

V. GENERALITES SUR LE PALUDISME

Le paludisme ou malaria est une maladie potentiellement mortelle due à des parasites du genre *Plasmodium* transmis à l'homme par des piqûres de moustiques *Anopheles* femelles infectées. Selon les dernières estimations de l'OMS, publiées en septembre 2015, 214 millions de cas de paludisme et 438 000 décès ont été enregistrés. L'Afrique subsaharienne supporte une part disproportionnée de la charge mondiale du paludisme. En 2015, 88% des cas de paludisme et 90% des décès dus à cette maladie sont survenus dans cette région [WHO, 2015].

Au niveau mondial, le nombre de décès dus au paludisme chez les enfants de moins de 5 ans est de 306 000 en 2015. C'est dans la région de l'Afrique que l'OMS a enregistré 292 000 décès. Le paludisme occupe le quatrième rang de cause de mortalité infantile en Afrique subsaharienne, en 2015 avec 10 % des décès à l'échelle du continent.

80% des cas de paludisme et 78% des décès dus à cette maladie surviennent dans 15 pays – principalement de l'Afrique subsaharienne (**Figure 23**).

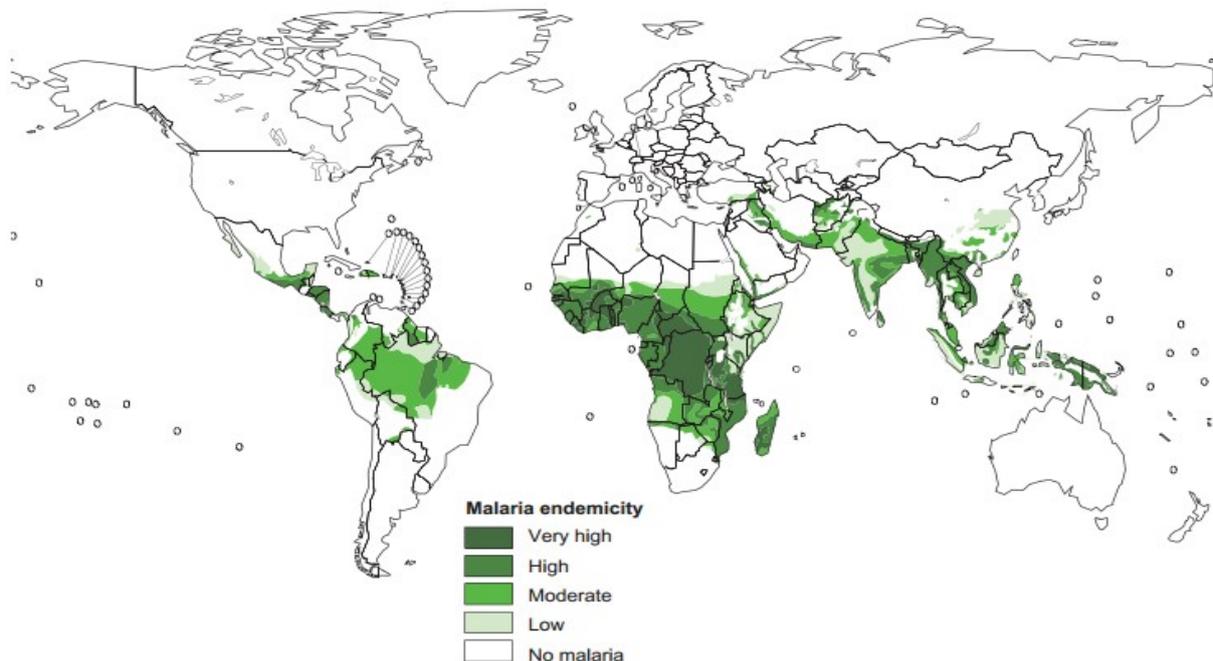


Figure 23 : Répartition mondiale des cas de paludisme dans le monde selon l'OMS [WHO, 2007]

1. Parasite

Cinq espèces de parasites du genre *Plasmodium* sont responsables du paludisme chez l'Homme [Mendis et al., 2001], *P. falciparum*, *P. vivax*, *P. ovale*, *P. malariae*, *P. knowlesi*. Le *P. falciparum* et *P. vivax* sont les plus dangereux.

P. falciparum est le parasite du paludisme essentiellement rencontré en Afrique tropicale, en Amérique centrale et au Sud et en Asie du Sud Est. Il s'agit de l'espèce la plus pathogène car responsable de la plupart des cas mortels dans le monde. De plus, *P. falciparum* développe aujourd'hui une résistance contre la chloroquine et l'artémisinine dans de nombreux pays, posant ainsi le problème du traitement médicamenteux de la maladie.

P. vivax est présent à plus d'endroits que *P. falciparum* et est prédominant hors d'Afrique. C'est la deuxième espèce rencontrée en Afrique et surtout en Asie, en Amérique latine et, à un moindre degré, en Afrique de l'Est. Environ 10 à 20% des cas d'infections par *P. vivax* dans le monde se produisent en Afrique, au sud du Sahara. En Afrique australe et orientale, *P. vivax* représente environ 10% de cas de malaria mais dans moins de 1% des cas en Afrique centrale occidentale [Mendis et al., 2001].

2. Cycle de reproduction du *Plasmodium*

Le cycle de reproduction du *Plasmodium* est complexe et comporte deux étapes essentielles : une phase asexuée qui se déroule chez l'homme et une phase sexuée qui débute chez l'Homme et qui se termine chez le moustique (*Anophèles*). La **figure 38** montre le cycle de reproduction du *Plasmodium*.

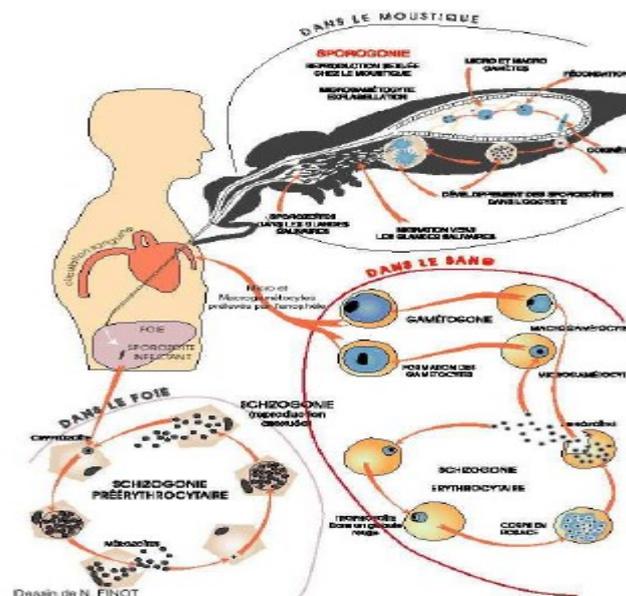


Figure 24 : Cycle de reproduction du *Plasmodium*

[www.membres.lycos.fr/lfinot/images/Affiche.jpg]

3. Vecteur : un moustique femelle du genre *Anopheles*

Le vecteur est un moustique femelle appartenant au genre *Anopheles*, de la famille des Culicidae, sous famille des Anophelinae. Plus de 450 espèces d'*Anopheles* ont été à ce jour décrites, dont une trentaine des vecteurs très importants du paludisme à l'homme. Toutes les espèces importantes, vecteurs du paludisme piquent entre le crépuscule et l'aube. L'intensité de la transmission dépend des facteurs liés au parasite, au vecteur, à l'hôte humain et à l'environnement (source : <http://www.pasteur.fr>).

Les principaux vecteurs du paludisme en Afrique sont : *Anopheles gambiae*, *A. arabiensis*, *A. funestus*, *A. nili* et *A. moucheti*. En Amérique, quatre espèces sont particulièrement impliquées : *A. darlingi*, *A. albimanus*, *A. pseudopunctipennis* et *A. quadrimaculatus*. Enfin en Asie, nous pouvons citer *A. stephensi*, *A. farauti*, *A. sinensis*, *A. tellessarus* et *A. minimus*.

4. Symptômes

Le paludisme est une affection fébrile aiguë. Chez un sujet non immunisé, les symptômes apparaissent au bout de 7 j ou plus (généralement 10 à 15 j) après la piqûre de moustique infectante. Les premiers symptômes – fièvre, maux de tête, frissons et vomissements – peuvent être modérés et difficiles à attribuer au paludisme. S'il n'est pas traité dans les 24 h, le paludisme à *P. falciparum* peut évoluer vers une affection sévère souvent mortelle.

5. Prévention

La lutte antivectorielle est le principal moyen de prévenir et de réduire la transmission du paludisme. Si la couverture par les interventions de lutte antivectorielle est suffisamment élevée dans une région donnée, l'ensemble de la communauté sera protégée. Deux formes de lutte antivectorielle sont efficaces dans beaucoup de situation : les moustiquaires imprégnées d'insecticide et la pulvérisation d'insecticides à effet rémanent à l'intérieur des habitations.

La maladie peut également être prévenue au moyen d'antipaludiques. Les voyageurs peuvent se protéger au moyen d'une chimioprophylaxie qui supprime le stade sanguin de l'infection palustre, ce qui évite que la maladie ne se déclare.

La mise en œuvre efficace et soutenue de ces interventions de lutte antivectorielle exige une volonté politique et un engagement clair des autorités nationales ainsi qu'un soutien à long terme des partenaires financiers [WHO, 2015].

6. Traitement du paludisme

Le paludisme est une maladie qui peut être entièrement prévenue et traitée. Un traitement rapide, dans les 24 h suivant l'apparition de la fièvre, au moyen d'un antipaludique sûr et efficace est indispensable pour éviter des complications potentiellement mortelles. Les médicaments disponibles sont à base de quinine (57), artémisinine (58) (Figure 25) (et dérivés), chloroquine (59), halofantrine (60), méfloquine (61), pyriméthamine (62) et sulfadoxine (63).

- Substances naturelles

La quinine (57) (Quinimax®, Quinine Lafran®, Quinoforme®, Surquina®) est un alcaloïde quinoléique et est le plus ancien des antipaludiques. Elle a été découverte en 1820 et a constitué jusqu'aux années 1930, le seul médicament contre le paludisme. Il s'agit d'un alcaloïde naturel extrait des écorces de Quinquina (*Cinchona sp.*, **Rubiaceae**).

L'artémisinine (58) est une lactone sesquiterpénique extraite d'une armoise chinoise, *Artemisia annua* (Qinghaosu). Il s'agit d'un antipaludique de la pharmacopée chinoise, utilisé depuis plus de 2000 ans. C'est une lactone sesquiterpénique présentant un pont endoperoxide.

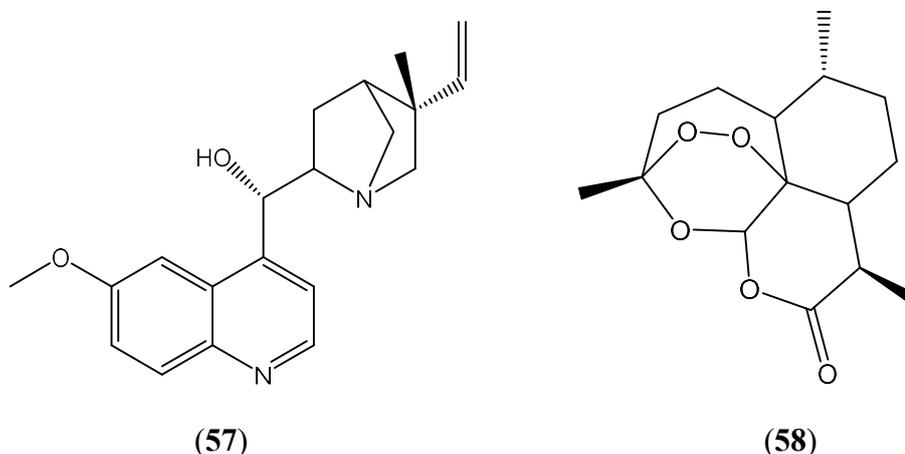


Figure 25 : La quinine (57) et l'artémisinine (58)

- Médicaments de synthèse ou dérivés :

La chloroquine (59), premier dérivé de synthèse de la quinine (57) a été pendant plus de cinquante ans le médicament idéal tant pour le traitement des accès que pour la prophylaxie.

Son champ d'utilisation ne cesse de se rétrécir avec le développement de résistances [Mouchet, 2004].

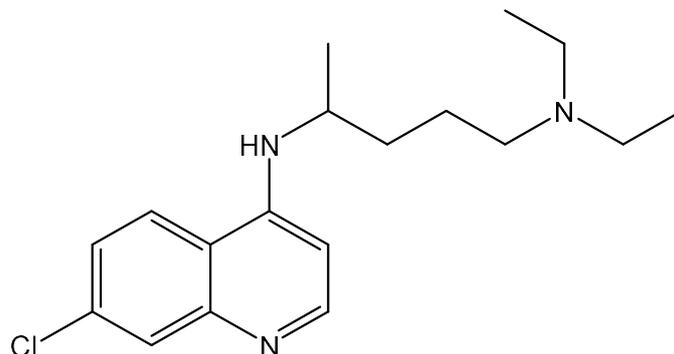


Figure 26 : La chloroquine (59)

L'halofantrine (60) (Halfan®) et la méfloquine (61) (Lariam®) (**Figure 27**) sont des dérivés de synthèse de type aryl-amino-alcools. La méfloquine (61) est active sur les quatre espèces de *Plasmodium* et malgré quelques résistances très localisées en Thaïlande et au Vietnam, elle reste très utilisée en Asie contre les souches multi-résistantes [Mouchet, 2004]. L'halofantrine (60) était réservée, dans l'esprit de ses concepteurs, au traitement des souches résistantes. Le produit est cher, soit 130 fois le prix de la chloroquine.

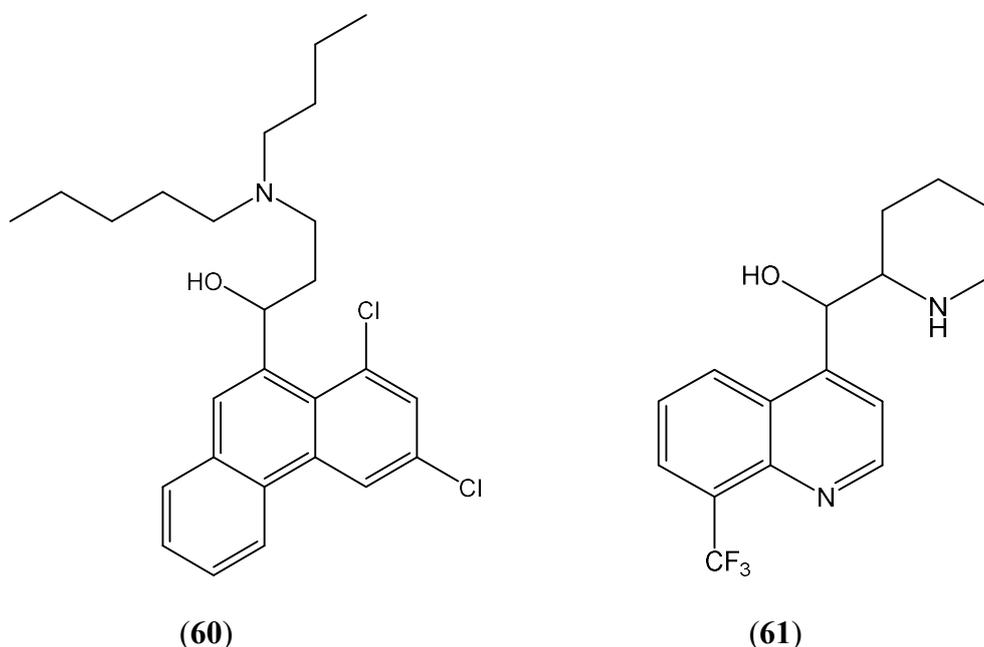


Figure 27 : L'halofantrine (60) et la méfloquine (61)

Le Fansidar® est l'association d'un sulfamide antibiotique, la sulfadoxine et d'une diaminopyrimidine antifolinique, la pyriméthamine (**Figure 28**). L'association des deux

composés n'engendre pas de contre-indications ou d'interactions spécifiques. Ce médicament est utilisé en cas de résistance ou en cas de contre-indications aux autres antipaludiques. Malheureusement, des cas de résistance sont également apparus dans certains pays.

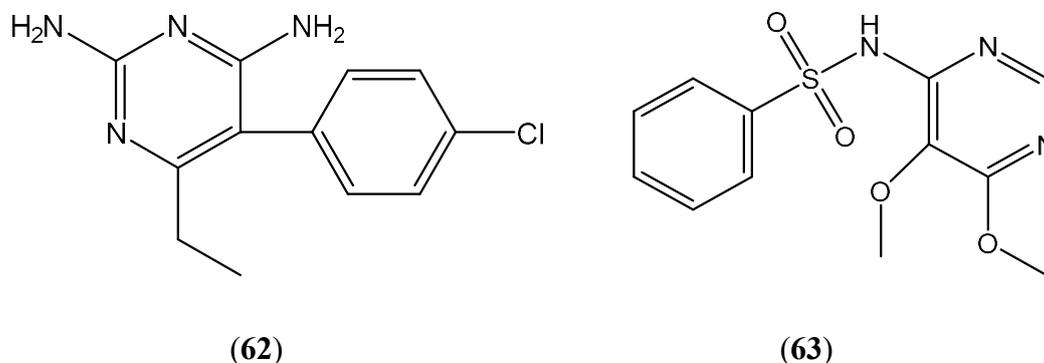


Figure 28 : La pyriméthamine **(62)** et la sulfadoxine **(63)**

- Associations médicamenteuses

La combinaison thérapeutique consiste à associer au moins deux médicaments schizonticides dont les modes d'action sont indépendants et dont les cibles biochimiques sont différentes afin d'améliorer leur efficacité et de retarder le développement et la résistance à chacun des constituants [Mouchet, 2004].

Les associations médicamenteuses recommandées par l'OMS sont celles à base d'artémisinine (ou dérivés), on les appelle les ACT : Artemisinin-based Combination Therapy.

L'OMS recommande que, dans tous les cas présumés, le paludisme soit confirmé par un diagnostic basé sur la recherche des plasmodies (par microscopie ou test diagnostique rapide) avant d'administrer un traitement. La confirmation parasitologique peut être obtenue en 30 min ou moins. Un traitement sur la seule base des symptômes ne doit être envisagé que si le diagnostic parasitologique n'est pas possible.

En effet, depuis 2001, l'OMS recommande aux pays où le paludisme est devenu résistant aux traitements traditionnels, comme la chloroquine, de passer à ces associations. Quatre ACT sont recommandés par l'OMS : artémether-lumefantrine, artésunate-méfloquine, artésunate-amodiaquine et artésunate-sulfadoxine/pyriméthamine (OMS, communiqués de presse).

Les combinaisons à base de dérivée d'artémisinine sont les meilleurs médicaments disponibles actuellement pour le traitement de la malaria à *P. falciparum*.

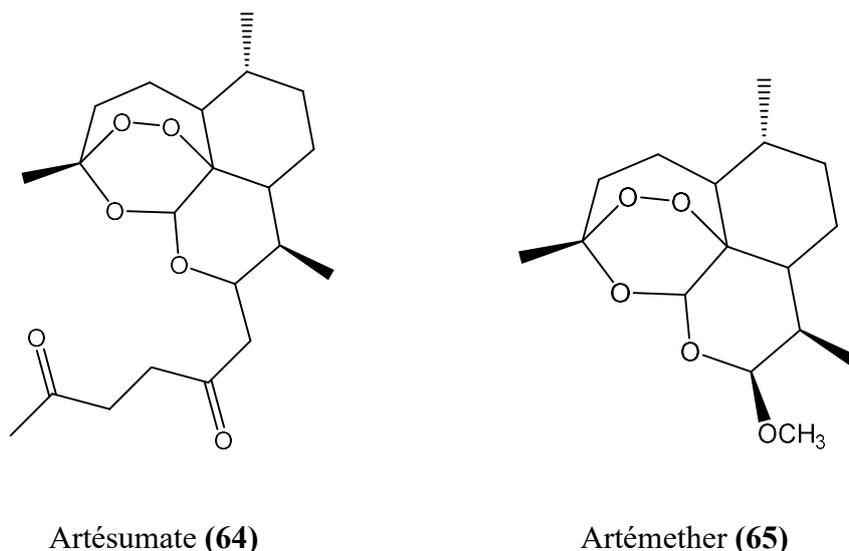


Figure 29 : L'artésunate (64) et l'artémether (65) dérivées de l'artémisinine

7. Résistance aux antipaludiques

La résistance aux antipaludiques est un problème récurrent. La résistance de *P. falciparum* aux précédentes générations de médicaments comme la chloroquine et la sulfadoxine-pyriméthamine (SP) s'est généralisée au cours des années 1970 et 1980, sapant les efforts de lutte antipaludique et inversant la tendance des progrès accomplis en matière de survie de l'enfant.

Une ACT "*Artemisinin-based Combination Therapy*" consiste en l'association d'artémisinine avec d'autres médicaments. Ces dernières années, une résistance à l'artémisinine a été signalée dans cinq pays du Bassin du Mékong : le Cambodge, le Myanmar, le Laos, la Thaïlande et le Viet Nam. Des études ont confirmé qu'une résistance à l'artémisinine était apparue dans de nombreuses régions du Bassin. La plupart des patients traités par ACT guérissent s'il n'y a pas de résistance aux médicaments associés [WHO, 2015].

Aujourd'hui, il est nécessaire de faire une évaluation des plantes médicinales utilisées aux traitements du paludisme dans le but de veiller à leur réelle efficacité et à leur non-toxicité. Ainsi, les plantes du genre *Quassia* et *Simarouba* d'Amérique du Sud semblent renfermer des composés toxiques [Mouchet, 2004]. Néanmoins, les succès en clinique de la quinine et de l'artémisinine, molécules naturelles isolées respectivement de *Cinchona sp.* et *Artemisia annua* encouragent la recherche de nouvelles molécules antipaludiques issues de la biodiversité végétale.

Deuxième Partie : ETUDE CHIMIQUE

I. MATERIELS ET METHODES

1. Matériels

1.1. Matériels végétaux

1.1.1. Récolte des plantes

Les fruits de *C. dealbata* codé TST139 ont été récoltés en octobre 2011 à Antevialambazaha dans la Réserve Naturelle Intégrale (RNI) de Tsaratanana, Commune de Mangindrano, District de Bealalana, de la Région de Sofia (latitude : 14°11'55,8''S ; longitude : 048°57'10,5''E). Les écorces de *C. rigidifolia* codé MG442 ont été récoltées en octobre 2012 à Ankosy dans la Commune Rurale d'Antanandava, District Ambatondrazaka, Région Alaotra-Mangoro (latitude : 17°28'57,8''S ; longitude : 048°44'34,8''E). Elles ont été ensuite identifiées par les botanistes du Département Botanique du CNARP au sein duquel est déposé des herbiers de référence ST1443 (Stephan Rakotonandrasana), pour *C. dealbata* et ROL718 (Roland Rakotondraona) pour *C. rigidifolia*.

1.1.2. Préparation des échantillons

Les organes collectés ont été séchés dans un séchoir ventilé à la température de 40°C pendant deux semaines. Ils ont été ensuite broyés. Les poudres obtenues ont été placées dans des sacs en plastique et conservées dans des endroits secs, à l'abri de la chaleur et de la lumière jusqu'à leur utilisation.

1.2. Matériels techniques

- Flacons hermétiques
- Erlen Meyers de différentes capacités
- Ballons de différentes capacités
- Tubes à essais
- Eprovettes graduées
- Plaques CCM : support en feuille aluminium, phase stationnaire en gel de silice 60F₂₅₄, MERCK, épaisseur 0,2mm
- Plaques CCM : support en verre, phase stationnaire en gel de silice 60F₂₅₄, WHATMAN, épaisseur 0,5mm
- Cuves chromatographiques
- Colonnes en verre de différente taille
- Pulvérisateur CNAPMAD
- Gel de silice 60 : MACHEREY NAGEL, diamètre 50-200µm

- Gel de Sephadex LH-20 SIGMA-ALDRICH
- Sable de Fontainebleau, VWR
- Lampe UV : type UVL-28 aux longueurs d'onde $\lambda_1 = 254$ nm et $\lambda_2 = 365$ nm.
- Pistolet chauffant : STEINEL, HL 1610S
- Evaporateur rotatif : BUCHI R-210
- Pompe à vide : BUCHI V-700
- Réfrigérant de système en boucle : WVR RC-10

2. Méthodes

2.1. Extractions

2.2.1. Macération

350 g de poudre sèche des fruits de *Cryptocarya dealbata* et 300 g de poudre sèche des écorces de *Cryptocarya rigidifolia* ont été macérées séparément dans 1 L d'éthanol chacune, à température ambiante pendant 24 h. Après filtration, les marcs sont de nouveau macérés dans les mêmes conditions et les filtrats ont été évaporés sous pression réduite pour obtenir les extraits bruts. L'opération a été répétée 3 fois.

Nous avons choisi le mode d'extraction par macération à froid afin d'éliminer le risque de destruction ou de modification des métabolites secondaires des plantes sous l'effet de la chaleur.

2.2.2. Partage liquide-liquide

L'extrait brut a été solubilisé dans le méthanol, puis subit un partage liquide-liquide entre l'hexane et le méthanol. La fraction hexanique est appelée fraction F1 et la solution méthanolique résiduelle est évaporée à sec sous pression réduite. L'extrait méthanolique est ensuite solubilisé dans de l'eau distillée à 40°C, puis subit un partage liquide-liquide entre l'acétate d'éthyle et l'eau. La fraction acétate d'éthyle est appelée fraction F2 et la fraction aqueuse résiduelle est appelée fraction F3.

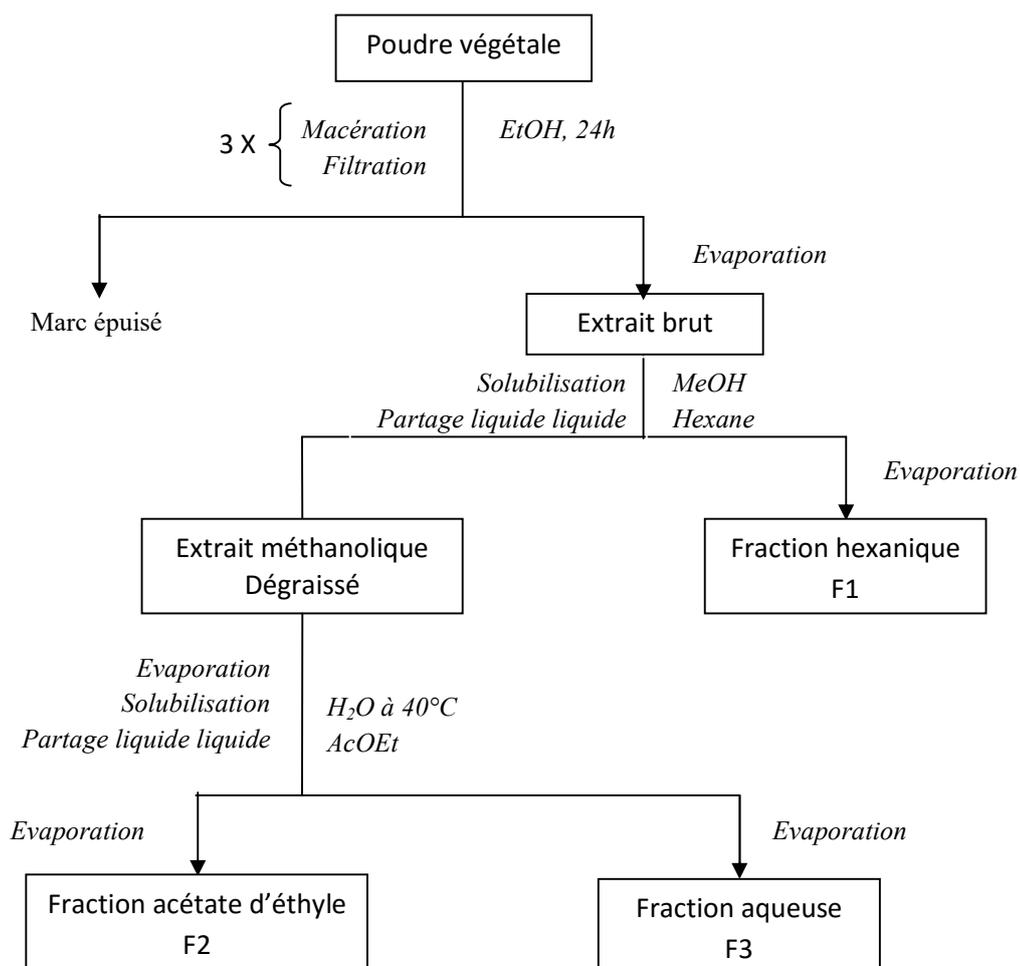


Diagramme 1 : Extraction et partage liquide-liquide

2.2. Fractionnement et isolement

2.2.1. Méthode chromatographique analytique : CCM

2.2.1.1. Préparation de la plaque et élution

Utilisée à chaque étape pour le suivi et le contrôle des purifications, la chromatographie sur couche mince (CCM) permet de vérifier la présence et la pureté des produits ciblés. Les analyses sur couche mince sont réalisées en phase normale sur des plaques d'aluminium ou de verre revêtus de gel de silice 60F₂₅₄ (Merck) comme phase stationnaire.

Cette technique permet aussi d'avoir une idée de la polarité de composés dans un mélange et de définir le système d'éluant le mieux adapté à la purification à effectuer. Par cette technique on peut connaître la R_f (Référence frontale) de chaque composé, qui est le rapport de la distance parcourue par cette molécule sur celle parcourue par la phase mobile (compris entre 0 et 1).

Le développement des plaques s'effectue dans des cuves en verre saturées de la vapeur d'éluant approprié. Pendant le développement du chromatogramme, la cuve doit demeurer fermée et ne pas être déplacée.

2.2.1.2. Révélation

L'observation des plaques s'effectue en lumière visible et sous UV ($\lambda_1 = 254$ nm et $\lambda_2 = 365$ nm), avant révélation par le réactif à la vanilline sulfurique, un révélateur polyvalent.

Réactif à la Vanilline sulfurique

Une solution composée de 1 g de vanilline et 2 ml d'acide sulfurique dans 100 ml d'éthanol à 95%. Après pulvérisation, la plaque a été chauffée à 110°C pendant 2 min environ. Plusieurs colorations apparaissent en fonction du type de composés.

2.2.2. Méthodes chromatographiques préparatives

2.2.2.1. Chromatographie sur colonne ouverte (CC)

Pour les chromatographies sur colonnes ouvertes, plusieurs types de phases ont été mis en œuvre. La taille et le diamètre de la colonne en verre ont été choisis en fonction de la quantité d'échantillon à purifier et de la résolution souhaitée. L'élution est réalisée par simple gravité.

a) Chromatographie d'exclusion

Cette technique repose sur la séparation de constituants d'un mélange en fonction de leur masse moléculaire et de leur structure spatiale.

Les chromatographies d'exclusion sont réalisées sur gel de Sephadex LH-20. Le mélange à séparer est introduit sous forme de dépôt liquide et l'élution est assez rapide sans pression. Les substances sont éluées par ordre décroissant de leur poids moléculaire. L'éluant utilisé est le mélange DCM /MeOH (1 :1).

Les fractions recueillies ayant le même Rf sont regroupées selon les résultats de l'analyse par CCM.

b) Chromatographies d'adsorption

Cette méthode permet de séparer les constituants d'un mélange de substances, en fonction de leur polarité c'est-à-dire par leur groupement fonctionnel.

La colonne en verre est remplie de gel de silice 60 (70-200 μm ou 35-70 μm , SDS) 30 à 50 fois supérieur à la quantité de l'échantillon à déposer. L'extrait à fractionner est adsorbé sur une quantité de silice correspondant à environ 2 à 4 fois sa masse et l'extrait a été déposé sous

forme solide. Le choix des conditions d'éluion, le suivi de la séparation et le rassemblement final des fractions ont été effectués sur la base des résultats d'analyses en CCM.

2.2.2.2 Chromatographie préparative sur couche mince

Cette méthode a été utilisée pour isoler ou purifier les produits en faible quantité. Les plaques utilisées sont des plaques gel de silice d'épaisseur de 500 μm sur verre. L'échantillon a été solubilisé dans un solvant approprié puis déposé en bande large sur la plaque. La plaque a été développée dans une cuve en verre saturée du système d'éluant hexane/AcOEt (50 : 50).

La plaque a été observée à l'aide d'une lampe UV à $\lambda = 254 \text{ nm}$. La silice contenant le composé à isoler a ensuite été grattée à l'aide d'une spatule. Le composé est extrait avec une petite quantité de solvant. Après une filtration du mélange, le filtrat recueilli dans un ballon taré est évaporé sous pression réduite pour récupérer le composé.

2.3. Analyses spectrales et physiques des composés

Les analyses spectrales et physiques des composés isolés des deux *Cryptocarya* ont été réalisées au Laboratoire de Pharmacognosie de l'Université Paris Descartes.

2.3.1. Spectrométrie de masse (SM)

Les spectres de masse ont été enregistrés sur un appareil ZQ 2000 Waters, source d'électronébulisation Z-spray (ESI-MS), ou sur un appareil LCQ Advantage® (Thermo Electron) utilisant comme technique d'ionisation l'électronébulisation et comme analyseur un piège à ions.

L'ionisation, réalisée par électronébulisation (ESI) permet d'obtenir des ions non fragmentés. Il est également possible d'effectuer une mesure de la masse exacte de l'ion pseudomoléculaire à partir de laquelle on peut déduire la formule brute du composé étudié.

2.3.2. Spectroscopie de Résonance Magnétique Nucléaire (RMN)

Les expériences de résonance Magnétique Nucléaire ont été effectuées sur un spectromètre RMN Bruker AC 300 à transformé de Fourier pour les expériences 1D (300 MHz pour le ^1H et 75 MHz pour le ^{13}C) et sur un spectromètre de RMN Bruker Avance 400 pour les expériences 2D (400 MHz pour le ^1H et 100 MHz pour le ^{13}C).

Les constantes de couplage sont exprimées en Hertz (Hz). La multiplicité des signaux est donnée par les abréviations suivantes : *s* (singulet), *d* (doublet), *t* (triplet), *m* (multiplet), *q* (quadruplet), *qt* (quintuplet) et *br* (large) (broad). L'attribution des signaux des protons et des

carbones a été effectuée à partir des expériences 1D (^1H , ^{13}C) et des expériences 2D (COSY, HSQC, HMBC, NOESY), en utilisant les logiciels Bruker TopSpin ou MestRenova.

La RMN est une méthode spectrale qui donne des informations pour la détermination des structures des molécules. Cette technique exige des quantités de plus de 5 mg d'échantillon que l'on dissout dans du solvant deutérié additionné de TMS (tétraméthylsilane) comme standard interne ($\delta = 0$ ppm) puis introduit dans des tubes RMN analytiques de 5 mm de diamètre. L'échantillon peut-être récupéré après analyse.

La RMN est fondée sur les propriétés magnétiques que possèdent certains noyaux (noyaux présentant un spin nucléaire). Dans des conditions appropriées, en présence d'un champ magnétique intense, ces noyaux entrent en résonance. La fréquence de résonance correspondante dépend de l'élément considéré, de son environnement électronique et du champ magnétique appliqué. Cette fréquence est traduite en termes de déplacement chimique δ (en ppm) par rapport à une référence qui est le TMS.

Chaque spectre nous donne des informations spécifiques sur le squelette, sur les groupements fonctionnels et leurs positions, sur la stéréochimie, sur le nombre d'hydrogène ou de carbone. La comparaison de ces informations avec d'autres données spectrales de molécules proches nous permet de déterminer la structure de la molécule.

2.3.2.1. Spectroscopie de RMN monodimensionnelle

- **Spectre RMN ^1H**

Le spectre RMN du proton est une méthode courante utilisée pour la détermination structurale des composés organiques. Il fournit des informations sur les déplacements chimiques du proton (δ en ppm) permettant ainsi de déterminer les régions du spectre caractéristique de certains groupements chimiques (ou sites protoniques). L'intensité du signal ainsi que celle de la courbe d'intégration sont proportionnelles au nombre de protons représentés par le pic (ou le multiplet) donné.

- **Spectre RMN ^{13}C découplé**

La RMN du ^{13}C découplé des protons par une large bande de fréquence est un spectre ne comportant que des singulets sous forme de pics très fins correspondant chacun à un carbone de la molécule. Le déplacement chimique des pics (δ en ppm) permet l'identification des groupements et fonctions de la molécule en les comparant à ceux des tables de référence ou de la littérature.

- **Spectre RMN ^{13}C *J*-modulé**

Le spectre RMN ^{13}C *J*-modulé permet d'observer directement les groupes fonctionnels contenant les carbones et d'en déduire leur nombre et leurs déplacements chimiques. Ce spectre permet également de distinguer les carbones quaternaires, primaires, secondaires et tertiaires. Les pics correspondant aux carbones primaires (CH) et tertiaires (CH₃) ont le même sens. Les pics en sens contraire correspondent aux carbones quaternaires (C) et secondaires (CH₂).

- **Spectre RMN ^{13}C DEPT(Distortionless Enhancement by Polarization Transfer)**

Le spectre RMN ^{13}C DEPT permet d'observer directement les groupes fonctionnels contenant les carbones et d'en déduire leur nombre et leurs déplacements chimiques. Ce spectre permet également de distinguer les carbones primaires, secondaires et tertiaires. Les carbones quaternaires n'apparaissent pas sur ce spectre. Les pics correspondant aux carbones primaires (CH) et tertiaires (CH₃) ont le même sens. Les pics en sens contraire correspondent aux carbones secondaires (CH₂).

2.3.2.2. Spectroscopie de RMN bidimensionnelle

Les programmes de séquences impulsionnelles standard fournies par Brüker ont permis de réaliser les expériences bidimensionnelles COSY, NOESY, HSQC et HMBC.

a) Corrélations homonucléaires

- **Spectre COSY : Correlated SpectroscopY (2D ^1H - ^1H)**

Cette expérience permet de voir les corrélations des protons géminés et vicinaux, par interactions scalaires (à travers les liaisons chimiques). Les signaux des spectres COSY se présentent comme suit :

Les taches sur la diagonale représentent le spectre RMN ^1H monodimensionnelle.

Les taches symétriques par rapport à la diagonale indiquent des corrélations entre protons.

- **Spectre NOESY: Nuclear Overhauser Effect SpectroscopY (2D ^1H - ^1H)**

Cette expérience met en jeu des couplages dipolaires entre protons (homonucléaire). Contrairement au couplage scalaire qui est transmis par les électrons de liaisons, le couplage des corrélations entre des protons proches dans l'espace, c'est-à-dire des protons qui se voient, permet de déterminer la stéréochimie de la molécule.

b) Corrélations hétéronucléaires

- **Spectre HSQC : Heteronuclear Single Quantum Correlation (2D ^1H - ^{13}C)**

Cette technique indique quel proton est directement lié à quel carbone. Elle permet de distinguer les carbones protonés des carbones quaternaires.

- **Spectre HMBC : Heteronuclear Multiple - Bond Correlation (2D ^1H - ^{13}C)**

Cette expérience met en jeu des couplages scalaires entre un proton et des carbones situés à deux ou trois liaisons de distance. Les signaux sont sous forme de taches alignées verticalement suivant une valeur de δ (ppm) d'un proton.

2.3.3. Spectrométrie ultraviolet (UV)

Les spectres U.V. des composés ont été mesurés dans le méthanol ou chloroforme à l'aide d'un spectrophotomètre de type Jenway 6705 UV/Vis. Le double faisceau permettant des lectures directes contre témoin. Les mesures se font dans des cuves de quartz à trajet optique de 1 cm.

2.3.4. Spectrométrie Infrarouge (IR)

Les spectres infrarouge des molécules ont été réalisés au moyen d'un spectrophotomètre Perkin-Elmer Spectrum S 65 FT-IR. L'infrarouge est une technique simple qui permet d'obtenir des informations sur la structure de la molécule et essentiellement sur ses différents groupements fonctionnels (double liaison, noyau aromatique, hydroxyle, cétone, acide carboxylique ...).

2.3.5. Mesure du Pouvoir rotatoire ($[\alpha]_D$)

Le pouvoir rotatoire des molécules est mesuré sur un polarimètre de type Perkin-Elmer 341 à la longueur d'onde de la raie D du sodium ($\lambda = 589 \text{ nm}$) dans une cuve de 10 cm à température ambiante. Le pouvoir rotatoire spécifique $[\alpha]_D$, exprimé en degré, est calculé à partir de la formule suivante :

$$[\alpha]_D = \frac{\alpha}{l \cdot c}, \text{ où}$$

α : angle de rotation, en degré, lu sur le polarimètre,

l : longueur, en dm, de la cuve de mesure,

c : concentration de la molécule en solution en g/ml.