A. Moumouni (Niger) d'avoir accepté de prendre part à ce jury en tant que rapporteur.

Je tiens à remercier vivement, Monsieur **Pierre LE POQAM-ALLUARD**, maître de conférences, d'avoir accepté de m'accueillir dans l'équipe pharmacognosie-chimie des substances naturelles au laboratoire de biomolécules, conception, isolement et synthèse (**Biocis-UMR 8076 / Faculté de Pharmacie / Université Paris-Saclay**) me donnant ainsi, l'opportunité de me former en phytochimie avec des appareils modernes et de rencontrer des personnes formidables toujours disponibles ; je cite Messieurs **Guillaume BERNADAT**, maître de conférences, **Mehdi Ahmed BENIDDIR** et **Erwan POUPON**, tous deux, Professeur des Universités. Merci beaucoup Pierre pour avoir accepté de participer à ce jury en tant qu'Examinateur.

Grand merci à **Karine LEBLANC** et **Soumia RHARRABI**, pour leur aide cruciale lors de la mise au point et surtout lors de la réalisation des CLHP- préparatives, qui se sont avérées efficaces, sans oublier **Blandine SÉON-MÉNIEL** pour m'avoir facilité mes premiers pas au laboratoire.

Je remercie en particulier Monsieur **Jean-François GALLARD** du service RMN à l'Institut de Chimie des Substances Naturelles pour son aide concernant la réalisation des analyses RMN des composés décrits dans ce travail.

De la même manière, j'ai une très affectueuse pensée pour tous mes amis que j'ai pu croiser : **Adrian, Alexandre, Alice, Axel, Erick, Inès, Ismaïla, Nicolas, Paola, Rany, Vanessa, Sarah (Ma patronne)** avec qui ce travail a eu un gout appréciable car, chacun à sa façon, a participé à cette aventure.

A toutes les personnes du laboratoire de pharmacognosie-chimie des substances naturelles **BIOCIS**, recevez toute ma reconnaissante car vous avez rendu mon séjour excellent.

Je tiens tout particulièrement à remercier l'État français, qui a travers le programme de bourse de mobilité proposé par l'Ambassade de France et Campus France au Niger m'a permis de séjourner au laboratoire de pharmacognosie-chimie des substances naturelles **BIOCIS** afin de réaliser ces travaux qui constituent une bonne partie de ma thèse de doctorat.

Je présente également ma gratitude et ma profonde reconnaissance à l'endroit de tous les enseignants-chercheurs du département de Chimie (**FAST/UAM**) pour leur disponibilité, la formation et leurs sages conseils.

Je remercie tous mes camarades du Laboratoire des Substances Naturelles et Synthèse Organique (**LASNASO/FAST/UAM**) ainsi que tous mes compagnons de la salle des doctorants de chimie avec qui j'ai partagé de périodes de régate avec le thé quotidien.

Mes vifs remerciements vont à tous ceux qui ont collaboré à l'achèvement de ce travail.

Liste des sigles et abréviations

ACN : acétonitrile

AcOEt : acétate d'éthyle

AF : acide formique

BSR : *Boscia senegalensis*-racines

C : concentration

C-18 : silice greffée par des groupements octadécyles

CCM : chromatographie sur couche mince

CI₅₀ : concentration inhibitrice médiane

CLHP : chromatographie en phase liquide à haute performance

CLUHP : chromatographie liquide ultra haute performance

COSY : corrélation spectroscopy

DAD : détecteur à barrettes de diodes

DCM: dichlorométhane

EIC: extract ion chromatogram

ESI: electrospray ionization

EtOH: ethanol

GNPS: global natural products social molecular networking

HMBC: heteronuclear multiple bond corrélation

HPLC: high performance liquid chromatography

HRMS: high resolution mass spectrometry

HSQC: heteronuclear single quantum corrélation

J : constante de couplage

m/z : rapport masse sur charge d'un ion

MeOH : méthanol

MS : mass spectrometry

MS/MS ou MS² : tandem mass spectrometry– spectrométrie de masse tandem ou spectre de masse tandem.

NAP: network annotation propagation

NOESY: nuclear overhauser effect spectroscopy

PBS : phosphate buffer saline

Ppm : partie par million

Q-TOF: quadrupole-time of flight

RMN (1D, 2D) : résonance magnétique nucléaire (une dimension, deux dimensions)

ROESY: rotating frame nuclear overhauser effect spectroscopy

RT : retention time (temps de rétention)

TOCSY : total corrélation spectroscopy

UPLC : ultra performance liquid chromatography

UV : ultra-violet

Liste des figures

Figure 1 : structure de l'Albendazole et du Flubendazole	8
Figure 2 : structure du Lévamisol et du Pyrantel	9
Figure 3 : structure du Doramectine	9
Figure 4 : structure du Closantel	10
Figure 5 : <i>Amanita amerivirosa</i> (Amanitaceae) (Photo : Raphaël Herve).....	13
Figure 6 : quelques toxines isolées d' <i>A. amerivirosa</i> (Amanitaceae) (Walton, 2018).....	14
Figure 7 : <i>Boscia senegalensis</i> (Capparaceae) (Photo : African plants)	15
Figure 8 : <i>Chrozophora brocchiana</i> (Euphorbiaceae) (Photo : Mariod)	20
Figure 9 : diagramme des extractions successives	26
Figure 10 : flux de travail (<i>workflow</i>) pour la réalisation des réseaux moléculaires (molecular networking) (Nothias <i>et al.</i> , 2015).	32
Figure 11 : réseaux moléculaires réalisés à partir des fractions d' <i>A. amerivirosa</i>	41
Figure 12 : diagramme de purification des composés 1-3	44
Figure 13 : composé 1 (Amériphalloïdine)	45
Figure 14 : spectre MS/MS du composé 1	46
Figure 15 : Fragmentations possibles de l'Amériphalloïdine	47
Figure 16 : Composé 2 (Amériviroïdine).....	49
Figure 17 : spectre MS/MS du composé 2	50
Figure 18 : fragmentations possibles de l'Amériviroïdine.....	51
Figure 19 : spectre MS/MS du composé 3	52
Figure 20 : composé 3 (Ameriviroisine)	53
Figure 21 : réseaux moléculaires réalisés à partir des fractions de <i>B.senegalensis</i>	56
Figure 22 : diagramme de purification des composés 4-5	57
Figure 23 : spectre MS/MS du composé 4	60
Figure 24 : composé 4 (18-AcO-chaenorpine).....	61
Figure 25 : composé 5 (Chaenorpine)	63
Figure 26 : spectre de masse du composé 5	63
Figure 27 : fragmentations possibles du composé 5	65
Figure 28 : réseaux moléculaires réalisés à partir des fractions de <i>C. brocchiana</i>	67
Figure 29 : diagramme du potentiel vermicide des différents extraits à C=10g/L.....	70
Figure 30 : diagramme du potentiel vermicide des différents extraits à C=5g/L.....	71
Figure 31 : diagramme du potentiel vermicide des différents extraits à C=2,5 g/L.....	71
Figure 32 : diagramme du potentiel vermicide des différents extraits à C=1,25 g/L.....	72

Figure 33 : spectre RMN ^1H (DMSO, 699 MHz) de l'Améripalloïdine.....	XIV
Figure 34 : spectre RMN ^{13}C (DMSO, 699 MHz) de l'Améripalloïdine.....	XIV
Figure 35 : corrélation COSY ($^1\text{H}/^1\text{H}$) de l'Améripalloïdine (DMSO, 599MHz)	XV
Figure 36 : corrélation HSQC ($^1\text{H}/^{13}\text{C}$) de l'Améripalloïdine (DMSO, 699MHz)	XV
Figure 37 : corrélation HMBC ($^1\text{H}/^{13}\text{C}$) de l'Améripalloïdine (DMSO, 699MHz).....	XVI
Figure 38 : corrélation ROESY ($^1\text{H}/^1\text{H}$) de l'Améripalloïdine (DMSO, 699MHz).....	XVI
Figure 39 : spectre RMN ^1H (DMSO, 699 MHz) de l'Amériviroïdine	XVII
Figure 40 : spectre RMN ^{13}C (DMSO, 699 MHz) de l'Amériviroïdine	XVII
Figure 41 : corrélation COSY ($^1\text{H}/^1\text{H}$) (DMSO, 699 MHz) de l'Amériviroïdine.....	XVIII
Figure 42 : corrélation HSQC ($^1\text{H}/^{13}\text{C}$) (DMSO, 699 MHz) de l'Amériviroïdine.....	XVIII
Figure 43 : corrélation HMBC ($^1\text{H}/^{13}\text{C}$) (DMSO, 699 MHz) de l'Amériviroïdine.....	XIX
Figure 44 : corrélation ROESY ($^1\text{H}/^1\text{H}$) (DMSO, 699 MHz) de l'Amériviroïdine	XIX
Figure 45 : spectre RMN ^1H (DMSO, 699 MHz) de l'Amériviroïsine.....	XX
Figure 46 : spectre RMN ^{13}C (DMSO, 699 MHz) de l'Amériviroïsine.....	XX
Figure 47 : corrélation COSY ($^1\text{H}/^1\text{H}$) (DMSO, 699 MHz) de l'Amériviroïsine	XXI
Figure 48 : corrélation HMBC ($^1\text{H}/^{13}\text{C}$) (DMSO, 699 MHz) de l'Amériviroïsine	XXI
Figure 49 : corrélation HMBC ($^1\text{H}/^{13}\text{C}$) (DMSO, 699 MHz) de l'Amériviroïsine	XXII
Figure 50 : corrélation ROESY ($^1\text{H}/^1\text{H}$) (DMSO, 699 MHz) de l'Amériviroïsine.....	XXII

Liste des tableaux

Tableau I : classification des helminthes et helminthiases.....	7
Tableau II : espèces végétales utilisées comme anthelminthique	11
Tableau III : usages en médecine traditionnelle des différents organes de <i>B. senegalensis</i>	18
Tableau IV : usages en médecine traditionnelle de <i>Chrozophora brocchiana</i>	22
Tableau V : criblage phytochimique des différents extraits.....	37
Tableau VI : teneurs en composés phénoliques des différents extraits.....	39
Tableau VII : composés ciblés à partir de l'analyse des réseaux moléculaires	40
Tableau VIII : propriétés physiques et rendements.....	42
Tableau IX : composés ciblés à partir des réseaux moléculaires de <i>B. senegalensis</i>	55
Tableau X : propriétés physiques et rendements.....	58
Tableau XI : fragments issus des composés 4 et 5	64
Tableau XII : propriétés physiques et rendements des différents extraits.....	68
Tableau XIII : concentration inhibitrice médiane des différents extraits (CI ₅₀)	72
Tableau XIV : déplacements chimiques ¹ H et ¹³ C d'amériphalloïdine (1).....	XXIII
Tableau XV : déplacements chimiques ¹ H et ¹³ C d'amériviroïdine (2) et amériviroïsine (3)	XXIV
Tableau XVI : déplacements chimiques ¹ H et ¹³ C du 18-AcO-chaenorpine (4) et la chaenorpine	XXV

Table des matières

Dédicaces	I
Remerciements	II
Liste des sigles et abréviations.....	IV
Liste des figures	VI
Liste des tableaux	VIII
Résumé	XI
Abstract	XII
Introduction générale.....	1
Chapitre I : Généralités	5
I.1. Généralités sur les helminthes et les helminthiases.....	5
I.1.1. Les différents types d'helminthes et les helminthiases associées	5
I.1.1.1. Sous-embranchements des plathelminthes	5
I.1.1.2. Sous-embranchements des némathelminthes	6
I.1.2. Les méthodes de lutte et prévention des helminthiases	7
I.1.2.1. Les anthelminthiques couramment utilisés	7
I.1.2.2. Les solutions alternatives : les plantes médicinales à propriétés anthelminthiques .	10
I.1.2.3. Les moyens de prévention ou prophylaxie.....	12
I.2. Généralités sur les espèces végétales étudiées	13
1.2.1. <i>Amanita amerivirosa</i> var. <i>levipes</i> (Amanitaceae)	13
I.2.1.1. Morphologie et répartition.....	13
I.2.1.2. Caractéristiques chimiques	14
I.2.2. <i>Boscia senegalensis</i> Lam (Capparaceae).....	15
I.2.2.1. Morphologie et répartition.....	15
I.2.2.2. Usages médicaux	16
I.2.2.3. Etudes pharmacologiques	18
I.2.2.4. Etudes phytochimiques.....	19
I.2.3. <i>Chrozophora brocchiana</i> (Vis.) Schweinf (Euphorbiaceae)	20
I.2.3.1. Morphologie et répartition.....	20
I.2.3.2. Usages médicaux	21
I.2.3.3. Etudes pharmacologiques	23
I.2.3.4. Etudes phytochimiques.....	23
Chapitre II : Matériel et méthodes	25
II.1. Matériel végétal	25
II.2. Extraction.....	25
II. 3. Préparation des différents extraits par extractions successives	26

II.4. Criblage phytochimique	27
II.5. Méthode de dosage des composés phénoliques	28
II.6. Analyse statistique des résultats.....	30
II.7. Fractionnement et purification des extraits	30
II.8. Analyse LC-MS	30
II.9. Réalisation des réseaux moléculaires.....	31
II.10. Tests anthelminthiques	33
Chapitre III : Résultats et discussion.....	36
III.1. Criblage phytochimique	36
III.2. Teneurs en composés phénoliques.....	38
III.3. Etude phytochimique d' <i>Amanita amerivirosa</i> (Amanitaceae).....	40
III.3.1. Extraction, fractionnement et purification des composés 1-3.....	42
III.3.2. Rendements des différentes extractions, fractionnement et purification	42
III.3.3. Détermination structurale du composé 1.....	42
III.3.4. Détermination structurale du composé 2.....	48
III.3.5. Détermination structurale du composé 3.....	52
III.4. Etude phytochimique de <i>Boscia senegalensis</i> (Capparaceae).....	54
III.4.1. Extraction, fractionnement et purification des composés 4-5.....	55
III.4.2. Rendements des extractions, fractionnement et purifications	58
III.4.3. Détermination structurale du composé 4.....	59
III.4.4. Détermination structurale du composé 5.....	62
III.5. Etudes phytochimiques de <i>Chrozophora brocchiana</i> (Euphorbiaceae).....	66
III.7. Activités anthelminthiques.....	69
Conclusion générale et perspectives	76
Références bibliographiques	78
Annexes	XIV
Annexe 1 : les spectres RMN 1D et 2D des composés isolés	XIV
Annexe 2 : Liste des communications et publications scientifiques	XXVI

Résumé

Au Niger, les maladies parasitaires constituent un réel problème de santé tant au niveau humain qu'animal. Cette situation est aggravée par l'apparition des phénomènes de résistances vis-à-vis des anthelminthiques de synthèses disponibles. Fort heureusement, les plantes médicinales constituent une source inépuisable de composés antiparasitaires. C'est pourquoi, l'objectif de cette étude était de contribuer à l'amélioration de la santé animale et humaine en utilisant les produits naturels issus des plantes médicinales dans la lutte contre les vers intestinaux. Nos travaux de recherche ont porté sur l'étude chimique et pharmacologique de *Boscia senegalensis* (Capparaceae), *Chrozophora brocchiana* (Euphorbiaceae) et *Amanita amerivirosa* (Amanitaceae).

Les substances extraites ont été séparées et identifiées par différentes techniques chromatographiques (CLUHP, CLHP, CCM) et spectroscopiques (UV-visible, HRMS, RMN 1D et 2D). Le dosage des composés phénoliques a été effectué en utilisant les méthodes classiques de colorimétrie. Les propriétés anthelminthiques de *Boscia senegalensis* et *Chrozophora brocchiana* ont été évaluées *in vitro* à différentes concentrations grâce aux tests d'efficacité anthelminthiques.

Le criblage phytochimique des extraits à hexane, au dichlorométhane, à l'acétate d'éthyle et éthanol-eau (70 :30) de *B. senegalensis* a montré la présence des alcaloïdes, tanins, flavonoïdes, quinones, saponosides, stéroïdes et terpenoïdes. Quant aux extraits de *C. brocchiana*, on a révélé l'absence des alcaloïdes et saponosides. En ce qui concerne la teneur en composés phénoliques totaux, *B. senegalensis* a donné $3,21 \pm 0,03$ mg EAG/g à $5,67 \pm 0,01$ mg EAG/g. La teneur en tanins condensés variait de $2,18 \pm 0,02$ mg EAT/g à $5,48 \pm 0,02$ mg EAT/g et la teneur en flavonoïdes de $4,18 \pm 0,08$ mg EQ/g à $6,57 \pm 0,07$ mg EQ/g. Pour *C. brocchiana*, la teneur en composés phénoliques totaux a été de $1,13 \pm 0,1$ mg EAG/g à $3,04 \pm 0,03$ mg EAG/g et celle des tanins condensés variait de $1,66 \pm 0,03$ mg EAT/g à $3,16 \pm 0,02$ mg EAT/g. La teneur en flavonoïdes était de $4,86 \pm 0,08$ mg EQ/g à $5,97 \pm 0,02$ mg EQ/g.

L'analyse LC-MS/MS avec des approches en réseaux moléculaires a permis d'identifier cinq (5) composés dont trois (3) d'entre eux sont des toxines cyclo peptidiques nouvellement décrites. Ils ont été identifiés d'*A. amerivirosa*. Il s'agit de : ameriphalloïdine (1), ameriviroïdine (2) et ameriviroïsine (3). Les deux (2) autres composés sont des alcaloïdes polyamines. Ils ont été isolés à partir de *B. senegalensis*. Ces composés sont la 18-AcO-chaenorpine (4), dont la structure est nouvelle et la chaenorpine (5) (décrite pour la première fois dans *B. senegalensis* à notre connaissance). L'évaluation des propriétés vermicides a permis de montrer le potentiel anthelminthique de ces différents extraits. Tous les extraits ont montré une activité inhibitrice de la motilité d'*Ascaridia galli*. Les extraits dichlorométhane et acétate d'éthyle de *B. senegalensis* se sont montrés plus actifs ($CI_{50} = 1,54$ et $1,87$ g/L respectivement).

Mots-clés : *Amanita amerivirosa*, *Boscia senegalensis*, *Chrozophora brocchiana*, anthelminthiques, réseaux moléculaires.

Abstract

In Niger, parasitic diseases are a real health problem for both humans and animals. This situation is aggravated by the appearance of resistance phenomena. Fortunately, medicinal plants are an inexhaustible source of antiparasitic compounds. This study aimed to contribute to ameliorate animal and human health by using natural products derived from medicinal plants against intestinal worms. Our research work focused on the chemical and pharmacological study of *Boscia senegalensis* (Capparaceae), *Chrozophora brocchiana* (Euphorbiaceae) and *Amanita amerivirosa* (Amanitaceae).

The extracted substances were separated and identified by different chromatographic (UHPLC, HPLC, TLC) and spectroscopic (UV-visible, HRMS, 1D and 2D NMR) techniques. The dosage of phenolic compounds was carried out using standard colorimetric methods. The anthelmintic properties of *B. senegalensis* and *C. brocchiana* were evaluated at different concentrations using *in vitro* tests.

Phytochemical screening of hexane, dichloromethane, ethyl acetate and ethanol-water (70 :30) extracts of *B. senegalensis* showed the presence of alkaloids, tannins, flavonoids, quinones, saponosides, steroids and terpenoids. In *C. brocchiana* extracts, we notified absence of alkaloids and saponins. Total polyphenol contents of *B. senegalensis* extracts ranged from 3,21±0,03 mg EAG/g to 5,67±0,01 mg EAG/g. The contents of total condensed tannins ranged from 2,18 ±0,02 mg EAT/g to 5,48±0,02 mg EAT/g and total flavonoids ranged from 4,18±0,08mg EQ/g to 6,57±0,07 mg EQ/g. Concerning *C. brocchiana* total polyphenols contents ranged from 1,13±0,1 mg EAG/g à 3,04±0,03 mg EAG/g. The contents of total condensed tannins ranged from 1,66 ±0,03 mg EAT/g à 3,16±0,02 mg EAT/g and flavonoids contents ranged from 4,86±0,08mg EQ/g to 5,97±0,02 mg EQ/g.

An LC-MS/MS analysis with molecular network approaches lead to five (5) compounds, three (3) of them are new cyclopeptide toxins. They were isolated from *A. amerivirosa*. They are: ameriphalloidin (1), ameriviroidin (2) and ameriviroisin (3). The other two (2) compounds are polyamine alkaloids. They were isolated from *B. senegalensis*. These compounds are 18-AcO-chaenorpine (4), whose structure is new and chaenorpine (5) (described for the first time in *B. senegalensis* to our knowledge).

The evaluation of the vermifugal properties shows the anthelmintic potential of these different extracts. All extracts showed inhibitory activity on the motility of *Ascaridia galli*. The dichloromethane and ethyl acetate extracts of *B. senegalensis* were the most active (IC₅₀ (g/L) = 1.54285 and 1.8748 respectively).

Key words: *Amanita amerivirosa*, *Boscia senegalensis*, *Chrozophora brocchiana*, anthelmintics, molecular networking.

Introduction générale

Introduction générale

La découverte de nouvelles molécules d'origine naturelle demeure un processus laborieux par son caractère long et coûteux au vu des efforts à fournir lors de l'isolement, la purification et la détermination structurale (Azizah, 2020). L'étude de la chimie des plantes est toujours d'actualité, malgré son ancienneté, grâce au développement exponentiel des domaines tels que la biotechnologie et la chimie computationnelle. Cela tient principalement au fait que le règne végétal est une source inépuisable d'une immense variété de médicaments potentiels, accessibles au plus grand nombre de population (Séverine, 2008). De plus, cette étude évolue et s'affine sans cesse avec l'amélioration des instruments d'investigation telles que les méthodes préparatives et analytiques et de l'accès à l'information scientifique (Bahorun, 1997).

L'apparition de la technique des réseaux moléculaires (*Molecular networking*) (Mohimani *et al.*, 2016) basée sur la similitude des fragmentations en spectrométrie de masse tandem (MS/MS) a permis le ciblage de nouvelles molécules naturelles au sein d'échantillons naturels parfois très étudiées au préalable (Beniddir *et al.*, 2019). Elle permet également d'orienter le processus d'isolement vers des molécules nouvelles et certaines strates d'annotations permettent parfois d'inscrire cette démarche dans une recherche de molécules présentant une certaine bioactivité (Olivon *et al.*, 2017) constituant un moyen dans la lutte contre certaines pathologies telles que les parasitoses.

Les maladies parasitaires (parasitoses) constituent un grand problème de santé à l'échelle mondiale. En effet, près de la moitié de la population mondiale est sous leur menace (Kamel, 2017). Parmi les parasitoses incriminées figurent les helminthiases. Les infections helminthiques de l'Homme et de l'animal sont parmi les maladies les plus citées. À l'échelle mondiale, on estime que deux (2) milliards de personnes sont infectées par des nématodes gastro-intestinaux (Kumar, 2014). L'helminthiase humaine cause de graves problèmes de santé publique et touche la plupart des populations dans les zones endémiques avec des conséquences économiques et sociales majeures. Dans le secteur de l'élevage, ces helminthiases entraînent des pertes économiques élevées en raison de la baisse de fertilité, de la réduction de l'apport alimentaire, de la production laitière et la mortalité des animaux fortement parasités (Zeryehun, 2012).

Pour lutter contre ces maladies, on fait habituellement recours aux molécules anthelminthiques de synthèse. Malheureusement, l'environnement économique actuel fait que les prix des produits vétérinaires modernes associés aux coûts élevés des actes de traitements sont hors de portée des éleveurs moyens (Kabore *et al.*, 2009). En plus, l'utilisation des anthelminthiques de synthèse pour la maîtrise des vers intestinaux rencontre plusieurs limites, liées notamment à la présence de résidus dans l'environnement ou dans les produits de consommation (Séverine, 2008). Le développement de résistances aux anthelminthiques de synthèse dans les populations de nématodes gastro-intestinaux constitue un phénomène mondial de plus en plus préoccupant (Séverine, 2008).

Pour faire face à ce problème, la pharmacopée traditionnelle devient dès lors, indispensable pour la recherche et la mise au point des nouvelles substances efficaces et accessibles. Les plantes médicinales constituant une source de découverte de nouveaux principes actifs, occupent désormais une position primordiale dans le domaine de la recherche de nouveaux médicaments. Actuellement, plus de 50% de ces derniers sont d'origine naturelle (Hamada, 2008). En plus, l'utilisation des molécules d'origine végétale est une alternative aux molécules anthelminthiques de synthèse, qui entraînent des dégâts environnementaux par des rejets chimiques dans la nature (Ariste-zelize, 2020). Cette alternative de lutte semble aujourd'hui nécessaire car elle allie efficacité, facilité d'application et de mise en place (Waller *et al.*, 2004). Elle permet aussi la préservation de l'environnement en limitant l'écotoxicité des résidus des molécules de synthèses.

L'objectif général de cette étude était de contribuer à l'amélioration de la santé animale et humaine en utilisant les produits naturels issus des plantes médicinales dans la lutte contre les vers intestinaux. Il s'agissait plus spécifiquement de :

- évaluer l'activité anthelminthique des extraits de deux (2) plantes de la flore du Niger;
- caractériser les composés chimiques majoritaires des extraits réalisés.

Pour atteindre ces objectifs, les hypothèses de recherche suivantes, ont été émises :

- hypothèse 1: il existe dans la flore du Niger, des espèces qui possèdent un potentiel vermicide pouvant conduire à un médicament plus efficace contre les vers intestinaux en santé humaine et animale ;
- hypothèse 2 : les principaux composés chimiques majoritaires peuvent être à l'origine de cette activité.

En dehors de l'introduction, la conclusion et les perspectives, ce mémoire est constitué de trois (3) chapitres :

- le premier chapitre est consacré à une revue bibliographique sur les helminthes et sur les espèces étudiées ;
- le deuxième chapitre traite des méthodologies et approches utilisées. Les techniques spectrométriques, chromatographiques, les tests colorimétriques y sont décrites ;
- le troisième chapitre est consacré aux résultats obtenus lors de nos différents essais suivis de la discussion.

Révue bibliographique

Chapitre I : Généralités

I.1. Généralités sur les helminthes et les helminthiases

Les helminthes ou vers intestinaux, parasites de la sphère gastro-intestinale peuvent être divisés en plathelminthes et némathelminthes. Ces vers sont à l'origine de nombreuses affections connues sous le nom d'helminthiase. Ces helminthiases se rencontrent aussi bien chez l'humain que chez l'animal et sont liées à des maladies telles que la diarrhée, la malnutrition et la diminution du développement intellectuel (Yera & Poirier, 2015). Elles sont transmises par diverses voies telles que l'inhalation de poussière renfermant des œufs d'helminthes et la consommation d'aliments (eau, crudités, etc.) souillés, par des déjections humaines ou animales contenant des œufs de parasites (Ikram & Nadjjet, 2014). Dans ce chapitre ; nous étudions les différents types d'helminthes et les pathologies les plus fréquentes liées à ces vers puis, les moyens de lutte ou prévention contre ces helminthiases.

I.1.1. Les différents types d'helminthes et les helminthiases associées

Les helminthes sont des invertébrés et des organismes multicellulaires (métazoaire) avec un cycle de vie complexe impliquant la maturation dans un organisme hôte. Les helminthes sont divisés en trois (3) groupes les trématodes, les nématodes et les cestodes appartenant à deux (2) sous-embranchements.

I.1.1.1. Sous-embranchements des plathelminthes

Les plathelminthes sont des vers ayant un corps aplati (Bastien & Bastien, 2011). On distingue les cestodes et les trématodes (Bastien & Bastien, 2011).

➤ Cestodes

Les cestodes sont des plathelminthes endoparasites, dont l'hôte définitif est un vertébré. On y trouve des parasites à corps aplati, segmenté en anneaux. Leurs représentants les plus connus sont les tenias. Leur corps est composé de deux régions : le scolex (la tête) qui porte les éléments qui permettent d'adhérer à leur hôte par les ventouses et crochet, le strobile (le corps) qui est une succession d'éléments appelés proglottis (segments) dont la structure anatomique est toujours similaire (Thillement, 2015). La croissance est assurée par une zone située sous le scolex. Les cestodes sont hermaphrodites. Les adultes sont dépourvus d'appareil digestif, vivant généralement au niveau du système digestif de leur hôte, ils se nourrissent de matière prédigérée par ce dernier. Leurs cycles de développement sont indirects et hétéroxènes, car ils ont plusieurs hôtes intermédiaires. Les principaux parasites appartenant à ce groupe rencontrés le plus souvent chez l'Homme sont *Taenia solium*, *Taenia saginata*, *Hymenolepis nana*,

Diphyllobothrium latum (Thillement, 2015) respectivement responsables des cestodoses suivantes : les téniasis, l'hyménolépiose et la bothriocéphalose. Ces infections se manifestent généralement par une perte d'appétit, des douleurs abdominales, des nausées, de la diarrhée ou de la constipation (OMS, 2002).

➤ Trématodes

Les trématodes sont des plathelminthes, qui possèdent des cycles complexes à plusieurs hôtes intermédiaires (cycle hétéroxène). Vers plats à l'aspect foliacé et non segmenté, ils possèdent deux (2) ventouses, l'une buccale perforée par la bouche et l'autre ventrale (acétabulum). L'appareil digestif est composé d'un intestin avec de nombreux diverticules. Il n'y a pas d'autofécondation, la fécondation est souvent interne (Thillement, 2015). On rencontre deux (2) grands groupes chez les trématodes que sont les douves et les schistosomes. Les douves sont des vers hermaphrodites, parasites des épithéliums. Les espèces *Fasciola hepatica*, *Fasciola gigantica* sont des exemples. Les schistosomes sont des vers à sexes séparés, parasites des endothéliums. Les espèces *Schistosoma haematobium*, *Schistosoma mansoni* en sont des exemples (Thillement, 2015). Les trématodoses les plus rencontrées sont les schistosomiasis (ou bilharzioses) et les distomatoses causées respectivement par les vers du genre *Schistosoma* et les douves (Hervé, 2016). Les signes cliniques associés à ces helminthiases sont les douleurs abdominales d'intensité variable, la diarrhée sanglante, les hémorroïdes et les hépatosplénomégalie (Hervé, 2016).

I.1.1.2. Sous-embranchements des némathelminthes

Cet embranchement est dominé par les nématodes. Les nématodes sont des vers ronds à corps allongé non segmenté. Ils sont dépourvus d'organes locomoteurs. Leur tube digestif est complet. Leur corps est revêtu d'un tégument élastique (Hervé, 2016). Ils ne possèdent ni appareil respiratoire et circulatoire et sont également dépourvus de tunique musculaire (Bastien & Bastien, 2011). La respiration se fait par diffusion au travers de la cuticule imperméable, percée de pores. Leur système nerveux est formé d'un anneau céphalique, qui se prolonge par un cordon nerveux ventral et un cordon nerveux dorsal (Bastien & Bastien, 2011). Les nématodes appartiennent au groupe dioïque avec des systèmes génitaux simples (Thillement, 2015). Chez l'homme, on rencontre des espèces comme *Ascaris lumbricoides*, *Enterobius vermicularis*, *Strongyloides stercoralis*, *Ancylostoma duodenale*, *Dracunculus medinensis*, *Trichuris trichiura*. *Haemoncus contortus* et *Ascaridia galli* sont les espèces dominantes respectivement chez le bétail et la volaille. Les nématodoses les plus rencontrées sont les ascaridioses et les oxyuroses causées respectivement par *Ascaris lumbricoïdes* et *Enterobius*

vermicularis dont les manifestations cliniques peuvent être regroupées par la toux, le prurit anal, des épisodes de diarrhée, les douleurs abdominales, les manifestations nerveuses (Ikram & Nadjet, 2014). Une classification des helminthes est résumée dans le tableau I.

Tableau I : classification des helminthes et helminthiases.

	Sous- embranchements	Classes	Espèces	Pathologies
Helminthes (métazoaire)	Plathelminthes (vers plats)	Cestodes (corps segmenté)	<i>T.saginata,</i>	<i>Téniasis</i>
			<i>T. solium</i>	
			<i>H.nana</i>	<i>Hyménolépiose</i>
			<i>D.latum</i>	<i>Bothriocephalose</i>
		Trématodes (non segmenté)	<i>F. hepatica</i>	Distomatoses
			<i>S. mansoni</i>	Schistosomiasis (bilharzioses)
	Némathelminthes (vers ronds)	Nématodes	<i>A. lombricoïdes,</i>	<i>Ascariidoses</i>
			<i>E. vermicularis</i>	<i>Oxyuroses</i>
			<i>H.contortus</i>	<i>Haemonchoses</i>

I.1.2. Les méthodes de lutte et prévention des helminthiases

Face aux conséquences multiples dues aux helminthiases, plusieurs méthodes de lutte et de prévention sont envisagées. Les méthodes de lutte sont basées sur l'utilisation des anthelminthiques et des plantes médicinales tandis que les méthodes de prévention se résument à des prophylaxies.

I.1.2.1. Les anthelminthiques couramment utilisés

À ce jour, il existe quatre (4) grandes familles de molécules anthelminthiques d'usage courant. Ce sont les benzimidazoles et les probenzimidazoles, les imidazothiazoles et les tétrahydropyrimidines, les salicylanilides puis les lactones macrocycliques. Chaque famille est caractérisée par un mode d'action spécifique et composée de différentes molécules présentant le même effet. D'une manière générale, ces anthelminthiques sont classés en deux (2) grands groupes, à savoir les anthelminthiques à large spectre d'action (benzimidazoles, imidazothiazoles et lactones macrocycliques) et les anthelminthiques à spectre réduit (salicylanilides) (Kabore *et al.*, 2009).

➤ Les benzimidazoles et probenzimidazoles

Cette famille regroupe de nombreuses molécules comme l'Albendazole, le Flubendazole, le Triclabendazole, le Mébendazole et le Thiabendazole (figure 1) qui présentent une structure chimique commune. Ces molécules sont administrées par voie orale uniquement. Les représentants de cette famille ont un mode d'action commun. Ils se fixent spécifiquement aux molécules de β -tubuline des vers. Par cette fixation, ils empêchent la synthèse et la polymérisation des microtubules dans les cellules tégumentaires et intestinales des nématodes, sans altérer le réseau de microtubules de l'hôte. Ils perturbent ainsi des fonctions essentielles telles le maintien de la morphologie cellulaire, le mouvement des organites et la mitose, ce qui conduit à la mort du vers. Ces médicaments sont actifs sur les adultes et sur les larves des nématodes (Séverine, 2008). Les Benzimidazoles ont une activité sur tous les nématodes digestifs et respiratoires. Certaines molécules de la famille ont en plus des propriétés particulières. Le thiabendazole a une activité anti-fongique et antibactérienne. L'Albendazole est un douvicide, l'Oxfendazole, le Fubendazole, le Fenbendazole et le Mébendazole sont cestodicides (Idris et al., 2019).

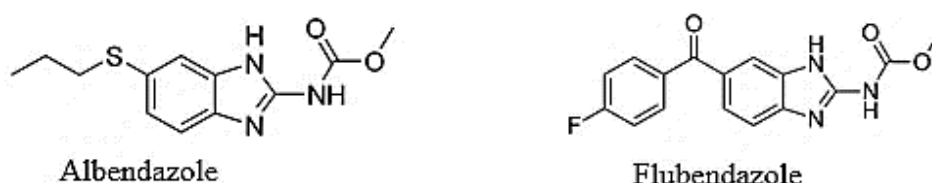


Figure 1 : structure de l'Albendazole et du Flubendazole

➤ Les imidazothiazoles et tétrahydropyrimidines

Bien que les représentants des imidazothiazoles (Lévamisole) et des tétrahydropyrimidines (Pyrantel, Morantel) aient des structures chimiques différentes, ils ont le même mode d'action. Pour cette raison, ils sont classés dans une même famille (figure 2). Ces molécules se fixent sur les récepteurs nicotiques à acétylcholine des nématodes. Ils miment l'action de l'acétylcholine. Cette fixation induit un changement de la perméabilité membranaire post-synaptique provoquant une contraction musculaire, une paralysie spastique et finalement, la mort des vers (Séverine, 2008).



Figure 2 : structure du Lévamisole et du Pyrantel

➤ **Les lactones macrocycliques.**

Les lactones macrocycliques représentent la classe d'anthelminthiques la plus récente (figure 3). Cette famille regroupe les avermectines (Ivermectine, Doramectine, Eprinomectine) et les mylbémécines (Moxidectine). Ces molécules ont une structure chimique complexe comprenant de nombreux hétérocycles lactones. Bien que leur mode d'action reste mal élucidé, il semble que les lactones macrocycliques se fixent aux canaux ioniques glutamate-dépendant de la membrane des cellules neuromusculaires des nématodes. Cette fixation provoquerait l'ouverture de ces canaux et une augmentation de la perméabilité aux ions chlorures. Ceci entraînerait une inhibition du contrôle nerveux des muscles du pharynx, de l'utérus et des muscles du corps du vers, conduisant à la mort du vers par paralysie (Séverine, 2008).

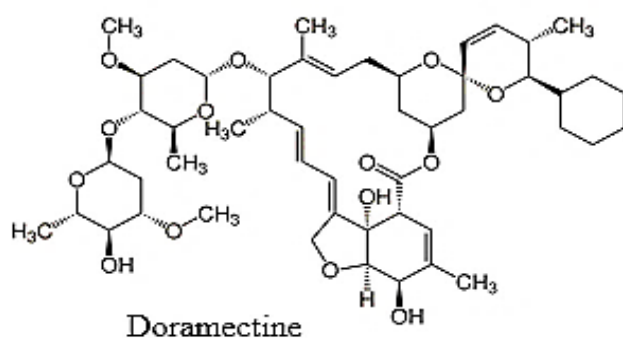


Figure 3 : structure du Doramectine

➤ **Les salicylanilides.**

Enfin, certaines molécules anthelminthiques présentent un spectre plus réduit vis-à-vis des strongles, telle que le Closantel (figure 4) ou le Rafoxanide dont l'activité vise en priorité les espèces hématophages comme *H. contortus*. Toutefois, ces molécules montrent aussi une efficacité sur les douves. Ces molécules agissent par découplage spécifique de la phosphorylation oxydative mitochondriale des cellules digestives du parasite sans affecter

celles de l'hôte (Séverine, 2008). L'action est immédiate ou prolongée et peut aller jusqu'à 35 jours contre *H. contortus*, car ces molécules sont fortement liées aux albumines plasmatiques (Hafsi & Ghalmi, 2012).

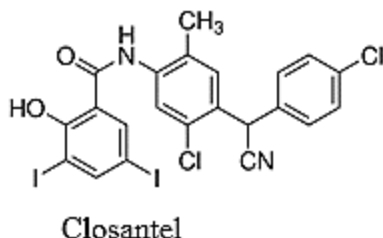


Figure 4 : structure du Closantel

En dépit de leurs efficacités, l'utilisation des anthelminthiques de synthèse pour traiter ou prévenir les helminthiases se heurte désormais à plusieurs limites liées notamment à la présence de résidus dans l'environnement ou dans les produits de consommation (Séverine, 2008). Le développement de la résistance aux anthelminthiques de synthèse dans les populations de strongles gastro intestinaux est devenu un phénomène mondial, de plus en plus préoccupant, en particulier chez les petits ruminants (Embeya, 2011). Il devient donc essentiel de faire recours à d'autres méthodes de traitement. Parmi ces méthodes, l'utilisation des plantes médicinales représente une alternative permettant de faire face à la prolifération des helminthiases.

I.1.2.2. Les solutions alternatives : les plantes médicinales à propriétés anthelminthiques

L'utilisation des plantes pour guérir ou prévenir les helminthiases est une pratique très répandue sur la plupart des continents, notamment dans les pays en voie de développement (Hounzangbe-Adote *et al.*, 2001). Ces plantes renferment une ou plusieurs substances appelées métabolites secondaires qui leur confèrent des propriétés anthelminthiques. L'usage de ces plantes représente un moyen de lutte efficace contre les parasites gastro-intestinaux en général et les vers résistants aux anthelminthiques conventionnels en particulier (Hounzangbe-Adote *et al.*, 2001). Une liste de plantes renfermant des substances à propriétés vermicides est dressée dans le tableau II.

Tableau II : espèces végétales utilisées comme anthelminthique

Espèces végétales	Organes utilisés	Noms locaux	Composés responsables	Références
<i>Tribulis terrestris</i> (Zygophyllaceae)	Plante entière	Tsaydo (H) Agaerof (T)	Tribulosine et β -sitostérol-D-glucoside	(Deepak, 2002)
<i>Allium sativum</i> (Liliaceae)	Bulbe	Tafarnua (H)	Allicine	(Combasséré, 2020)
<i>Mangifera indica</i> (Anacardiaceae)	Ecorce du tronc	Mangoro (H)	Mangiferine	(García <i>et al.</i> , 2003)
<i>Carica papaya</i> (caricaceae)	Graines	Gwanda (H)	Benzyl isothiocyanate	(Adeniyi <i>et al.</i> , 2007)
<i>Balanites aegyptiaca</i> (Zygophyllaceae)	Fruits	Adoua (H) Aboragh (T) Garbey (Z)	Balanitine-7	(Chothani & Vaghasiya, 2011)
<i>Zinziber officinale</i> (Zingiberaceae)	Rhizomes	Tchita (H)	Gingero l Shogaol	(El-sayed & El-saka, 2015)
<i>Azadirachta indica</i> (Meliaceae)	Graines	Dogo 'n yaro (H)	Azadirachtine	(Sunita <i>et al.</i> , 2017)
<i>Calotropis procera</i> (Asclepidasceae)	Latex	Tumfafia (H) Tirza (T)	Acetate de calotropenyle et calotropenyle	(Cavalcante <i>et al.</i> , 2016)

H = Haoussa ; T = Tamasheq ; Z = Zarma

Tout comme les anthelminthiques de synthèse, l'usage des plantes présente des insuffisances. Tout d'abord ; le manque de données scientifiques sur leurs principes actifs, leur mode d'action, leur toxicité éventuelle et les facteurs influençant leur efficacité (Manolaraki, 2011). A cela, il faut ajouter la question environnementale. Une exploitation abusive des plantes pour leurs propriétés médicinales pourrait causer la disparition des espèces végétales (Hounzangbe-Adote *et al.*, 2001).

Il faut noter que la recherche de nouvelles molécules anthelminthiques à partir des plantes passe d'abord par le test d'efficacité sur les animaux avant d'être modifiés plus tard pour faire face aux infections helminthiques des humains (Mukherjee *et al.*, 2016). On utilise les vers au stage adulte parce que ce stage est la cible de la chimiothérapie chez les êtres chroniquement infectés ; c'est le stage pathologique (Hu *et al.*, 2013).

Ainsi, à ces méthodes de lutte, il faut joindre les méthodes de préventions qui permettent de réduire l'expansion des helminthiases et /ou des helminthes.

I.1.2.3. Les moyens de prévention ou prophylaxie

Pour renforcer la lutte contre les infections helminthiques, plusieurs méthodes simples et efficaces sont utilisées.

➤ La prophylaxie individuelle

La prophylaxie individuelle repose sur des mesures d'hygiène (corporelles et alimentaires). L'hygiène corporelle consiste à se laver les mains avant les repas et après le passage aux toilettes et se couper les ongles régulièrement. Pour une bonne hygiène alimentaire, il faut bien laver les fruits et crudités avant leur consommation et bien cuire les aliments (Benzalim, 2010).

➤ La prophylaxie collective

Elle vise d'abord la lutte contre le péril fécal. Celle-ci consiste à protéger les sources d'eau (puits, citernes...), construire et installer des latrines régulièrement décontaminées. Cette prophylaxie vise ensuite la prévention de la propagation dans l'entourage grâce au nettoyage et désinfection des objets utilisés par la personne infestée et à l'amélioration du niveau de vie et des conditions sanitaires (Benzalim, 2010).

I.2. Généralités sur les espèces végétales étudiées

1.2.1. *Amanita amerivirosa* var. *levipes* (Amanitaceae)



Figure 5 : *Amanita amerivirosa* (Amanitaceae) (Photo : Raphaël Herve)

I.2.1.1. Morphologie et répartition

Le chapeau pouvant atteindre jusqu'à 125 mm est le plus souvent en boule, avec un revêtement lisse, luisant, d'un blanc lumineux qui finit par tourner au brun pâle. Les lames allant jusqu'à 12 mm, libres, parfois amincies avant d'arriver vers le pied, assez serrées et blanches. Le stipe pouvant aller jusqu'à (190 x 18 mm) est droit ou légèrement arqué, évasé sous les lames et blanc. L'anneau est blanc, fragile, souvent en lambeaux avec une base bulbeuse recouverte par une volve en sac, ample, et un peu teinté de rosâtre. Les spores sont amyloïdes, hyalines, lisses, globuleuses, rarement subglobuleuses. La chaire, peu molle est blanche, à odeur un peu écœurante (vireuse) du groupe et saveur douce. *A. amerivirosa* (communément appelé "ange de la mort") pousse en forêt de l'été à la fin de l'automne plutôt sous conifères, mais parfois aussi sous feuillus. Ce champignon est rencontré en Amérique du Nord et en Europe (Tulloch *et al.*, 2021; Walton, 2018).

I.2.1.2. Caractéristiques chimiques

Les espèces mortelles du genre *Amanita* ont une chimie dominée par trois groupes de toxines : les amatoxines (octapeptides bicycliques), les phallotoxines (heptapeptides bicycliques) et les virotoxines (heptapeptides monocycliques), ces dernières étant propres à un cortège d'espèces proches de l'amanite vireuse *A. amerivirosa* (Walton, 2018). Tandis que les amatoxines exercent leur cytotoxicité par une inhibition de l'ARN polymérase de type II, les phallotoxines et les virotoxines sont connues pour accélérer la polymérisation de l'actine et la protection de la F-actine contre les agents dénaturants. Elles entraînent également une nécrose hémorragique du foie (Pulman *et al.*, 2016). Seules les amatoxines sont mortelles par voie orale car seul ce groupe de toxines est biodisponible.

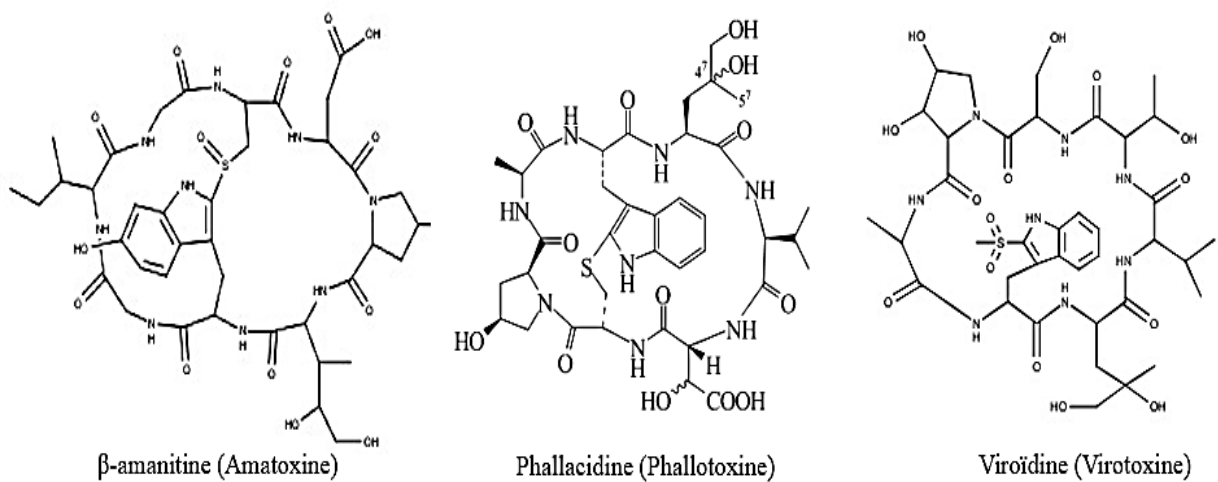


Figure 6 : quelques toxines isolées d'*A. amerivirosa* (Amanitaceae) (Walton, 2018).

I.2.2. *Boscia senegalensis* Lam (Capparaceae)



Figure 7 : *Boscia senegalensis* (Capparaceae) (Photo : African plants)

Noms locaux :

Haoussa : hanza

Zarma : heinza

Tamasheq : taedaent

I.2.2.1. Morphologie et répartition

Boscia senegalensis Lam. est un micro-phanérophyte de la famille des Capparaceae atteignant 3 à 4 m de hauteur (Belem *et al.*, 2017). C'est un arbuste polycaulé, avec une cime arrondie et dense. Son écorce est lisse et plus ou moins grumeleuse, gris-noirâtre, à tranche jaunâtre avec rhytidome vert (Arbonnier, 2000). Les rameaux sont gris-brun et plus ou moins rubescents (Arbonnier, 2000). Les feuilles coriaces sont alternes avec un limbe ovale, elliptique, long de 7 à 10 cm, large de 3 à 6 cm et avec une base arrondie ; le sommet de la feuille est arrondi ou légèrement échancré et mucroné, parfois en coin large mucroné (Belem *et al.*, 2017). On note 7 à 10 nervures latérales blanchâtres, saillantes sur le limbe, se réunissant par les sommets à 2 ou 3 mm de la marge. À l'état frais, toutes ces nervures sont translucides (Belem *et al.*, 2017). La face supérieure du limbe est glabre et la face inférieure souvent finement pubescente veloutée avec un pétiole, court, atteint 3 à 5 mm de longueur (Arbonnier, 2000). L'inflorescence de *B. senegalensis* est une panicule terminale corymbiforme large de 5 à 8 cm (Ibrahim, 2020). Les fleurs sont verdâtres, larges de 8 à 9 mm, sans pétales mais avec 4 sépales pubescents (Ibrahim, 2020). Les organes reproducteurs présentent 12 à 13 étamines longues de 6 mm et un ovaire stipité au centre et les pédicelles, longs de 8 à 10 mm, sont pubescents (Ibrahim, 2020). Une bractée filiforme, longue de 4 à 5 mm, se trouve à la base des ramifications du corymbe

(Ibrahim, 2020). Les fruits sont des baies sphériques de 1 à 2 cm de diamètre en petites grappes, avec un épicarpe verruqueux et feutré, vert puis jaune brun à maturité, contenant une pulpe visqueuse dans laquelle sont noyées 1 à 4 graines qui sont d'une teinte verdâtre à maturité (Ibrahim, 2020). Espèce soudano-zambézienne et sahélo-sindienne, *B. senegalensis* est originaire des savanes du Sahel et du Sahara. Son aire de distribution comprend l'Éthiopie, le Soudan, le Tchad, le Niger, le Mali, la Mauritanie, le Sénégal, le Burkina Faso, la Côte d'Ivoire, le Nigéria et le Cameroun la Somalie et le Kenya ; l'Algérie, la Guinée, le Ghana, le Togo, le Bénin et la République centrafricaine et le Cap-Vert (Maroyi, 2019).

1.2.2.2. Usages médicinaux

Les différents organes de *B. senegalensis* sont utilisés dans diverses préparations contre de nombreuses maladies. Ainsi, à Sokoto au Nord- Ouest du Nigeria une décoction des racines est utilisées comme abortive(Adebisi & Alebiosu, 2014). En Éthiopie, les feuilles écrasées sont utilisées contre les maux de tête (Lulekal *et al.*, 2008). Chez les Dogons, au Mali, une décoction des racines permet de guérir les plaies (Inngjerdigen *et al.*, 2010). En Mauritanie, pour combattre le Ver de Guinée (la filaire de Médine), on applique les feuilles fraîches écrasées mélangées dans du beurre sur les plaies (Naegelé, 1958). Les feuilles fraîches en cataplasme, servent aussi à guérir les enflures (Naegelé, 1958). Au soudan, les feuilles en usages externes sont employées contre le rhumatisme (Musa *et al.*, 2011). À l'Ouest du Kordofan, au Soudan, les feuilles en infusion sont employées contre le prurit oculaire et même comme tranquillisant dans certaines formes de maladies mentales (Doka & Yagi, 2012). Au Niger, une décoction des racines est utilisée dans le traitement de la drepanocytose (Issoufou *et al.*, 2018). En Algérie, une décoction des feuilles est utilisée contre les diarrhées sanguinolentes et fièvre (Hammiche, 2006). Au Mali, les décoctions des feuilles sont utilisées dans les névralgies, les coliques et contre la bilharziose puis, les racines constituent un remède contre la syphilis, les ulcères et la jaunisse (Berge *et al.*, 2005). Au Niger, la poudre des feuilles mélangée avec du sel, est utilisée contre la bilharziose, ses racines en décoction sont vermifuges et sont utilisées contre la syphilis, les ulcères, les enflures (Ibrahim, 2020). L'espèce est sollicitée pour soulager des maladies comme les caries dentaires, la drépanocytose, le rhumatisme, les hémorroïdes (Jazy *et al.*, 2017). La décoction des fruits est utilisée contre les maladies affectant l'appareil circulatoire et celle des racines contre les maladies gynéco-obstétriques (Mounkaila *et al.*, 2017). Dans la région de l'Azawagh, au Niger, une fumigation des écorces est utilisée en cas des hémorragies après accouchement ; une infusion des feuilles est utilisée contre les maux de ventre, sinusites et rhumatismes puis une décoction des racines est préconisée dans le traitement des diarrhées, œdèmes, eczéma et ictères (Ikhiri *et al.*, 2000).

Les organes de *B. senegalensis* sont également utilisés dans la médecine traditionnelle vétérinaire. Au Sénégal, le fruit est un purgatif pour les chameaux. Lorsqu'un chameau est atteint de trypanosomiase, on pile les feuilles de *B. senegalensis* avec du tabac ; l'ensemble additionné d'urine de brebis, est laissé macérer pendant une nuit (Vitouley, 2005). Le liquide est ensuite administré à l'animal par voie nasale (Vitouley, 2005). L'inhalation des feuilles moulues constitue un décongestionnant pour les chevaux (Vitouley, 2005). Le broyat des feuilles est utilisé comme insectifuge et insecticide en application sur les plaies des animaux contre les mouches. Au Niger, les feuilles de *B. senegalensis* mélangées aux feuilles de *Nicotiana tabacum* L. et *Cucumis prophetarum* L. sont employées en médecine ethno vétérinaire contre les helminthes et les tiques (Maroyi, 2019). Les différents usages en médecine traditionnelle des organes de *B. senegalensis* sont résumés dans le tableau III.

Tableau III : usages en médecine traditionnelle des différents organes de *B. senegalensis*

Organes utilisés	Usages médicaux	Mode de préparation	Références
Racines	Avortement	Décoction	(Adebisi & Alebiosu, 2014)
	Plaies		(Inngjerdingen <i>et al.</i> , 2010)
	Hématies		(Issoufou <i>et al.</i> , 2018)
	Syphilis, ulcères, jaunisse		(Berge <i>et al.</i> , 2005)
	Vermifuges, Enflures, Syphilis, Ulcères		(Ibrahim, 2020)
	Ictères, Diarrhées, Eczéma, Œdèmes		(Ikhiri <i>et al.</i> , 2000)
	Vers de Guinée, Enflures		(Naegele, 1958)
Feuilles	Rhumatisme	Cataplasme	(Musa <i>et al.</i> , 2011)
	Prurit oculaire	Infusion	(Doka & Yagi, 2012)
	Tranquillisant (maladies mentales)		
Ecorces	Diarrhées sanguinolentes, Fièvres	Décoction	(Hammiche, 2006)
	Névralgies, Coliques, Bilharziose		(Berge <i>et al.</i> , 2005)
	Hémorragies après accouchement	Fumigation	(Ikhiri <i>et al.</i> , 2000)

I.2.2.3. Etudes pharmacologiques

Plusieurs propriétés biologiques des extraits issus des organes de *B. senegalensis* ont été mises en évidence dans des travaux scientifiques.

Les extraits éthanoliques des racines ont montré une activité antibactérienne contre *Staphylococcus aureus*, avec une concentration bactéricide minimale de 6 mg/mL (Temitope, 2015). Les extraits dichlorométhane des feuilles ont présenté des activités antifongiques contre *Cladosporium cucumerinum* et *Candida albicans* à la concentration 100 µg/ L (Paulsen *et al.*, 2001). *In vivo*, les extraits hydro alcooliques des graines ont entraîné une activité anti

hyperglycémiant à la dose de 250 mg/kg sur des souris (Sakine *et al.*, 2011). Les extraits méthanoliques des feuilles de *B. senegalensis* ont montré une activité antioxydante contre le radicale DDPH (CI₅₀ = 3.539 ± 0.258 µg/mL) (Vougat *et al.*, 2015). Doumma *et al.* (2011) ont évalué les effets insecticides des extraits aqueux sur les trois stades de développement (œufs, larves et adultes) de *Callosobruchus maculatus*, un insecte parasite de *Vigna unguiculata*. Les extraits ont montré une activité insecticide à la concentration de 2 g/L après 24 h. Les extraits hydrométhanoliques des feuilles ont été testés pour leurs activités anti tumorales contre trois lignées cellulaires humaines issues des seins (MCF7), du foie (HepG2) et du colon (HCT). Il ressort que ces extraits possèdent des effets anti tumorales sur les trois lignées cellulaires : HepG2 (IC₅₀ = 24.6 µg/mL), MCF7 (IC₅₀ = 22.5 µg/mL) et HCT (IC₅₀ = 40.3 µg/mL) (Elkhateeb *et al.*, 2019).

I.2.2.4. Etudes phytochimiques

Les organes de *B. senegalensis* renferment plusieurs composés chimiques dont certains ont été isolés, c'est le cas de Rhamnocitrin-3-O-β-D-(6"-O-E-feruloyl)-glucopyranoside (Bosenegaloside A) ; Rhamnocitrin-3-O-β-D-(6"-O-E-p-coumaroyl)-glucopyranoside; Rhamnocitrin-3-O-β-D-glucopyranoside; 3,4,5-trimethoxyphenol-β-D-glucopyranoside; Lasianthionoside A; 3,7-diméthyl-1-octène-3,6,7-triol-6-O-β-D-glucopyranoside; Syringine et Austroside B issus des feuilles de *B. senegalensis* (Morgan *et al.*, 2014). Les composés suivants : acide caféique; Glucocapparine sulfate ; Benzoylglucarate ; acide coumarique glucoside ; Quercetin-di-O-glucoside ; Quercetin-O-glucoside-O-rhamnoside ; Rhamentin-di-O-glucoside ; Quercetin-di-O-glucoside-O-rhamnoside ; Rhamentin-di-O-glucoside-O-rhmanoside ; Quercetin-di-O-benzoyl glucoside ; Rhamnocitrin-O-rutinoside ; Rhamnocitrin-O-feruloyl glucoside O-glucoside ; Rhamnocitrin-O-coumaroyl ; Rhamnocitrin-O-coumaroyl ; Rhamnocitrin-O-glucoside ont été également isolés des feuilles (Elkhateeb *et al.*, 2019). (A. M. A. Morgan *et al.*, 2014) ont isolé des feuilles de *B. senegalensis* les lignanes suivants : 4'-hydroxy-3,3',4,5,5'-pentaméthoxy-7,9':7',9'-diepoxylygnane;(+)lariciresinol-9-O-β-D-glucopyranoside; (+) lyoniresinol-3α-O-β-D-glucopyranoside; Lyoniresinol-3α-O-β-D-glucopyranoside; Alangilignoside D. Les racines renferment des tanins ; alcaloïdes ; saponosides ; stéroïdes et terpenoïdes ; flavonoïdes, quinones (Chaibou *et al.*, 2020) et de nombreux minéraux : Na ; K ; Ca ; Mg ; Zn ; Fe ; Pb ; Cu ; Mn et P (Temitope, 2015).

I.2.3. *Chrozophora brocchiana* (Vis.) Schweinf (Euphorbiaceae)



Figure 8 : *Chrozophora brocchiana* (Euphorbiaceae) (Photo : Mariod)

Noms locaux :

Haoussa : Damaïgi

Zarma : Dorey

Tamasheq : Aflinjid

I.2.3.1. Morphologie et répartition

Chrozophora brocchiana, espèce végétale appartenant à la famille des Euphorbiaceae renfermant 300 genres et près de 7000 espèces (Govaerts, 2000) est une plante herbacée arbustive monoïque, atteignant 60 cm à 150 cm de haut ayant une racine pivotante trapue et très longue avec une tige ascendante, noueuse, fortement ramifiée à partir de la base, garnie de poils étoiles blancs veloutés. Les feuilles sont alternes, simples ; stipules petites ; pétiole long ; limbe anguleux-ovale à triangulaire-ovale, de 2,5-4 cm x 1,5-3 cm, base profondément cordée à 2 glandes, apex arrondi, bords ondulés, face supérieure légèrement poilue, face inférieure veloutée (Mariod, 2014). L'inflorescence est constituée d'une grappe axillaire condensée, à fleurs mâles situées en haut et fleurs femelles situées à la base. Les fleurs sont unisexuées, régulières, 5-mères ; calice à poils veloutés, pétales rouge foncé ; fleurs mâles à court pédicelle, étamines jusqu'à 10, filets réunis en colonne ; fleurs femelles à pédicelle qui s'allonge chez le fruit jusqu'à 6 mm, pétales plus petits que chez les fleurs mâles, ovaire supère, 3-loculaire, styles 3, fusionnés à la base, 2-fides à l'apex. Le fruit est une capsule 3-lobée d'environ 1 cm de long, couverte de denses écailles stipitées, brillantes, blanches ou teintées de violet, à 3 graines.

Graines ovoïdes, lisses, brun jaunâtre, couvertes d'un arille mince, pâle et brillant (Mariod, 2017). Le genre *Chrozophora* comprend 7-8 espèces et est réparti en Afrique, en Europe méridionale et en Asie. *Chrozophora brocchiana* pousse sur des sols sableux dans les régions arides. Il donne de nouvelles pousses pendant toute la saison sèche. Cette espèce est présente depuis le Cap-Vert et la Mauritanie jusqu'au Soudan, en passant par toute la région du Sahel ; on la trouve également en Algérie, Éthiopie et en Égypte (Mariod, 2014).

I.2.3.2. Usages médicaux

Les plantes de la famille *Euphorbiaceae* considérées comme des inhibiteurs de l'ovulation sont utilisées souvent comme contraceptifs (Adjanohoun *et al.*, 1983). Les *Euphorbiaceae* sont employés en cas de maladies de la peau et des troubles digestifs (Mariod, 2014). Différentes espèces du genre *Chrozophora* sont fréquemment utilisées dans le traitement des maladies infectieuses telle que la syphilis, la fièvre typhoïde et aussi des maladies liées au stress oxydatif (Mariod, 2014). *Chrozophora brocchiana* est une espèce qui est largement utilisée dans la médecine traditionnelle africaine. Au Bénin, les feuilles séchées réduites en poudre se prennent dans de l'eau pour traiter la diarrhée tandis que le suc des racines est utilisé en gouttes dans l'oreille pour traiter les otites (Schmelzer, 2007).

Dans la région du Hoggar, au Mali et au Niger, la cendre de la plante entière s'applique sur les plaies des humains et des dromadaires (Schmelzer, 2007).

Au Niger, dans la région de l'Ader, les Haoussas frictionnent les parties du corps affectées par des points de côté avec des feuilles broyées (Lescot, 1972). Le décocté des feuilles en boisson facilite l'accouchement (Lescot, 1972). Associé au décocté de feuilles de *Combretum glutinosum*, de la plante entière de *Sida alba*, ce décocté soigne la dysenterie (Adjanohoun *et al.*, 1985). Le suc des feuilles est employé en instillations oculaires contre les ophtalmies, le décocté est réputé vermifuge (Baoua *et al.*, 1974) et est employé comme un antiseptique des plaies purulentes (Baoua *et al.*, 1974). Cette plante a des vertus antidiarrhéiques et stabilisatrices de grossesse. Les parties aériennes se prennent en décoction pour fortifier les mères allaitantes et leurs enfants, ainsi que pour traiter la fièvre, les migraines et la dysenterie. Elle est utilisée pour soigner les maux de ventre aussi bien chez l'enfant que chez l'adulte (Ikhiri *et al.*, 2000), de même que les hémorroïdes (Mounkaila *et al.*, 2017). La poudre de feuilles administrée par voie orale soigne la diarrhée (Jazy *et al.*, 2017). Dans la région de l'Azawagh, au Niger, le macéré des feuilles associées aux écorces de *Commiphora africana* et la tige de *Balanites aegyptiaca* sont utilisés contre la toux (Ikhiri *et al.*, 2000). Les feuilles associées à celles de

Balanites aegyptiaca, de *Maerua crassifolia* et *Cadaba glandulosa* sont pilées et utilisées contre la dyspepsie (Ikhiri *et al.*, 2000). Le macéré des feuilles est utilisé contre les œdèmes, maux de ventre et diarrhées. Une décoction des feuilles est utilisée contre la dysenterie et la lèpre (Ikhiri *et al.*, 2000). Au Burkina Faso, la plante entière est utilisée comme fortifiant infantile et au Sénégal on l'utilise contre les dermatoses (Mariod, 2014). Les différents usages en médecine traditionnelle de *C. brocchiana* sont rassemblés dans le tableau IV.

Tableau IV : usages en médecine traditionnelle de *Chrozophora brocchiana* (Euphorbiaceae)

Organes utilisés	Usages médicaux	Mode de préparation	Références
Feuilles	Diarrhées	Macération	(Ikhiri <i>et al.</i> , 2000)
	Maux de ventre		
	Dysenterie		
	Lèpre		
	Œdèmes		
Racines	Ophtalmie	Suc	(Baoua <i>et al.</i> , 1974)
	Vermifuge	Décoction	
	Plaies		
	Otites		
Plantes entières	Plaies	Cendre	(Schmelzer, 2007)
	Fièvres	Décoction	(Ikhiri <i>et al.</i> , 2000)
	Migraines		
	Dysenterie		
	Maux de ventre		
Dermatoses	(Mariod, 2014)		
Parties aériennes	Hémorroïdes	Décoction	(Mounkaila <i>et al.</i> , 2017)

I.2.3.3. Etudes pharmacologiques

Plusieurs investigations *in vitro* et *in vivo* ont permis de justifier scientifiquement certaines utilisations dans la médecine traditionnelle. Les plantes du genre *Chrozophora* sont connues pour leurs propriétés antifongiques (Mariod, 2014). Des extraits réalisés avec les différentes parties de la plante *Chrozophora brocchiana* ont montré des propriétés pharmacologiques significatives telles que des activités anti-cancérogène, antioxydante, antiplasmodiale et antidiabétique (Hawas, 2007). Les activités antimicrobiennes de la plante ont été mises en évidence par des études *in vitro* sur des souches bactériennes : trois bactéries à Gram positif (*Bacillus cereus*, *Bacillus subtilis*, *Staphylococcus aureus*) et trois bactéries à Gram négatif (*Escherichia coli*, *Pseudomonas aeruginosa*, et *Salmonella typhi*) et deux souches fongiques (*Candida albicans* et *Aspergillus flavus*). Les résultats de cette étude ont révélé les propriétés antibactériennes et antifongiques des extraits de cette plante (Mariod, 2020). Les résultats de l'étude réalisée *in vivo*, ont montré les propriétés hypoglycémiques des extraits aqueux de la partie aérienne de la plante *Chrozophora brocchiana*, injectée à des rats. Les extraits de cette plante possèdent des propriétés anti plasmodiales (Nassirou *et al.*, 2015).

I.2.3.4. Etudes phytochimiques

Les multiples propriétés pharmacologiques de *C. brocchiana* sont dues à sa composition chimique. Des feuilles, ont été isolées l'acide brocchlin carboxylique, le méthyle brocchlin carboxylate, l'acide gallique, le gallate de méthyle, le gallate d'éthyle, de l'acide éllagique, de l'acide mono- et di-méthoxy ellagique, l'apigénine et la lutéoline 7-O-glucoside (Hawas, 2007). Les flavonoïdes suivants ont été isolés de la plante entière de *C. brocchiana* : quercétine, kaempferol, apigénine, quercétin-3 -rhamnoside, quercétin-3-O-rutinoside (Rutine), Apigénin-7-Glucoside, Quercétin-3-O-glucoside, Quercétin-7-O-Glucoside, Kaempferol-3 – Galactoside ; ainsi que les acides phénoliques : Acide Gallique, Acide Caféique et Acide Chlorogénique (Emam, 2009). Les graines renferment 26,2% de protéine et 37-40% d'huiles dont l'analyse de la composition a montré que l'acide linoléique est le principal composé, suivi par l'acide palmitique, l'acide oléique et l'acide stéarique (Mariod, 2020). Les parties aériennes renferment des acides organiques, l'Acide Gallique, le Methylgallate, l'Ethylgallate, l'Acide Ellagique, l'Acide monométhoxyellagique et le diméthoxyellagique, l'Apigénine, le Lutéolin-7-O-glucoside, des terpenoïdes, des flavonoïdes, des alcaloïdes, des coumarines et des tanins (Mariod, 2014; Chaibou *et al.*, 2020).

Matériel et méthodes

Chapitre II : Matériel et méthodes

Pour la réalisation de nos travaux, la méthodologie employée est divisée en deux (2) grands groupes :

- les tests chimiques qui ont pour but de fournir les renseignements sur la composition phytochimique des différents extraits des espèces étudiées afin d'isoler et de caractériser les composés intéressants ;
- les tests biologiques qui ont pour but d'évaluer les propriétés pharmacologiques de ces espèces.

II.1. Matériel végétal

Les espèces végétales ont été récoltées dans la région de Niamey (Niger) pendant le mois d'Aout 2017 et l'identification a été faite au département de biologie de la faculté des sciences et techniques de l'Université A. Moumouni de Niamey (Niger). Des specimens ont été déposés dans un herbier au laboratoire Garba Mounkaila de l'Université Abdou Moumouni sous les numéros suivants B92 pour *B. senegalensis* et C18 pour *C. brocchiana*. Le champignon *Amanita amerivirosa* a été récolté à Finistère (France) en Septembre 2021 et identifié à la faculté de pharmacie de l'Université Paris-Saclay (France). Dans le cadre de notre étude le champignon *Amanita amerivirosa*, les racines de *Boscia senegalensis* et les parties aériennes de *Chrozophora brocchiana* ont été utilisés. Ces organes ont été séparément lavés, séchés à l'abri de la lumière à température ambiante pendant une semaine puis réduits en poudre grâce à un mortier et un pilon dans le cas de *B. senegalensis* et *C. brocchiana*. Le champignon quant à lui, a été découpé en morceaux fins à l'aide d'une paire de ciseaux.

II.2. Extraction

Au total 750 grammes, 500 grammes et 200 grammes respectivement de racines de *B. senegalensis*, champignon entier d'*A. amerivirosa* et la partie aérienne de *C. brocchiana* ont été macérés pendant 24 heures dans un mélange dichlorométhane-méthanol (1 :1) à un ratio drogue-solvant 1 :5. L'opération a été répétée trois (3) fois dans le but d'épuiser la matière végétale par extraction de la quantité maximale de composés phytochimiques contenus dans ces drogues. Les différents extraits ont été filtrés et concentrés grâce à un rotavapor. Les extraits obtenus ont été pesés et conservés dans des ballons et tubes tarés pour les tests de caractérisation chimique (isolement et identification structurale).

II. 3. Préparation des différents extraits par extractions successives

Dans cette partie, seules *B. senegalensis* et *C. brocchiana* sont concernées. Des extractions successives par macération avec des solvants de polarités croissantes (Hexane, Dichlorométhane, Acétate d'éthyle, Ethanol-Eau) ont été réalisées. Cent vingt grammes (120 g) de poudre végétale ont été introduits dans un ballon, préalablement pesé. Un litre (1 L) de solvant est ajouté au ballon. Ce ballon a été maintenu pendant 24 heures à température ambiante. Le contenu a été ensuite filtré sur papier filtre (Whatman N°3). Le marc obtenu a été séché, pesé et repris avec un autre solvant plus polaire. Les phases organiques et hydro alcooliques ont alors été évaporées à sec. Les extraits ainsi obtenus ont été pesés et conservés dans des ballons à température ambiante prêts à être utilisés pour les tests biologiques et phytochimiques.

Le processus d'extraction est résumé dans la figure 9 ci-dessous.

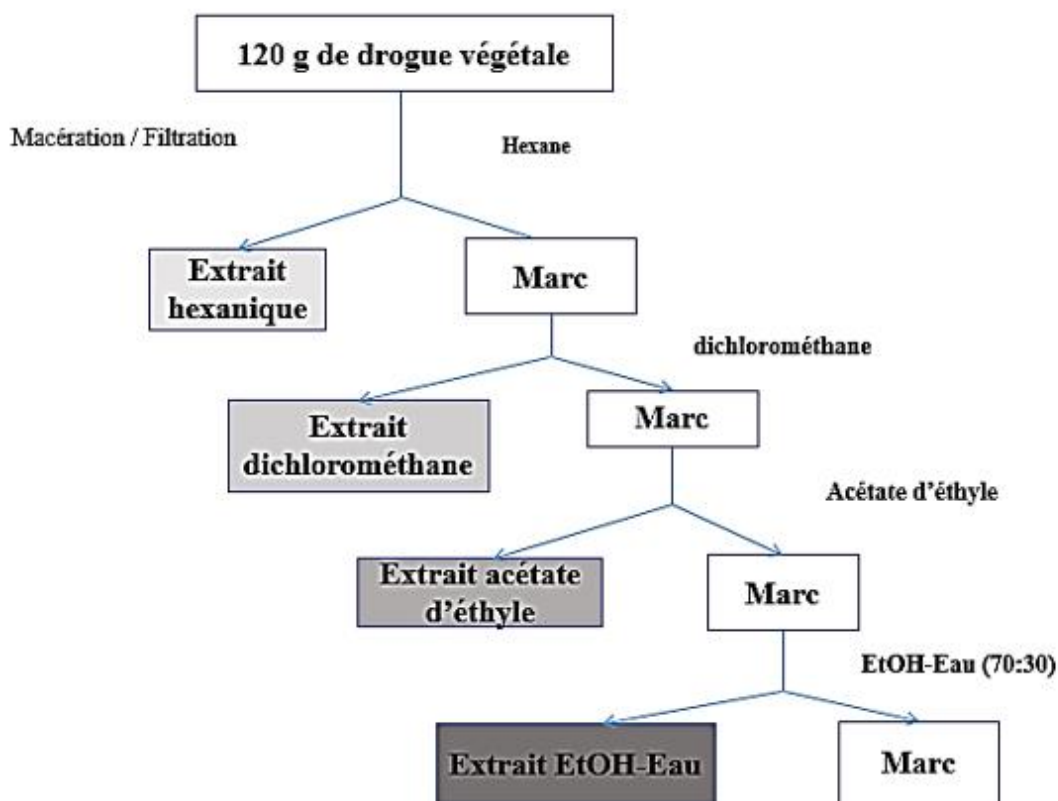


Figure 9 : diagramme des extractions successives

Le calcul de rendement des extractions a été effectué par la formule suivante :

$$\text{Rendement (\%)} = \frac{\text{masse extrait sec (g)} \times 100}{\text{masse poudre végétale (g)}}$$

II.4. Criblage phytochimique

Les différents extraits obtenus ont été soumis à un criblage afin de mettre en évidence les différentes familles de composés phytochimiques présentes dans ces derniers. Les composés recherchés sont les alcaloïdes, les tanins, les flavonoïdes, les saponosides, les quinones, les stéroïdes et terpenoïdes. Ces tests de criblage phytochimique se sont réalisés grâce aux méthodes standards utilisant les réactions de coloration et précipitation.

➤ Mise en évidence des alcaloïdes

Pour chaque extrait on réalise la procédure suivante : on ajoute 5 ml d'HCl 1% à 1 mL de chaque extrait, le tout est chauffé au bain marie à 40°C, puis on divise chaque extrait en deux volumes égaux. Dans le premier tube, on ajoute deux gouttes du réactif de Mayer qui donne un précipité blanc en cas de réaction positive. Dans le second tube, on ajoute deux gouttes du réactif de Dragendorff qui donne un précipité rouge-orangé en présence des alcaloïdes (Majob *et al.*, 2003).

➤ Mise en évidence des tanins

La détection des tanins a été faite, pour chaque extrait par l'ajout, dans un tube à essai de 5 mL d'extrait et 1 mL de la solution aqueuse de FeCl₃ diluée à 1%. En présence de tanins, il se développe une coloration verdâtre (tanins condensés) ou bleu-noirâtre (tanins hydrolysables) (Bruneton, 1999).

➤ Mise en évidence des flavonoïdes

Les flavonoïdes ont été identifiés par la réaction de la cyanidine : pour chaque extrait, un volume de 5 mL d'extrait est mis dans un tube avec 5 mL d'alcool chlorhydrique (alcool à 95°, eau distillée, acide chlorhydrique à volume égale), puis quelques copeaux de magnésium et 1 mL d'alcool iso amylique sont ajoutés. L'apparition d'une coloration rose-orangée (flavones) ou rose-violacée (flavonones) ou rouge (flavonols) au niveau du surnageant d'alcool iso amylique, indique la présence d'un flavonoïde libre (génine) (Belfekih *et al.*, 2017).

➤ Mise en évidence des quinones

Celle-ci a été réalisée grâce à la réaction de Bornstraëgen. Pour chaque extrait, deux (2) mL ont été évaporés à sec. Le résidu est trituré dans 5 mL d'acide chlorhydrique au 1/5. Le triturât est versé dans un tube à essai et est porté ensuite au bain-marie pendant 30 min. Après refroidissement, il est extrait par 20 mL de chloroforme. Une solution de NaOH à 1% (0,5 mL) a été ajoutée à la solution chloroformique. Une coloration rouge ou violette constitue le signe de la présence de quinones (Oloyede, 2005)

➤ **Mise en évidence des stéroïdes et terpenoïdes**

Les stéroïdes et les terpenoïdes ont été recherchés par la réaction de Liebermann. Pour chaque extrait, on évapore à sec 5 mL. Le résidu sec est repris avec 1 mL d'anhydride acétique puis 1 mL de chloroforme. Quelques gouttes d'acide sulfurique sont déposées au fond du tube contenant l'extrait. En cas de réaction positive, il se produit un anneau rouge brunâtre ou violet à la zone de contact des deux liquides (Békro *et al.*, 2007)

➤ **Mise en évidence des saponosides**

À 5ml de chaque extrait on ajoute 10 ml de l'eau distillée, le tout est agité avec énergie en position horizontale pendant 15 secondes. Le mélange est laissé au repos pendant 15 min. La persistance de la mousse d'au moins 1 cm pendant 15 min indique la présence des saponines (N'Guessan *et al.*, 2009).

II.5. Méthode de dosage des composés phénoliques

➤ **Dosage des polyphénols totaux**

Le dosage des polyphénols totaux a été réalisé suivant la méthode de (Singleton *et al.*, 1999), en utilisant le réactif de Folin-Ciocalteu. Pour ce faire, les extraits ont été dilués dans le méthanol à une concentration de 1 mg/mL. Cent microlitres (100 µL) des extraits dilués ont été mis dans des tubes à essais, puis sont additionnés de 500 µL du réactif de Folin-Ciocalteu dilués dix fois dans de l'eau distillée. Après une incubation d'une heure à température ambiante, 2 mL de carbonate de sodium (Na_2CO_3) à 2 % sont ajoutés. Les tubes ont été ensuite agités et placés à l'obscurité pendant 30 minutes à température ambiante. Les mêmes étapes ont été suivies pour établir une gamme étalon (0 à 100 µg/mL) préparée à partir d'une solution mère d'acide gallique (0,5 g/L). L'absorbance est mesurée à l'aide d'un spectrophotomètre UV-visible, à une longueur d'onde de 760 nm. Les valeurs de l'absorbance de chaque concentration nous ont permis de tracer la courbe d'étalonnage de l'acide gallique ($y = - 0,2003x + 1,2201$; $R^2 =$

0,9415). Les résultats sont exprimés en milligramme d'équivalent acide gallique par milligramme d'extrait sec (mg EAG/mg d'extrait sec). Toutes les manipulations sont réalisées en triple. Les teneurs en polyphénols totaux sont calculées par la formule suivante :

$$\text{Teneur polyphénols} = \frac{\text{concentration acide gallique(mg/mL)} \times \text{Volume d'extrait(mL)}}{\text{masse d'extrait(g)}}$$

➤ Dosage des flavonoïdes totaux

Le dosage des flavonoïdes totaux a été effectué par la réaction de Dowd, selon la méthode décrite par (Dehpour *et al.*, 2009). A 500 µL de chaque extrait, ont été ajoutés 1500 µL de méthanol à 95 %, 100 µL de AlCl₃ à 10 %, 100 µL d'acétate de sodium 1 M et 2,8 mL d'eau distillée. Le mélange a été agité puis incubé à l'obscurité et à la température ambiante pendant 30 min. Le blanc a été réalisé par remplacement de l'extrait par du méthanol à 95 % et l'absorbance a été mesurée à 415 nm au spectrophotomètre UV. Les résultats ont été exprimés en mg équivalent quercétine/g extrait sec (mg EQ/g) en se référant à la courbe d'étalonnage de la quercétine ($y = -0,3151x + 2,0881$; $R^2 = 0,9791$) avec une gamme de concentrations allant de 0,4 mg/mL à 0,04 mg/mL. Les essais ont été répétés trois (3) fois. Les teneurs en flavonoïdes sont calculées par la formule suivante :

$$\text{Teneur flavonoides} = \frac{\text{concentration quercetine (mg/mL)} \times \text{Volume d'extrait(mL)}}{\text{masse d'extrait(g)}}$$

➤ Dosage des tanins condensés

La teneur en tanins condensés a été déterminée selon la méthode de Julkunen-Titto, décrite par (Kouamé *et al.*, 2021). Une quantité de 50 mL de chaque extrait a été ajoutée à 1500 µL de la solution à 4% de vanilline dans le méthanol. Le mélange résultant est vigoureusement agité et un volume de 750 µL d'acide chlorhydrique concentré y a été additionné. Le mélange obtenu est laissé au repos pour réagir à température ambiante pendant 20 min. L'absorbance a été mesurée à une longueur d'onde de 550 nm contre un blanc constitué de la solution à 4% de vanilline dans le méthanol. Une solution mère d'acide tannique a été utilisée comme standard de référence pour l'établissement de la courbe d'étalonnage ($y = -0,2325x + 1,3465$; $R^2 = 0,9712$) et pour la quantification des teneurs en tanins condensés exprimés en milligramme équivalent d'acide tannique par gramme d'extrait sec (mg EAT/g). Les essais ont été réalisés en triple pour chaque extrait. La formule suivante est utilisée pour estimer les teneurs en tanins condensés des extraits.

$$\text{Teneur tanins condensés} = \frac{\text{concentration acide tanique (mg/mL)} \times \text{Volume extrait(mL)}}{\text{masse extrait(g)}}$$

II.6. Analyse statistique des résultats

Le test t-student est utilisé pour comparer les efficacités des différents extraits et les solutions témoins. Le test ANOVA est utilisé pour la comparaison des teneurs en composés phénoliques des différents extraits. Toutes ces analyses statistiques ont été effectuées grâce au Logiciel XLSTAT 2017.02 incorporé dans EXCEL 16.4393. La significativité des différences est appréciée à $p < 0,05$.

II.7. Fractionnement et purification des extraits

Les extraits bruts ont été fractionnés par chromatographie flash (*CombiFlashEZ*) en utilisant des paramètres variés (gradient, débit, taille de colonne...) selon la quantité ou la nature de matière à fractionner. Les fractions semblables ont été regroupées par chromatographie sur couche mince (CCM). La purification des fractions est réalisée grâce à une CLHP-préparative (*1260 Infinity (Agilent)*) dont les conditions de mise au point varient en fonction du composé à purifier (nature du composé, solubilité, quantité...).

II.8. Analyse LC-MS

Les analyses UPLC-ESI-HRMS sont effectuées grâce à un système UPLC couplé à un spectromètre de masse *Agilent 6546*, équipé d'une source électrospray (ESI) utilisé en mode positif et d'un analyseur de type quadrupole-temps de vol (Q-TOF). La séparation est réalisée par chromatographie à polarité phase inverse avec des colonnes analytiques octadécylsilylées (C_{18}) protégées par des précolonnes avec un débit de $0.5 \text{ mL} \cdot \text{min}^{-1}$ suivant un gradient de 1% B à 100% B pendant 16 min (avec : A= $\text{H}_2\text{O} + 0.1\%$ acide formique et B = Acetonitrile + 0.1% acide formique). Les mesures sont effectuées de 100 à 1200 (valeurs de m/z). Les cinq (5) ions les plus intenses sont fragmentés avec une énergie de collision de 70eV. Les extraits solubilisés dans le MeOH de concentration 1,5 mg/mL sont injectés avec un volume de 5 μL .

Les paramètres de source suivants ont été utilisés : tension du capillaire (3500 V) ; température de la source (320°C) ; débit du gaz N_2 ($11 \text{ mL} \cdot \text{min}^{-1}$). La purine $\text{C}_5\text{H}_4\text{N}_4$ $[\text{M}+\text{H}]^+$ ion (m/z 121.050873) et le hexakis (1H,1H,3H-tetrafluoropropoxy)-phosphazene $\text{C}_{18}\text{H}_{18}\text{F}_{24}\text{N}_3\text{O}_6\text{P}_3$ $[\text{M}+\text{H}]^+$ ion (m/z 922.009 798) sont les standards utilisés comme masses de calibrage. L'acquisition et le traitement des données (spectres de masse et UV) se sont effectués à l'aide du logiciel *MassHunter (Agilent)*. En plus de ce logiciel, d'autres logiciels et bases de données

tels que le *Dictionary of Natural Products (DNP)* ; *Reaxys* sont utilisés pour générer des formules brutes.

II.9. Réalisation des réseaux moléculaires

Afin de se renseigner sur la diversité chimique de nos extraits et fractions, des réseaux moléculaires (*molecular network*) ont été générés. Ces réseaux moléculaires permettent d'ordonner, de visualiser et de mettre en évidence les interconnexions des différents composés présents dans les extraits par l'utilisation de leurs données LC-MS/MS (Nothias *et al.*, 2016). La technique des réseaux moléculaires (*molecular networking*), est un outil innovant conçu par les groupes de Pieter C. Dorrestein et de Nuno Bandeira (Université de Californie, San Diego), qui repose sur le postulat suivant : « les molécules structurellement proches partagent des voies de fragmentations similaires en spectrométrie de masse conduisant à des fragments ou des pertes de neutres en commun » (Nothias *et al.*, 2015). Le réseau moléculaire ou réseau de similarité spectrale est une approche bio-informatique innovante récente, qui permet de comparer et d'organiser les spectres MS² expérimentaux, liés à la structure d'une molécule et de les visualiser sous la forme d'une carte de similarité spectrale, mettant en lumière l'existence de groupes spectraux ainsi que leurs degrés de similarité (Raheem *et al.*, 2019).

Ainsi, dans les réseaux moléculaires, les spectres MS² d'un jeu de données sont comparés deux à deux par alignement spectral, puis un indice de corrélation, appelé similarité cosinus (*cosine score*, CS) est attribué entre chaque paire de spectres. Les données sont simplifiées par la fusion des spectres considérés comme identiques (*MS-Cluster*), puis l'alignement spectral est effectué sur chaque paire de spectre MS² sur la base des différences entre les valeurs des *m/z* et de leur intensité relative. Deux spectres superposables de ce type ont un CS de 1, alors que deux spectres sans ion ou perte de neutre commun ont un CS de 0. Autrement dit, une similarité spectrale (ou indice *cosine score* noté CS) est attribuée entre chaque paire de spectre MS² comparés. Cette valeur est comprise entre 0 et 1. Lorsque cette valeur est égale à 0, les deux spectres n'ont aucun ion fragment en commun et lorsqu'elle est égale à 1, les deux structures sont totalement identiques. Les spectres MS² des composés identiques sont alors fusionnés à l'aide d'un algorithme *MS-Cluster* en un seul nœud ou spectre consensus. Les spectres ayant un CS supérieur à une certaine valeur (typiquement 0,7) ont une forte similarité spectrale ; ils sont alors considérés comme issus de la fragmentation de précurseurs chimiquement apparentés.

Généralement, la similarité spectrale entre deux composés apparaît lorsque le CS est supérieur à 0,7 et qu'au moins six (6) ions fragments communs sont détectés (Nothias *et al.*, 2015). Ce

qui signifie que les deux composés ont une structure chimique proche. Ils sont alors regroupés et représentés, sur le réseau, sous forme de nœuds liés entre eux au sein d'un cluster. Par la suite, un alignement spectral est effectué, permettant des recherches de similarité même lorsque les masses des ions précurseurs ne sont pas identiques. Ces spectres, une fois organisés, sont comparés à ceux des bases de données spectrales communautaires *GNPS* (Global Natural Product Social molecular networking) ainsi qu'aux différentes bases de données spectrales (*MassBank*, *Metfrag*, *NAP...*).

Pour ce faire, les données obtenues de l'analyse LC-MS/MS (extension « .d ») sont d'abord converties en format universel « .mzXML » par le logiciel *MSConvert* (Yang et al., 2013). Ensuite, ceux-ci sont soumis à un prétraitement via le logiciel *MZMine2* qui a consisté à réduire l'information qui correspond au bruit de fond, d'ôter les isotopes des massifs isotopiques, etc. Ces données converties et traitées sont envoyées sur la plateforme *GNPS* (*Global Natural Product Social Molecular Networking*) afin de les comparer aux spectres contenus dans cette base de données. Contrairement aux paramètres utilisés dans *MZmine2* qui étaient fonction des échantillons, ceux utilisés sur *GNPS* pour générer les réseaux restent inchangés pour tous les extraits (*Precursor Ion Mass Tolerance* = 0.02 ; *Fragment Ion Mass Tolerance* = 0.02 ; *cosine* = 0.6). *DEREPLICATOR* a été utilisé pour faire une annotation. La figure 10 représente le flux de travail (*workflow*) lors de la réalisation des réseaux moléculaires.

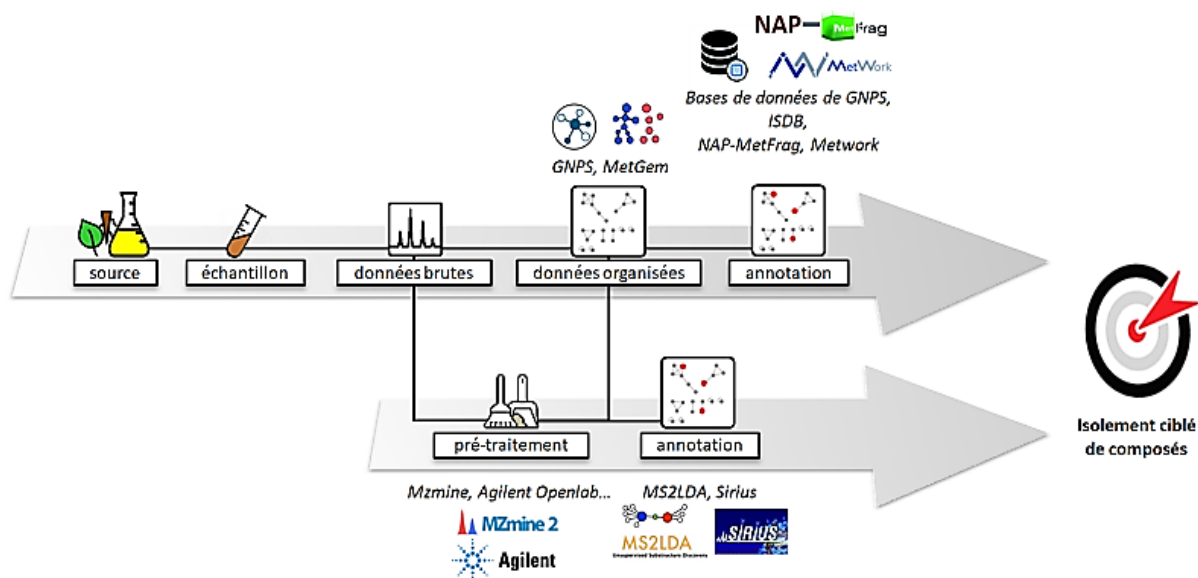


Figure 10 : flux de travail (*workflow*) pour la réalisation des réseaux moléculaires (molecular networking) (Nothias et al., 2015).

Enfin, les réseaux moléculaires générés peuvent être visualisés en ligne directement sur le site du *GNPS* (<http://gnps.ucsd.edu>) ou exportés dans un logiciel de visualisation tel que *Cytoscape* (version 3.9.0) (Shannon *et al.*, 2003). Dans *Cytoscape*, chaque spectre est représenté par un nœud connecté par une liaison plus ou moins épaisse dépendant de la similitude des deux spectres MS/MS entre eux suivant la valeur du cosinus. La valeur du rapport m/z de l'ion pseudo-moléculaire du composé est indiquée à l'intérieur de chaque nœud. Les spectres n'ayant aucune correspondance avec d'autres spectres sont représentés par des nœuds reliés à eux-mêmes (*Selfloop*). Lors de la réalisation des réseaux moléculaires, une comparaison avec la base de données spectrale du *GNPS* est réalisée. Ainsi, plusieurs correspondances peuvent être identifiées permettant par la suite une première approche structurale du *cluster* dans lequel la molécule a été identifiée.

II.10. Tests anthelminthiques

Le test de l'efficacité anthelminthique *in vitro* a été utilisé pour évaluer les activités des extraits sur les vers adultes selon le protocole utilisé par Kaboré (2009) qui consiste à mettre en contact les vers avec des solutions d'extraits de plantes à diverses concentrations avec quelques modifications portant sur l'espèce de parasite et les concentrations choisies.

À partir de chaque extrait, une solution mère de 20 g/L a été préparée dans une solution normale saline (0,9 % NaCl). Des solutions filles de concentration 1,25 g/L ; 2,5 g/L ; 5 g/L et 10 g/L ont été obtenues par dilution de la solution mère dans la même solution. Pour la référence, une solution de 2 g/L préparée à partir du Lévamisol a servi de témoin positif tandis que le témoin négatif est constitué par la solution normale saline. Dans ce milieu, les vers peuvent survivre pendant sept jours.

Les doses à tester ont été établies en fonction d'une étude bibliographique accompagnée d'essais préliminaires. Les doses choisies se situent dans l'intervalle proposé par l'étude bibliographique.

Nous avons utilisé les vers adultes d'*A. galli* car ceux-ci sont proches d'*A. lumbricoïdes* vers parasites de l'humain, du point de vue morphologique, biochimique (Walker, 2006) ainsi que du point de vue phylogénique (Blaxter *et al.*, 1998). (*A. lumbricoïdes*). Les vers issus des intestins de pintade fraîchement abattues, sont immédiatement récupérés et conservés dans du PBS (phosphate buffer saline). Dix (10) vers adultes, en bonne motilité sont placés dans une boîte de pétri contenant 25 mL de solution (extraits ou témoins). Trois (3) lots ont été formés comme suit :

- le premier lot est constitué de la solution normale saline (0,9 % NaCl) qui sert de témoin négatif ;
- le second lot est constitué de la solution de Lévamisole (2 g/L), anthelminthique de référence, qui sert de témoin positif ;
- le troisième lot est constitué des extraits de plantes à diverses concentrations (1,25 g/L ; 2,5 g/L ; 5 g/L et 10 g/L).

L'inhibition de la motilité des vers adultes dans les solutions a été considérée comme critère de l'activité anthelminthique.

Pour chacune des solutions, la motilité des vers a été observée toutes les deux (2h) heures. L'estimation de la mort des vers a été déterminée par l'absence de mobilité pendant cinq (5) secondes même si le vers est secoué à l'aide d'une aiguille. Les vers considérés comme morts sont replongés dans la solution PBS pendant 30 min pour confirmation. Le test a été répété trois (3) fois pour chacune des concentrations des extraits. Au cours de ces tests, la température est maintenue à 37°C.

Le taux de mortalité (TM) a été calculé pour chacune des concentrations des extraits en utilisant la formule suivante :

$$\text{Taux inhibition (\%)} = \frac{\text{nombre de vers morts} \times 100}{\text{Nombre de vers présents dans NaCl (0,9\%)}}$$

Résultats et discussion

Chapitre III : Résultats et discussion

Dans ce chapitre, nous dressons les résultats obtenus lors de nos différents essais. La composition chimique des extraits à travers les analyses chromatographiques couplées à la technique de déréplication par les réseaux moléculaires et la détermination structurale des composés cibles isolés grâce aux méthodes spectroscopiques y sont détaillées. Les potentialités biologiques des extraits à l'issue des tests vermicides sont également mentionnées. Une discussion de chaque résultat est menée.

III.1. Criblage phytochimique

Les résultats du criblage phytochimique des extraits de *B. senegalensis* et *C. brocchiana* sont consignés dans le tableau V. En ce qui concerne *C. brocchiana*, on constate que les tanins ; les flavonoïdes sont présents dans les extraits hydro ethanoliques et acétate d'éthyle tandis que les stéroïdes et les terpenoïdes sont présents dans les extraits hexane et dichlorométhane. Les saponosides sont absents dans tous les extraits. Ces résultats se rapprochent de ceux de (Nassirou *et al.*, 2015) qui ont montré l'absence des saponosides et quinones dans les extraits éthanoliques totaux de *C. brocchiana*. Hawas (Hawas, 2007) a signalé la richesse en flavonoïdes, stéroïdes et terpenoïdes des espèces du genre *Chrozophora*.

On constate l'absence des stéroïdes et des terpenoïdes dans les extraits hydro ethanoliques des racines de *B. senegalensis*. Par contre, on note la présence des alcaloïdes, tanins, flavonoides, saponosides et quinones.

Le criblage effectué à partir de l'extrait aqueux (Ikhiri & Boureima, 1992) ont montré l'absence des tanins et flavonoïdes dans les racines de cette plante. Ces différences pourraient s'expliquer par la nature du solvant utilisé (Koudoro *et al.*, 2011).

La plupart des activités biologiques des plantes sont attribuées aux composés phenoliques, les alcaloïdes et les terpenoides.

Tableau V : criblage phytochimique des différents extraits

Espèces végétales (organes)	Extraits	Métabolites secondaires						
		Alcaloïdes		Tanins	Flavonoïdes	Saponosides	Steroides- terpenoïdes	Quinones
		Mayer	Dragendorff					
<i>B. senegalensis</i> (racines)	Hexane	-	-	-	-	-	+	-
	DCM	+	+	-	-	-	+	-
	AcOET	-	-	+	+	-	-	-
	EtOH-Eau (70 :30)	+	+	+	+	+	-	+
<i>C. brocchiana</i> (parties aériennes)	Hexane	-	-	-	-	-	+	-
	DCM	-	-	-	-	-	+	-
	AcOET	-	-	+	+	-	-	-
	EtOH-Eau (70 :30)	-	-	+	+	-	-	+

Légende : DCM= dichoromethane ; AcOET= acetate d'ethyle, + = Presence ; - = absence

III.2. Teneurs en composés phénoliques

Les différentes teneurs en composés phénoliques sont inscrites dans le tableau VI.

Pour les extraits de *C. brocchiana*, les teneurs en polyphénols totaux varient de $1,13 \pm 0,03$ mg EAG/g à $3,04 \pm 0,01$ mg EAG/g. Les extraits hexane et DCM de *C. brocchiana* renferment les teneurs les plus élevées en polyphénols totaux. Les teneurs en flavonoïdes varient de $4,86 \pm 0,08$ mg EQ/g à $5,97 \pm 0,02$ mg EQ/g. Les extraits AcOET et hexane renferment les teneurs élevées en flavonoïdes. Les teneurs en tanins condensés se situent entre $1,66 \pm 0,02$ mg EAT/g et $3,16 \pm 0,02$ mg EAT/g. Les teneurs élevées en tanins condensés se retrouvent dans l'extrait hexane et DCM.

Quant aux extraits de *B. senegalensis*, les teneurs en polyphénols totaux varient de $3,21 \pm 0,02$ mg EAG/g à $5,67 \pm 0,01$ mg EAG/g. Les extraits DCM et acétate d'éthyle sont les plus riches en polyphénols. Les teneurs en flavonoïdes varient de $4,18 \pm 0,01$ mg EQ/g à $6,57 \pm 0,07$ mg EQ/g. Les extraits EtOH-Eau (70:30) sont les plus riches en flavonoïdes. Les teneurs en tanins condensés se situent entre $2,18 \pm 0,08$ mg EAT/g et $5,48 \pm 0,03$ mg EAT/g. Les extraits DCM et AcOET sont les plus riches en tanins condensés.

Les teneurs élevées en polyphénols totaux obtenues avec l'acétate d'éthyle, le DCM et hexane seraient dues à la méthode de fractionnement qui a donc permis une répartition des polyphénols totaux dans toutes les fractions en concentrant le plus grand nombre dans ces fractions, moyennement polaire et apolaires. Ces polyphénols pourraient être donc majoritairement sous forme de génines libres (Kouamé *et al.*, 2021). Les teneurs en tanins condensés élevées dans les extraits moyennement polaires et apolaires laisseraient suggérer la richesse de ces deux espèces en tanins libres (Kouamé *et al.*, 2021). Les teneurs élevées en flavonoïdes des extraits Ethanol-Eau (70:30) de *B. senegalensis* s'expliqueraient par la richesse de cette espèce en flavonoïdes glycosylés (Morgan, 2015) tandis que ceux contenus dans *C. brocchiana* seraient des génines libres si bien qu'ils se retrouvent concentrés dans hexane et AcOET (Kouamé *et al.*, 2021).

Les teneurs en composés polyphénoliques obtenues avec les extraits de *C. brocchiana* sont inférieures à celles obtenues par Rabiou *et al.*, (Rabiou *et al.*, 2019) qui ont obtenu des teneurs de $260,05 \pm 0,07$ mg EAG/g et $51,60 \pm 0,28$ mg EQ/g avec les extraits aqueux de *C. brocchiana*. Ces différences pourraient être dues à la nature du sol, aux facteurs environnementaux de la plante ainsi qu'aux solvants d'extraction (Trabelsi *et al.*, 2010).

Pendant nos tests, nous avons obtenu des teneurs en composés phénoliques non nulles dans les extraits apolaires. Ceci pourrait être lié à :

- la qualité de nos solvants, vu que nos solvants n'ont pas été séchés après distillation, des traces d'eau pourraient entraîner la variation de leur polarité. Les solvants n'ont pas été séchés par manque de moyens (sulfate de magnésium...).
- la méthode de dosage (méthodes spectrophotométriques), plusieurs auteurs ont critiqué cette méthode (Elodie, 2012 et Moufida, 2019). En effet l'acide utilisé lors du dosage aurait la particularité de libérer les pigments ayant la propriété d'absorber à 550 nm. En plus, le méthanol engendrerait une coloration bleue susceptible de produire des faux résultats.
- les composés phénoliques contenus dans nos extraits pourraient être liés à des fibres ou autres groupements lors de la biosynthèse modifiant leur nature si bien qu'ils soient extractibles par les solvants apolaires. L'utilisation de l'acide sulfurique a permis de les libérer par hydrolyse acide.

Tableau VI : teneurs en composés phénoliques des différents extraits

Espèces végétales (Organes)	Extraits	Teneurs en polyphénols totaux (mg EAG/g)	Teneurs en flavonoïdes (mg EQ/g)	Teneurs en tanins condensés (mg EAT/g)
<i>C. brocchiana</i> (Parties aériennes)	Hexane	3,04±0,01 ^b	5,41±0,02 ^a	3,16±0,02 ^c
	DCM	2,18±0,01 ^c	4,86±0,08 ^b	2,71±0,01 ^c
	AcOET	1,13±0,03 ^c	5,97±0,02 ^a	1,66±0,02 ^d
	Ethanol-Eau (70 :30)	2,10±0,02 ^c	5,35±0,04 ^a	2,80±0,04 ^c
<i>B. senegalensis</i> (Racines)	Hexane	3,21±0,02	4,18±0,01	2,18±0,08
	DCM	5,67±0,01 ^a	5,79±0,06 ^b	5,48±0,03 ^a
	AcOET	5,51±0,03 ^a	5,66±0,01 ^b	5,33±0,06 ^a
	Ethanol-Eau (70 :30)	4,61±0,01 ^{a, b}	6,57±0,07 ^a	4,66±0,03 ^b

Les valeurs avec des lettres différentes dans la même colonne sont significativement différentes au seuil de $p < 0,05$.

III.3. Etude phytochimique d'*Amanita amerivirosa* (Amanitaceae)

Les six (6) fractions obtenues après fractionnement de l'extrait total ont permis de réaliser le réseau moléculaire (figure 11) accessible sur :

<http://gnps.ucsd.edu/ProteoSAFe/status.jsp?task=70454b1320a54036aa2dbf8f551ab2cc>.

L'analyse de ce réseau dégage deux (2) clusters intéressants dont l'un porte un pic à $m/z = 817,3544$ (espèce $[M+H]^+$) qui n'a donné aucun hit sur le *DNP* et qui est proche de la phalloïdine. L'autre cluster, plus grand que le premier renferme un pic à $m/z = 915,3766$ (espèce $[M+H]^+$) qui est une virotoxine étant donné qu'il forme ce cluster avec la viroïdine et la viroïsine. Dans cette étude un autre composé ($m/z = 931,7$; espèce $[M+H]^+$) dont la formule brute est différente de celle du composé à $m/z = 915,3766$ par un oxygène supplémentaire et sans hit sur le *DNP* a été ciblé. Les composés ciblés après l'analyse du réseau moléculaire sont dans le tableau VII.

Il est à noter que l'utilisation de *DEREPLICATOR* confrontant les spectres MS/MS expérimentaux à des spectres MS/MS de peptides simulés *in silico*, identifie la première molécule comme un dérivé de phallotoxine et les deux dernières comme des dérivés de virotoxine (Mohimani *et al.*, 2016).

Tableau VII : composés ciblés à partir de l'analyse des réseaux moléculaires

Valeur m/z	Temps de rétention (min.)	de Formule brute proposée	Score	Diff ppm	Nombre de hits (<i>DNP</i>)
817,3544	2,51	$C_{37}H_{52}N_8O_{11}S$	99,09	0,73	0
915,3766	2,35	$C_{38}H_{58}N_8O_{16}S$	99,51	0,03	0
931,704	7,06	$C_{38}H_{58}N_8O_{17}S$	98,94	0,26	0

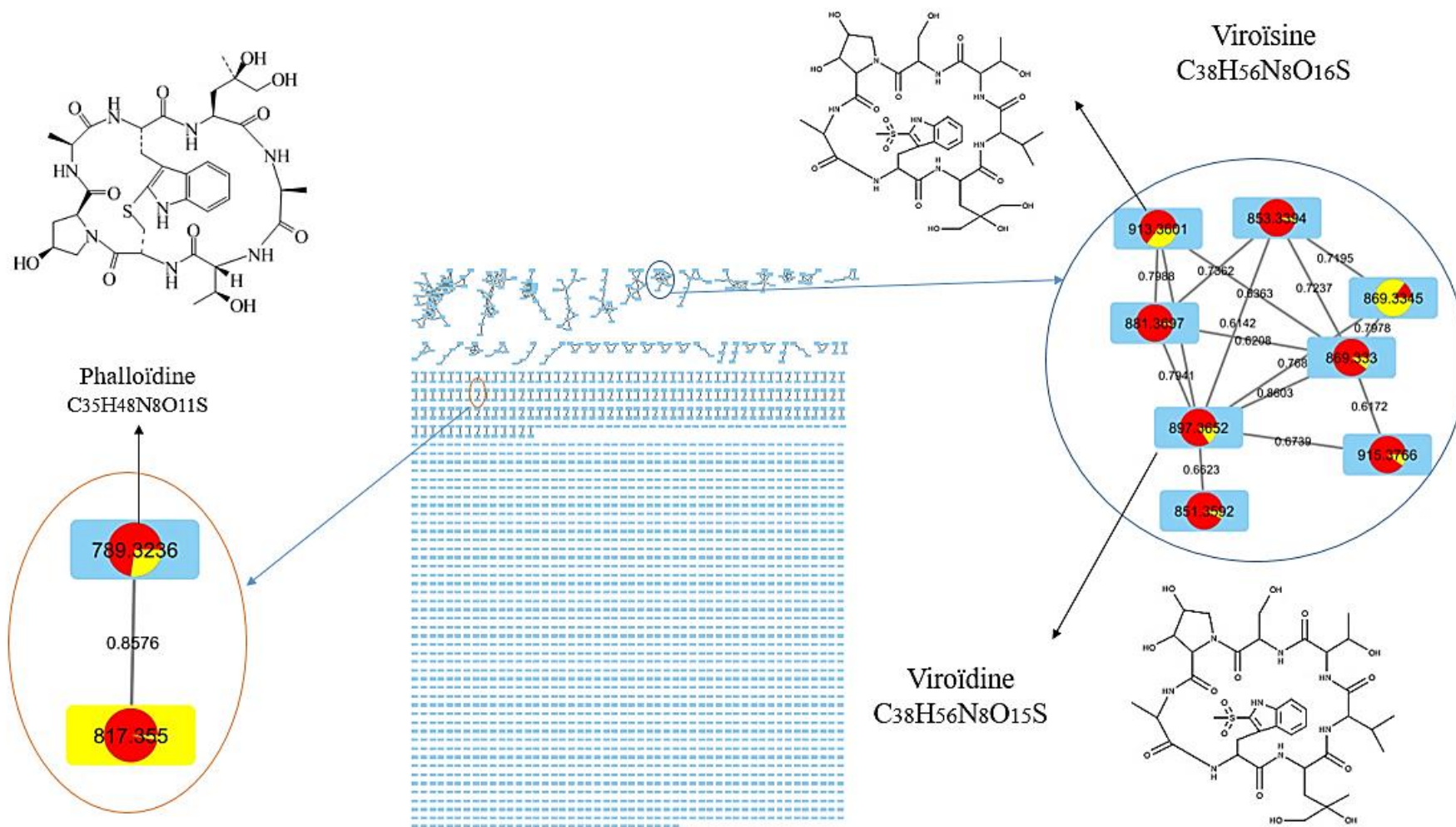


Figure 11 : réseaux moléculaires réalisés à partir des fractions d'*A. amerivirosa*

III.3.1. Extraction, fractionnement et purification des composés 1-3.

Cinquante (50 g) d'extrait brut ont été soumis à une chromatographie flash et les tubes ont été regroupés en six (6) fractions (A1-A6) selon leurs profils CCM. La fraction A6 (15g) riche en composés ciblés, a été soumise à une chromatographie flash (colonne 120g *Grace cartridges*; gradient DCM/MeOH (100 : 0 à 0 : 100) ; débit : 80 mL / min), six sous-fractions (A6.1-A6.6) ont été obtenues parmi lesquelles la sous-fraction A6.3 (2 g) a été soumise à une purification par CLHP-préparative (Colonne : SUNFIRE 4,6x150mm - 5 μ m ; phase mobile : H₂O+0.1%AF / ACN ; gradient 5-50% en 15 min) pour donner une sous-fraction A6.3.1 et les composés 1-2. La fraction A6.3.1 (16 mg) a été purifiée par CLHP-préparative (Colonne : SUNFIRE 4,6x150mm - 5 μ m ; phase mobile : H₂O+0.1%AF / ACN ; gradient 15-35% en 15 min.) pour donner le composé 3. Le diagramme de la figure 12 représente le récapitulatif d'isolement et purification des composés 1-3.

III.3.2. Rendements des différentes extractions, fractionnement et purification

Le tableau VIII montre les différents rendements, les propriétés physiques (nature et couleur) des extraits et fractions retenus le long de nos investigations. Le composé 2 est plus abondant comparativement aux composés 1 et 3.

Tableau VIII : propriétés physiques et rendements

Extrait ou fractions	Nature physique	Couleur	Rendements (%)
Extrait brut DCM/MeOH	Amorphe	Rougeâtre	10
Fraction A6	Amorphe	Brunâtre	3
Sous fraction A6.3	Amorphe	Brunâtre	0,4
Sous fraction A6.3.1	Amorphe	Brunâtre	0,032
Composé 1	Amorphe	Blanche	0,036
Composé 2	Amorphe	Blanche	0,064
Composé 3	Amorphe	Blanche	0,006

III.3.3. Détermination structurale du composé 1

Le composé 1 de nature amorphe et de couleur blanche avait pour formule brute C₃₇H₅₂N₈O₁₁S (calculée pour 817,35490), basée sur un pic pseudo-moléculaire à *m/z* 817,35507 (espèce [M+H]⁺). L'analyse du spectre RMN ¹H dans du DMSO-*d*₆ à 343 K a révélé sept résonances de protons (δ_H 3,88-4,85) qui correspondent aux protons- α de résidus d'acides aminés. L'analyse détaillée des spectres COSY, TOCSY, HSQC et HMBC a indiqué la présence des résidus d'acides aminés classiquement décrits chez les phallotoxines : Ala, γ , δ -(OH)₂ Leu, Val,

Thr dihydroxylés, Pro γ -hydroxylé et enfin des résidus Trp et Cys liés en un tryptathionine, motif structural exclusivement rapporté chez les peptides bicycliques toxiques d'amanite.

Le degré élevé d'homogénéité de structure au sein du petit groupe chimique des phallotoxines conduit à privilégier le mode d'assemblage de ces fragments comme proposé à la figure 13 (Walton, 2018). Les phallotoxines connues (au nombre de 7) présentent en effet une étendue assez limitée de variations structurales avec seulement deux positions connues pour varier jusqu'à présent appelées positions 4 (thréonine ou acide aspartique) et 5 (valine ou alanine), en raison de leur ordre dans le précurseur linéaire.

Des preuves spectroscopiques ont été recherchées pour soutenir cette séquence déduite de considérations biosynthétiques. La corrélation ROE entre le proton NH de Ala (δ_H 7,88) à l' α -aminoproton de Pro (δ_H 4,17) ont établi leur voisinage. De même, l'effet ROE entre l' α -aminoproton d'Ala (δ_H 3,87) et le proton amidique de Trp (δ_H 7,41) les reliaient, tout comme la corrélation ROE entre l' α -aminoproton de Trp (δ_H 4,83) et le proton amidique de Leu (δ_H 8.19). Le lien entre Leu et Val a été suggéré par la corrélation ROE entre le α -aminoproton de Leu (δ_H 4,09) et le proton amidique de Val (δ_H 7,85). La connexion entre Thr et Val a été déduite de la corrélation ROE entre le proton amidique et les protons α -amino de Thr au proton α -amino de Val (δ_H 4,27). L'attachement de Cys et Thr a été obtenu de l'observation de la corrélation ROE entre le proton amidique de Cys (δ_H 7,66) et le proton α -amino de Thr (δ_H 3,98). La liaison de OH-Pro à Cys a été établie sur la base de la corrélation ROE du proton δ -méthylénique de OH-Pro (δ_H 3,54/3,77) au α -aminoproton de Cys (δ_H 4,79), complétant la séquence entière du composé **1** (figure 13) telle qu'elle était prévue par analogie avec les anciennes phallotoxines.

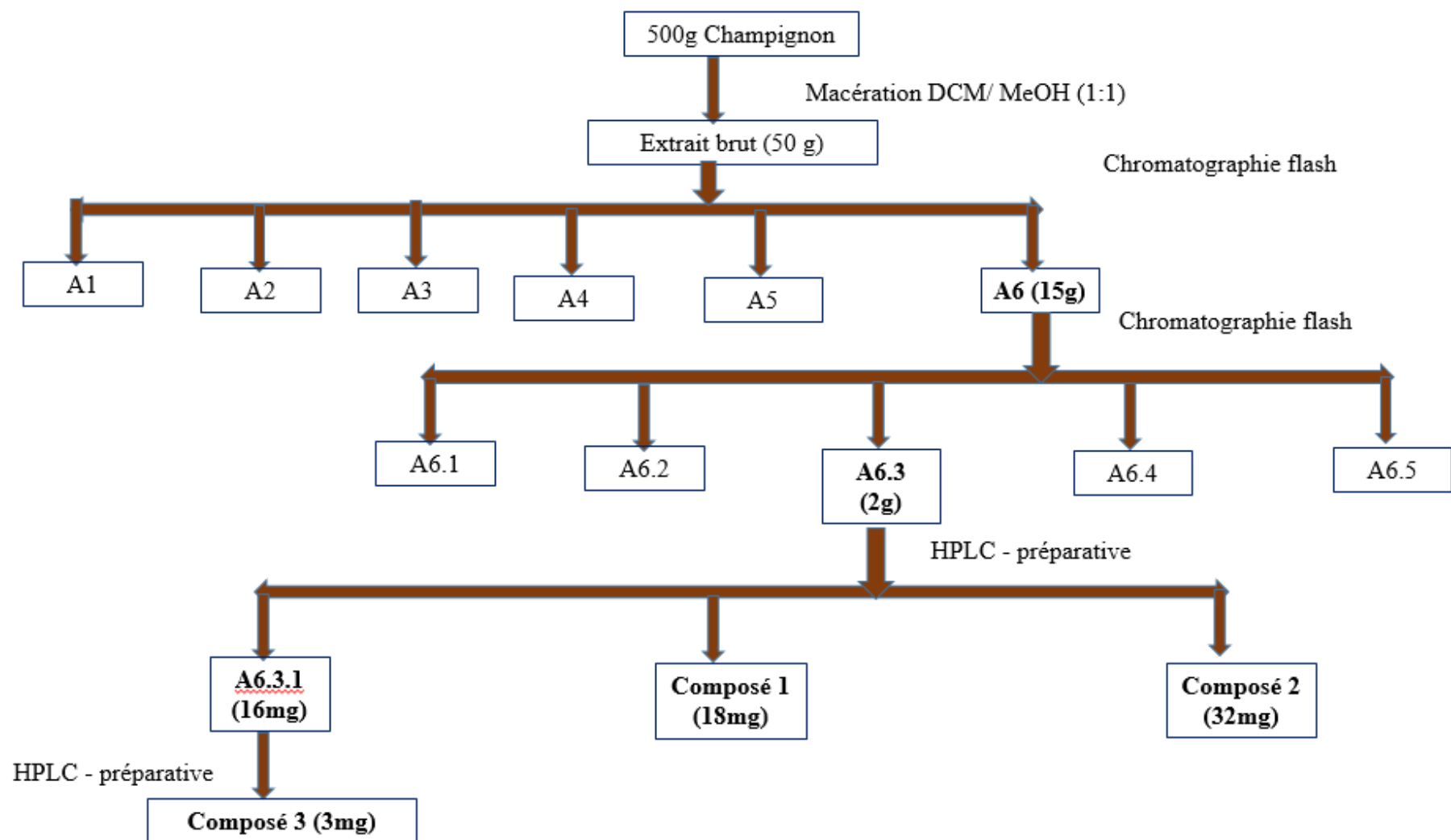


Figure 12 : diagramme de purification des composés 1-3

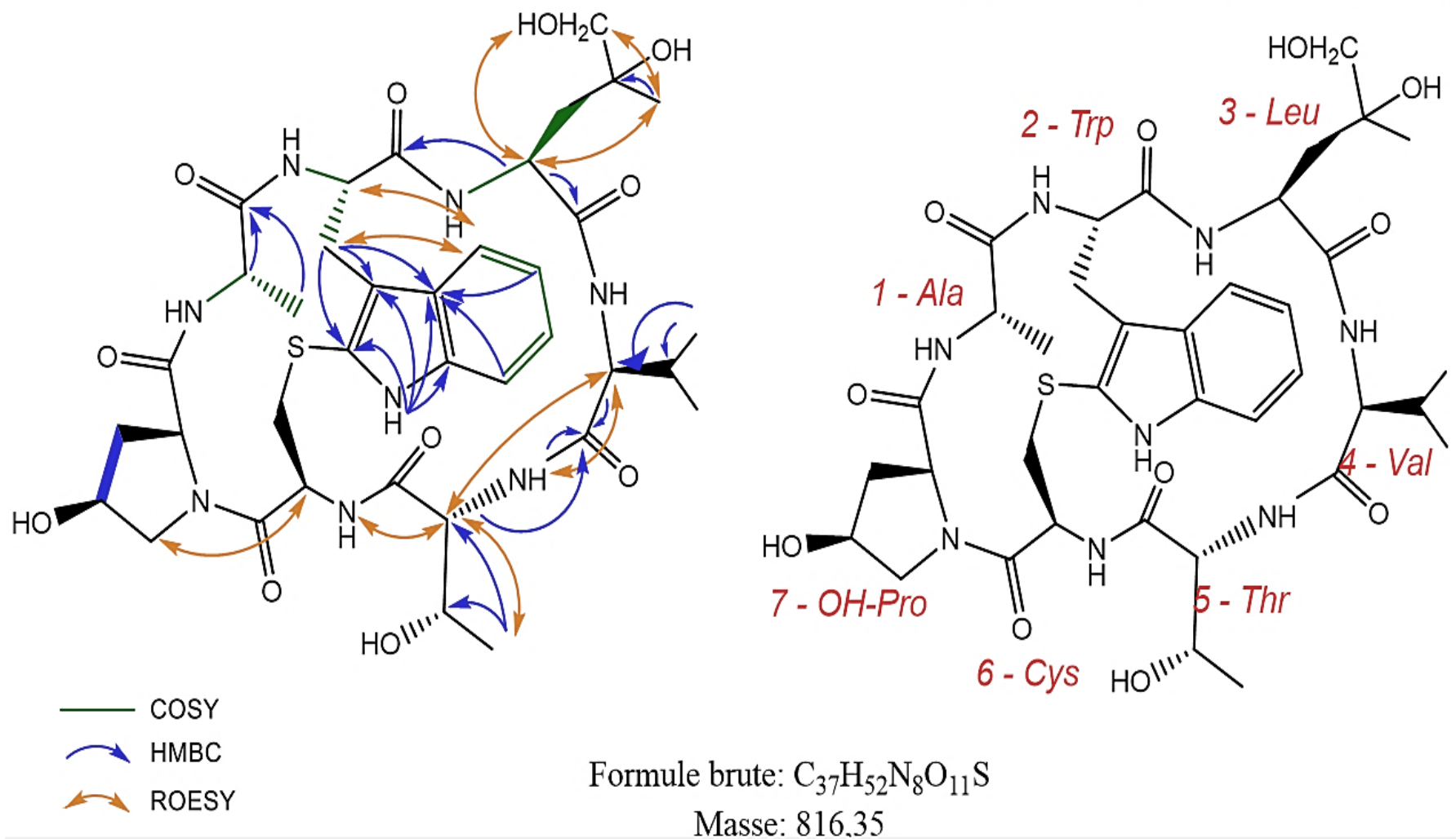


Figure 13 : composé **1** (Améripalloïdine)

Spectre de masse du composé **1**

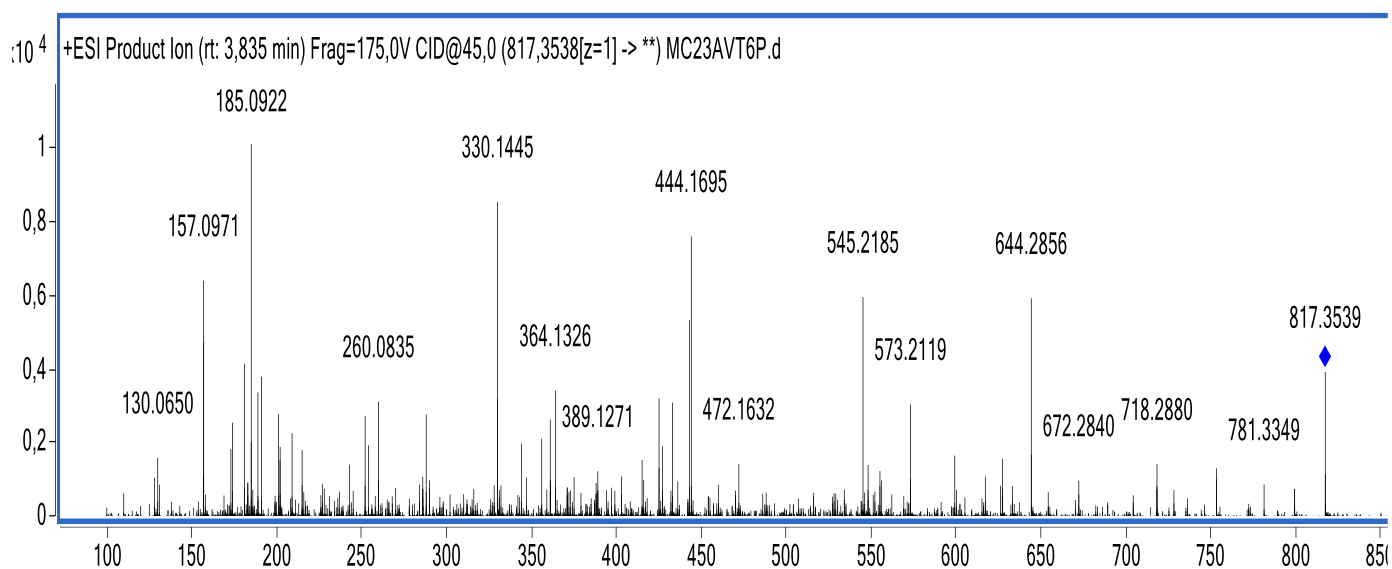


Figure 14 : spectre MS/MS du composé **1**

Plusieurs fragments sont issus de la fragmentation du composé **1** comme l'indique la figure 14. Ceux-ci correspondent à la perte d'un ou plusieurs acides aminés. On envisage les fragmentations suivantes :

- pic à $m/z = 718,288$ correspondrait à la perte de la valine ;
- pic à $m/z = 644,2856$ correspondrait à la perte simultanée de la proline et alanine ;
- pic à $m/z = 545,2185$ proviendrait de la perte de la proline, alanine et cystéine ;
- pic à $m/z = 444,1695$ serait issu de la perte de la proline, alanine, cystéine et thréonine.

La figure 15 montre les fragmentations ci-dessus envisagées du composé **1**

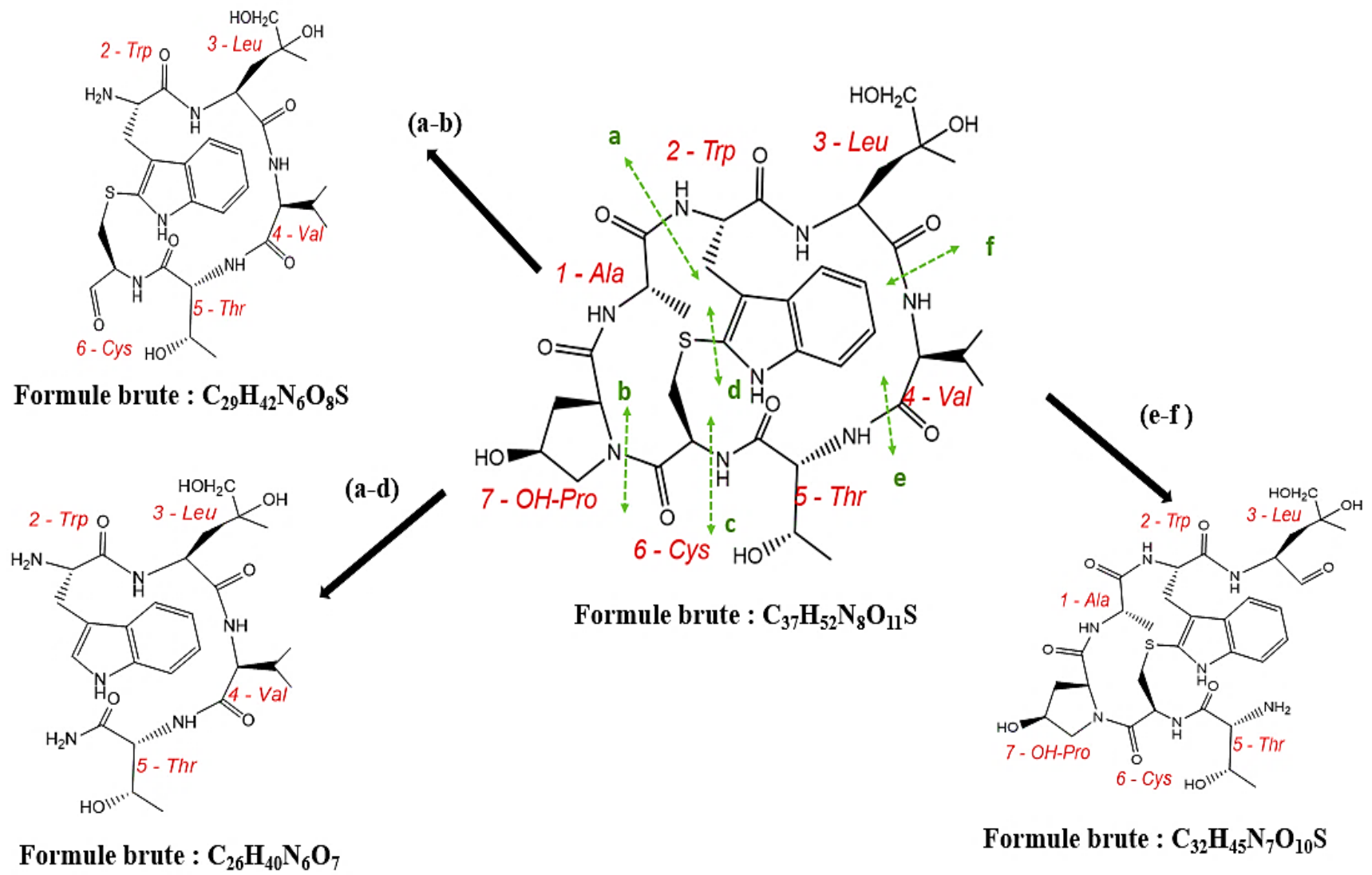


Figure 15 : Fragmentations possibles de l'Améripalloïdine

III.3.4. Détermination structurale du composé 2

Le composé **2** (Figure 16) est également isolé sous forme de solide amorphe et de couleur blanche, à $m/z = 915,3769$ (espèce $[M+H]^+$) de formule brute $C_{38}H_{58}N_8O_{16}S$ (calculée pour 915,37642). Le spectre HSQC édité, a permis l'observation de sept protons méthine ($4 \leq \delta \leq 5$) laissant entendre que ce composé est un heptapeptide. L'étude approfondie des spectres RMN 1H et ^{13}C a révélé l'identité de sept acides aminés, dont la plupart étaient compatibles avec les constituants des virotoxines, facilitant l'élucidation structurale de ce composé.

Les expériences COSY et TOCSY ont facilement défini les acides aminés communs de la virotoxine : Ala, 2-sulfonylméthylTrp, γ , δ -dihydroxyLeu, Val, Thr et Ser. Le dernier acide aminé manquant devait correspondre à une proline qui s'avère être commune à l'ensemble des groupes structuraux de toxines d'amanite (amatoxines, phallotoxines et virotoxines) en lien avec son implication présumée dans la macrocyclisation de ces composés.

Quant à l'exemple spécifique des virotoxines, ce résidu de proline se présente constamment sous la forme d'un dérivé 3,4-dihydroxylé (Pulman *et al.*, 2016). Les signaux RMN 1H liés au dernier résidu du composé n'étaient pas compatibles avec ceux d'une 3,4-dihydroxyproline (Glawar *et al.*, 2016; Taylor *et al.*, 2005) pour ce qui est du composé **2**, dans la mesure où la formule brute du composé impliquait que ce dernier résidu soit trihydroxylé. La séquence COSY pour ce dernier acide aminé a déterminé un système de spin NH-CH-CH-CH₂ qui, en lien avec le spectre HSQC, a déterminé un résidu acide polyoxamique de type 1,5-*secoproline* β,γ,δ -trihydroxylé. Cette hypothèse est renforcée par le bon accord entre les données RMN pour ce résidu avec des acides polyoxamiques (Falentin *et al.*, 1994).

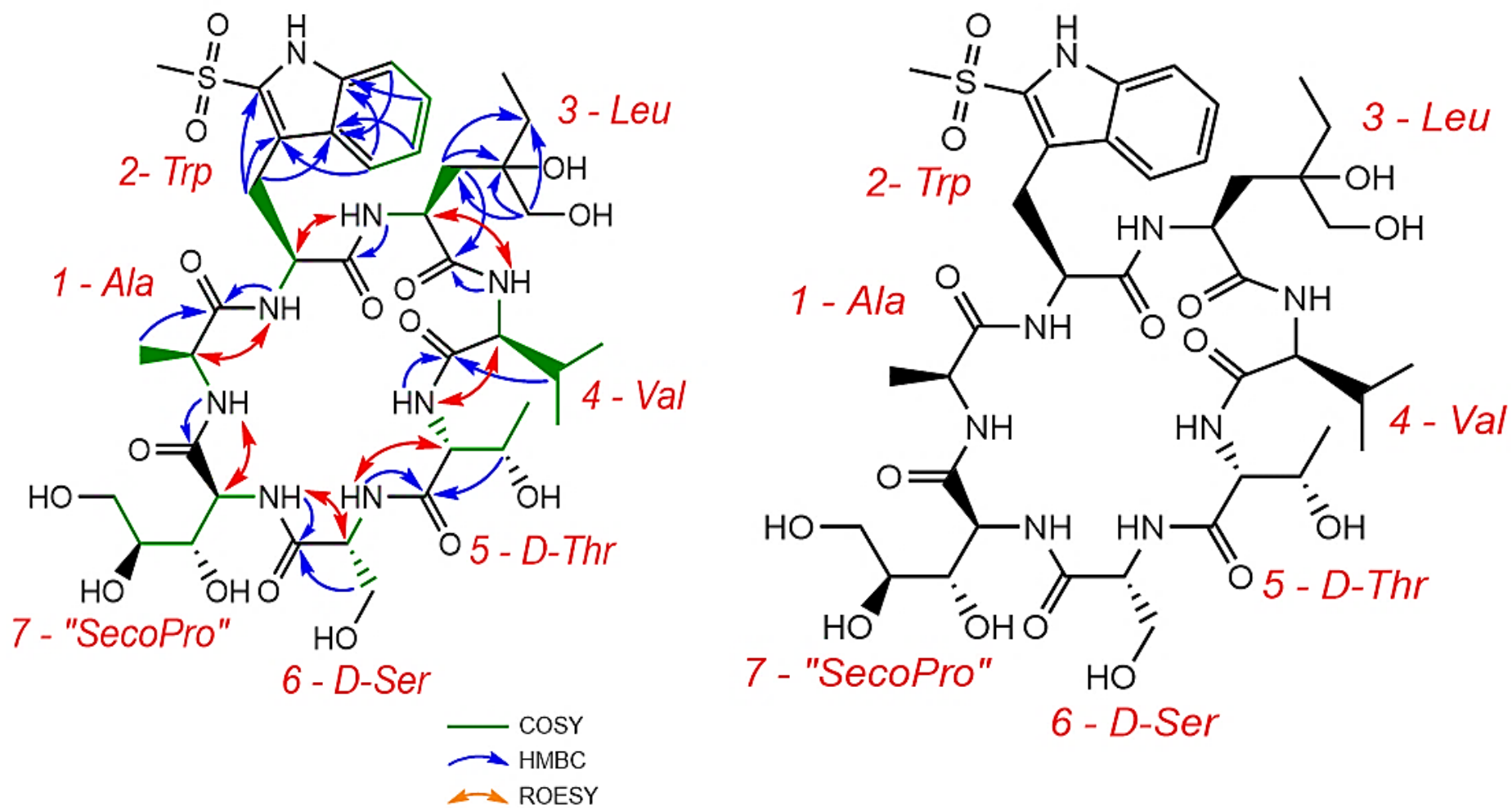


Figure 16 : Composé 2 (Amérviroïdine)

Spectre de masse du composé 2

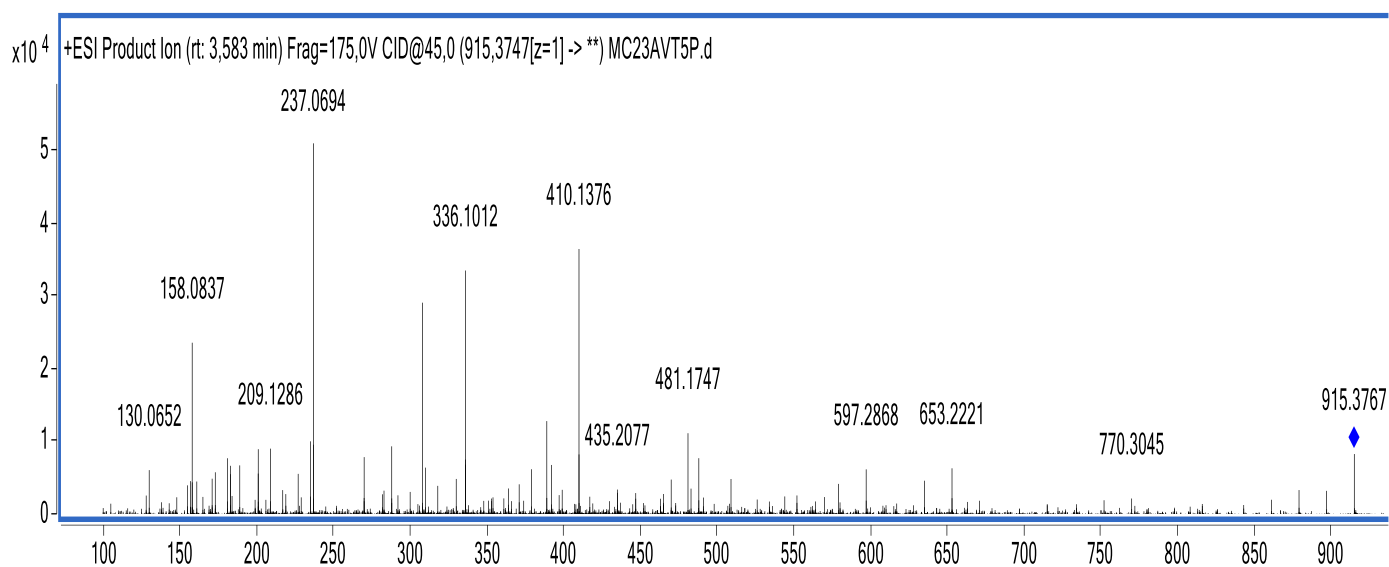


Figure 17 : spectre MS/MS du composé 2

Comme précédemment, des propositions de fragments issus de l'amériviroïdine ont été faites (figure 18).

- le pic à $m/z= 770,3045$ est dû à la perte de la dihydroxyleucine ;
- le pic à $m/z= 481,1747$ est issu de la perte de le *secoproline*, threonine, serine et valine ;
- le pic à $m/z=410,1376$ est l'association de la dihydroxyleucine et le du tryptophane ;
- le pic à $m/z= 237,0694$ correspondrait au residu formé par la *secoproline*, la serine et la threonine.

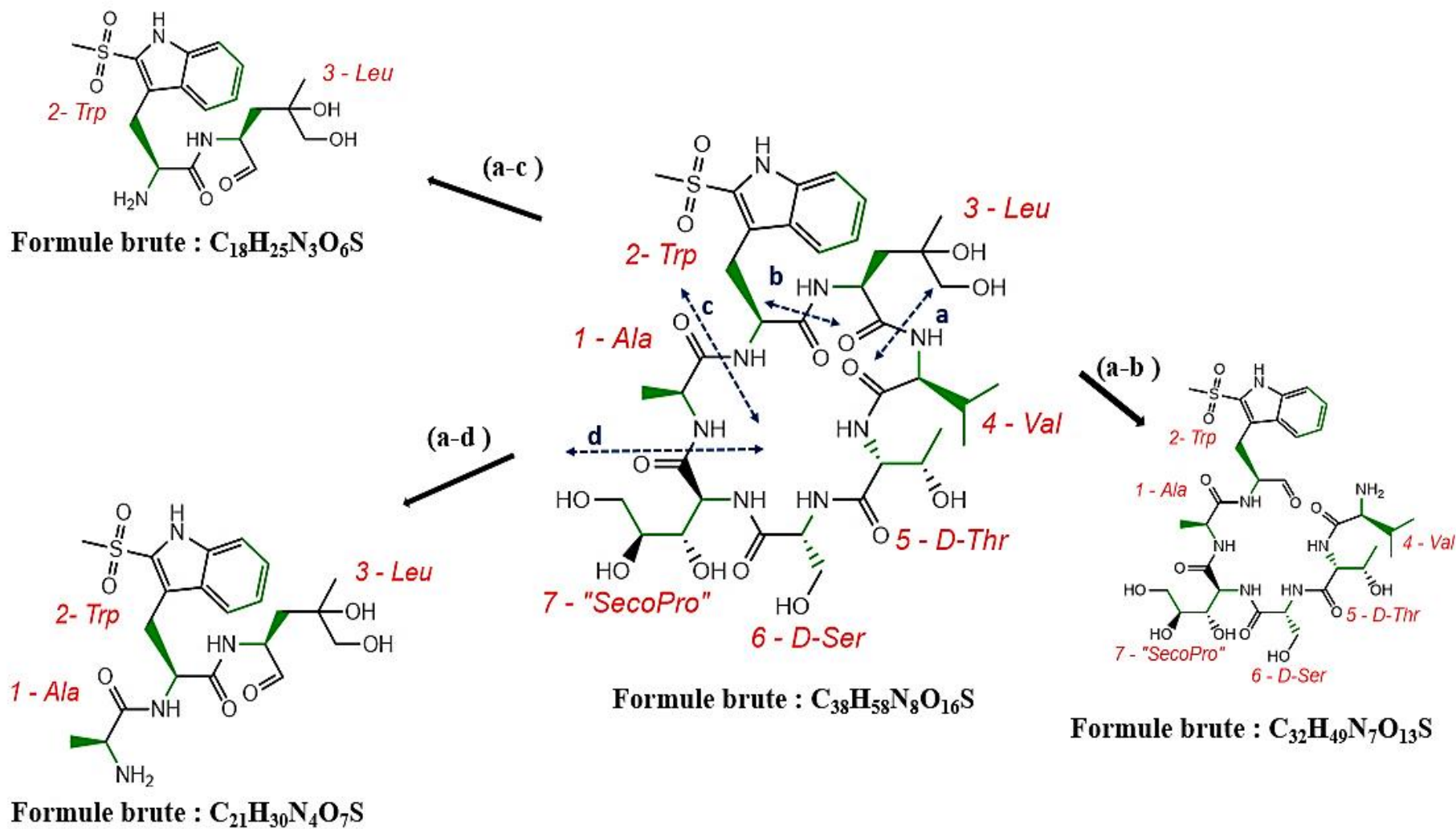


Figure 18 : fragmentations possibles de l'Amérviroïdine

III.3.5. Détermination structurale du composé 3

Le composé **3** ($m/z = 931,3719$; espèce $[M+H]^+$), est aussi une virotoxine isolée sous forme amorphe et de couleur blanche dont la formule brute est $C_{38}H_{58}N_8O_{17}S$ (calculée pour 931,3721). La détermination de la structure de ce composé s'est avérée aisée en raison de la similarité des déplacements chimiques RMN 1H et ^{13}C au composé **2**. La présence d'un oxygène de plus dans sa formule brute laisserait suggérer un groupement hydroxyle sur le troisième acide aminé ce qui conduirait à une Leucine trihydroxylée. En effet, l'apparition du signal $\delta_H = 3,36$ (2H, s) (composé **3**) et la disparition du signal $\delta_H = 1,1$ (s, 3H) (composé **2**) correspondrait à la substitution d'un H d'un groupe méthyle par un méthylène hydroxylé. La structure du composé **3** est représentée à la figure 20.

Spectre de masse du composé 3

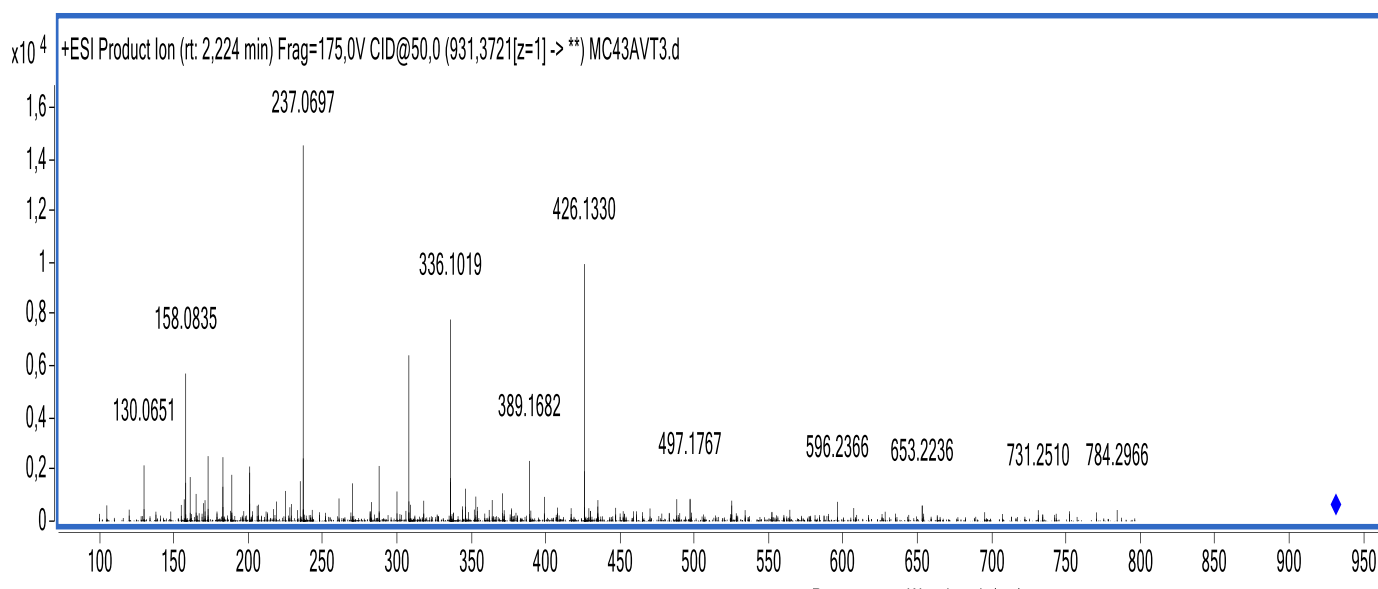


Figure 19 : spectre MS/MS du composé 3

Le composé **3** étant aussi une virotoxine de propriétés chimiques similaires au composé **2**, les voies de fragmentations de ces deux composés sont très proches d'où l'apparition de plusieurs fragments identiques dans leurs deux spectres de masses.

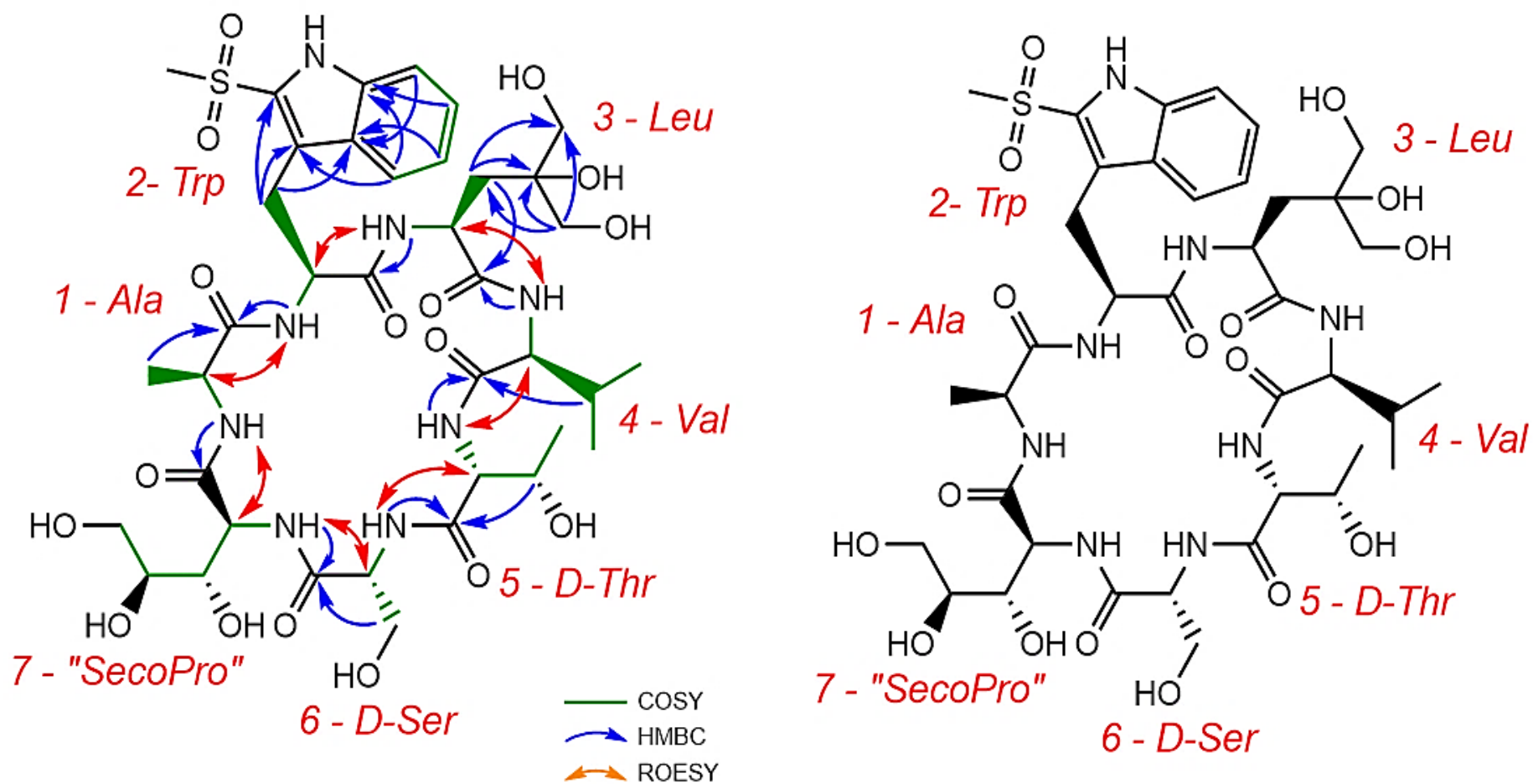


Figure 20 : composé **3** (Ameriviroisine)

En effet, la séquence d'acides aminés de l'amérophalloïdine (Composé **1**) est unique, car toutes les phallotoxines signalées jusqu'à présent correspondaient soit à un peptide de type Ala-Trp-Leu-**Ala-Thr**-Cys-Pro soit Ala-Trp-Leu-**Val-Asp**-Cys-Pro, les gènes codant pour ces deux éléments étant situés dans le génome d'*A.phalloides* (Pulman *et al.*, 2016). Par conséquent, la combinaison de **Val et Thr** est une caractéristique sans précédent dans les phallotoxines. A l'inverse, la combinaison de Val et Thr est souvent signalée dans les virotoxines, qui sont présumées dériver biosynthétiquement de précurseurs de la phallotoxine (Faulstich *et al.*, 1980). Le premier signalement d'une séquence Ala-Trp-Leu-**Val-Thr**-Cys-Pro dans le cadre d'une phallotoxine à travers l'exemple spécifique de l'amérophalloïdine est donc un précurseur attendu sur le plan de la biosynthèse.

Des considérations biosynthétiques conduisent à privilégier les configurations indiquées sur les différentes structures de **1-3** par analogie à celles déjà décrites. Nous souhaiterions toutefois bénéficier de preuves d'ordre spectroscopique pour pouvoir établir plus fiablement encore la configuration des différents carbones asymétriques de cette molécule.

Une approche communément retenue pour statuer sur les configurations des acides aminés constitutifs d'un peptide déjà connu consiste à réaliser son hydrolyse acide (HCl 6M, 110°C, 12 h) puis à soumettre les acides aminés isolés au réactif de Marfey pour obtenir des diastéréoisomères discriminables par LC-MS (Kim *et al.*, 2018). La confrontation à des témoins doit alors permettre de relier chaque acide aminé à une série énantiomérique précise.

Cette dernière phase du travail, d'ordre configurationnel, est actuellement en cours de réalisation au laboratoire de biomolécules, conception, isolement et synthèse (BioCIS) de la Faculté de Pharmacie de l'Université Paris-Saclay (France).

III.4. Etude phytochimique de *Boscia senegalensis* (Capparaceae)

L'extrait DCM-MeOH obtenu à partir des racines de *B. senegalensis* a été fractionné pour obtenir 4 fractions (B1 - B4) dont les données issues de l'analyse LC-MS ont permis de construire un réseau moléculaire (figure 21) accessible sur le lien suivant :

<https://gnps.ucsd.edu/ProteoSAFe/status.jsp?task=3babe94eb32c4a0aa74f32acc93c912d>.

Dans ce réseau moléculaire, le nombre de matchs avec les bases de données de *GNPS* sont faibles (2 matchs). Un cluster nous a paru intéressant, car il contient un composé de $m/z = 436,223$ (espèce $[M+H]^+$) de formule brute $C_{25}H_{29}N_3O_4$ qui correspond, par chimiotaxonomie, à la cadabicine qui est un alcaloïde polyamine de type spermidine isolé de *Cadaba farinosa*, *Capparis decidua* et *Crataeva nurvala* qui sont des espèces de la même famille (Capparaceae)

que *B. senegalensis* (Ahmad, *et al.*, 1986). Les composés avec les valeurs de $m/z = 493,281$ et $m/z = 535,2914$ (tableau IX) ont été ciblés d'une part à cause de leur forte dominance dans l'extrait et d'autre part pour leurs faibles nombres de hits sur la base de données du *DNP*.

Tableau IX : composés ciblés à partir des réseaux moléculaires de *B. senegalensis*

Valeur m/z	Temps de rétention (min.)	de Formule brute proposée	Score	Diff ppm	Nombre de hits (<i>DNP</i>)
436,22	2,245	$C_{25}H_{29}N_3O_4$	98,73	0.61	6
493,281	1,5	$C_{28}H_{36}N_4O_4$	99,18	1.03	2
535,2914	1,607	$C_{30}H_{38}N_4O_5$	99,52	0.88	3

III.4.1. Extraction, fractionnement et purification des composés 4-5.

Une quantité de 60 g (3 X 20g) d'extraits bruts ont été soumis à une chromatographie flash (colonne 120g *Grace cartridges* ; gradient DCM/MeOH (100 :0 à 0 :100) ; débit : 80mL / min) dont les tubes ont été regroupés en quatre (4) fractions (B1 - B4) selon leurs profils CCM. Les fractions B3 et B4 ont été retenues pour la suite de notre étude car elles sont riches en composés ciblés. La fraction B3 (20g) a été soumise à une chromatographie flash (colonne 120g *Grace cartridges* ; gradient DCM/MeOH (100 :0 à 0 :100) ; débit : 80mL / min), sept sous-fractions (B3.1-B3.7) ont été obtenues parmi lesquelles la sous-fraction B3.5 (17g) a été fractionnée dans les mêmes conditions que précédemment pour donner 15 sous-fractions (B3.5.1 - B3.5.15). Les sous-fractions B3.5.9 (30 mg) et B3.5.10 (100 mg) ont été soumises à une purification par CLHP-préparative (Colonne : SUNFIRE 4,6x150mm - 5 μ m ; phase mobile : H₂O+0.1%AF / ACN ; gradient 5-50% en 15 min) pour donner le composé **4**. La fraction B4 (25g) a été fractionnée en sept sous fractions (B4.1-B4.7) par chromatographie flash. La sous fraction B4.4 (11g) a donné six (6) sous-fractions (B4.4.1-B4.4.6). Les sous-fractions B3.5.12 (100mg) et B4.4.6 (200mg) ont été purifiées par CLHP-Préparative (Colonne : XSELECT 4,6x150mm - 5 μ m ; phase mobile : H₂O+0.1%AF / ACN ; gradient 5-70% en 15 min.) pour donner le composé **5**. Le diagramme ci-dessous représente le récapitulatif d'isolement et purification des composés **4-5** (figure 22).

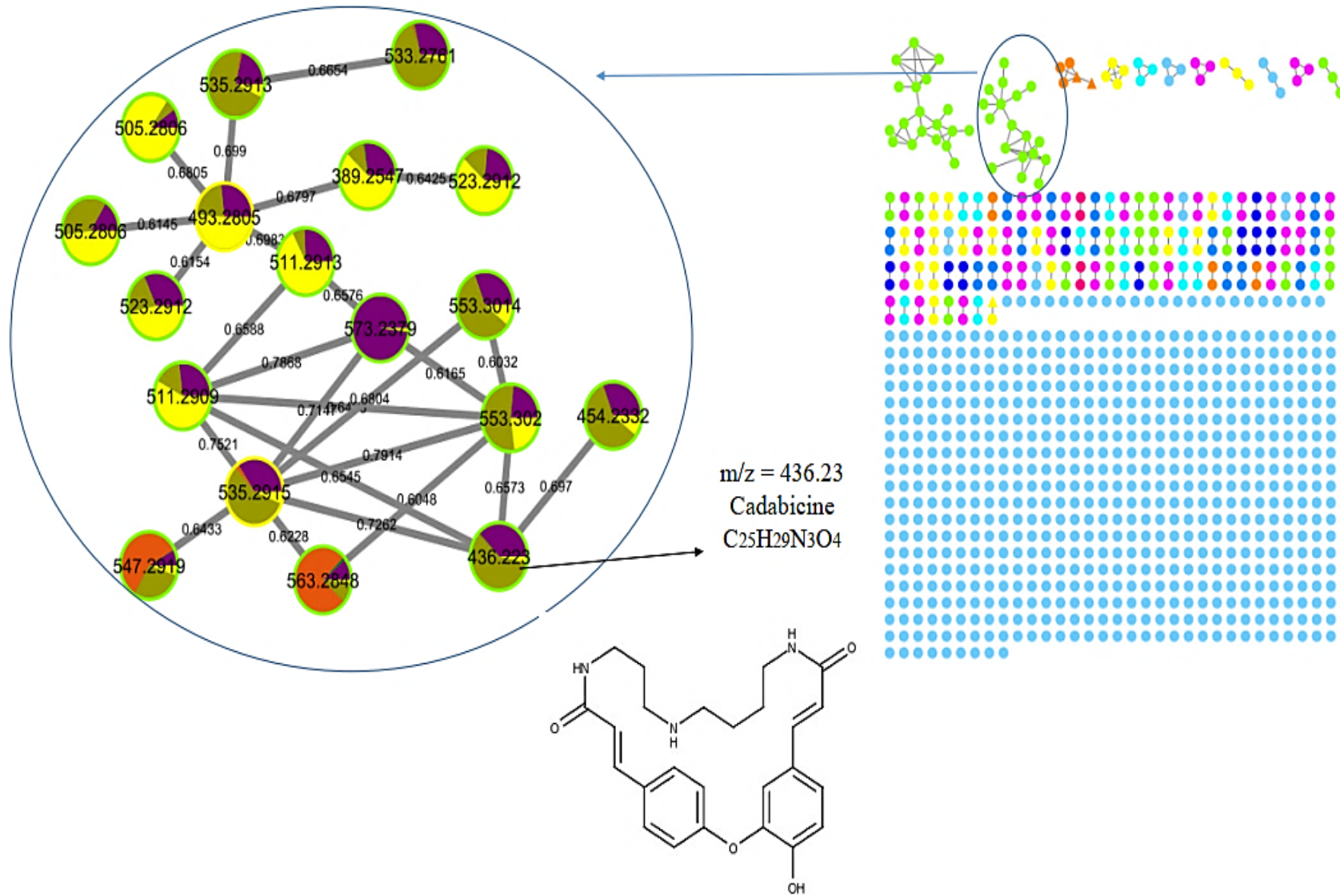


Figure 21 : réseaux moléculaires réalisés à partir des fractions de *B.senegalensis*

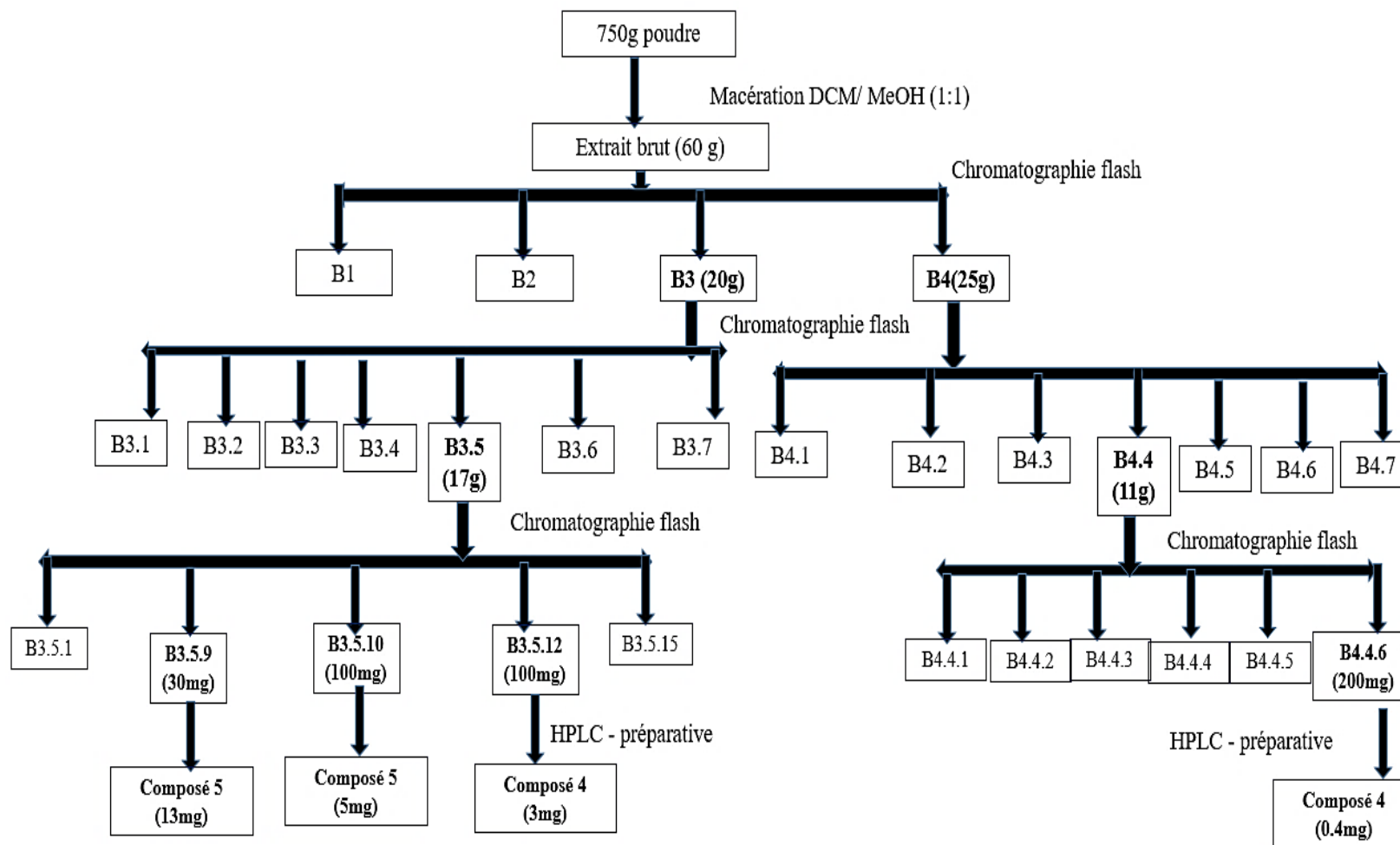


Figure 22 : diagramme de purification des composés 4-5

III.4.2. Rendements des extractions, fractionnement et purifications

Les rendements des extractions (tableau X) varient en fonction du solvant d'extraction pour chaque espèce végétale. Les extraits EtOH-Eau (70:30) présentent le rendement le plus élevé (68,95%). Les extraits DCM/MeOH (8%), DCM (6.2%), AcOET (3.8%) et Hexane (3%) ont les rendements les plus faibles. Le composé **4** est plus abondant que le composé **5**.

Au cours de l'extraction, les solvants diffusent dans le matériel végétal solide et solubilisent les composés avec une polarité similaire (Mezouar *et al.*, 2014) ceci pourrait laisser croire à la richesse de nos extraits en composés polaires. Les extraits EtOH-Eau (70:30) présentent les rendements les plus élevés (68.95%). L'ajout de l'eau à l'éthanol permet d'accroître la polarité de ce dernier et ainsi permettre davantage la solubilisation des composés polaires (Trabelsi *et al.*, 2010).

Tableau X : propriétés physiques et rendements

Extrait ou fractions	Nature physique	Couleur	Rendements (%)
Hexane	Poudre	Blanche	3
DCM	Poudre	Blanche	6,2
AcOET	Poudre	Verte	3,8
Ethanol-Eau (70 :30)	Amorphe	Rouge	68,95
DCM / MeOH	Amorphe	Rouge	8
Fraction B3	Amorphe	Brunâtre	2,66
Sous fraction B3.5	Amorphe	Brunâtre	2,26
Sous fraction B3.5.9	Amorphe	Blanche	0,06
Sous fraction B3.5.10	Amorphe	Blanche	0,2
Sous fraction B3.5.12	Amorphe	Brunatre	0,2
Fraction B4	Amorphe	Blanche	3,33
Sous fraction B4.4	Amorphe	Brunatre	1,46
Sous fraction B4.6	Amorphe	Brunatre	0,4
Composé 4	Amorphe	Blanche	0,036
Composé 5	Amorphe	Blanhe	0, 006

III.4.3. Détermination structurale du composé 4

Le composé **4**, de nature amorphe présente un ion pseudo-moléculaire à $m/z = 535,2914$ (espèce $[M+H]^+$) dont la formule brute correspond à $C_{30}H_{38}N_4O_5$ (calculée pour 535.2828) (figure 24).

À travers le réseau moléculaire réalisé à partir de *B. senegalensis* et sa formule brute, le composé **4** serait un alcaloïde polyamine. La structure de base des alcaloïdes polyamines est caractérisée par la présence d'un macrocycle lactame formé par la combinaison d'une base qui peut être une spermidine (3 atomes d'azote) ou une spermine (4 atomes d'azote) avec un acide cinnamique ou dérivés. La comparaison des données UPLC-ESI montre des fragmentations similaires à celles de plusieurs alcaloïdes polyamines à savoir : la cadabicine isolée de *Cadaba farinosa* (Capparaceae) (Ahmad *et al.*, 1985); *Capparis spinosa* (Capparaceae) (Fu *et al.*, 2007) et de la capparisine isolée de *Capparis decidua* (Capparaceae) (Ahmad *et al.*, 1986). Ceci laisse croire que le composé **4** est un alcaloïde polyamine par chimiotaxonomie. La présence de 4 atomes d'azote dans la formule brute du composé **4** laisse suggérer que ce dernier est un alcaloïde polyamine de type spermine.

L'interprétation des spectres RMN 1H et ^{13}C de ce composé s'est avérée difficile car il y a chevauchement des signaux. Ce chevauchement est dû à l'interconversion entre les isomères (*E* et *Z*) autour du groupement amide. Ce phénomène est également décrit par plusieurs auteurs (Ahmad *et al.*, 1983). La comparaison avec les données de la littérature a permis d'élucider la structure du composé **4**.

Les déplacements chimiques observés en RMN 1H et ^{13}C sont proches de ceux de la chaenorpine et dérivés (Zhang *et al.*, 2008; Zhu *et al.*, 1983). Des signaux spécifiques ont été observés. En effet, en séquence HSQC, les $\delta_{H13} = 5,82$ ($\delta_{C13} = 121,2$) et $\delta_{H14} = 6,56$ ($\delta_{C14} = 136,04$) indiquent la présence des H oléfiniques. L'existence d'un effet ROE entre les protons H_{13} ($\delta_{H13}=5,82$) et H_{14} ($\delta_{H14}=6,56$) permet de déterminer la configuration relative **Z** de ces deux protons oléfiniques. De même, $\delta_H = 1,9$ ($\delta_C = 21,1$) est caractéristique d'un proton méthyle (CH_3) lié à un groupement acétyle. Ce qui est confirmé en HMBC par une corrélation entre $\delta_H = 1,9$ ($\delta_C=21,07$) et $\delta_C=169,1$ qui est le déplacement d'un carbonyle (C=O). Un effet ROE entre $\delta_H = 1,9$ et $\delta_{H20} = 8,2$ ($\delta_C = 125,3$) permet de rattacher le groupement acétyle au noyau benzénique portant le carbone 20 précisément sur le carbone C18 constituant l'un des sites susceptibles de porter un substituant au niveau de l'oxygène.

Le carbone 1 (C1) est un centre chiral issu du couplage entre un résidu d'acide cinnamique et un résidu 1,3-diaminopropane dont la configuration absolue est (**S**) dans la majorité des cas

pour la plupart des composés de type chaenorpine (Dimitrov *et al.*, 2001; Zhu *et al.*, 1983). Le composé **4** est le dérivé 18-AcO-Chaenorpine. De plus, l'analyse du spectre MS/MS (figure 23) révèle des fragments déjà décrits par (Tawil *et al.*, 1989) pour les composés alcaloïdes polyamines de type spermine.

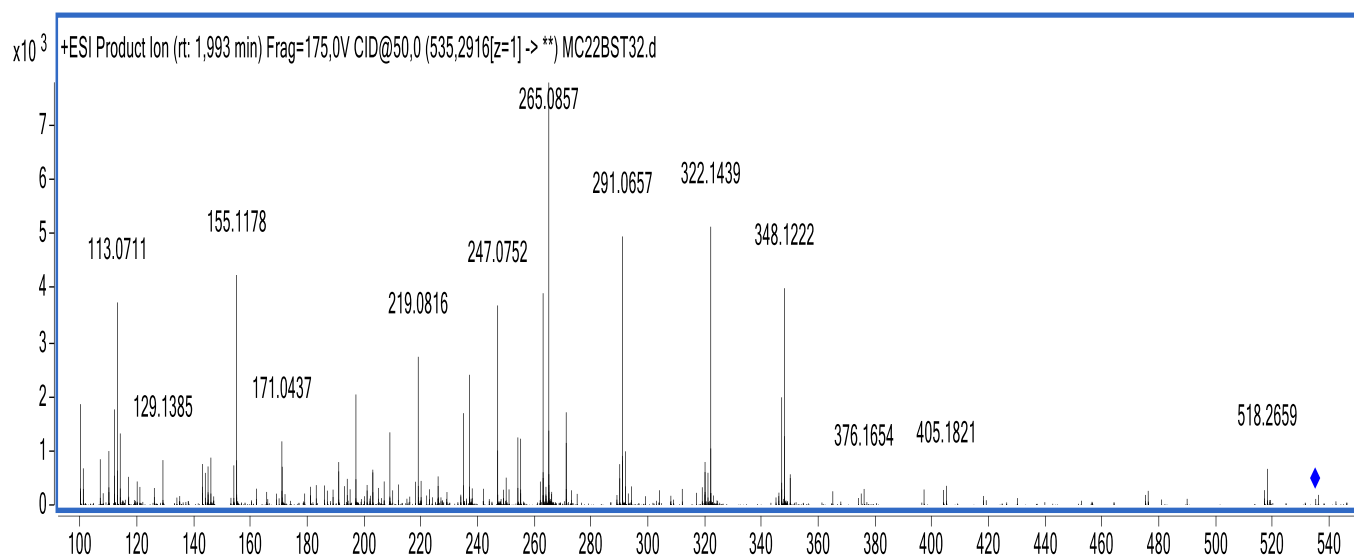


Figure 23 : spectre MS/MS du composé **4**

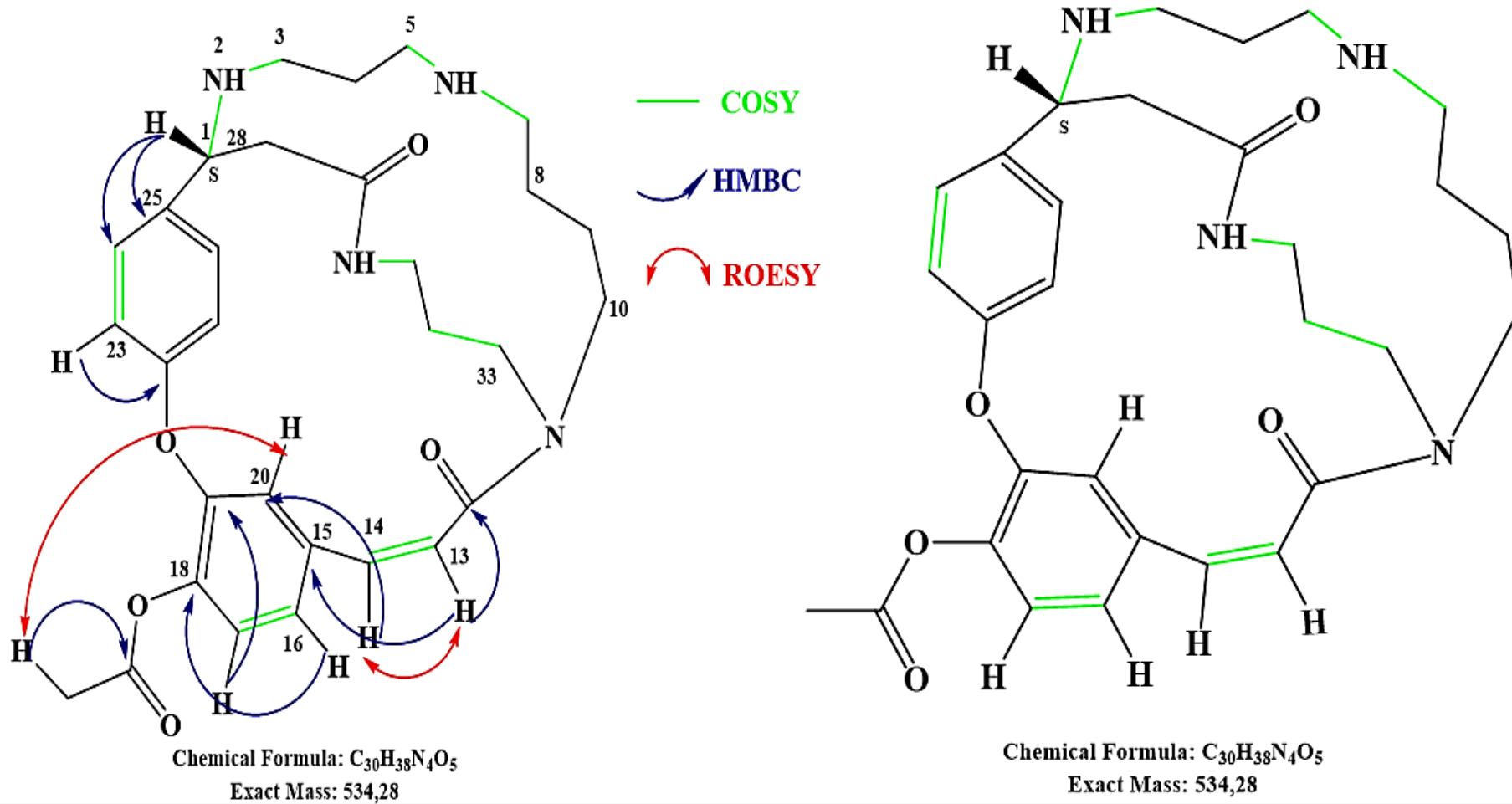


Figure 24 : composé 4 (18-AcO-chaenorpine)

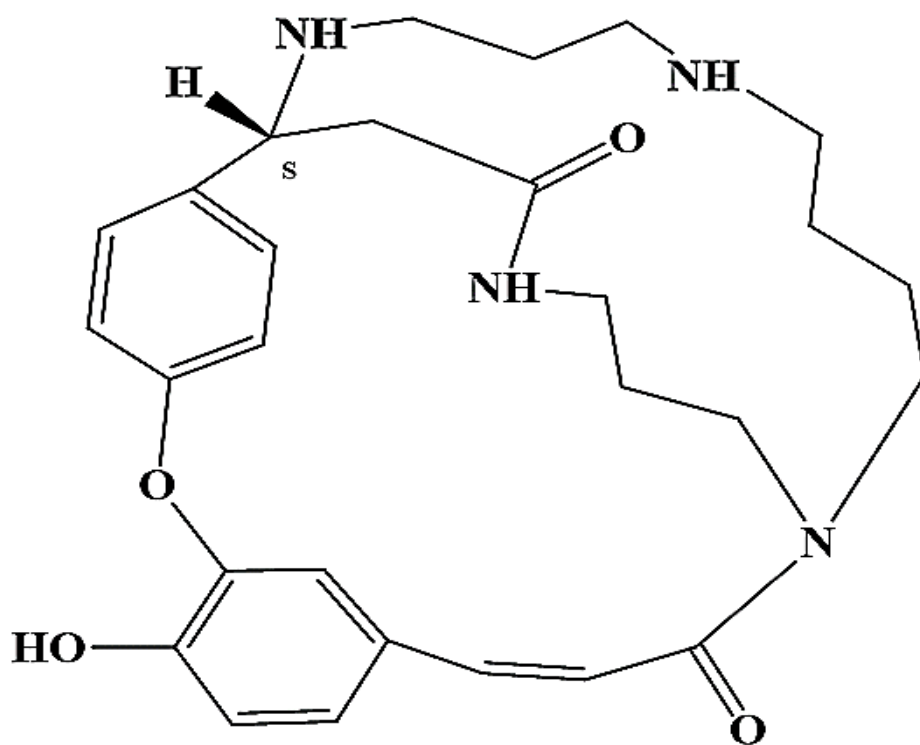
III.4.4. Détermination structurale du composé 5

Le composé **5**, de nature amorphe présente un ion pseudo-moléculaire à $m/z = 493,2810$ (espèce $[M+H]^+$) dont la formule brute est $C_{28}H_{36}N_4O_4$ (calculée pour 493,2707) (figure 25). L'analyse du spectre de masse a suffi pour déterminer la structure de ce composé. Il s'agit de la chaenorpine. La formule brute et la masse de ce composé donnent deux (2) hits sur *DNP* correspondant à deux isomères : la chaenorpine et l'aphelandrine.

Pour distinguer ces deux composés, une approche biosynthétique associée à l'analyse du spectre de masse aurait été nécessaire. Plusieurs voies biosynthétiques ont été envisagées (Forster *et al.*, 2016; Hashimoto *et al.*, 1994; Bienz *et al.*, 2002). Dans tous les cas, il s'agit du couplage entre la spermine et un acide arylpropénoïque (Stefan Bienz *et al.*, 2002). En clair, dans la chaenorpine cet acide est l'acide cinnamique tandis que l'acide coumarique est le constituant de l'aphelandrine. À partir de cette information, l'analyse du spectre de fragmentation du composé **5** devient un outil efficace pour sa détermination structurale. Ainsi, la présence d'un pic à $m/z = 348,1249$ qui est la prélandrine ; un précurseur selon le schéma de biosynthèse proposé par Dimitrov *et al.* (Dimitrov *et al.*, 2001) est un fragment issu de la perte d'un résidu d'acide cinnamique (représenté par le pic à $m/z = 143,04$; $C_{10}H_7O^+$) laissant croire que le composé **5** est la chaenorpine.

De plus, les pics $m/z = 479$, $m/z = 265$, $m/z = 251$ et $m/z = 198$ sont caractéristiques de l'aphelandrine et la chaenorpine. Spécifiquement le pic $m/z = 198$ est spécifique à l'aphelandrine (Dimitrov *et al.*, 2001). L'absence de ce pic dans notre spectre de masse confirme que nous sommes en présence de la chaenorpine.

En plus, la comparaison du spectre de masse du composé **5** à celui du composé **4** (18-AcO-chaenorpine) révèlent plusieurs fragments communs à ces deux composés. C'est d'ailleurs ce qui les rapproche (même cluster) dans le réseau moléculaire réalisé à partir des fractions de *B. senegalensis*.



Chemical Formula: $C_{28}H_{36}N_4O_4$
Exact Mass: 492,27

Figure 25 : composé **5** (Chaenorpine)

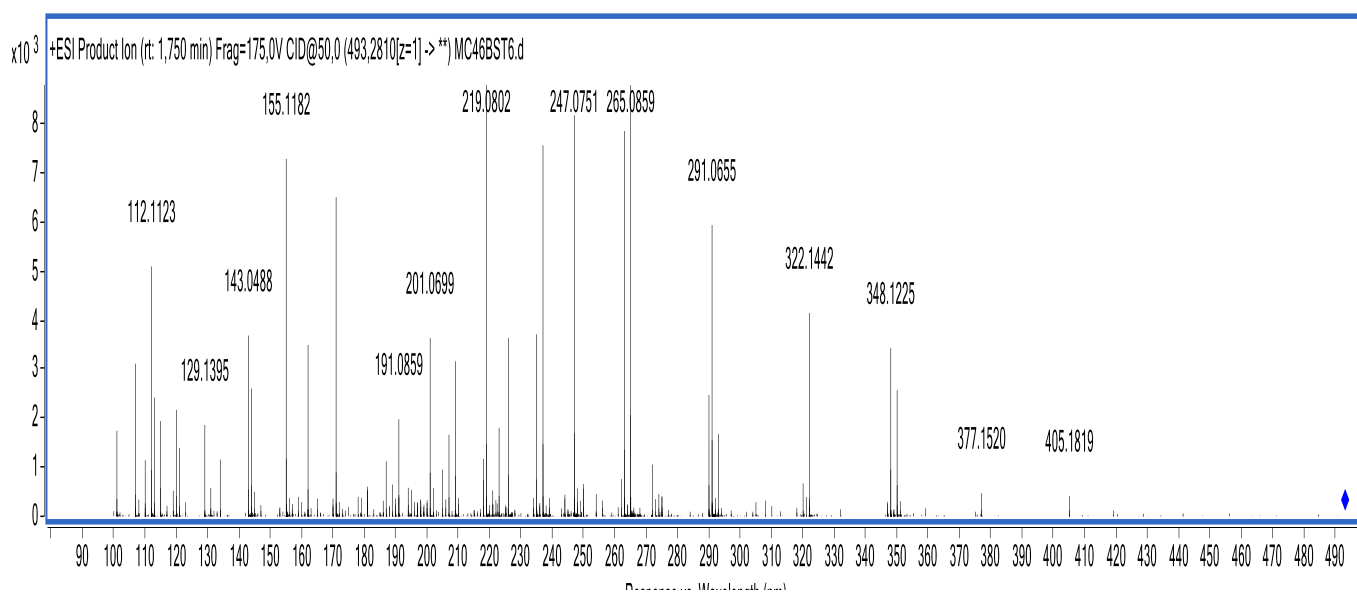


Figure 26 : spectre de masse du composé **5**

L'analyse du spectre de masse des composés **4** et **5** révèle plusieurs pics correspondants à des fragments dont les plus importants sont inscrits dans le tableau XI.

Tableau XI : fragments issus des composés **4** et **5**.

<i>m/z</i>	Formule brute
405,184	C ₂₅ H ₃₁ N ₃ O ₂
377,1441	C ₂₅ H ₂₃ N ₂ O ₃
348,1232	C ₁₉ H ₃₂ N ₄ O ₂ (Prélandrine)
332,492	C ₁₉ H ₃₂ N ₄ O (Protoverbine)
322,1424	C ₁₈ H ₁₈ N ₄ O ₂
291,0695	C ₁₆ H ₂₅ N ₃ O ₂
265,086	C ₁₄ H ₂₁ N ₂ O ₃
237,09	C ₁₃ H ₁₉ NO ₃
143,0488	C ₁₀ H ₇ O (Cinnamoyl)

En plus des propriétés chimiques des composés **4** et **5**, une approche biosynthétique a été sollicitée pour proposer les fragments issus de ces composés (figure 27). C'est le cas de la protoverbine qui sous l'action du cytochrome-P450 se transforme en prélandrine (Dimitrov, V., Geneste, H., Guggisberg, A. and Hesse, 2001).

Généralement, dans la chaenorpine, les groupements N (2) et N (6) sont susceptibles de porter des substituants (Tawil, B. F., Zhu, J.-P., Plantini, U., & Hese, 1989). Les signaux $\delta_H = 8,4$ et $\delta_H = 8,5$ correspondants à des protons amines sont la preuve que le composé **4** ne porte pas de substituants sur les groupements libres N (2) et N (6). Par ailleurs, le carbone C18 peut être substitué à travers l'oxygène lié à ce dernier. C'est l'exemple du 18-O-méthylchaenorpine isolé des racines d'*Aphelandra tetragona* par Zhu *et al.*, (Zhu, J., Hesse, 1983).

La présence d'un groupe acétyle sur ce site et le manque de substituants sur les groupements N (2) et N (6) sont évoqués pour la première fois. Ainsi, le dérivé 18-AcO-chaenorpine (composé **4**) est pour la première fois décrit à travers cette étude.

Il faut relever que les espèces de la famille des *capparaceae* sont connues pour produire des alcaloïdes polyamines de type spermidine (3 atomes d'azote) (Viqar Uddin Ahmad, Shoih Arif, Aziz-ur-Rahman Amber, 1986). La chaenorpine serait ainsi décrite pour la première fois dans l'espèce *B. senegalensis*.

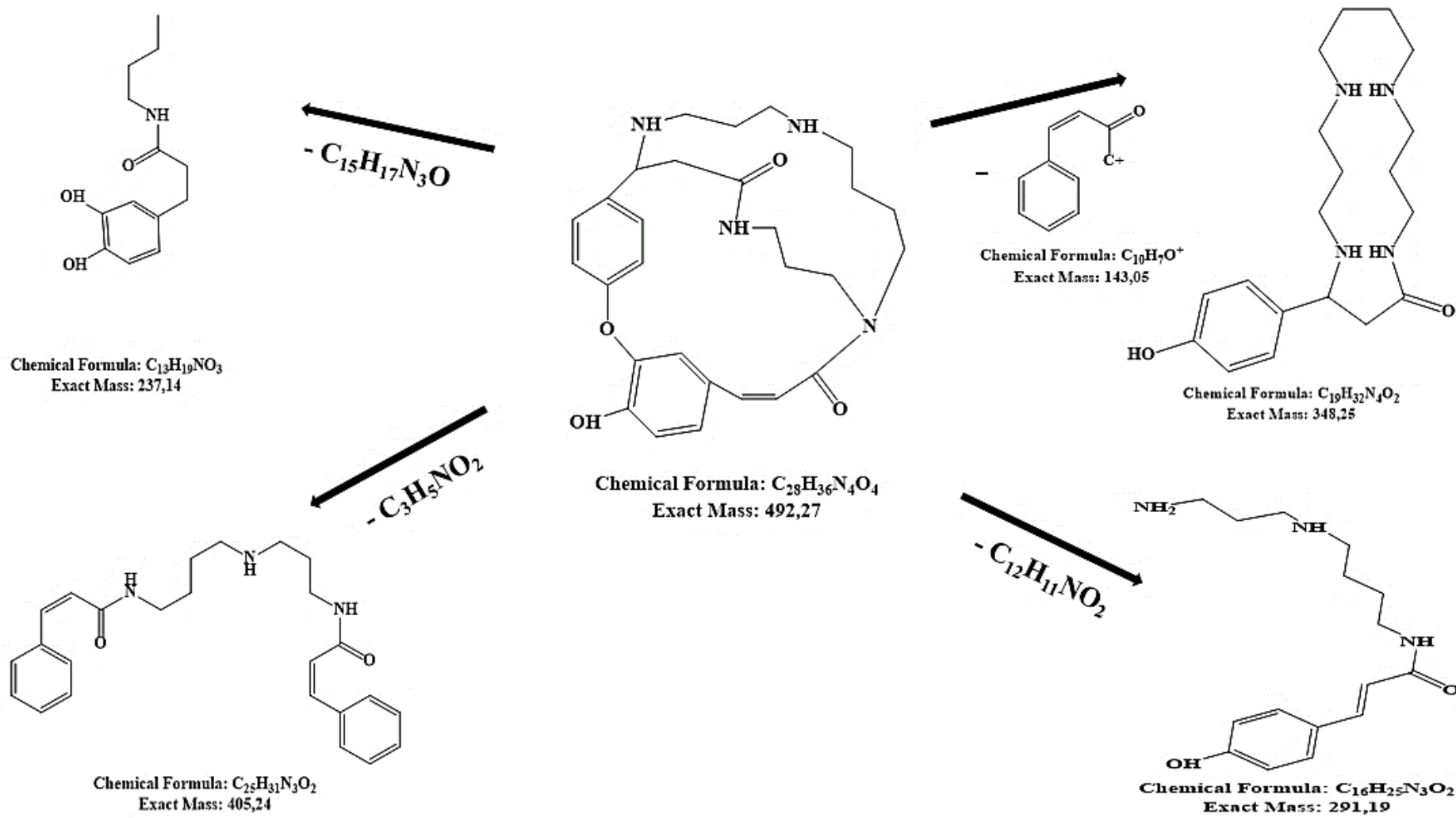


Figure 27 : fragmentations possibles du composé 5

III.5. Etudes phytochimiques de *Chrozophora brocchiana* (Euphorbiaceae)

L'extrait DCM-MeOH obtenu à partir des parties aériennes de *C. brocchiana* a été fractionné pour obtenir 5 fractions (C1 - C5) dont les données issues de l'analyse LC-MS ont permis de construire un réseau moléculaire (figure 28) accessible sur le lien suivant :

<https://gnps.ucsd.edu/ProteoSAFe/status.jsp?task=4a901d6fe2fe41f1b2596ff0f0fc83c3>.

Dans ce réseau moléculaire, nous avons plusieurs zones. Trois clusters (A, B et C) ont été analysés à cause de leurs compositions. Le cluster A contient un nœud portant l'ion pseudo moléculaire à $m/z= 797.08$ (espèce $[M+H]^+$) qui d'après les résultats des recherches sur *DNP* correspondrait par chimiotaxonomie à la 13-Hydroxyterracinolide B de formule brute $C_{38}H_{52}O_{18}$ qui est un composé isolé d'*Euphorbia segatalis* et *Euphorbia terracina*, deux espèces de la famille des Euphorbiaceae à laquelle appartient *C. brocchiana* (Kablan *et al.*, 2020; Allard *et al.*, 2016). Le cluster B et C renferment des nœuds qui ont des correspondances avec les bases de données de *GNPS* à savoir la cosmosiine ($m/z=433,11$; espèce $[M+H]^+$; $C_{21}H_{20}O_{10}$), la luteolin-4'-O-glucoside ($m/z= 449,10$; espèce $[M+H]^+$; $C_{21}H_{20}O_{11}$), la quercetin-4'-O-glucoside ($m/z= 465,10$; espèce $[M+H]^+$; $C_{21}H_{20}O_{12}$) pour le cluster B. Dans le cluster C, on retrouve la glycitine ($m/z=447,12$; espèce $[M+H]^+$; $C_{22}H_{22}O_{10}$).

L'analyse du réseau moléculaire, montre que plusieurs composés ont été isolés de cette plante. Compte tenu du nombre élevé de correspondances avec les bases de données (*GNPS* et *DNP*) et la nature des composés renfermés dans ces clusters, la possibilité de trouver des composés intéressants (composés nouveaux et aisément isolables) semble faible.

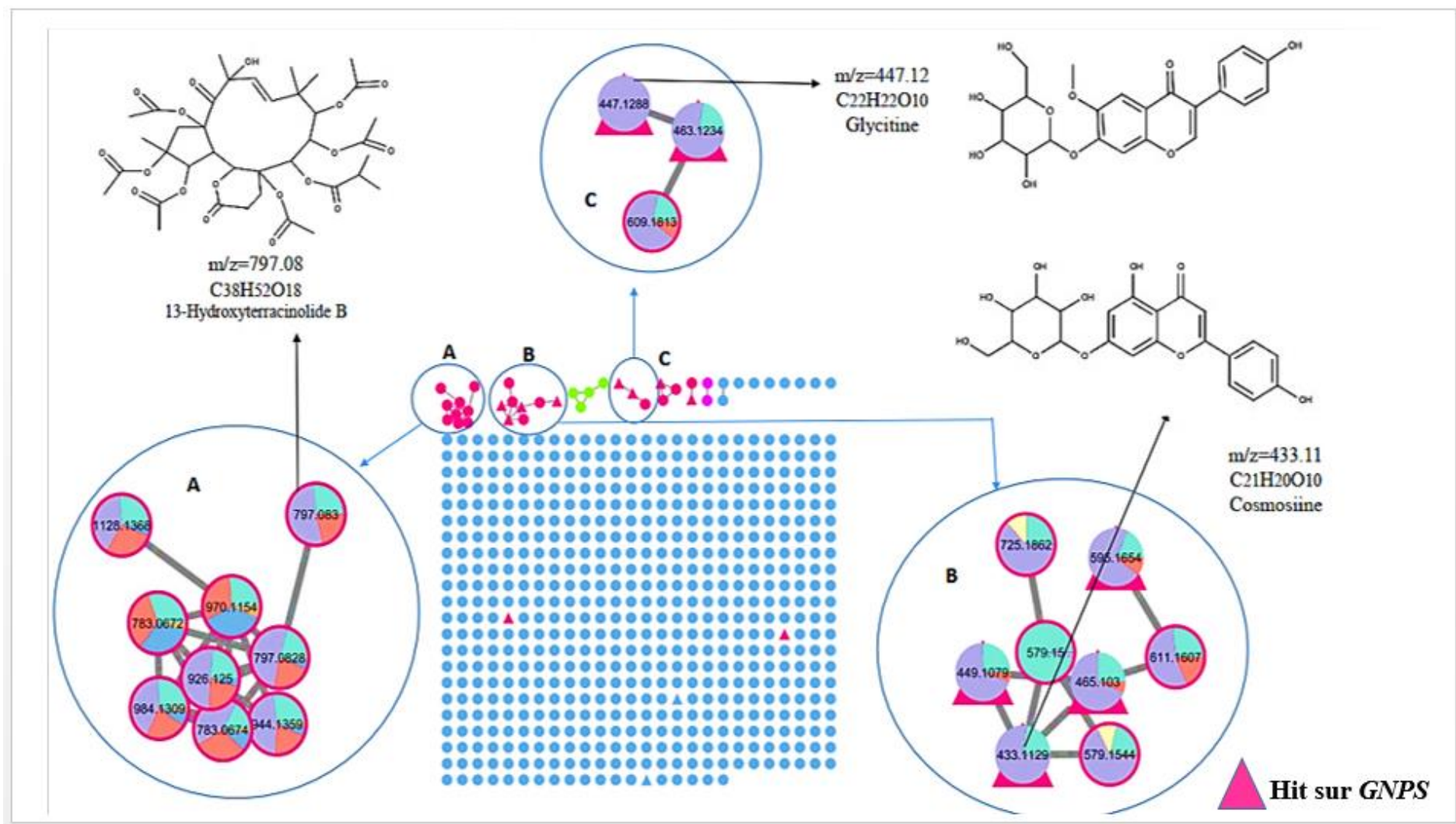


Figure 28 : réseaux moléculaires réalisés à partir des fractions de *C. brocchiana*

III.6. Rendements des différentes extractions à partir de *C. brocchiana*

Le rendement le plus élevé est obtenu avec les extraits EtOH-Eau (70:30) (60%), suivi des extraits Hexane (45%), DCM / MeOH (35 %), DCM (12,35%) et AcOET avec le plus faible rendement (10%) (Tableau XII).

Tableau XII : propriétés physiques et rendements des différents extraits

Extraits	Nature physique	Couleur	Rendements (%)
Hexane	Poudre	Verte	45
DCM	Pate	Verte	12,35
AcOET	Poudre	Verte	10
Ethanol-Eau (70 :30)	Poudre	Marron	60
DCM / MeOH	Pate	Verte	35

III.7. Activités anthelminthiques

Les effets anthelminthiques des substances sont à chaque fois appréciés *in vivo* et/ou *in vitro*. Pendant ce travail, nous avons opté pour les tests *in vitro* car ils permettent un criblage standardisé des échantillons. Ils ont pour avantage d'être reproductibles, peu coûteux, sensibles et fiables. Ils reposent sur l'hypothèse d'un effet direct des métabolites secondaires sur les vers et permettent de réaliser des études quantitatives (effet-dose) et qualitatives (Molan *et al.*, 2000; Terrill *et al.*, 1994). Ces méthodes *in vitro* ont aussi l'avantage de permettre une analyse plus aisée des composés impliqués que dans le cas d'études *in vivo* où une métabolisation des molécules en fonction des conditions rencontrées dans les divers organes digestifs est à envisager (Manolaraki, 2011). Dans ces tests *in vitro*, les extraits de plantes sont directement mis en contact avec les œufs, les larves ou les vers adultes des parasites afin d'évaluer le pouvoir inhibiteur sur l'éclosion des œufs, le pouvoir paralysant sur les larves ou les vers adultes (Embeya, 2011; Okombe & Pongombo, 2013).

Dans la présente étude, nous avons utilisé plusieurs extraits de plantes ainsi que le Lévamisolé comme témoin positif.

Les résultats du test de l'activité anthelminthique des extraits des deux (2) plantes et des témoins positif (Lévamisolé) et négatif (solution normale saline 0,9 % NaCl) de référence sur les vers adultes *d'A.galli* sont consignés sur les graphes de la figure 29 à la figure 32.

Les différents extraits et la solution de Lévamisolé ont réduit significativement la motilité des vers adultes comparés à la solution normale saline (0,9 % NaCl) ($P < 0.05$). Une inhibition totale (100%) a été observée avec la majorité des extraits avant 24h avec toutes les concentrations testées. Les extraits hexane des deux plantes ont inhibé la motilité des vers après 24 h d'exposition à la concentration de 1,25 g/L.

A la concentration de 10 g/L, les extraits DCM et AcOET des racines de *B. senegalensis* ont provoqué une inhibition totale de la motilité des vers après 6 h d'exposition. Les extraits EtOH-Eau (70 :30) des racines de *B. senegalensis*, les extraits de DCM, AcOET, EtOH-Eau (70 :30) des parties aériennes de *C. brocchiana* et les extraits EtOH-Eau (70 :30) de la combinaison des deux plantes ont montré une inhibition totale de la motilité des vers après 10 h d'exposition à ces différents extraits. Les extraits hexane des deux plantes ont inhibé la motilité des vers après 15 h d'exposition. Il ressort que les extraits DCM et AcOET des racines de *B. senegalensis* sont plus actifs comparés aux autres extraits ($P < 0.05$).

Pour la concentration de 5 g/L, les extraits DCM et AcOET des racines de *B. senegalensis* ont montré une inhibition totale de la motilité des vers après 9 h d'exposition. Les extraits EtOH-Eau (70 :30) des racines de *B. senegalensis*, les extraits de DCM, AcOET, EtOH-Eau (70 :30) des parties aériennes de *C. brocchiana* et les extraits EtOH-Eau (70 :30) de la combinaison des deux plantes ont montré une inhibition totale de la motilité des vers après 15 h d'exposition. Les extraits hexane des deux plantes ont inhibé la motilité des vers après 18 h d'exposition.

A la concentration de 2,5 g/L, les extraits DCM des deux plantes ont montré une inhibition totale de la motilité des vers après 12 h d'exposition. Les extraits AcOET, EtOH-Eau (70 :30) des deux plantes et les extraits EtOH-Eau (70 :30) de la combinaison des deux plantes ont montré une inhibition totale de la motilité des vers après 18 h d'exposition. Les extraits hexane des deux plantes ont inhibé la motilité des vers après 20 h d'exposition.

A la concentration de 1,25 g/L, les extraits DCM, AcOET, EtOH-Eau (70 :30) des deux plantes ont inhibé la motilité des vers après 15 h d'exposition. Les extraits EtOH-Eau (70 :30) de la combinaison des deux plantes ont montré une inhibition totale de la motilité des vers après 19 h d'exposition. Les extraits hexane des deux plantes ont inhibé la motilité des vers après 24 h d'exposition.

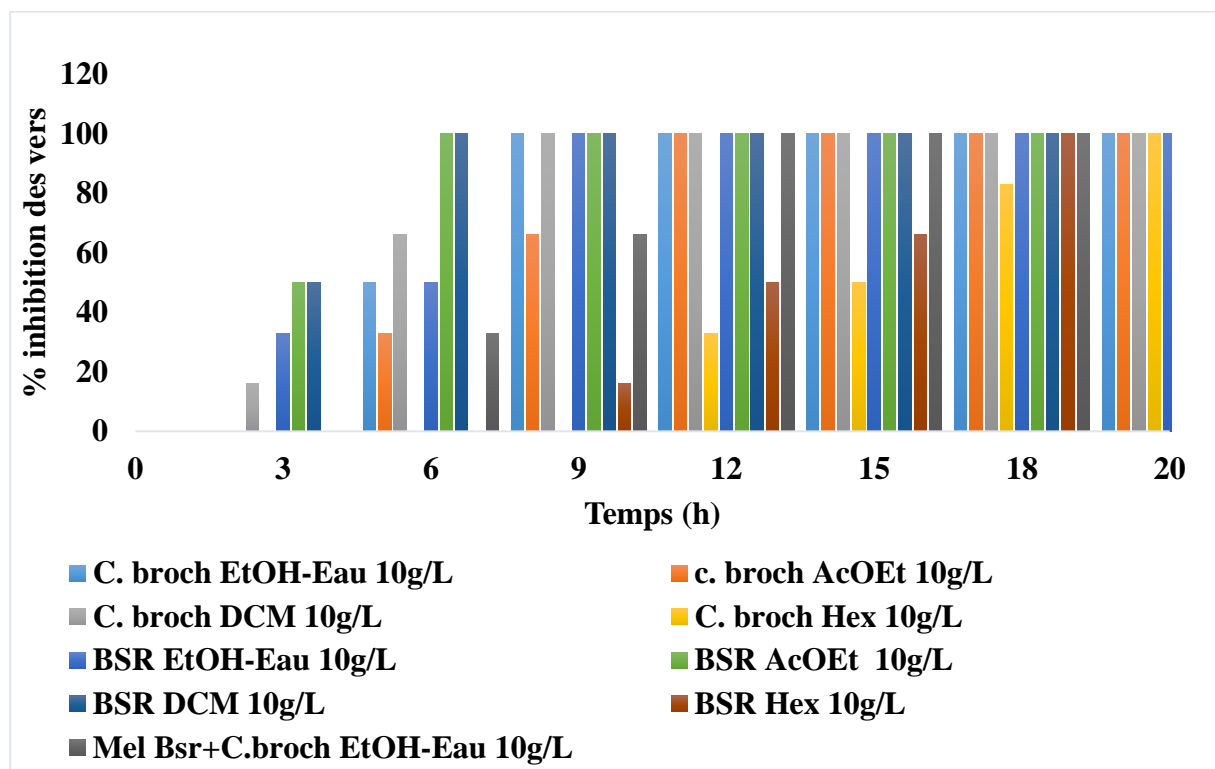


Figure 29 : diagramme du potentiel vermicide des différents extraits à C=10g/L

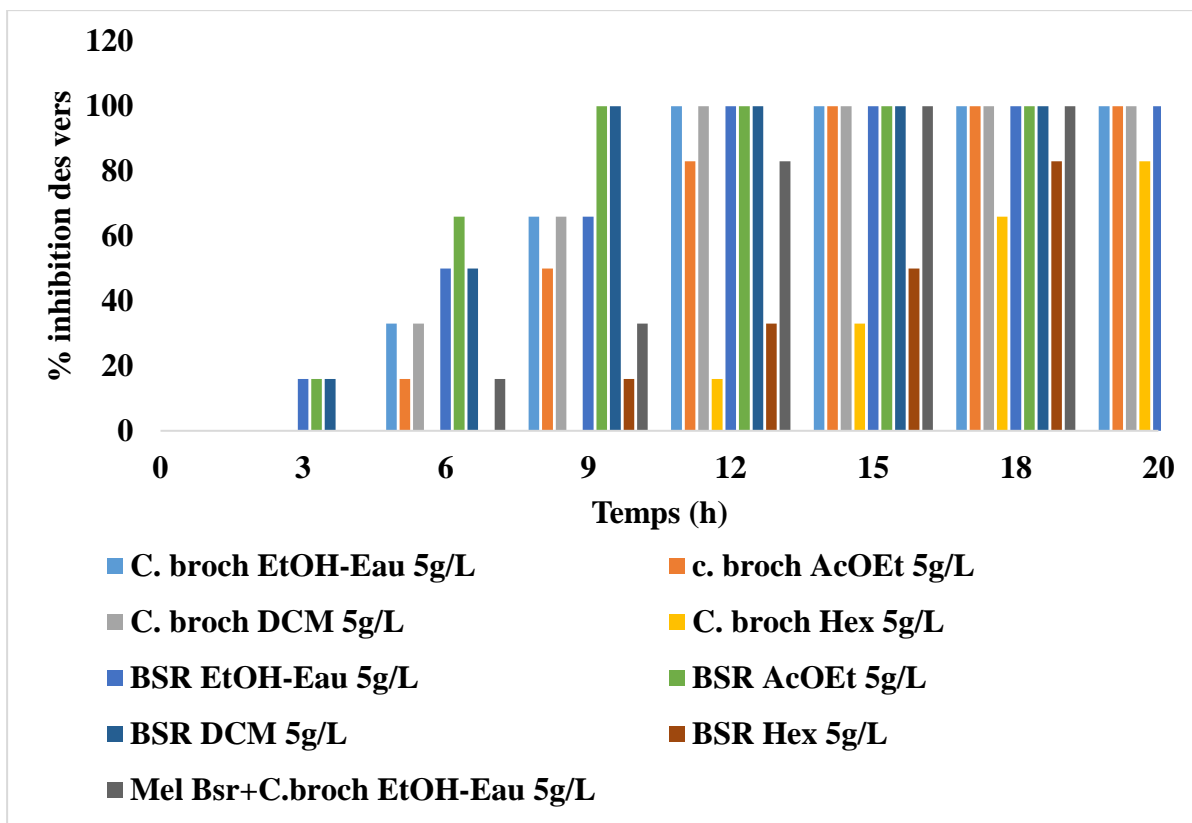


Figure 30 : diagramme du potentiel vermicide des différents extraits à C=5g/L

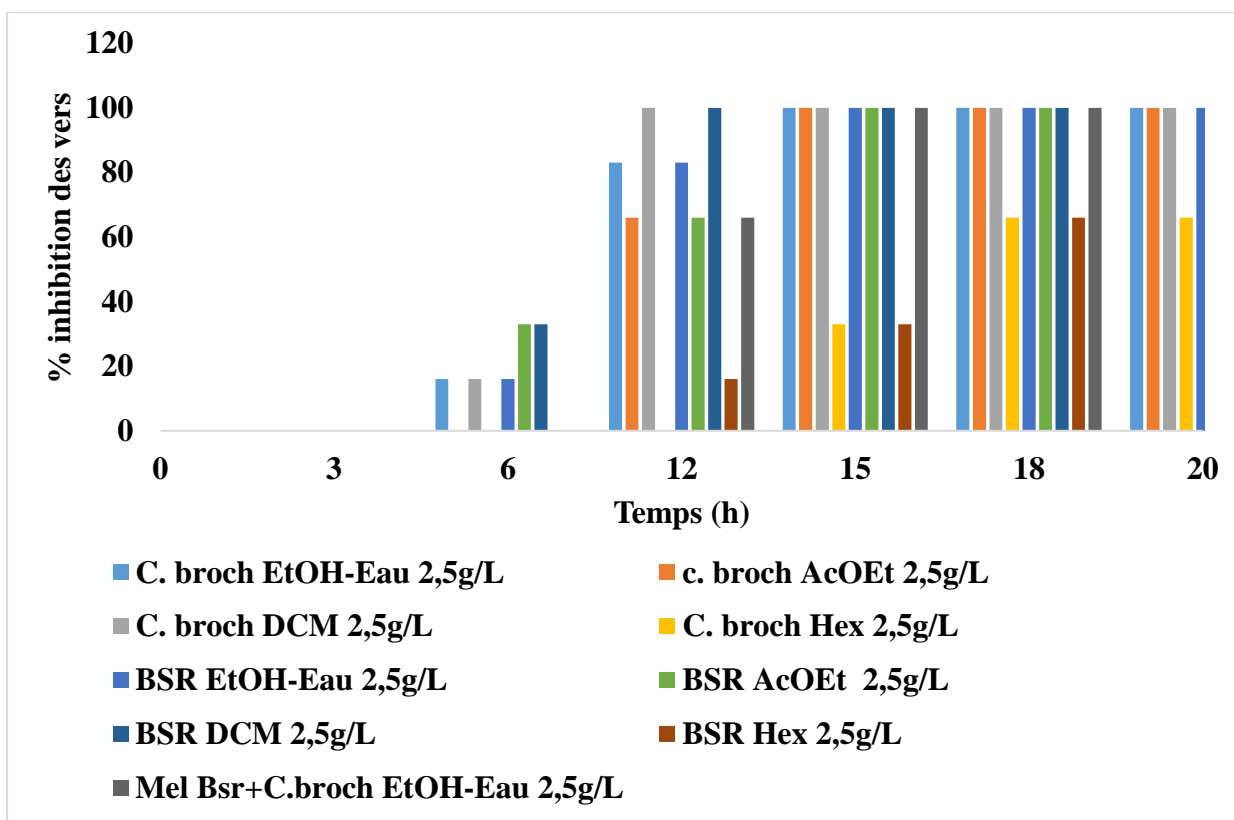


Figure 31 : diagramme du potentiel vermicide des différents extraits à C=2,5 g/L

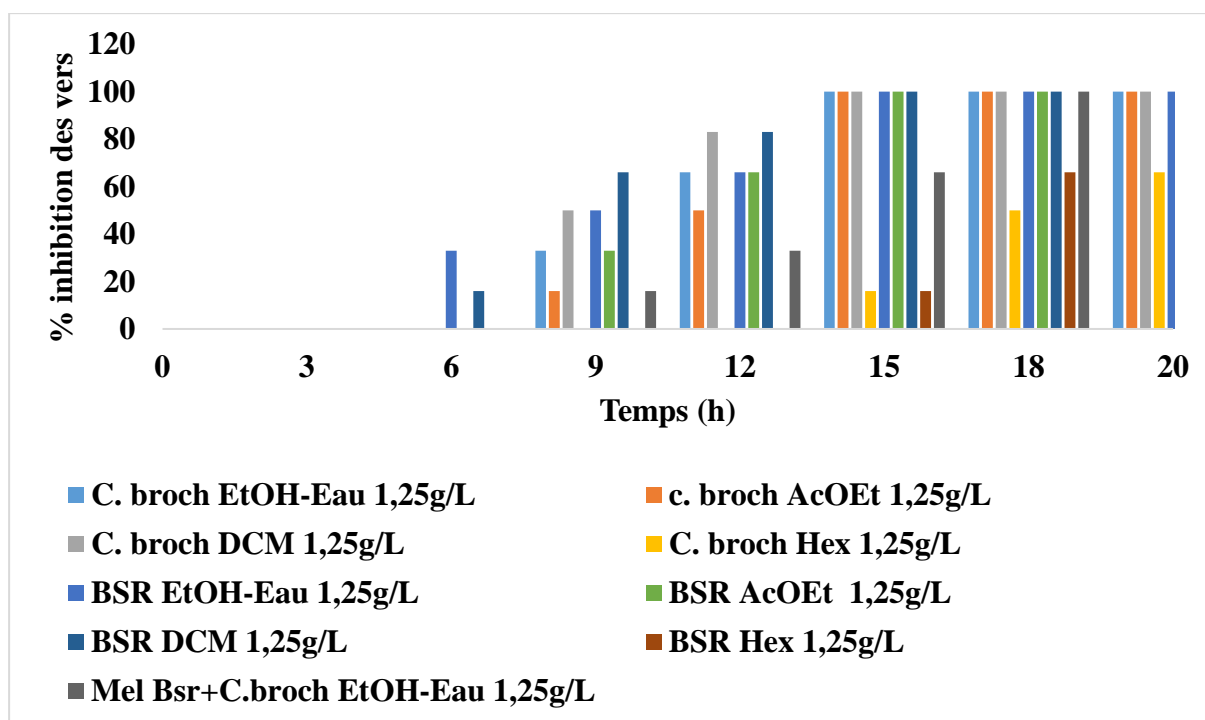


Figure 32 : diagramme du potentiel vermicide des différents extraits à C=1,25 g/L

Afin de comparer les potentialités de chaque extrait testé, les concentrations inhibitrices medianes (CI₅₀) des différents extraits ont été calculées et consignées dans le tableau XIII. Les extraits DCM, AcOET de *B. senegalensis* sont les plus actifs avec des CI₅₀ faibles.

Tableau XIII : concentration inhibitrice médiane des différents extraits (CI₅₀)

Extraits	CI ₅₀ (g/L)
Lévamisole 2g/L	1,10 ^a
<i>B. Senegalensis</i> DCM	1,54 ^a
<i>B. Senegalensis</i> AcOET	1,87 ^a
<i>C. brocchiana</i> DCM	2,95 ^b
<i>C. brocchiana</i> EtOH-Eau	3,14 ^b
<i>B. Senegalensis</i> EtOH-Eau	3,74 ^c
<i>C. brocchiana</i> AcOEt	3,80 ^c
<i>C. brocchiana</i> Hexane	4,28 ^c
Melange <i>B. Senegalensis</i> + <i>C.broch</i> EtOH-Eau	4,28 ^c
<i>B. Senegalensis</i> Hexane	4,70 ^d
NaCl 0,9 %	8,21 ^e

Les valeurs avec des lettres différentes sont significativement différentes au seuil de $p < 0,05$.

La combinaison des extraits EtOH-Eau (70 :30) des deux (2) plantes, préparée dans les mêmes conditions dans notre laboratoire, que les extraits des plantes séparées, s'est trouvée moins active que les plantes seules. Cela pourrait être expliqué par une inhibition entre les constituants du mélange. Cette combinaison pourrait être en faveur des composés qui inhibent ou ralentissent les efficacités observées des espèces prises individuellement.

Par ailleurs, des études ont montré que *B. senegalensis* est plus actif que *Crataeva nurvala* (Capparaceae) qui a inhibé la motilité des vers adultes d'*A. galli* après 1h à la concentration de 25 g/L (Rajesh *et al.*, 2011). Par contre, *C. brocchiana* est moins actif qu'*Euphorbia ligularia* (Euphorbiaceae) qui a montré une activité nematocide contre les adultes d'*A. galli* après 34 minutes d'exposition à la concentration de 10 g/L (Baheti *et al.*, 2017).

Les activités observées avec les extraits de ces plantes peuvent être liées à la présence des flavonoïdes au vu des résultats du dosage des composés phénoliques. En effet, la teneur en flavonoïde des extraits DCM de chacune de ces plantes est plus importante. Cela peut être lié à une question de solubilité des principes actifs. Ces fractions, par leurs natures polaires et semi polaires peuvent renfermer de grandes quantités des composés ayant des activités anthelminthiques comme les flavonoïdes (Sharma, 2014).

De nombreuses plantes contiennent des métabolites secondaires ayant une activité sur les parasites comme les composés terpéniques et phénoliques.

Les composés phénoliques (flavonoïdes et tanins) peuvent perturber le métabolisme digestif en inhibant la phosphorylation oxydative, ce qui provoque la mort du parasite (Kateregga *et al.*, 2014). Les tanins peuvent se lier à la cuticule d'*A. galli* et réduire sa flexibilité. Par conséquent, les parasites sont incapables de passer dans l'épithélium de l'hôte et sont éliminés de l'organisme (Jain *et al.*, 2013). Les tanins condensés se lient à la muqueuse intestinale du parasite et provoquent une autolyse (Del Carmen Acevedo-Ramírez *et al.*, 2019).

Quant aux composés terpéniques, ils peuvent entraîner une perturbation dans la polymérisation de la tubuline (Jain *et al.*, 2013) et provoquer une inflammation intestinale chez le parasite (Borba *et al.*, 2010). Certains triterpènes, provoquent une neurotoxicité chez *A. galli* en interagissant avec le récepteur de la tyramine (Kaplan *et al.*, 2014; Symeonidou *et al.*, 2018). Les triterpènes peuvent, en raison de leur activité hormonale, détériorer le cycle de reproduction d'*A. galli* (Acton, 2012; Ali *et al.*, 2011; Van Krimpen *et al.*, 2010).

Les composés azotés comme les alcaloïdes peuvent avoir des effets anthelminthiques. Les alcaloïdes affectent la mobilité des parasites en ciblant le récepteur de l'acétylcholine, entraînant une paralysie (Wink, 2012). Les parasites paralysés sont ainsi éliminés de l'hôte par péristaltisme (Symeonidou *et al.*, 2018). Ils causent la paralysie des helminthes en agissant sur leur système nerveux (Idris *et al.*, 2019; Roy *et al.*, 2010). Ces composés peuvent provoquer la génération de nitrates et réduire la quantité de sucre qui passe de l'estomac à l'intestin grêle, entraînant des réactions défavorables aux conditions de développement des parasites intestinaux (Borba *et al.*, 2010).

Plusieurs composés isolés de ces plantes se sont retrouvés dans d'autres espèces et leurs activités vermicides ont été prouvées. C'est le cas de l'acide caféique et l'acide coumarique dans *B. senegalensis* et la rutine, l'acide gallique et l'acide chlorogénique dans *C. brocchiana*.

(Barrau *et al.*, 2005), dans un essai bio guidé ont inhibé la motilité des vers parasites (*Haemoncus contortus*) avec une préparation de rutine isolé d'*Onobrychis viciifolia* à la dose de 1200 µg/mL. De même, le kaempferol-3-O-glucoside isolé des feuilles de *Gliricidia sepium* (2400 µg/mL) a inhibé le dégainement des larves de *Haemoncus contortus* (Von Son-de Fernex *et al.*, 2017). L'acide gallique (1000 µg/mL) isolé à partir de *Caesalpinia coriaria* a montré une activité ovicide sur plusieurs parasites intestinaux chez le bétail (García-hernández *et al.*, 2019). (Castañeda-ramírez *et al.*, 2019) ont évalué les propriétés vermicides des feuilles de *Senegalia gaumeri* par essai bioguidé. Ils ont conclu que l'acide coumarique avait des propriétés anthelminthiques. (Castillo-Mitre *et al.*, 2017) ont isolé plusieurs dérivés d'acide caféique d'*Acacia cochliacantha*. Après, évaluation de leurs activités biologiques, il ressort que l'acide caféique et la quercétine (1 mg/L) étaient les plus actifs contre les vers parasites (*Haemoncus contortus*). L'étude des potentialités vermicides de *Tagetes filifolia* a montré que l'acide chlorogénique était le principe actif (Jasso Díaz *et al.*, 2017).

À travers cette démarche, il est possible de croire que les effets anthelminthiques observés à partir de nos extraits seraient dus à la présence des composés ci-dessus cités dont les potentialités biologiques ont été prouvées. Une corrélation entre notre étude et d'autres tests pourraient expliquer les activités vermicides de nos extraits. Il faut également noter que nos extraits pourraient renfermer des composés inconnus qui seraient responsables des potentialités anthelminthiques.

Conclusion générale et perspectives

Conclusion générale et perspectives

Au cours de ces travaux trois (3) espèces ont été étudiées dans le but de découvrir de nouvelles molécules dont deux plantes supérieures et un champignon. Il s'agit des plantes *B. senegalensis*, *C. brocchiana* et du champignon *A. amerivirosa*.

Le criblage chimique des extraits de *B. senegalensis* et *C. brocchiana* a révélé la présence de plusieurs familles de métabolites secondaires. Les alcaloïdes, les tanins, les flavonoïdes, les quinones, les saponosides, les stéroïdes et terpenoïdes ont été détectés dans les extraits de *B. senegalensis*. Les alcaloïdes et les saponosides sont absents dans les extraits de *C. brocchiana*. Ces plantes sont riches en composés phénoliques.

L'étude d'*Amanita amerivirosa* a conduit à l'isolement de trois (3) nouvelles toxines appartenant aux groupes de phallotoxines (amériphalloïdine (1)) et de virotoxines (amériviroïdine (2) et amériviroisine (3)).

L'étude de *Boscia senegalensis* a permis d'isoler deux alcaloïdes dont la 18-AcO-chaenorpine (composé 4) nouvellement décrit à notre connaissance. Le second composé est la chaenorpine (composé 5) décrit pour la première fois dans *B. senegalensis*.

Au vu du nombre élevé de matchs avec les bases de données du GNPS, nous n'avons pas insisté sur l'étude de *C. brocchiana* car les chances de trouver des nouvelles molécules semblent faibles dans cette espèce.

L'évaluation des propriétés anthelminthiques des extraits Hexane, DCM, AcOET et EtOH-Eau de *B. senegalensis* et *C. brocchiana* ont permis de mettre en évidence leurs activités vermicides. Tous les extraits testés ont montré un effet nématocide sur les vers adultes d'*A. galli*. Cependant les extraits DCM, AcOET de *B. senegalensis* sont les plus actifs.

À travers les conclusions de cette étude nous pouvons dégager un certain nombre de perspectives, à savoir :

- tester les composés isolés d'*A. amerivirosa* et *B. senegalensis* (composé **1-5**) pour des activités biologiques (cytotoxicité, antiparasitaire) ;
- confirmer l'innocuité des extraits et des composés isolés d'*A. amerivirosa* et *B. senegalensis* (composé **1-5**) par une évaluation de la toxicité chronique ;
- étendre les investigations sur d'autres espèces utilisées en médecine traditionnelle issues de la pharmacopée au Niger et/ou ailleurs ;
- mener des tests *in vivo* afin de confirmer les propriétés vermicides de nos extraits ;
- élaborer des phytomédicaments améliorés conformément aux directives de l'OMS, efficaces et accessibles à l'usage humain et/ou vétérinaire.

Références bibliographiques

- Acton, A. Q. (2012). Cestode Infections. *Advances In Research And Treatment*, 8–9. Scholarly ed. Atlanta : USA.
- Adebisi, I. M., & Alebiosu, O. C. (2014). A survey of herbal abortifacients and contraceptives in Sokoto. *international journal of current research in chemistry and pharmaceutical sciences research article*. 1(7), 81–87.
- Adeniyi, F. A. A., Ogunyemi, E. O., & Idowu, T. O. (2007). Toxicity studies on an unripe *Carica papaya* aqueous extract : biochemical and haematological effects in wistar albino rats. *Rev. Sci. Nat.* 1(5), 1–4.
- Adjanohoun E.J., Ahyi M.R.A., Ake Assi L., Dan Dicko L., Daouda H., Delmas M., De Souza S., Garba M., Guinko S., Kayonga A., N'golo D., R. J. E. S. M. (1985). Médecine traditionnelle et pharmacopée - contribution aux études ethnobotaniques et floristiques au Niger (ACCT) Paris , 250p.
- Adjanohoun E.J., Aké Assi L., Eymé J., Gassita J.N., Goudoté E., Guého J., Ip F.S.L., Jackaria D., Kalachand S.K.K., Kéita A., Koudogbo B., Landreau D., Owadally A.W., S. A. (1983). Médecine traditionnelle et pharmacopée : contribution aux études ethnobotaniques et floristiques à Maurice (ACCT) Paris, 214p.
- Ahmont Claude Landry Kablan, Jacques Dibikonan, G., Komlaga, Faustin Akakabran, Ballo Daouda, A., N'Tamon, Tapé Kouamé, Adrien Jagora, K. L., Blandineseon-Méniel, Mehdi Beniddir, K. B., & Attioua, Pierre Le Pogam, P. C. (2020). five new cassane diterpenes from the seeds and bark of *Erythrophleum suaveolens*. *fitoterapia*. 17 (1), 1–14. <https://doi.org/10.1016/J.Fitote.2020.104700>
- Ali, N., Wadood, S., Shah, A., Shah, I., Ahmed, G., Ghias, M., & Khan, I. (2011). Cytotoxic and anthelmintic potential of crude saponins isolated from *Achillea wilhelmsii* c . koch and *Teucrium stocksianum* boiss. *Ann. Méd. Vét* 5(3) 106-111.
- Allard, P.-M., Péresse, T., Bisson, J., Gindro, K., Marcourt, L., Pham, V. C., Roussi, Fanny Litaudon, M., & Wolfender, And J.-L. (2016). Integration of molecular networking and in-silico ms/ms fragmentation for natural products dereplication. *Anal. Chem.* 4(5) 51-62) <https://doi.org/10.1021/Acs.Analchem.5b04804>
- Arbonnier. (2000). Arbres, Arbustes Et Lianes Des Zones Sèches d'Afrique De l'Ouest

(CIRAD, MNH). Montpellier, France, 539 p.

- Ariste-Zelize, M. (2020). Contribution à l'étude de ressources végétales utilisables en santé animale : test de résistance de souches parasitaires et évaluation de l'activité de tanins condensés. *HAL Id : Hal-02787482*.
- Azizah Muhaiminahul, Patcharee P. (2020). UHPLC-ESI-QTOF-MSMS-Based Molecular networking guided isolation and dereplication of antibacterial and antifungal constituents of *Ventilago denticulata*. *Antibiotics*, 9, 34-42pages?.
- Baheti, Shikha A. Baheti, Suvarna Ingale, Chinmay Deshmukh, M. S. W. (2017). *In vitro* evaluation of anthelmintic activity of juice of *Euphorbia ligularia* roxb. *Indoamerican Journal Of Pharmaceutical Research.*, 8 98-103pages ?.
- Bahorun, T. (1997). Substances Naturelles Actives : La Flore Mauricienne Une Source D'approvisionnement Potentielle. *Food And Agricultural Research Council*, 83., 83.
- Barrau, E., Fabre, N., Fouraste, I., & Hoste, H. (2005). Effect of bioactive compounds from sainfoin (*Onobrychis viciifolia* scop .) on the in vitro larval migration of *Haemonchus contortus*: role of tannins and flavonol glycosides. *Parasitology*, 131,531–538. <https://doi.org/10.1017/S0031182005008024>.
- Bastien, P., & Bastien, P. (2011). Généralités Sur Le Parasitisme Et Les Parasites. 2. http://www.med.univmontp1.fr/enseignement/cycle_1/PCEM2/modbase/MB7_Bio_Med/Ressources_locales/PARASITO-MYCO/P1-Généralités.pdf Page consultée le 31-03-2018.
- Békro Y. A., Békro J. A. M., Boua B. B., T. B. F. H. E. E. E. E. (2007). Etude ethnobotanique et screening phytochimique de *Caesalpinia benthamiana* (baill.) Herend. et Zarucchi (caesalpinaceae). *Rev. Sci. Nat.*, Vol. 4 (2) : 217-225.
- Belem, M. O., Yameogo, J., Ouedraogo, S., & Nabaloum, M. (2017). Etude ethnobotanique de *Boscia senegalensis* (Pers .) Lam (Capparaceae) dans le département de Banh , province du Loroum , au nord du Burkina Faso. *J. of Anim & Plant Sciences*.34(1), 5390–5403.
- Belfekih, F., El, O., Mariam, Y., Lella, C., Abdellahi, O., & Sammama, A. (2017). Screening phytochimique d' *Arbutus Unedo* L. *Am. J. Innov. Res. Appl. Sci.* ; 5(3).237–245.
- Beniddir, M. A., Ramos, A. E. F., Evanno, L., Beniddir, M. A., Poupon, E., & Champy, P. (2019). Natural products targeting strategies involving molecular networking: different

- manners, one goal. 36(7) 23-31. <https://doi.org/10.1039/C9np00006b>. www.rsc.org.
- Benzalim, M. (2010). dépistage des parasites intestinaux chez les enfants consultant à l'hôpital de jour de pédiatrie Au CHU Med VI A Marrakech.. Thèse Doctorat. Faculté de Médecine et de Pharmacie. Université Cadi Ayyad Marrakech (Maroc). 146p
- Berge, G., Diallo, D. & Hveem, B. (2005). Les plantes sauvages du sahel malien : les stratégies d'adaptation à la sécheresse des sahéliens (*Editions K*).330p
- Blaxter, M. L., Dorris, M., Frisse, L. M., Vida, J. T., & Thomas, W. K. (1998). A molecular evolutionary framework for the phylum nematoda. *The biology of nematodes*. London, UK, Taylor & Francis, pp. 1-30.
- Borba, H. R., R. B. Freire, A. C. Albuquerque, M. E. O. Cardoso, I. G. Braga, S. T. P. Almeida (2010). Anthelmintic comparative study of *Solanum lycocarpum* St. Hill Extracts In Mice naturally infected with *Aspicularis tetraptera*. *Nature And Science*, 8, 94–100.
- Bruneton. (1999). Pharmacognosie, Phytochimie et Plantes Médicinales (*Edition Te*).1123p.
- Castañeda-Ramírez, G. S., Felipe, J., Torres-Acosta, D. J., Sandoval-Castro, C. A., Borges-Argáez, R., Cáceres-Farfán, M., Mancilla-Montelongo, G., & Mathieu, C. (2019). Veterinary parasitology bio-guided fractionation to identify *Senegalia gaumeri* leaf extract compounds with anthelmintic activity against *Haemonchus contortus* eggs and larvae. *Veterinary Parasitology*, 27(1), 13–19. <https://doi.org/10.1016/J.Vetpar.2019.05.001>
- Castillo-Mitre, G.F.; Olmedo-Juárez, A.; Rojo-Rubio, R.; González-Cortázar, M.; Mendoza-De Gives, P.; Hernández-Beteta, E.E.; Reyes-Guerrero, D.E.; López-Arellano, M.E.; Vázquez Armijo, J.F.; Ramírez-Vargas, G. (2017). Caffeoyl and coumaroyl derivatives from *Acacia cochliacantha* exhibit ovicidal activity against *Haemonchus contortus*. *J. Ethnopharmacol.*, 204, 125–131.
- Cavalcante, G. S., Morais, S. M. De, Andre, W. P. P., & Ribeiro, W. L. C. (2016). *Calotropis procera* anthelmintic veterinary parasitology chemical composition and *in vitro* activity of *Calotropis procera* (ait .) latex on *Haemonchus contortus*. *Veterinary Parasitology*, 226(2), 22–25. <https://doi.org/10.1016/J.Vetpar.2016.06.012>
- Chothani, D. L., & Vaghasiya, H. U. (2011). A review on *Balanites aegyptiaca* del (desert date): phytochemical constituents, traditional uses and pharmacological activity. *Pharmacognosy Reviews* 5(9). <https://doi.org/10.4103/0973-7847.79100>

- Combasséré-Chérif, M. K., Belem, H., Koama, B., Sawadogo, A., Da, S. N., Kagambéga, W., Drabo, A., Meda, R. N., & Ouédraogo, G. A. (2020). Antioxidant and antiplasmodial activities of extracts from *Gardenia erubescens* Stapf et Hutch and *Fadogia agrestis* Schwein. *Phytothérapie* 4 (6) 675–687. <https://doi.org/10.4236/Ojapps.2020.1011047>
- Dehpour, A.A., Ibrahimzadeh, M.A., Seyed Fazel, N., Seyed Mohammad, N. (2009). Antioxydant activity of the methanol extract of *Ferula foetida* and its essential oil composition. *Grasas Aceites*, 60, 405–412.
- Del Carmen Acevedo-Ramírez, P. M., C. Hallal-Calleros, I. Flores-Pérez, F. Alba-Hurtado, M. B. Mendoza-Garfías, N. C. Del Campo (2019). Anthelmintic effect and tissue alterations induced in vitro by hydrolysable tannins on the adult stage of the gastrointestinal nematode *Haemonchus contortus*. *Veterinary Parasitology*, 266, 1–6. <https://doi.org/10.1016/j.vetpar.2018.12.008>
- Dimitrov, V., Geneste, H., Guggisberg, A. And Hesse, M. (2001). Biomimetic formation of macrocyclic spermine alkaloids. *Helv. Chim. Acta*, 84, 2108–2.
- Doka, I. G., & Yagi, S. M. (2012). Ethnobotanical survey of medicinal plants in West Kordofan *Ethnobotanical Leaflets* 13: 1409-1416.
- Doumma, A., Alfari, B. Y., Sembene, M., Sidikou, S. D. R., Sanon, A., Ketoh, G. K., Kadidia, A. H., Glitho, I. A. (2011). toxicity and persistence of *Boscia senegalensis* Lam . (ex Poir .) (Capparaceae) leaves on *Callosobruchus maculatus* Fab . (Coleoptera : Bruchidae). *Int. J. Biol. Chem. Sci.* 5(4): 1562-1570. DOI : [http : //dx.doi.org/10.4314/ijbcs.v5i4.215](http://dx.doi.org/10.4314/ijbcs.v5i4.215).
- El-Sayed, N. M., & El-Saka, M. M. (2015). Anti-parasitic activity of *Zingiber officinale* (Ginger): a brief review. *Virology and Parasitology* 2(1).112-120
- Elkhateeb, A., Hussein, S. R., Salem, M. M., & Negoumy, S. I. M. El. (2019). LC-ESI-MS analysis, antitumor and antiviral activities of *Bosica senegalensis* aqueous and methanolic extracts. *Egypt.J.Chem.* 62 (1)77–83. <https://doi.org/10.21608/Ejchem.2018.4828.1428>
- Elodie Opet (2012). Mise au point et validation d’une méthode de dosage des tanins condensés. Chimie
- Emam, S. S. And M. A. M. A. (2009). Phenolic constituents and antimicrobial activity of *Chrozophora brocchiana* Vis. extracts. *Egypt. L. Af Appi. Sci.*, 24.480-509.

- Embeya, V. O. (2011). Activité antihelminthique de la poudre d'écorce de racine de *Vitex thomasii* de wild (Verbenaceae) sur *Haemonchus contortus* chez la chèvre. Thèse de Médecine vétérinaire et santé animale. Université de Lubumbashi. 210p.
- Falentin, C. ; Beaupère, D. ; Demailly, G. ; Stasik, I. (2008). New approach to (-)-Polyoxamic acid and 3,4-Diepipolyoxamic acid from D-Lyxono-1,4-Lactone. *Tetrahedron*, 64 (42), 9. <https://doi.org/10.1016/j.tet.2008.07.095>
- Faulstich, H. ; Buku, A. ; Bodenmueller, H.; Wieland, T. (1980). Virotoxins : actin-binding cyclic peptides of *Amanita virosa* mushrooms. *Biochemistry*, 19 (14). 3334–3343.
- Forster, Y., & Ghaffar, Abdul Bien, S. (2016). A new view on the codonocarpine type alkaloids of *Capparis decidua*. *Phytochemistry*, 28. 66-76. ?
- Fu, X. P., Aisa, H. A., Abdurahim, M., & Yili, A. (2007). Chemical constitution of *Capparis spinosa*. *Chemistry of natural compounds*, 43, 181–183.
- García-Hernández, C., Rojo-Rubio, R., Olmedo-Juárez, A., Zamilpa, A., & Gives, P. M. De. (2019). Experimental parasitology galloyl derivatives from *Caesalpinia coriaria* exhibit in vitro ovicidal activity against cattle gastrointestinal parasitic nematodes. *Experimental Parasitology*, 200(2), 16–23. <https://doi.org/10.1016/j.exppara.2019.03.012>
- García, D., Escalante, M., Delgado, R., Ubeira, F. M., & Leiro, J. (2003). Anthelmintic and antiallergic activities of *Mangifera indica* L. stem bark components vimang and mangiferin. *Phytother. Res.* 17, 1203–1208. DOI : 10.1002/ptr.1343.
- Geum Jin Kim, Xian Li, Seong-Hwan Kim, Inho Yang, Dongyup Hahn, Jungwook Chin, Sang-Jip Nam, Joo-Won Nam, Doo Hyun Nam, Dong-Chan Oh, Hyeun Wook Chang, And H. C. (2018). Seongsanamides A–D : antiallergic bicyclic peptides from *Bacillus safensis*. *Org. Lett.*, 20, 7539–7543 <https://doi.org/10.1021/acs.orglett.8b03293>
- Glawar, A. F. G. ; Martínez, R. F. ; Ayers, B. J. ; Hollas, M. A. ; Ngo, N. ; Nakagawa, S. ; Kato, A. ; Butters, T. D. ; Fleet, G. W. J. ; Jenkinson, S. F. (2016). Structural essentials for B-N-Acetyl-Hexosaminidase inhibition by amides of prolines, pipercolic and azetidone carboxylic acids. *Org. Biomol. Chem.*, 14(44), 10371–10385. <https://doi.org/10.1039/C6OB01549B>.
- Hafsi, F., & Ghalmi, F. (2012). Le Monepantel , un nouvel anthelminthique efficace contre les

nématodes gastro-intestinaux des ovins. *Ann. Méd. Vét.* 4. 66–76. volume ?

- Hamada, H. (2008). Etude phytochimique de deux euphorbiaceae sahariennes. These de doctorat en chimie. Université Elhaj Batna (Algerie). 305 p.
- Hashimoto T, Yun D-J, Y. (1994). Alkaloid biogenesis: molecular aspects. *Annu. Rev. Plant Physiol. Plant Mol. Biol.*, 45:257--85.
- Hawas, U. W. (2007). Antioxidant activity of brocchlin carboxylic acid and its methyl ester from *Chrozophora brocchiana*. *Natural Product Research . Formerly Natural Product Letters*, 21(7), 632–640. <https://doi.org/10.1080/14786410701371124>.
- Hervé, M. (2016). Parasitologie et mycologie générales. . UFR Des Sciences Pharmaceutiques Et Biologiques. Université Felix Houphouët Boigny (RCI). 238p; consulté le 18-06-2020;
- Hounzangbe-Adote MS, Zinsou FE, Affognon KJ, Koutinhoun B, N'diaye MA, A. M. K. (2001). Efficacité antiparasitaire de la poudre de graines de papaye (*Carica papaya*) sur les strongles gastro-intestinaux des moutons djallonké au sud du Bénin. *Revue Élev. Méd. Vét. Pays Trop.*, 54, 225–229.
- Hu, Y., Ellis, B. L., Yiu, Y. Y., Miller, M. M., Urban, J. F., Shi, L. Z., & Aroian, R. V. (2013). An extensive comparison of the effect of anthelmintic classes on diverse nematodes. *PLoS ONE* 8(7). 1-12 <https://doi.org/10.1371/Journal.Pone.0070702>
- Ibrahim, D. M. (2020). *Boscia senegalensis* (pers .) Lam . ex Poir ., une espèce ligneuse à fortes potentialités ethnobotaniques et bien adaptée a la sécheresse au sahel : synthèse bibliographique. <https://doi.org/10.19044/Esj.2020.V16n9p206>
- Idris, O. A., Wintola, O. A., & Afolayan, A. J. (2019). Helminthiases ; prevalence, transmission. *Heliyon*, (20)18. <https://doi.org/10.1016/J.Heliyon.2019.E01161>
- Ikhiri, K., & Boureima, D. (1992). Chemical screening of medicinal plants used in the traditional pharmacopoeia of Niger. *Int. J. pharmacog.* 30 (40). <https://doi.org/10.3109/13880209209054009>.
- Ikhiri Khalid, Ilagouma Amadou et Guero Djimrao (2000). Etudes sur la préparation d'un programme de promotion de la pharmacopée traditionnelle de la zone d'intervention du PROZOPAS. Université A.Moumoni (Niger).102p.
- Ikram, O., & Nadjet, S. (2014). Evaluation de la fréquence des parasitoses intestinales chez les

- enfants scolarisés. These de Doctorat de Pharmacie. Faculté de Médecine. Université Abou Bekr Belk Aïd (Algerie) 135p.
- Issoufou, B., Laouali, A., T, Y. J., & Ibrahima, M. (2018). Etude ethnobotanique des plantes médicinales vendues sur les marchés du Centre Ouest du Niger. *ESJ* 4. 13392–13403.
- Jain, P., S. Singh, S. K. Singh, S. K. Verma, M. D. Kharya, And S. S. (2013). Anthelmintic potential of herbal drugs. *Int. J. of research and development in Pharmacy*, 2, 412–427.
- Jasso Díaz, G.; Hernández, G.T.; Zamilpa, A.; Becerril Pérez, C.M.; Ramírez Bribiesca, J.E.; Hernández Mendo, O.; Sánchez Arroyo, H.; González Cortazar, M.; Mendoza De Gives, P. . (2017). In vitro assessment of *Argemone mexicana*, *Taraxacum Officinale*, *Ruta Chalepensis* and *Tagetes filifolia* against *Haemonchus contortus* nematode eggs and infective (L3) larvae. *Microb. Pathog.*, 109, 162–168.
- Jazy, M. A., (2017). Enquête ethnobotanique auprès des tradipraticiens de santé des régions de Niamey et Tillabéri au Niger. *ESJ* 13 ; 276-291. <https://doi.org/10.19044/Esj.2017.V13n33p276>
- Kaboré, A. (2009). Activité anthelmintique de deux plantes tropicales testée *in vitro* et *in vivo* sur les strongles gastro-intestinaux des ovins de race Mossi au Burkina Faso. Thèse de Doctorat. Université Polytechnique de Bobo-Dioulasso. Burkina Faso. 167p.
- Kabore Adama, Belem A. M. Gaston, Tamboura Hamidou H., T. A. And S. L. (2009). In vitro anthelmintic effect of two medicinal plants (*Anogeissus leiocarpus* And *Daniellia oliveri*) On *Haemonchus contortus*, an abosomal nematode of sheep in Burkina Faso. *Afr. J. of Biotech.*, 8(18), 4690–4695.
- Kamel, D. Y. M. (2017). Etude phytochimique bioguidée de plantes aromatiques sahariennes.
- Kaplan, R. M., B. E. Storey, A. N. Vidyashankar, B. W. Bissinger, S. M. Mitchell, S. B. H. (2014). Antiparasitic efficacy of a novel plant-based functional food using an *Ascaris suum* model in pigs. *Acta Tropica*, 139, 15–22. <https://doi.org/10.1016/j.actatropica.2014.06.008>
- Kari Inngjerdigen, Cecilie Sogn Nergård, Drissa Diallo, Pakuy Pierre Mounkoro, B. S. P. (2010). An ethnopharmacological survey of plants used for wound healing in Dogonland, Mali, West Africa. *Ethnobotanical Leaflets*, 13.
- Kateregga, J. N., M. Nabayunga, P. Vudriko, And J. G. A. N. (2014). Anthelmintic activity of

- Cassia occidentalis* L. methanolic leaf extract on *Ascaridia galli* and *Heterakis gallinarum* and its acute toxicity. *International journal of basic and clinical pharmacology*, 3, 114–119. <https://doi.org/10.5455/2319-2003.Ijbc20140213>
- Koudoro Yaya Alain, Agbangnan D. Pascal Cokou, Bothon Diane, Bogninou Sophie Reine, Alitonou Guy Alain, Avlessi Felicien (2018). Métabolites secondaires et activités biologiques des extraits de l'écorce de tronc de *Khaya senegalensis*, une plante a usage vétérinaire récoltée au Bénin. *Journal of innovation and applied studies*, 23(4), 441–450.
- Lalchandama, K. (2019). Anthelmintic activity of *Millettia pachycarpa* root bark extract on an intestinal roundworm, *Ascaridia galli*. *Pharmacog J.*, 11(6).
- Lescot, A.-E.-. (1972). Plantes médicinales Haussa de l'Ader. *Journal d'agriculture tropicale et botanique appliquée*, 19(89), 67.
- Louis-Félix Nothias-Scaglia, Mélissa Esposito, Jean Costa, Julien Paolini, D. T. (2015). Les réseaux moléculaires, une approche bio-informatique globale pour interpréter les données de spectrométrie de masse tandem. *Spectra analyse, PCI*, 307, 73–78.
- Lulekal, E., Kelbessa, E., Bekele, T., & Yineger, H. (2008). An Ethnobotanical study of medicinal plants in Mana Angetu district, Southeastern Ethiopia. *J. of Ethnobiol. and Ethnomed.* 10, 1–11. <https://doi.org/10.1186/1746-4269-4-10>
- M. Deepak, G. Dipankar, D. Prashanth, M.K. Asha, A. Amit (2002). Tribulosin and β -sitosterol-D-glucoside. *Phytomedicine*, 9, 753–756. <http://www.urbanfischer.de/journals/phytomed>.
- M.Baoua, J.Fayn, J. M. B. (1974). Contribution a l'étude de la pharmacopée traditionnelle du Niger. Ecole des sciences de la santé. Laboratoire de chimie biologique Université de Niamey.
- Majob, F., Kamalinejab, M., Ghaderi, N., & Vahidipour, H. R. (2003). Phytochemical screening of some species of Iranian plants. *Iranian J.Pharma Res*, 2, 77–82.
- Manal Abasher Ahmed, Abdalbasit Adam Mariod, I. H. H. A. B. M. (2020). Chemical composition, fatty acids and oil stability of *Chrozophora brochiana* (Vis.) Schweinf. Seed germination. *Bangladesh J. Bot.*, 49(1), 1–11.
- Manal Abasher Ahmed, Abdalbasit Adam Mariod, I. H. H. (2014). Review : biochemical composition and medicinal uses of chrozophora genus. *International journal of pharmacy*

review & research., 4(4), 227–232. Www.Ijpr.Com

- Manolaraki, F. (2011). Propriétés anthelminthiques du sainfoin (*Onobrychis viciifoliae*): analyse des facteurs de variations et du rôle des composés phénoliques impliqués. Institut National Polytechnique De Toulouse (INP Toulouse). Université de Toulouse (France).
- Mariod, A. A. (2017). *Chrozophora brocchiana* (Argessi). A principles of oil extraction, processing and oil composition. unconventional oil seeds and oil sources. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-809435-8.00001-9>.
- Maroyi, A. (2019). Review of medicinal uses , phytochemistry and pharmacological properties of *Boscia senegalensis*. *J. Pharm. Sci. & Res.* 11(9), 3355–3361.
- Mezouar, D., Lahfa, F. B., Abdelouahid, D. E., Adida, H., & Rahmoun, N. M. (2014). Activité antimicrobienne d'extraits d'écorce de racines de *Berberis vulgaris*. *Phytothérapie* 12, 380–385. <https://doi.org/10.1007/S10298-014-0863-5>.
- Moctar Chaibou, Abdoul Nasser Moussa Bamba, Idrissa Moussa, Amadou Tidjani Ilagouma (2020). Etude bibliographique et phytochimique de quelques plantes médicinales utilisées pour le traitement de certaines maladies par les tradipraticiens de la zone de l'Azawagh au Niger. *European Scientific Journal*, 16(6), 1857 – 7881. <https://doi.org/10.19044/Esj.2020.V16n6p127>
- Mohimani, H., Gurevich, A., Mikheenko, A., Garg, N., Nothias, L., Ninomiya, A., Takada, K., Dorrestein, P. C., & Pevzner, P. A. (2016). Database Search Of Mass Spectra. *Nature* . <https://doi.org/10.1038/Nchembio.2219>
- Molan, A.L., Alexander, R.A., Brookes, I.M., Mcnabb, W. . (2000). Effect of an extract from sulla (*Hedysarum coronarium*) containing condensed tannins on the migration of three sheep gastrointestinal nematodes in vitro. *Proceedings Of New Zealand Society Of Animal Production*, 6, 21–25.
- Morgan, A. (2015). Lignans, cyclolignans and neolignans from the leaves of *Boscia senegalensis* (Pers.) Lam Ex Poir. *Bulletin of the Korean Chemical Society*, 16–19. <https://doi.org/10.1016/J.Bse.2015.01.020>
- Morgan, A. M. A., Kim, J. H., Kim, S. K., Lim, C., & Kim, Y. H. (2014). A new flavonol glycoside from the leaves of *Boscia senegalensis*. *Biochemical Systematics and Ecology* 5(12), 3447–3452 <http://dx.doi.org/10.1016/j.bse.2015.01.020>.

- Moufida Rira (2019). Les tanins hydrolysables et condensés : une piste pour la réduction de la production du méthane entérique par les ruminants en milieu tropical. *Agronomie*. Université Clermont Auvergne.
- Mounkaila, S., Moumouni, A., Karim, S., Issoufou, H. B., & Mahamane, A. (2017). Inventaire et gestion des plantes médicinales dans quatre localités du Niger. *ESJ* 3(24), 498–521. <https://doi.org/10.19044/Esj.2017.V13n24p498>
- Mukherjee, N., Mukherjee, S., Saini, P., Roy, P., & Babu, S. P. S. (2016). Phenolics and terpenoids ; the promising new search for anthelmintics : a critical review. *Mini-Reviews in Medicinal Chemistry*, 16; 07-20. <https://doi.org/10.2174/13895575166661511201210>
- Musa, M. S., Abdelrasool, F. E., Elsheikh, E. A., Ahmed, L. A. M. N., Mahmoud, A. L. E., & Yagi, S. M. (2011). Ethnobotanical study of medicinal plants in the Blue Nile State , South-Eastern Sudan. *Ethnobotanical Leaflets* 5(17), 4287–4297.
- N’Guessan, K. N. G., Adja, B. K., Irihi, G. N. Z., Raoré, D. T., & Ssi, L. A. K. É. (2009). Screening phytochimique de quelques plantes médicinales ivoiriennes utilisées en pays Krobou (Agboville , Côte-D ’ Ivoire). *Sciences & Nature*, 6(1),1–15.
- Naegele, A. (1958). Contribution à l’étude de la flore et des groupements végétaux de la Mauritanie. *Bulletin De l’Institut Français d’Afrique Noire*.
- Nothias, L-F., Petras, D., Schmid, R., Duhrkop, K., Rainer, J., Sarvepalli, A., Protsyuk, I., Ernst, M., Tsugawa, H., Fleischauer, F., Aksenov, A., Alka, O., Allard, P-M., Barsch, A., Cachet, X., Caraballo-Rodriguez, A., Da Sliva, R., Dang, T., Garg, N., , P. C. (2020).). Feature-based molecular networking in the GNPS analysis environment. *Nat. Methods*, 17, 905–90. <https://doi.org/10.1038/S41592-020-0933-6>
- Okombe, V. E., & Pongombo, T. M. C. S. (2013). Efficacité antiparasitaire de la poudre de graines de courge (*Cucurbita moschata* L.) sur les helminthes gastro-intestinaux de la chèvre locale élevée à Lubumbashi en République Démocratique du Congo. 7(June), 953–960.
- Olivon, F., Allard, P.-M., Koval, A., Righi, D., Genta-Jouve, G., Neyts, J., Apel, C., Pannecouque, C., Nothias, L.-F., Cachet, X., Marcourt, L., Roussi, F., Katanaev, V. L., Touboul, D., Wolfender, J.-L., & L., & M. (2017). Bioactive natural products prioritization using massive multi-informational molecular networks. *Chemical Biology*, 12(10), 26.

<https://doi.org/10.1021/acschembio.7b00413>.

- Oloyede. (2005). Chemical profile of unripe pulp of *Carica papaya*. *Pakistan Journal Of Nutrition*, 4(6), 379-386.
- OMS. (2002). Evaluation de l'efficacité des anthelminthiques contre la schistosomiase et les géohelminthiases 39p.
- Paulsen, B. S., Hostettmann, K., Diallo, D., Marston, A., Terreaux, C., Toure, Y. (2001). Antioxidant and radical scavenging activities. *Phytother. Res.* 15(02), 401–406.
- Pulman, J. A. ; Childs, K. L. ; Sgambelluri, R. M.; Walton, J. D. (2016). Expansion and diversification of the MSDIN family of cyclic peptide genes in the poisonous agarics *Amanita phalloides* and *A. bisporigera*. *Bmc Genomics*, 17(1), 1–14.
- Rabiou, M. M., Sabo, H., M., T. M., Sani, M. S. M., Sadou, H., Saadou, M., Amoukou, I., Idrissa, H., & Durst, B. (2019). Composition en acides aminés des graines de *Boscia senegalensis* issues de différentes méthodes de traitements traditionnelles au Niger. *European Scientific Journal ESJ*, 15(6). <https://doi.org/10.19044/Esj.2019.V15n6p91>
- Rafael Govaerts, D. G. Frodin, A. R.-S. (2000). World checklist and bibliography of euphorbiaceae (and pandaceae). *The board of trustees of the royal botanic gardens*, 1–8.
- Raheem, D.J., Tawfike, A.F., Abdelmohsen, U.R., Edrada-Ebel, R. And Fitzsimmons-Thoss, V. (2019). Application of metabolomics and molecular networking in investigating the chemical profile and antitrypanosomal activity of british bluebells. *Scientific Reports*, 9(1), 2547–2556. <https://doi.org/10.1038/S41598-019-38940-W>
- Rajesh Kamath, Devraj Shetty, Pratibha Bhat, A R Shabaraya, K. H. (2011). Evaluation of antibacterial and anthelmitic activity of root extract of *Crataeva nurvala*. *Pharmacologyonline*, 1, 617–622.
- Rassu, G. ; Zanardi, F.; Cornia, M.; Casiraghi, G. (1994). General approach to hydroxylated α -amino acids exploiting N-(Tert-Butoxycarbonyl)-2-(Tert-Butyldimethylsiloxy)-Pyrrole. *Journal of the chemical society, Perkin Transactions*, 1(17), 2431–2437.
- Ronald Romuald Bebey Ngom Vougat, Harquin Simplicie Foyet, Roland Ziebe, R. B. G. (2015). Antioxidant activity and phytochemical constituent of two plants used to manage foot and mouth disease in the far north region of Cameroon. *Food Chemistry*, 102, 938–953. <https://doi.org/10.1016/J.Foodchem.2006.06.033>

- Roumanatou Sadou Nassirou, Maman Laminou Ibrahim, Amadou Tidjani Ilagouma, Aboubacar Mahamadou, Morou Mamoudou, Alassane Abdoulaye, Odile Ouwe Missi Oukem-Boyer, K. Ikhiri. (2015). Évaluation in vitro de l'activité antiplasmodiale d'extraits de plantes issues de la pharmacopée traditionnelle du Niger. *Journal Of Applied Biosciences*, 8(9):82-91.
- Roy, H., A. Chakraborty, S. Bhanja, B. S. Nayak, S. R. Mishra, And P. E. (2010). Preliminary phytochemical investigation and anthelmintic activity of *Acanthospermum hispidum* dc. *Journal of pharmaceutical science and technology*, 2, 217–221.
- Sakine, M. N. A., Mahmoud, Y., Gbenou, J., Agbodjogbe, W. & Moudachirou, M. (2011). Inventaire ethnobotanique des plantes du Tchad utilisées contre le diabète : effet anti hyperglycémiant des extraits de *Boscia senegalensis* (Pers.) Lam. Ex Poir et de *Colocynthis Vulgaris* (Schrad.). *Phamathérapie, Springer-Verlag*, 9, 268–273.
- Schmelzer. (2007). *Chrozophora brocchiana* (Vis.) Schweinf. In Schmelzer, G. H. & Gurib-Fakim, A. (Eds.), PROTA (Plant Resources Of Tropical Africa / Ressources Végétales De l'Afrique Tropicale), Wageningen, Netherlands. [Http://Www.Prota4u.Org/Search.Asp](http://www.prota4u.org/search.asp).
- Séverine, B. (2008). Analyse des mécanismes d'action antiparasitaire de plantes riches en substances polyphénoliques sur les nématodes du tube digestifs des ruminants. Université de Toulouse.
- Shannon, P., Markiel, A., Ozier, O., Baliga, N. S., Wang, J. T., Ramage, D., Amin, N., Schwikowski, B., & Ideker, T. (2003). Cytoscape: a software environment for integrated models of biomolecular interaction networks. *Genome Research*, 13(11), 24. [Https://Doi.Org/Https://Doi.Org/10.1101/Gr.1239303](https://doi.org/10.1101/Gr.1239303)
- Sharma, M., And S. B. P. (2014).). Evaluation of anthelmintic activity of leaves extracts of *Guazuma tomentosa*. *Internation journal of pharmacology and pharmaceutical sciences*, 1(15) 75-82.
- Stefan Bienz, Richard Detterbeck, Corinne Ensch, Armin Guggisberg, Ursula H Qjsermann, Christian Meisterhans, Barbara Wendt, Christa Werner, A. M. H. (2002). Putrescine, spermidine, spermine and related polyamine alkaloids. *The Alkaloids*, 58. 02-08.
- Sunita, K., Kumar, P., Khan, M. A., Husain, S. A., & Singh, D. K. (2017). Anthelminthic / larvicidal activity of some common medicinal plants. *Vet. Parasitol.* 7(4), 324–336.

- Symeonidou, I., E. Bonos, K. Moustakidis, P. Florou-Paneri, E. Christaki, And M. P. (2018). Botanicals : a natural approach to control ascaridiosis in poultry. *Journal Of The Hellenic Veterinary Medical Society*, 69, 711–722. <https://doi.org/10.12681/jhvms.16383>.
- Tawil, B. F., Zhu, J.-P., Plantini, U., & Hese, M. (1989). New spermine alkaloids from *Aphelandra tetragona* (Vahl) Nees. *Helvetica Chimica Acta*, 72, 180–184.
- Taylor, C. M.; Jones, C. E.; Bopp, K. (2005). The conversion of pentoses to 3,4 Dihydroxyprolines. *Tetrahedron*, 61(40), 9611–9617. <https://doi.org/10.1016/j.tet.2005.07.072>.
- Temitope, O. O. (2015). Bioactivity and phytochemical screening of nigerian medicinal plants growing in Ondo and Ekiti state against bacterial isolates from pediatrics hospital. 4(2). <https://doi.org/10.9734/JAMPS/2015/18805>
- Terrill, T.H., Waghorn, G.C., Woolley, D.J., McNabb, W.C., Barry, T. N. (1994). Assay and digestion of ¹⁴C-labelled condensed tannins in the gastrointestinal tract of sheep. *British Journal Of Nutrition*, 72, 467–477.
- Thillement, D. (2015). La contamination parasitaire liée à la consommation de viandes, de poissons et de végétaux dans les pays industrialisés. Université de Lorraine.
- Thomas Konan Kouamé, Sorho Siaka, Amian Brise Benjamin Kassi, Y. S. (2021). Détermination des teneurs en polyphénols totaux, flavonoïdes totaux et tanins de jeunes feuilles non encore ouvertes de *Piliostigma thonningii* (Caesalpinaceae). *Int. J. Biol. Chem. Sci.*, 15(1), 97-105 , ISSN 1991-8631 (Print).
- Trabelsi N, Megdiche W, Ksouri R, Falleh H, Oueslati S, Bourgou S, Hajlaoui H, A. (2010). Solvent effects on phenolic contents and biological activities of thalophyte *Limoniastrum monopetalum* leaves. *Food Sci Tech*, 43, 632–639.
- Tulloss, R. E., Kudzma, L. V, & Consultant, O. C. (2021). *Amanita amerivirosa*-a new toxic north american species of amanita section phalloideae. *Amanitaceae the journal*. 1(5),1-15.
- V. Kishor Kumar, P. S. Kumar And T. Venkatachala. (2014). Investigation of anthelmintic activity of *Pergularia daemia* leaves. *Pharmacophore*, 5(1), 44–48.
- Van Krimpen, M. M., G. P. Binnendijk, F. H. M. Borgsteede, And C. P. H. G. (2010). Anthelmintic effects of phytogetic feed additives in *Ascaris suum* inoculated pigs. *Veterinary Parasitology*, 168, 269–277.

<https://doi.org/10.1016/J.Vetpar.2009.11.004>.

- Vernon L. Singleton, Rudolf Orthofer, A. R. M. L.-R. (1999). Analysis of total phenols and other oxidation substrates and antioxidants by means of Folin-Ciocalteu Reagent. *Methods In Enzymology*, 45, 285-299.
- Victoria Hammiche, K. M. (2006). Traditional medicine in central Sahara : pharmacopoeia of Tassili N'ajjer. *Journal Of Ethnopharmacology*, 105, 358–367. <https://doi.org/10.1016/J.Jep.2005.11.028>
- Viqar Uddin Ahmad, Aziz-Ur-Rahmanamber, Shoib Arif, M. (1985). Cadabicine, an alkaloid from *Cadaba farinosa*. *Phytochemistry*, 24(2), 2709–2712.
- Viqar Uddin Ahmad, Shoib Arif, Aziz-Ur-Rahman Amber, And M. A. N. (1986).). A new alkaloid from root bark of *Capparis decidua*. *Z. Naturforsch*, 41, 1033—1035.
- Vitouley, S. H. (2005). Etude du potentiel trypanocide d'extraits aqueux de plantes médicinales pour le traitement de la trypanosomose animale africaine. Faculté de Médecine, de Pharmacie et d'Odonto-Stomatologie de Dakar (Sénégal).
- Von Son-De Fernex, E.; Alonso-Díaz Miguel, Á.; Valles-De La Mora, B.; Mendoza-De Gives, P.; Castillo-Gallegos, E.; Zamilpa, A.; González-Cortazar, M. (2017). Effect of *Gliricidia sepium* leaves intake on larval establishment of *Cooperia punctata* in calves and bio-guided fractionation of bioactive molecules. *Vet. Parasitol.*, 252, 137–141.
- Walker, R. J. (2006). Actions of glutamate and ivermectin on the pharyngeal muscle of *Ascaridia galli* : a comparative study with *Caenorhabditis elegans*. *Int J Parasitol* 36, 395–402. <https://doi.org/10.1016/J.Ijpara.2005.11.006>
- Waller, P. J., Baker, R. L., Githiori, J. B., & Ho, J. (2004). Evaluation of anthelmintic properties of some plants used as livestock dewormers against *Haemonchus contortus* infections in sheep. *Anim. Health Res. Rev.* 6(1) 91-103. <https://doi.org/10.1017/S0031182004005566>
- Walton, J. (2018). The cyclic peptide toxins of amanita and other poisonous mushrooms. *Springer International Publishing AG, Part Of Springer Nature*. https://doi.org/10.1007/978-3-319-76822-9_2
- Wang, M.; Carver, J. J.; Phelan, V. V.; Sanchez, L. M.; Garg, N.; Peng, Y.; Nguyen, D. D. ., Watrous, J.; Kaponov, C. A.; Luzzatto-Knaan, T.; Porto, C.; Bouslimani, A.; Melnik, A. V.

- ., & Meehan, M. J.; Liu, W.-T.; Crüsemann, M.; Boudreau, P. D.; Esquenazi, E.; Sandoval-Calderón, M.; Kersten, R. D.; Pace, L. A.; Quinn, R. A.; Duncan, K. R.; Hsu, C.-C.; Floros, D. J.; Gavilan, R. G.; Kleigrew, K.; Northen, T.; Dutton, R. J.; Parrot, D.; Ca, N. (2016). Sharing and community curation of mass spectrometry data with global natural products social molecular networking. *Nat Biotechnol*, 34(8), 828–837. <https://doi.org/10.1038/Nbt.3597>
- Wink, M. (2012). Medicinal plants : a source of anti-parasitic secondary metabolites. *Molecules*, 17, 12771–12791. <https://doi.org/10.3390/Molecules171112771>.
- Yang, J. Y., Sanchez, L. M., Rath, C. M., Liu, X., Boudreau, P. D., Bruns, N., Glukhov, E., Wodtke, A., D., Felicio, R., Fenner, A., Wong, W. R., Linington, R. G., Zhang, L., Deboni, H. M., Gerwick, W. H., & D., & C, P. (2013). Molecular networking as a dereplication strategy. *Journal of natural products*, 76(9), 168. <https://doi.org/10.1021/Np400413s>
- Yera, H., & Poirier, P. (2015). Classification et mode de transmission des parasites. *EMC-maladies infectieuses* 12(15), 1–13.
- Zdena Koblicova, P. N. And K. B. (1983). Verbaskine, a macrocyclic spermine alkaloid of a novel type from *Verbascum pseudonobile* Stoz. Et Stef. (Scrophulariaceae). *Tetrahedron Letters*, 24(40).
- Zeryehun, T. (2012). Helminthosis of sheep and goats in and around Haramaya, southeastern Ethiopia. *Journal Of Veterinary Medicine And Animal Health* ., 4, 48–55.
- Zhang, S., Zheng, C., Yan, X., & Tian, W. (2008). Biochemical and biophysical research communications low concentration of condensed tannins from Catechu significantly inhibits fatty acid synthase and growth of *MCF-7 Cells*. 371, 654–658. <https://doi.org/10.1016/J.Bbrc.2008.04.062>
- Zhu, J., Hesse, M. (1983). The spermine alkaloids of *Chaenorhinum minus*. *Planta Medica*, 2, 430–433.

ANNEXES

Annexes

Annexe 1 : les spectres RMN 1D et 2D des composés isolés

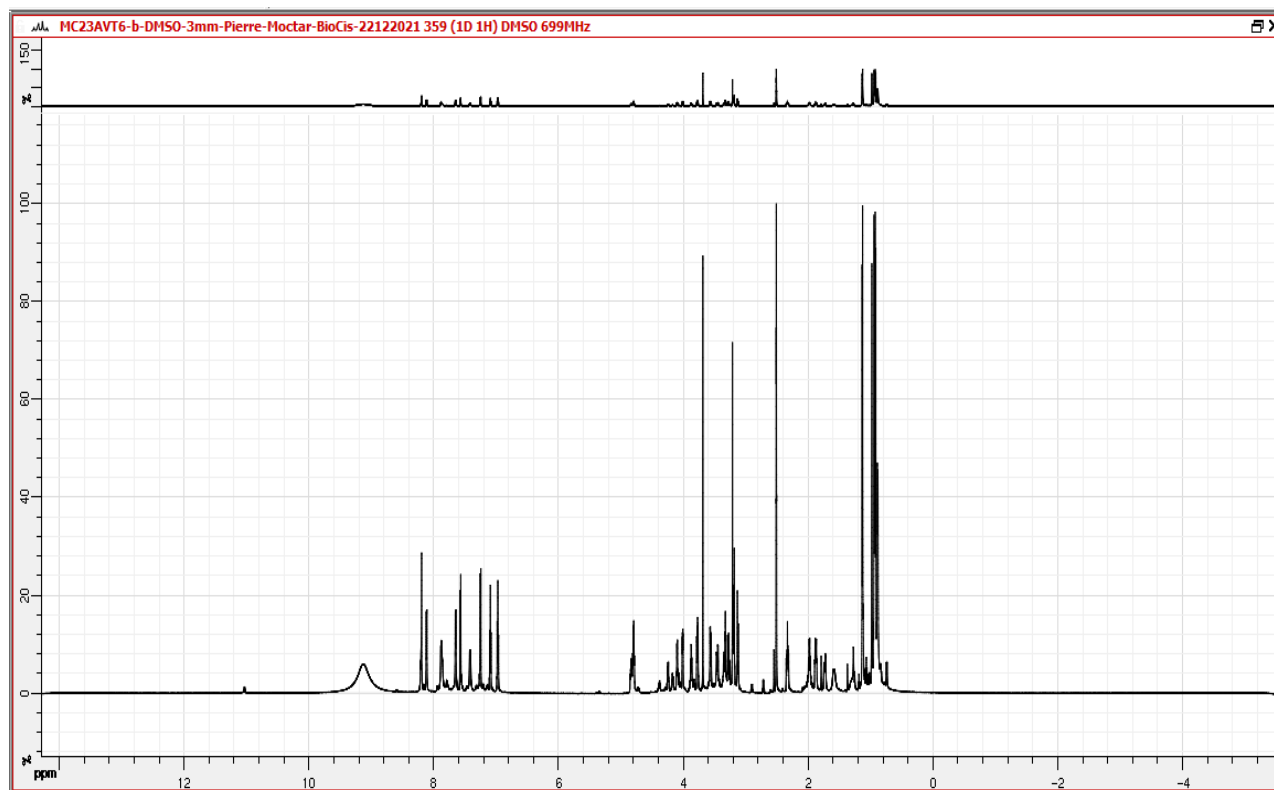


Figure 33 : spectre RMN ^1H (DMSO, 699 MHz) de l'Amériphalloïdine

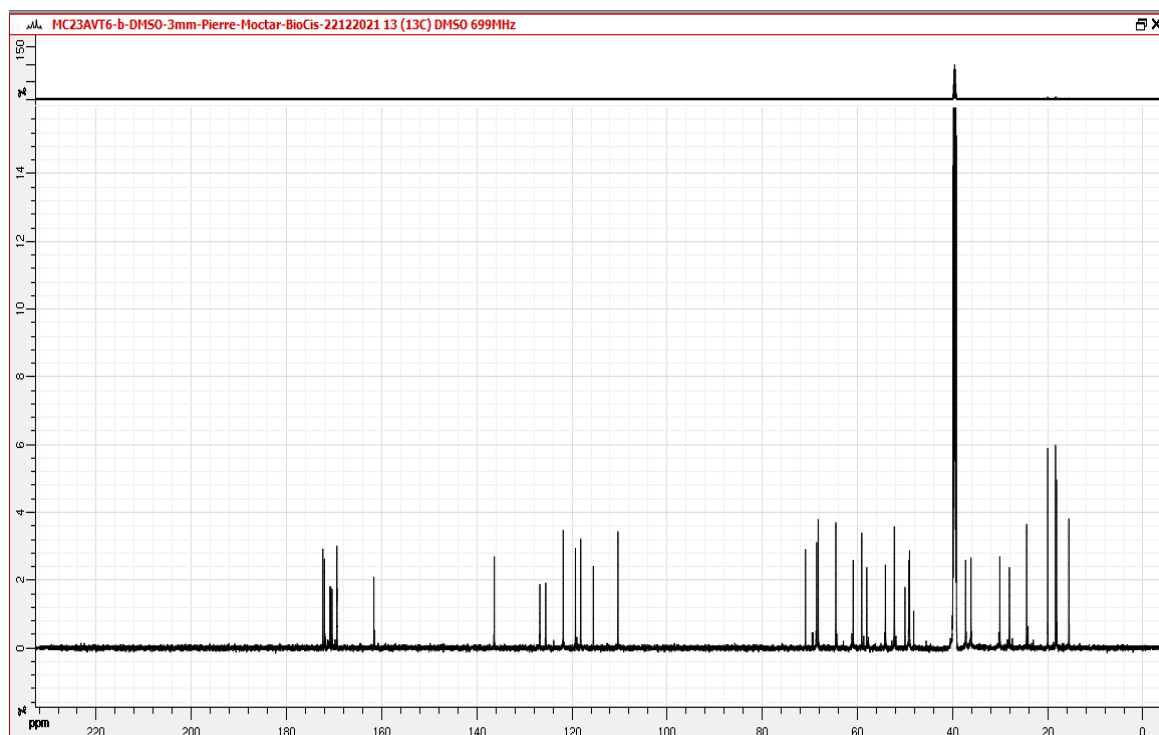


Figure 34 : spectre RMN ^{13}C (DMSO, 699 MHz) de l'Amériphalloïdine

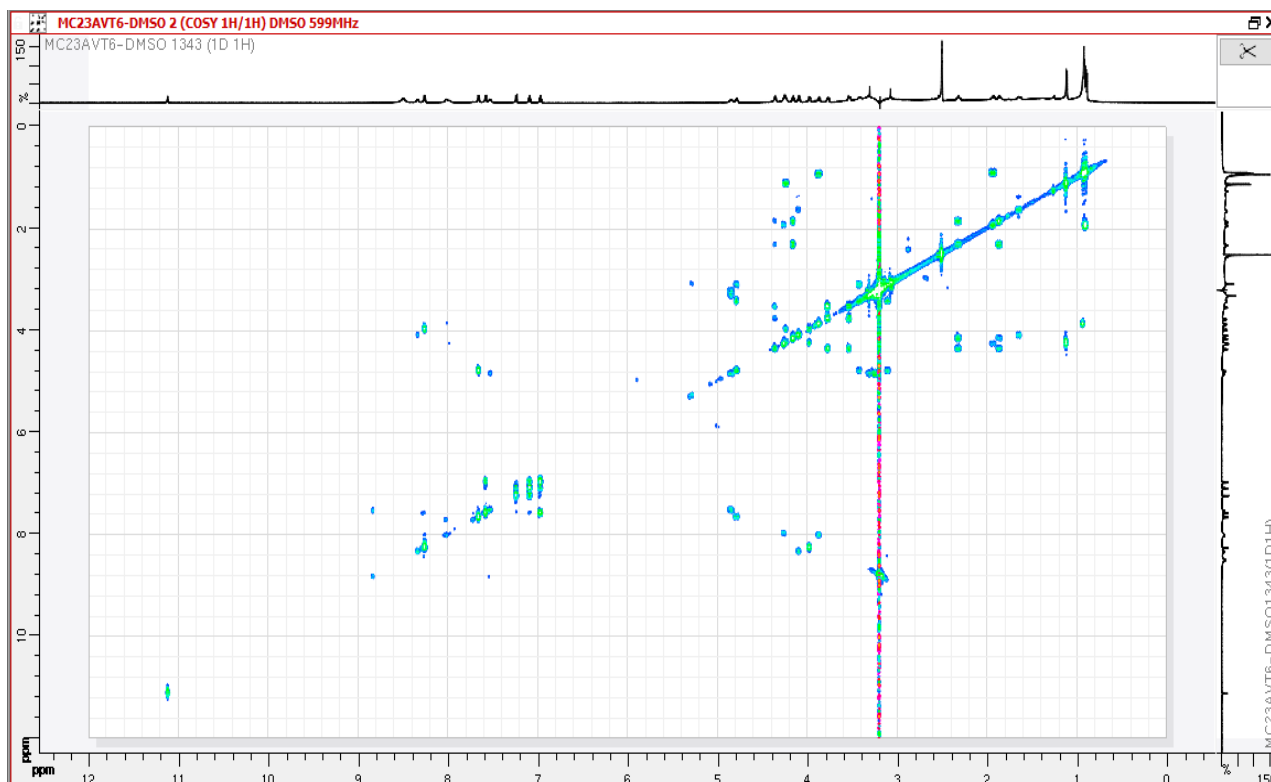


Figure 35 : corrélation COSY ($^1\text{H}/^1\text{H}$) de l'Améripalloïdine (DMSO, 599MHz)

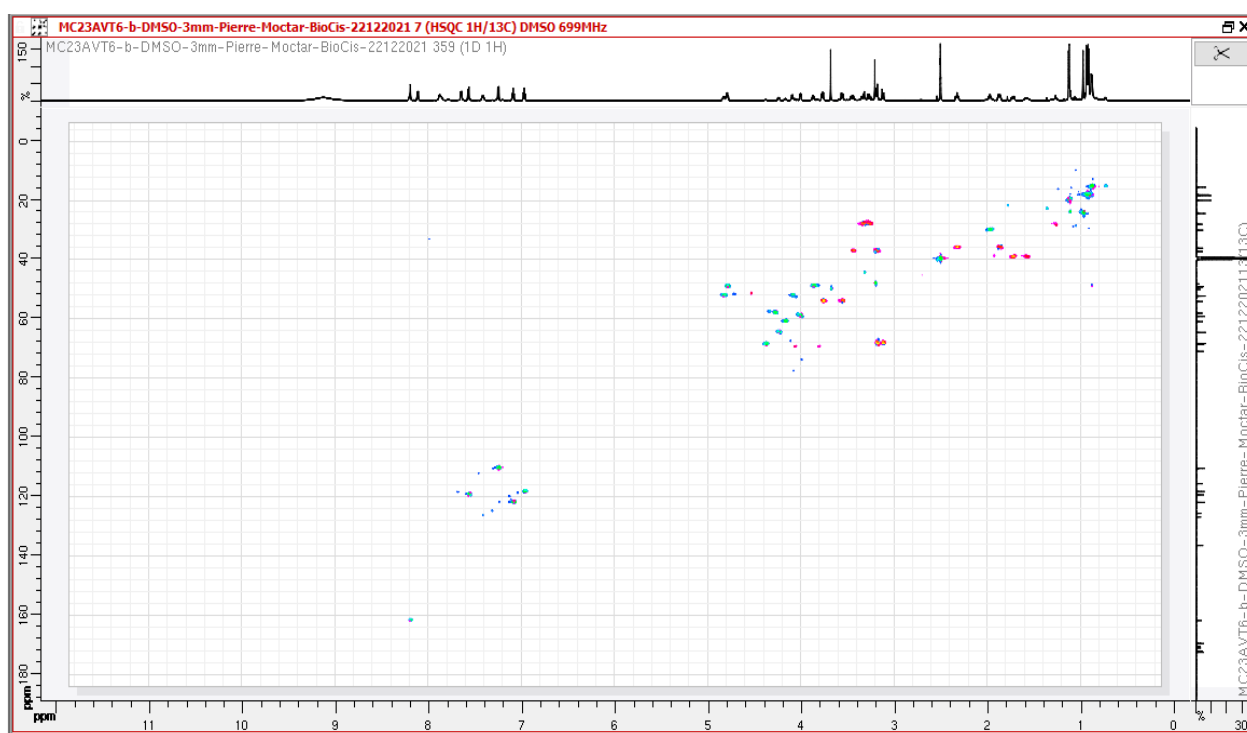


Figure 36 : corrélation HSQC ($^1\text{H}/^{13}\text{C}$) de l'Améripalloïdine (DMSO, 699MHz)

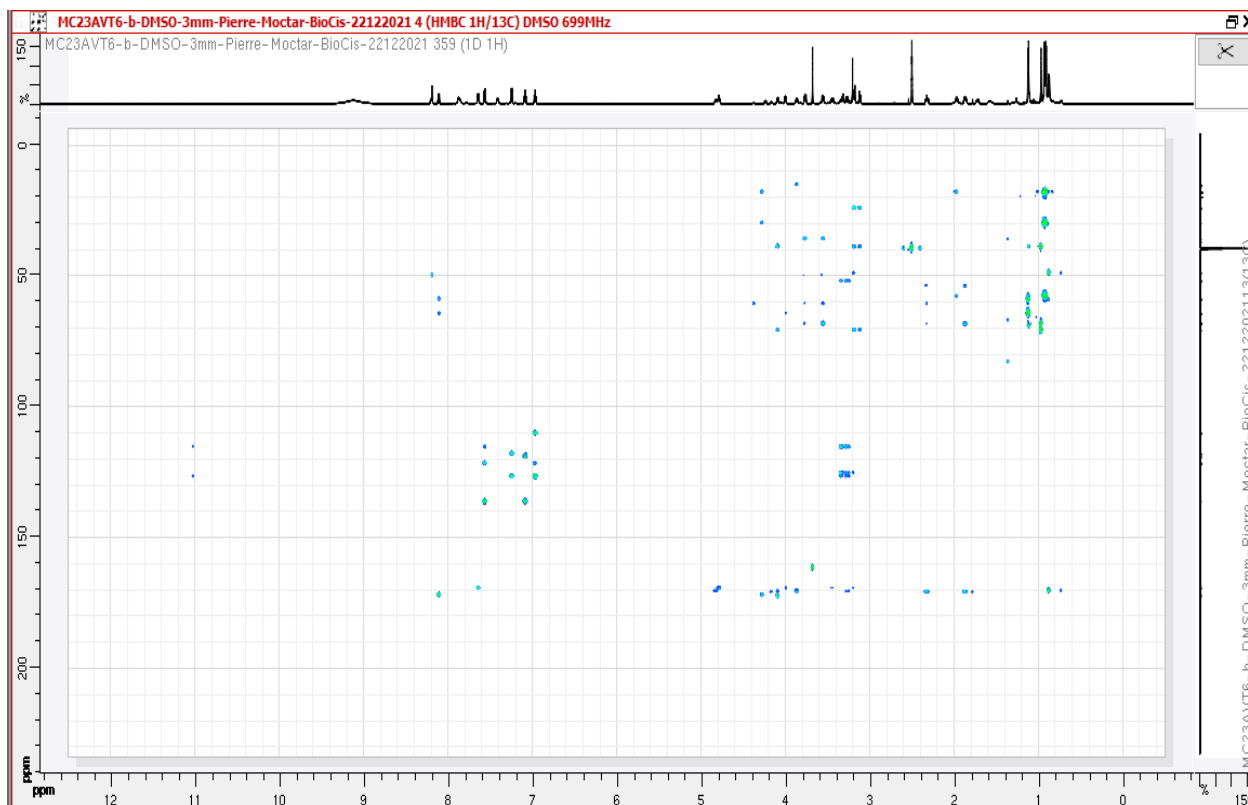


Figure 37 : corrélation HMBC ($^1\text{H}/^{13}\text{C}$) de l'Améripalloïdine (DMSO, 699MHz)

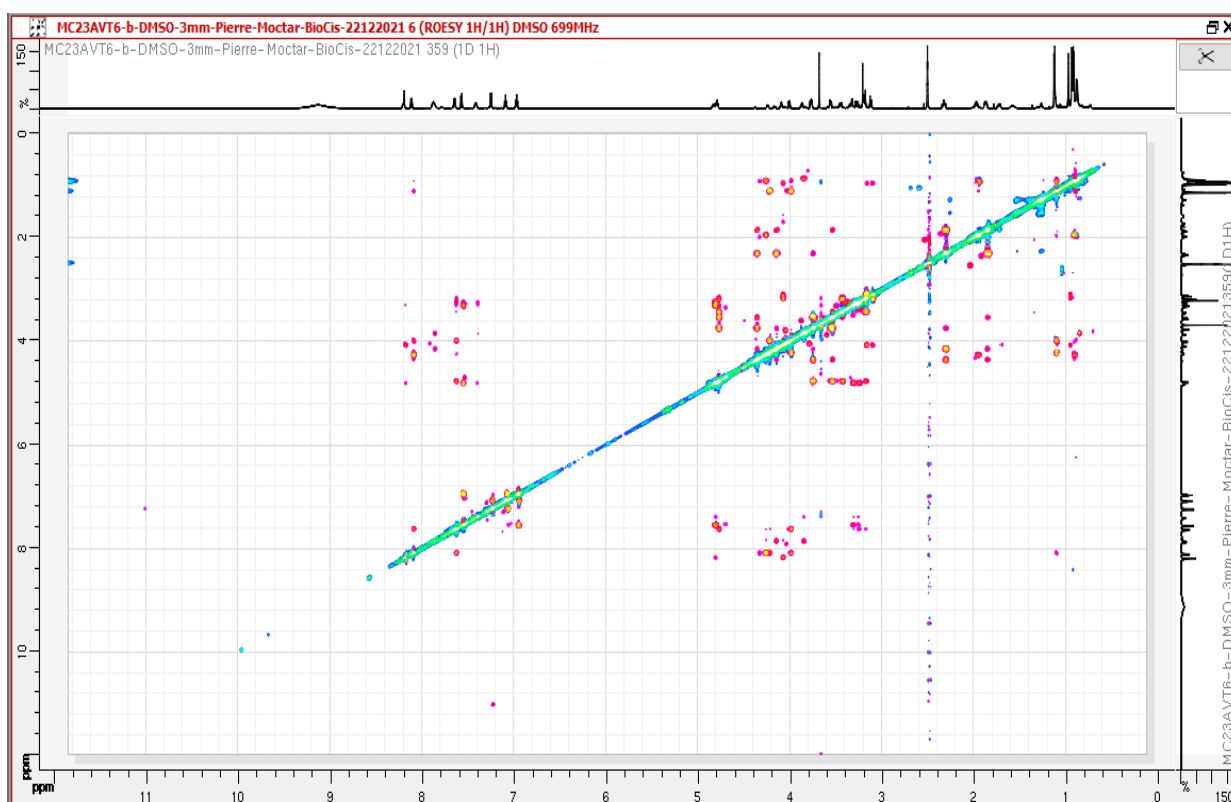


Figure 38 : corrélation ROESY ($^1\text{H}/^1\text{H}$) de l'Améripalloïdine (DMSO, 699MHz)

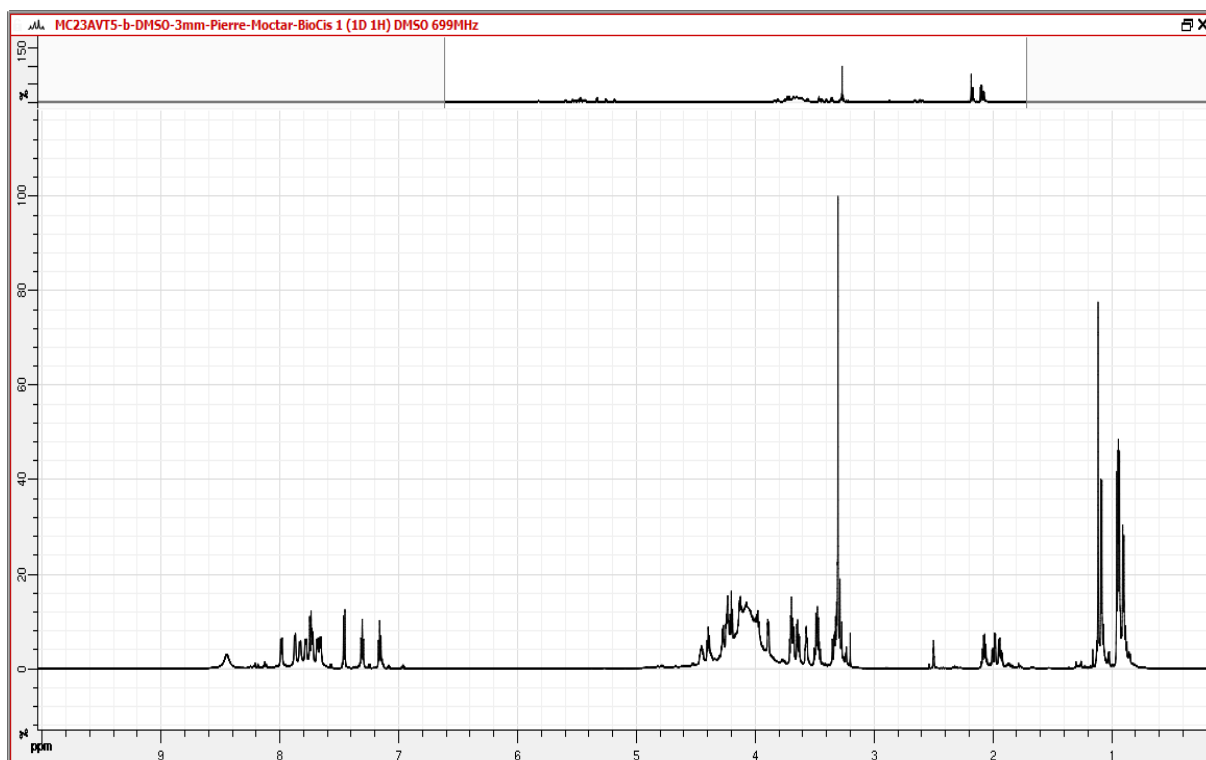


Figure 39 : spectre RMN ^1H (DMSO, 699 MHz) de l'Amérviroïdine

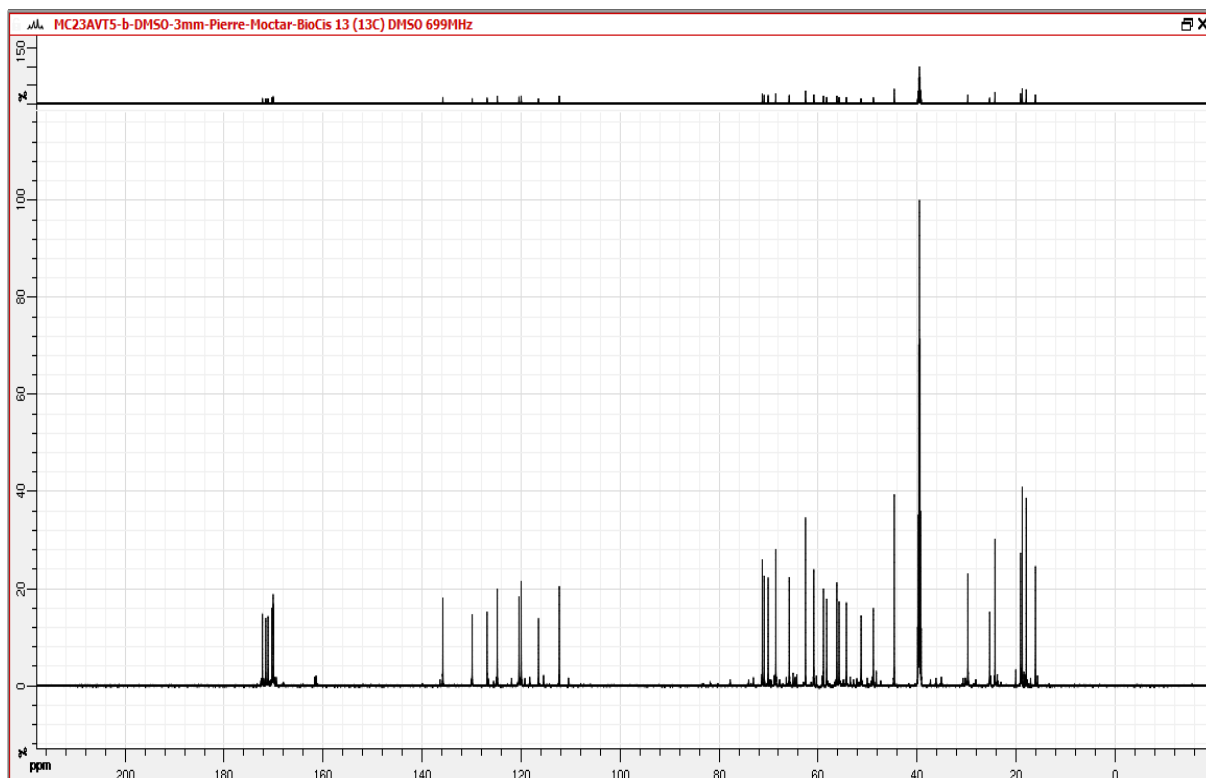


Figure 40 : spectre RMN ^{13}C (DMSO, 699 MHz) de l'Amérviroïdine

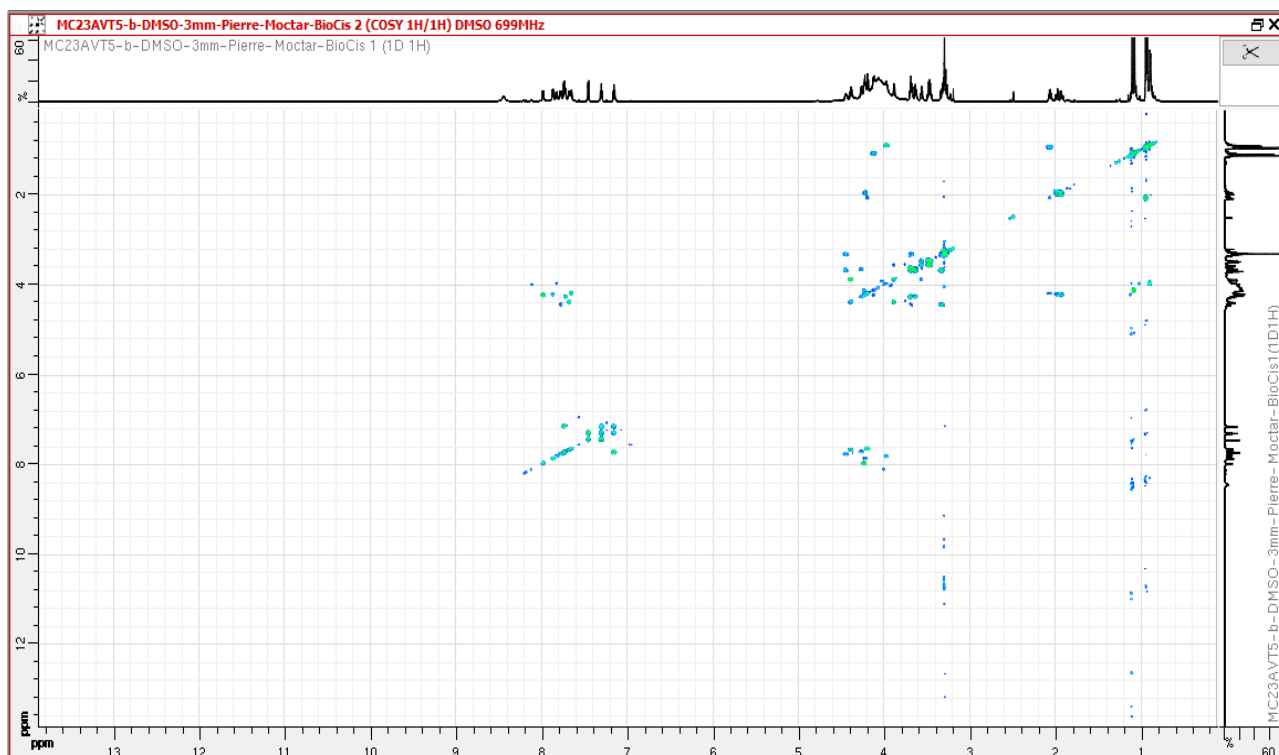


Figure 41 : corrélation COSY ($^1\text{H}/^1\text{H}$) (DMSO, 699 MHz) de l'Amériviroïdine

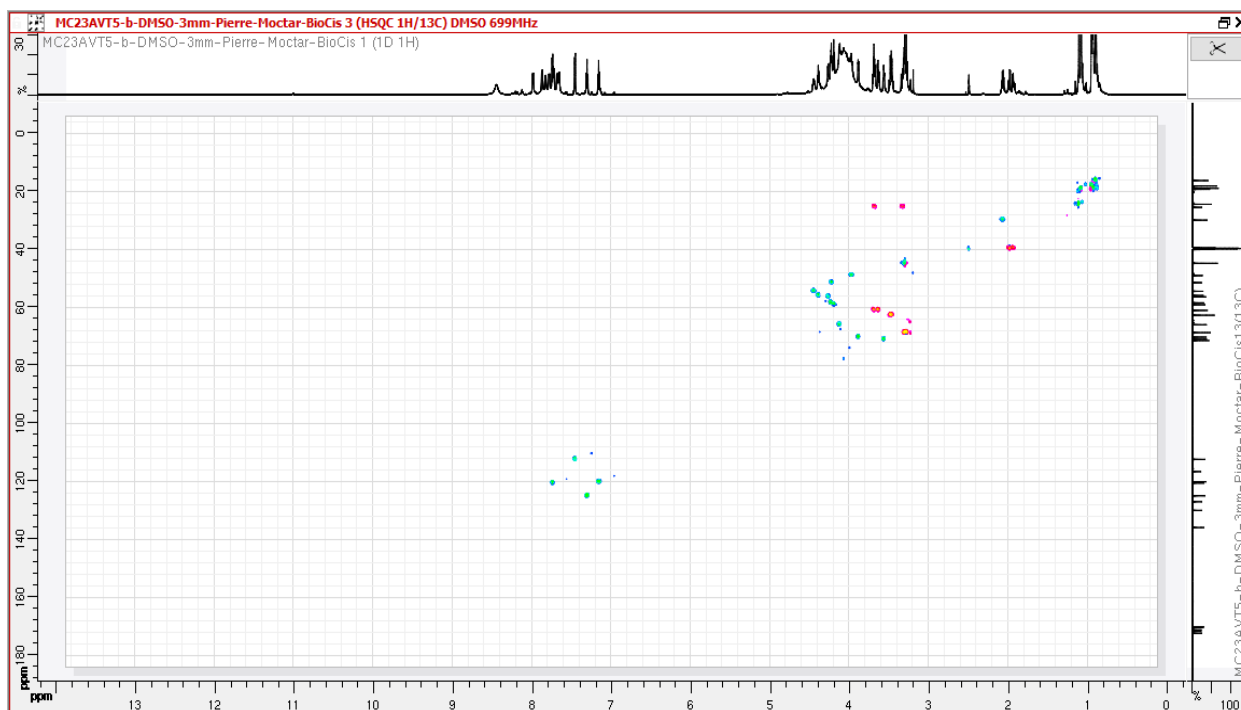


Figure 42 : corrélation HSQC ($^1\text{H}/^{13}\text{C}$) (DMSO, 699 MHz) de l'Amériviroïdine

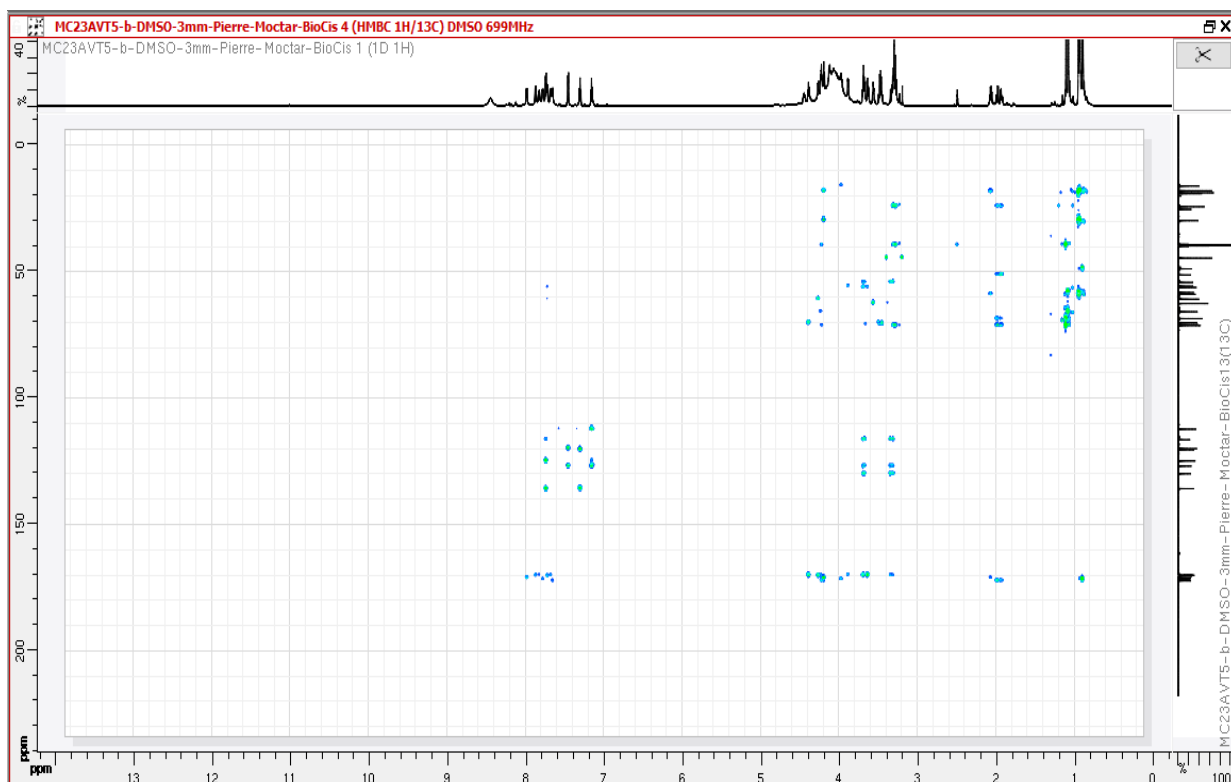


Figure 43 : corrélation HMBC ($^1\text{H}/^{13}\text{C}$) (DMSO, 699 MHz) de l'Amériviroïdine

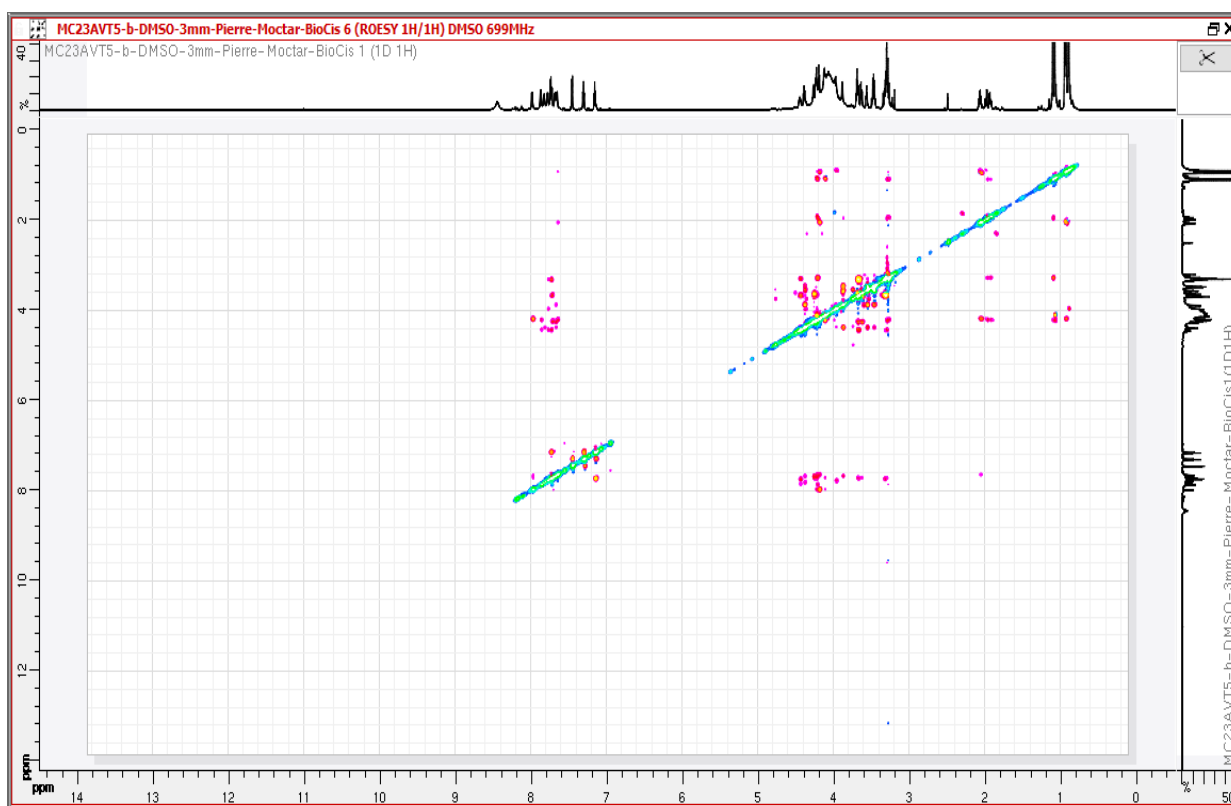


Figure 44 : corrélation ROESY ($^1\text{H}/^1\text{H}$) (DMSO, 699 MHz) de l'Amériviroïdine

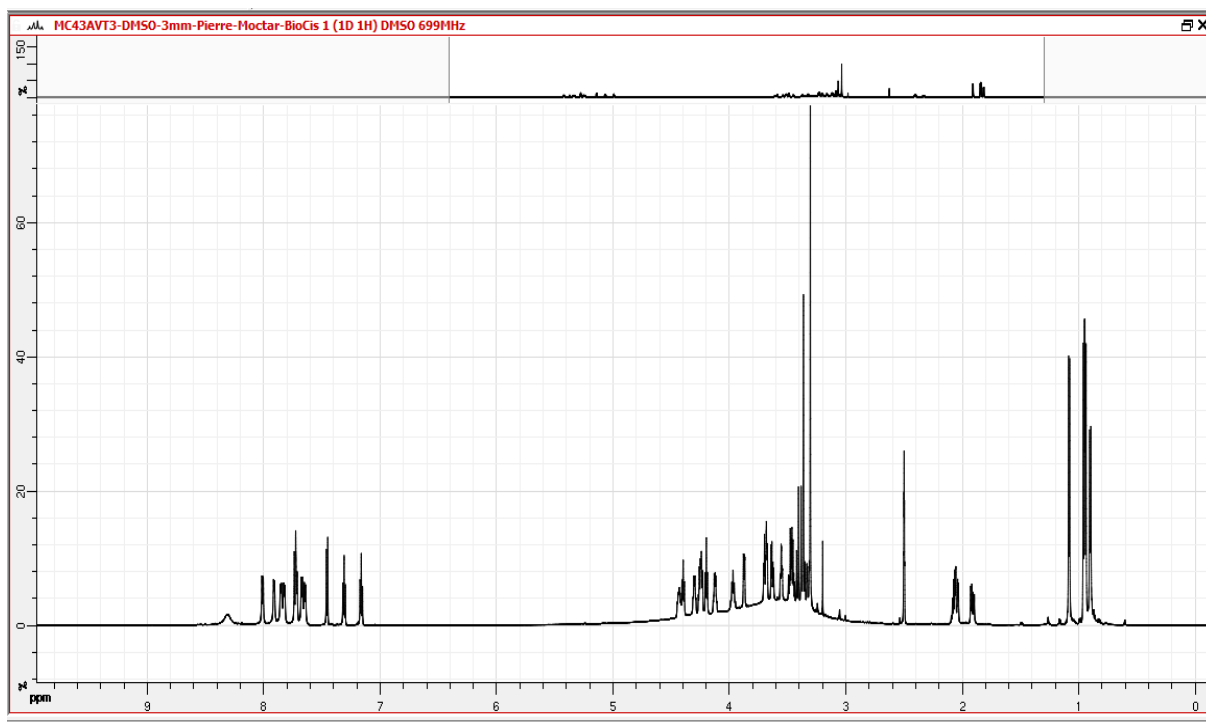


Figure 45 : spectre RMN ^1H (DMSO, 699 MHz) de l'Améroviroisine

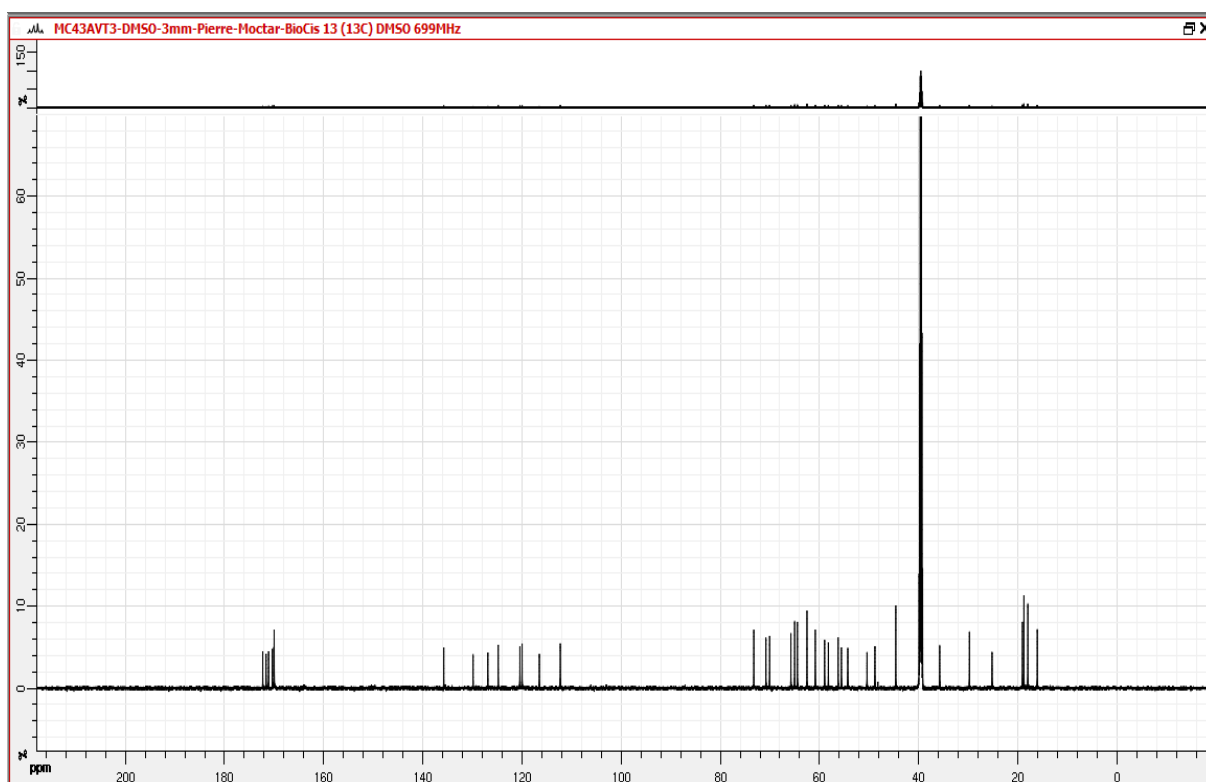


Figure 46 : spectre RMN ^{13}C (DMSO, 699 MHz) de l'Améroviroisine

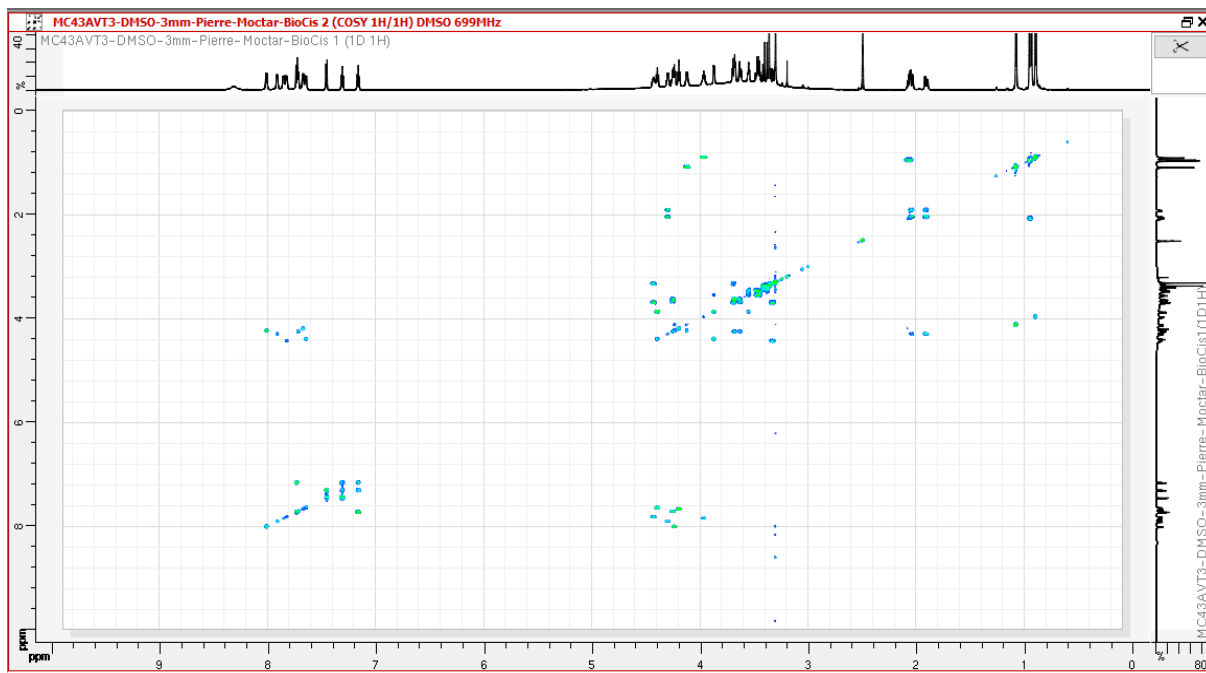


Figure 47 : corrélation COSY ($^1\text{H}/^1\text{H}$) (DMSO, 699 MHz) de l'Amériviroisine

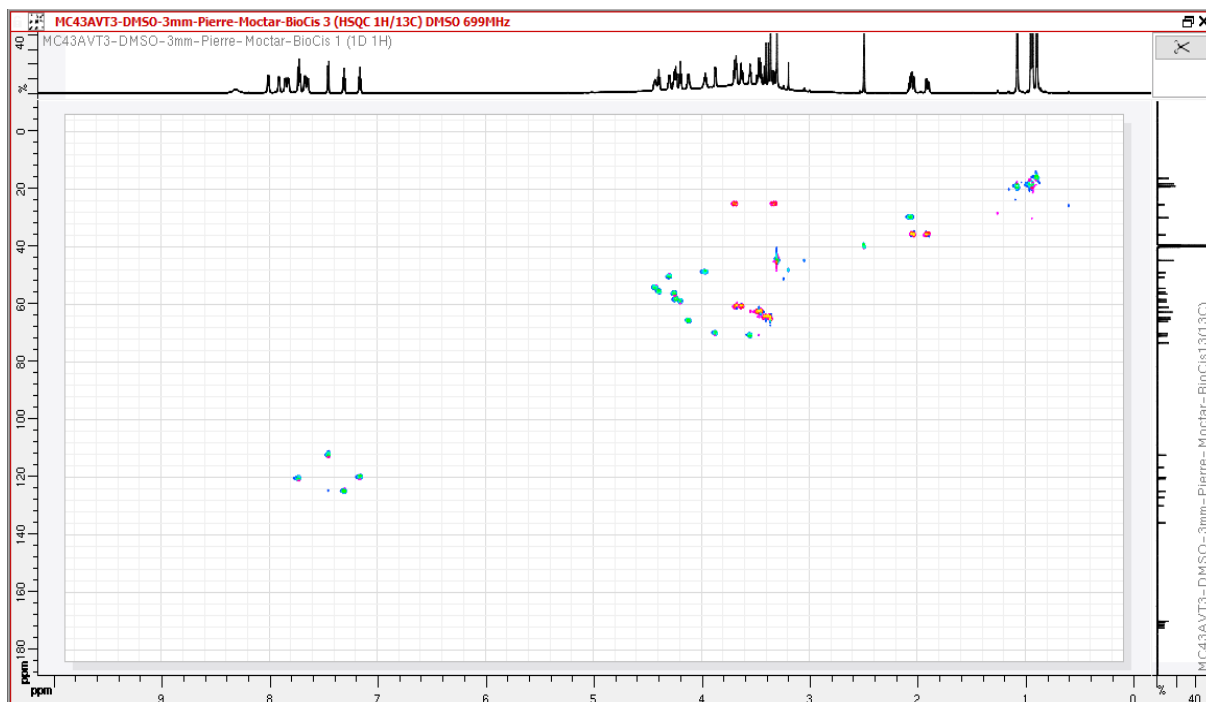


Figure 48 : corrélation HMBC ($^1\text{H}/^{13}\text{C}$) (DMSO, 699 MHz) de l'Amériviroisine

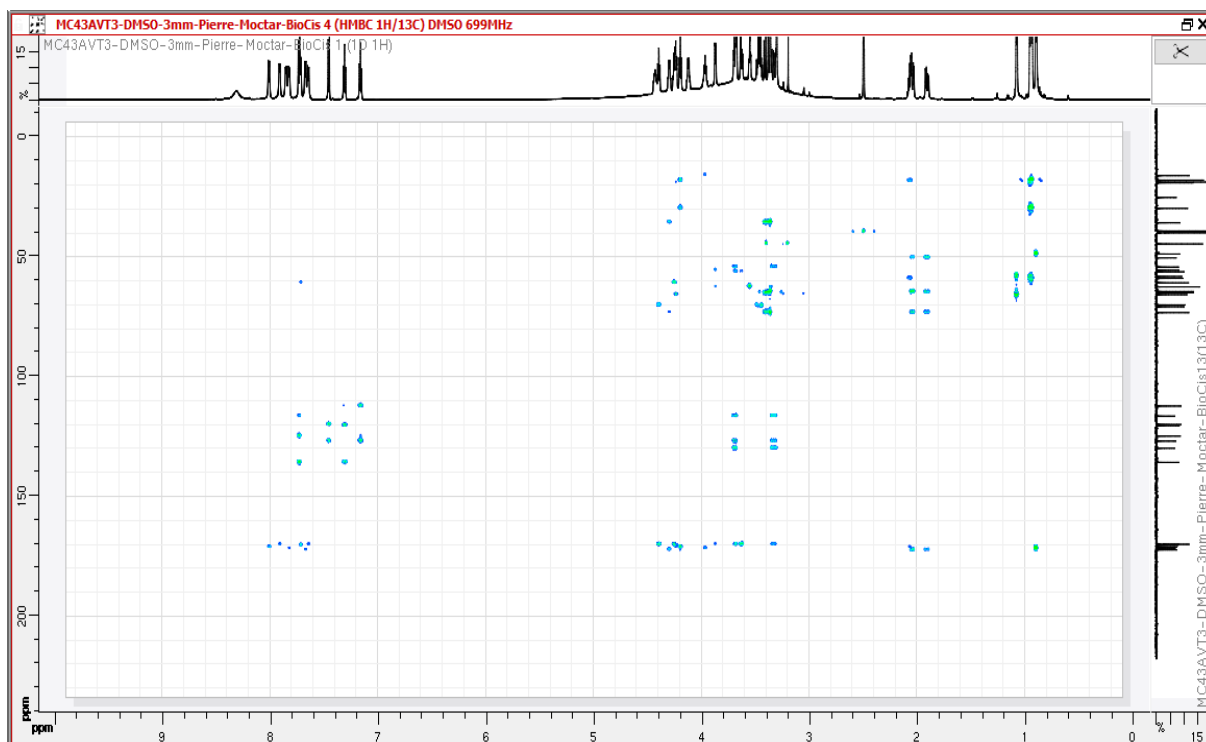


Figure 49 : corrélation HMBC ($^1\text{H}/^{13}\text{C}$) (DMSO, 699 MHz) de l'Amériviroisine

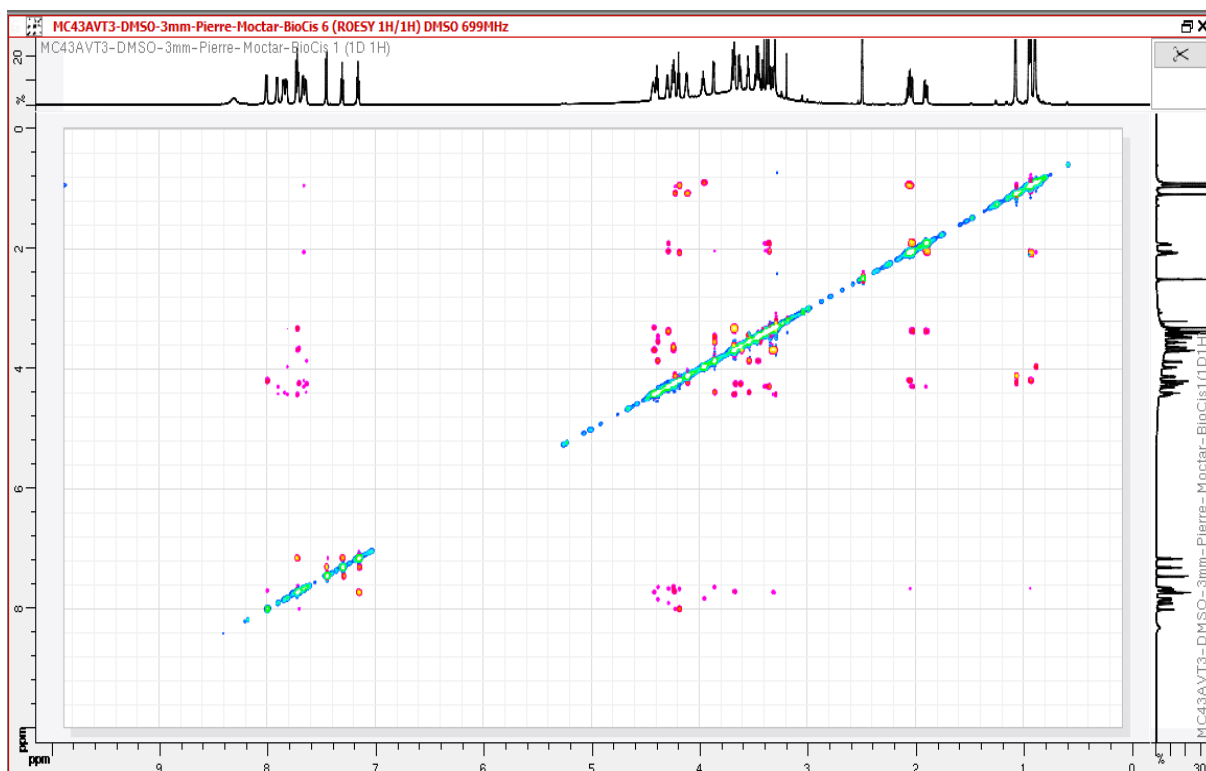


Figure 50 : corrélation ROESY ($^1\text{H}/^1\text{H}$) (DMSO, 699 MHz) de l'Amériviroisine

Tableau XIV : déplacements chimiques ^1H et ^{13}C d'améripalloïdine (**1**)

1 (Améripalloïdine)		
Position	δ_{H} , mult. (J in Hz)	δ_{C}
Al		
NH	7.87 (ov.)	
α	3.87 (1H, quint, d, 6.9)	α 49.0
β	0.88 (3H, d, 6.9)	β 15.5
Trp		
NH	7.41 (1H, d, 9.3)	
α	4.83 (1H, ddd, 11.9, 9.3, 5.5)	α 52.2
β	3.33 (1H, dd, 15.2, 5.6)	β 28.0
	3.28 (1H, dd, 15.2, 11.9)	
		C=O 171.7
NH1	11.02 (1H,s)	
2		2 125.5
3		3 115.5
4	7.56 (1H, br d, 8.0)	4 119.3
5	6.96 (1H, td, 7.6, 0.8)	5 118.1
6	7.12 (1H, td, 7.6, 0.8)	6 121.8
7	7.24 (1H, d, 8.2)	7 110.3
8		8 136.3
9		9 126.7
(OH)₂-Leu		
NH	8.19 (1H, br d, 5.6)	
α	4.09 (1H, q, 5.6)	α 52.2
β	1.72 (1H, dd, 15.2, 5.5)	β 39.2
	1.57 (1H, m)	
γ		γ 70.9
δ	3.11 (1H, d, 12.0)	δ 68.2
	3.18, ov	
δ	0.97 (3H, s)	δ 24.4
		C=O 172.4
Val		
NH	7.8, ov.	
α	4.28 (1H, t, 7.0)	α 58.0
β	1.97 (1H, hept, 7.0)	β 30.0
γ	0.93 (3H, d, 6.9)	γ 18.1
γ	0.91 (3H, d, 6.9)	γ 18.3
		C=O 172.0
Thr		
NH	8.11 (1H, d, 7.4)	
α	4.00 (1H, dd, 7.4, 3.4)	α 59.1
β	4.23 (1H, ...)	β 64.5
γ	1.12 (3H, d, 6.5)	γ 20.0
		C=O 169.4
Cys		
NH	7.64 (1H, d, 7.4)	
α	4.79 (1H, ...)	α 49.0
β	3.45 (1H, dd, 13.6, 3.9)	β 37.2
	3.19, ov.	
		C=O 169.4
OH-Pro		
α	4.17 (1H, dd, 9.4, 6.4)	α 60.9
β	2.32 (1H, m)	β 36.1
	1.87 (1H, dt, 13.0, 5.5)	
γ	4.37 (1H, quint, 4.5)	γ 68.5
δ	3.77 (1H, dd, 10.3, 5.1)	δ 54.1
	3.55 (1H, dd, 10.3, 3.9)	
		C=O 170.9

Tableau XV : déplacements chimiques ^1H et ^{13}C d'amériviroïdine (2) et amériviroïsine (3)

Position	2 (Amériviroïdine)			3 (Amériviroïsine)		
	δ_{H} , mult. (J in Hz)	δ_{C}	δ_{N}	δ_{H} , mult. (J in Hz)	δ_{C}	δ_{N}
Ala						
NH	7.83 (1H, d, 6.2)		122.3	7.85 (1H, d, 6.4)		122.4
A	3.96 (1H, m)	48.9		3.97 (1H, quint., 7.1)	48.8	
B	0.86 (3H, d, 7.2)	16.2		0.90 (3H, d, 7.1)	16.1	
C=O		171.			171.6	
Trp						
NH	7.78, (1H, d, 6.7)		114.4	7.82 (1H, d, 7.2)		114.5
A	4.43 (1H, m)	54.4		4.43 (1H, m)	54.3	
B	3.68 (1H, m)	25.4		3.69 (d, 14.2)	25.2	
	3.31 (1H, m)			3.33 (dd, 14.2, 10.2)		
C=O		170.			170.2	
NH1	11.10 (1H,s)			n.d.		
2		129.			129.9	
3		116.			116.5	
4	7.73 (1H, d, 8.2)	120.		7.73 (1H, d, 8.3)	120.4	
5	7.15 (1H, t, 7.6)	120.		7.16 (1H, t, 7.3)	120.0	
6	7.30 (1H, t, 7.8)	124.		7.30 (1H, t, 8.1)	124.8	
7	7.45 (1H, d, 8.2)	112.		7.46 (1H, d, 8.3)	112.3	
8		135.			135.8	
9		126.			126.9	
Leu						
NH	7.87 (1H, d, 5.8)		117.0	7.91 (1H, d, 5.9)		117.3
α	4.21 (1H, m)	51.2		4.30 (1H, q, 5.7)	50.4	
β	1.97 (1H, dd, 15.3, 4.7)	39.5		2.05 (1H, dd, 15.5, 4.8)	35.7	
	1.90 (1H, dd, 15.3, 7.8)			1.91 (1H, dd, 15.5, 7.2)		
γ		71.4			73.2	
δ	3.25 (1H, d, 12.0)	68.8		3.41 (1H, d, 10.8)	65.0	
	3.30 (1H, d, 12.0)			3.38 (1H, d, 10.8)		
δ	1.10 (3H, s)	24.4		3.36 (2H, s)	64.4	
C=O		172.			172.3	
Val						
NH	7.66, (1H, d, 7.1)		112.5	7.67 (1H, d, 7.6)		112.6
α	4.19 (1H, t, 7.1)	59.0		4.20 (1H, t, 7.0)	59.0	
β	2.05 (1H, hept, 7.0)	29.9		2.06 (1H, hept, 6.9)	29.7	
γ	0.94 (3H, d, 6.8)	17.6		0.96 (3H, d, 6.9)	18.0	
γ	0.93 (3H, d, 6.8)	18.5		0.93 (3H, d, 6.9)	18.7	
C=O		171.			171.1	
Thr						
NH	8.00 (1H, d, 8.3)		113.2	8.02 (1H, d, 8.3)		113.1
α	4.23 (1H, m)	58.2		4.24 (1H, m)	58.2	
β	4.12 (1H, dd, 6.2, 3.2)	65.8		4.12 (1H, m)	65.8	
γ	1.07 (3H, d, 6.4)	19.2		1.07 (3H, d, 6.4)	19.1	
C=O		170.			170.4	
Ser						
NH	7.73 (1H, d, 6.8)		113.2	7.72 (1H, d, 6.6)		113.2
α	4.24 (1H, m)	56.5		4.26 (ov.)	56.2	
β	3.67, ov.	60.9		3.69 (ov.)	60.8	
	3.61 (1H, dd, 11.2, 5.0)			3.63 (1H, dd, 11.1, 5.1)		
C=O		170.			170.0	
(OH) ₃ -						
NH	7.68 (1H, d, 8.0)		114.4	7.65 (1H, d, 8.1)		114.4
α	4.39 (1H, t, 7.3)	55.8		4.40 (1H, t, 7.1)	55.6	
β	3.88 (1H, dd, 6.2, 2.0)	70.0		3.87 (1H, dd, 6.7, 2.0)	70.0	
δ	3.45 (2H, m)	62.5		3.47 (2H, m)	62.5	
C=O		170.			170.0	

Tableau XVI : déplacements chimiques ^1H et ^{13}C du 18-AcO-chaenorpine (**4**) et la chaenorpine

Composé 4 : 18-AcO-Chaenorpine			Chaenorpine	
N°	δ_{H}	$\delta_{\text{C}13}$	δ_{H}	δ_{C}
1	4.23	55.1	4.22 (dd, J = 3.9, 3.9 Hz)	58.1
2(NH-2)	8.4			
3	3.26	48.2	a: 3.20 (ddd, J = 11.1, 7.7, 3.1 Hz); b: 3.06-2.99 (m)	47.5
4	1.7	27.1	a: 1.94-1.87 (m); b: 1.84-1.74 (m)	28.6
5	3.00	45.3	a: 3.30-3.25 (m); b: 3.09 (J = 12.6, 7.3, 3.3 Hz)	51.7
6 (NH-6)	8.5			
7	3.3	48.06	a: 3.06-2.99 (m) ; b: 2.94 (ddd, J = 12.0, 6.0, 6.0 Hz)	49.9
8	1.5	24.54	a: 1.94-1.87 (m); b: 1.66-1.60 (m)	26.3
9	1.57	27.5	a: 1.61-1.58 (m); b: 1.40-1.33 (m)	28.3
10	3.25	47.58	a: 3.65 (ddd, J = 14.4, 8.9, 6.1 Hz); b: 3.06-2.99 (m)	50.9
11	-	-		
12	-	169.1	--	171.3
13	5.8	121.25	5.93 (d, J = 12.8 Hz)	121
14	6.56	136.21	6.43 (d, J = 12.8 Hz)	134.1
15	-	127.08	--	128.1
16	7.1	127.14	6.92 (dd, J = 8.5, 2.2 Hz)	129.8
17	6.7	115.38	6.88 (d, J = 8.3 Hz)	118.1
18	-	157.5	--	151.2
19	-	130.2	--	144.3
20	8.2	125.3	7.15 (J = 2.2 Hz)	119.8
21	-	-	--	158.6
22	-	157.9		
23	7.2	132.04	6.94 (d, J = 8.6 Hz)	117.7
24	6.8	126.06	7.29 (d, J = 8.9 Hz)	128.4
25	-	130.5	--	134.6
26	6.8	126.06	7.29 (d, J = 8.9 Hz)	117.7
27	7.2	132.04	6.94 (d, J = 8.6 Hz)	128.4
28	2.78	36.7	a: 2.83 (dd, J = 14.3, 3.7 Hz); b: 2.75 (dd, 14.3, 4.0 Hz)	39
29	-	169.4		
30(NH-30)	8.5	-		
31	3.3	48.98		
32	1.7	27.74		
33	2.9	37.08		
<u>OCOCH₃</u>	1.9	21.1		
<u>OCOCH₃</u>	-	169.9		

Annexe 2 : Liste des communications et publications scientifiques

Article:

Moctar CHAIBOU, Habibou Hama Hamadou, Abdoul Nasser Moussa Bamba, Zakari Chaibou Ousmane, Arzika Tanimoune, Moussa Idrissa and Khalid Ikhiri (2020). *In vitro* study of the anthelmintic effects of ethanolic extracts of *Boscia senegalensis* (Pers) Lam. Ex Poir. (Capparaceae) plant used as antiparasitic in Azawagh area in Niger. *IOSR Journal of Pharmacy and Biological Sciences (IOSR-JPBS)*, 15(1), (2020): pp. 61-65. DOI : 10.9790/3008-1501016165. www.iosrjournals.org.

Communication 1:

Moctar Chaibou, Habibou Hama Hamadou, Abdoul Nasser Moussa Bamba, Zakari Chaibou Ousmane, Moussa Idrissa et Khalid Ikhiri (2019). Evaluation in vitro des effets nematocides des extraits ethanologiques de *B.rufrescens* et *C.brocchiana*. *20^e Journées scientifiques annuelles de la SOACHIM (Bamako-Mali)*.

Communication 2 :

Moctar Chaibou, Moussa Idrissa et Khalid Ikhiri (2021). Investigation phytochimique et biologique de *C. brocchiana*. *Séminaire doctoral des écoles doctorales polytechnique (INP-HB) (Yamoussoukro-RCI)*.

Communication 3 :

Moctar Chaibou, Moussa Idrissa, et Khalid Ikhiri (2021). *In vitro* study of the vermifugal effects of ethanolic extracts and phenolic contents of *Boscia senegalensis* (Pers) Lam. Ex Poir. (Capparaceae) plant used as antiparasitic in Niger. 19th International Symposium of the Natural Product Research Network for East and Central Africa (NAPRECA) (Rwanda, Kigali).

Prix et distinction :

Lauréat - Prix Recherche – JRICT (*semaine africaine des sciences*). Décembre 2019.