

REPUBLIQUE DU CAMEROUN

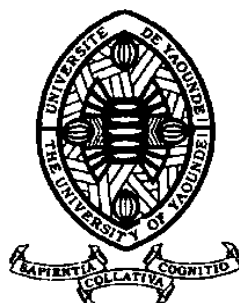
Paix-Travail-Patrie

UNIVERSITE DE YAOUNDE 1

FACULTE DES SCIENCES

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

UNITE DE RECHERCHE ET DE
FORMATION DOCTORALE EN CHIMIE ET
APPLICATIONS



REPUBLIC OF CAMEROON

Peace-work-fatherland

UNIVERSITY OF YAOUNDE 1

FACULTY OF SCIENCE

POST GRADUATE SCHOOL OF
SCIENCES, TECHNOLOGY AND
GEOSCIENCES

DOCTORAL RESEARCH UNIT FOR
CHEMISTRY AND APPLICATIONS

DÉPARTEMENT DE CHIMIE ORGANIQUE

DEPARTMENT OF ORGANIC CHEMISTRY

LABORATOIRE DE PHARMACOCHEMIE DES SUBSTANCES NATURELLES

NATURAL PRODUCTS PHARMACOCHEMISTRY LABORATORY

**ÉTUDE DES CONSTITUANTS CHIMIQUES DES
ÉCORCES DE *FUNTUMIA AFRICANA* (BENTH.)
STAPF (APOCYNACEAE) ET ÉVALUATION DE
L'ACTIVITÉ ANTIPLASMODIALE**

Mémoire rédigé en vue de l'obtention du diplôme de **Master en Chimie Organique**

Par

BILO'O MEKOULOU Rachel Annick

Matricule : 18F2480

Licenciée en Chimie

Sous la direction de :

NGONO BIKOBO Dominique Serge

Maître de Conférences



ANNÉE ACADÉMIQUE 2022/2023

DÉDICACE

★ À mes adorables parents:

MEKOULOU PYTHAGORE

Et

MFOUM JACQUELINE

★ À ma feuie grand-mère :

ADA JEANNE

REMERCIEMENTS

Ce travail a été réalisé dans le Laboratoire de PharmacoChimie des Substances Naturelles (LPSN) du Département de Chimie Organique de l'Université de Yaoundé I, et n'aurait été possible sans l'implication d'un grand nombre de personnes à qui j'adresse mes remerciements les plus sincères.

Je voudrais adresser mes vives remerciements :

- ❖ Au Professeur **PEGNYEMB Dieudonné Emmanuel**, Chef de Département de Chimie Organique de la Faculté des Sciences à l'Université de Yaoundé I, par ailleurs, Chef du Laboratoire de PharmacoChimie des Substances Naturelles pour m'avoir accueilli au sein de son équipe de recherche tout en facilitant mon intégration ;
- ❖ Au Professeur **NGONO BIKOBO Dominique Serge** pour son encadrement, sa disponibilité sa sagesse, ses conseils, son dynamisme, sa détermination et ses encouragements qui m'ont été d'une aide inestimable. Il s'est toujours senti très concerné par le bon déroulement de ce travail et je lui en suis très reconnaissante ;
- ❖ Aux Professeurs : **NGO MBING Joséphine**, **NOTE Olivier Placide**, **NDONGO Thierry**, **ABOUEM A ZINTCHEM Auguste**, **KAMTO Eutrophe Ledoux** pour leurs conseils et leurs encouragements ;
- ❖ A tous les enseignants du Département de Chimie Organique pour leur engagement total pour la formation des étudiants et leurs conseils de qualité ;
- ❖ Aux Docteurs : **BAHIYA Gaétan**, **MESSI Angélique Nicolas**, **KINYOK Mc Jésus**, **SIMO Line**, **MBABI NYEMECK II Norbert**, **TIAM Eric Robert**, **MESSI AMBASSA Lin Marcelin**, **BALEMAKEN MISSI Marius**, **EBEDE Guy Roland**, **NKOT Jeanne Louise**, **EVINA Jean Noel** pour leurs soutien et leurs remarques ;
- ❖ Au Docteur **BITOMBO André Néhémie** pour avoir guidé mes premiers pas au laboratoire tout en suivant minutieusement l'évolution de mon travail, également pour sa patience et toute l'attention qu'il a porté à ce travail ;

- ❖ A mes aînés de laboratoire : **ZOUA Fred, NAMA Alexis, ATANGANA Jean, DJIKAM Gwladys, KOM Larissa, TSEKENG Bertrand, BELLA Aurores, BEKOU Aliette, NTOMI Daniela, POM Michel, OMGBA Serge, NKWENTTI Idrielle, FOFACK Beltus, BILONGO Roberto, MOUNDOUBOU Romain, SEKE Paul, NJOYA Lamanje, MBELECK Moïse, MAKUETE Thierry, SIDZE Loique, THOUKAM Arnold, SIEBETCHEU Ghislain** pour leurs soutien et encouragements ;
- ❖ A mes camarades de laboratoire: **EKAMBI Micado, PEMGNIGNI Marie** avec qui j'ai partagé des expériences de travail mémorables ;
- ❖ A mes promotionnaires, pour toutes les discussions constructives que nous avons échangées et pour leurs encouragements tout au long de notre formation ;
- ❖ A ma deuxième maman **MENGUE Sylvie Nadège** pour son amour et soutien permanent ;
- ❖ A mon oncle **MEKOULOU Moïse**, mes tantes **NTYAM Erna, ABESSOLO Jocelyne, ADA Joquine, EBOUTOU Laure, NYANGON Roseline, MFOUM Carine** pour leurs soutien inestimables ;
- ❖ A mes frères et sœurs **ASSAM Pythagore, NNA Arielle, MEKOULOU Arsène, MFOUM Yves**.
- ❖ A tous mes amis qui ont toujours été là pour moi : **AWONO Jean, MBEH Terence, MOBENG Yves, MBOMOU Boris, NGOUNDI Floribert, DIAMBOU Manuella, KONGNE Gabrielle, NGAMBE Naomi, NGANGUE Clotaire, DAKSANA Espoir** pour le soutien apporté ;

A tous ceux qui de près comme de loin ont eu une pensée et une idée dans la confection de ce document et donc je n'ai pas mentionné le nom, je vous dis infiniment merci.

TABLE DE MATIÈRES

DÉDICACE	i
REMERCIEMENTS	ii
TABLE DE MATIÈRES	iv
LISTE DES ABRÉVIATIONS ET SYMBOLES	vii
LISTE DES TABLEAUX.....	ix
LISTE DES FIGURES.....	x
LISTE DES SCHÉMAS	xii
RÉSUMÉ	xiii
ABSTRACT.....	xiv
INTRODUCTION	1
CHAPITRE I : REVUE DE LA LITTERATURE.....	3
I.1 Généralités sur la famille des Apocynaceae	4
I-1-1) Étude Botanique	4
I.1.2) Répartition géographique des Apocynaceae dans le monde	5
I.2) Généralité sur les plantes du genre <i>Funtumia</i>	5
I.2.1) Description botanique des plantes du genre <i>Funtumia</i>	5
I.2.2) Répartition géographique des plantes du genre <i>Funtumia</i> en Afrique.....	6
I.2.3) Usages ethno-pharmacologiques des plantes du genre <i>Funtumia</i>	6
I.3) Généralité sur l'espèce <i>Funtumia africana</i>	7
I.3.1) Description botanique de l'espèce <i>Funtumia africana</i>	7
I.3.2) Classification systématique de l'espèce <i>Funtumia africana</i>	8
I.3.3) Distribution géographique de l'espèce <i>Funtumia africana</i> en Afrique	9
I.3.4) Répartition de <i>Funtumia africana</i> au Cameroun	9
I.4) Quelques usages de l'espèce <i>Funtumia africana</i>	10
I-4-1) Usage ethno-pharmacologique de l'espèce <i>Funtumia africana</i>	10
I-4-2) Usage économique	11

I.5) Travaux chimiques et pharmacologique antérieurs sur les plantes du genre <i>Funtumia</i>	11
I.5-1) Travaux pharmacologiques antérieurs sur l'espèce <i>Funtumia africana</i>	11
I.5-2) Travaux chimiques antérieurs sur le genre <i>Funtumia</i>	12
I.6) Composés isolés de l'espèce <i>Funtumia africana</i>	12
I.6-1) Les alcaloïdes	12
I.6-1-1) Généralités sur les alcaloïdes	12
I.6.1-2) Structures des alcaloïdes	12
I.6.1-3) Classification des alcaloïdes	13
I.6.1-4) Biosynthèse des alcaloïdes	15
I.6-2 Etude des alcaloïdes stéroïdiques	16
I.6-2.1) Généralités sur les alcaloïdes stéroïdiques	16
I.6-2.2) Biosynthèse des alcaloïdes stéroïdiques	17
I.6.3.1) Généralités sur les triterpènes	21
I.6.3.2) Cas des triterpènes pentacycliques	21
I-6-3-3) Biosynthèse des triterpènes	23
I-6-3-4) Biosynthèse de l'unité isoprénique par voie mévalonique	23
I.6.3-5) Cyclisation du squalène et formation des triterpènes pentacycliques	25
I-7) Le Paludisme	30
I.7.1) Généralité sur le paludisme	30
I.7.2) Distribution géographique du paludisme dans le monde	31
I.7-3) Vecteur	31
I.7.4) Parasite du paludisme	32
I.7-5) <i>Plasmodium falciparum</i>	32
I.7.6) Cycle de vie du <i>Plasmodium</i>	33
I.8) Manifestations cliniques des différents types du paludisme	34
I.9) Epidémiologie mondiale	35
I-9-1) Épidémiologie et histoire du paludisme au Cameroun	36
I-9-2) Diagnostique, traitement et prévention du paludisme	38
CHAPITRE II : RESULTATS ET DISCUSSION	42
II-1) Extraction et isolement des composés de <i>Funtumia africana</i>	43
II-2) Caractérisation chimique des composés purs isolés	45
II-2-1) Identification du composé FAE1	45
II-2-2) Identification du composé FAE2	56

II-3 Activité antiplasmodiale.....	65
CONCLUSION ET PERSPECTIVES.....	66
CHAPITRE III: MATERIEL ET METHODES	68
III.1. Matériel végétal et appareillage	69
III.1.1. Matériel végétal	69
III.1.2 Appareillages	69
III.2. Méthode.....	70
III.2.1. Extractions	70
III.2.2. Fractionnement et Purification	71
III.3. Test de détection des métabolites secondaires isolés	73
III.4. Caractéristiques physico-chimiques des composés isolés.....	73
III.4.1. FAE1	73
III.4.2. FAE2	74
RÉFÉRENCES BIBLIOGRAPHIQUES	75

LISTE DES ABRÉVIATIONS ET SYMBOLES

AcOEt :	Acétate d'éthyle
ATP :	Adénosine-Triphosphate
CC :	Chromatographie sur Colonne
CCM :	Chromatographie sur Couche Mince
CD₃OD :	Méthanol deutérié
CDCl₃ :	Chloroforme deutérié
CH₂Cl₂ :	Chlorure de méthylène
CHCl₃ :	Chloroforme
COSY :	<i>¹H-¹H Correlation Spectroscopy</i>
d :	Doublet
dd :	Doublet dédoublé
ddd :	Doublet de doublet dédoublé
DEPT:	<i>Distortion Enhancement by Polarization Transfer</i>
DMAPP:	Diméthylallyl Pyrophosphate
FPP:	Farnésylpyrophosphate
GPP:	Géranyl pyrophosphate
Hex :	Hexane
HMBC :	<i>Heteronuclear Multiple Bond Correlation</i>
HNC:	Herbier National du Cameroun
HR	Haute Résolution
HSQC:	<i>Heteronuclear Single Quantum Coherence</i>
Hz:	Hertz
IPP :	Isopentényl Pyrophosphate
J(Hz) :	Constante de couplage exprimée en Hz
LC-MS:	<i>Liquid Chromatography Mass Spectrometry</i>
m :	Multiplet

m/z :	Masse/ charge électrique
MeOH :	Méthanol
MS :	<i>Mass Spectrometry</i>
NOESY :	<i>Nuclear Overhauser Enhancement Spectroscopy</i>
OMS :	Organisation mondiale de la santé
PNLP :	Programme National de Lutte contre le Paludisme
ppm :	Partie par million
q :	Quadruplet
RMN	Résonance Magnétique Nucléaire
RMN 1D :	Résonance Magnétique Nucléaire à une Dimension
RMN 2D :	Résonance Magnétique Nucléaire à deux Dimension
RMN¹³C	Résonance Magnétique Nucléaire du Carbone 13
RMN¹H	Résonance Magnétique Nucléaire du Proton
s :	Singulet
t :	Triplet
TDR :	Test de Diagnostic Rapide
TOCSY :	<i>Total Correlation Spectroscopy</i>
WHO :	<i>World Health Organisation</i>
δ:	Déplacement chimique
μm:	Micromètre

LISTE DES TABLEAUX

Tableau 1: Classification de <i>Funtumia africana</i> (APG III, 2009).....	8
Tableau 2: Quelques types d'alcaloïdes et leurs précurseurs d'acides aminés (Hesse, 2002).....	14
Tableau 3: Quelques alcaloïdes isolés des Apocynaceae.....	18
Tableau 4: Quelques Composés isolés des plantes du genre <i>Funtumia</i>	19
Tableau 5: Structures de quelques composés isolés des plantes du genre <i>Funtumia</i> (suite)	29
Tableau 6: Tableau des données spectrales RMN ¹ H (500MHz, Acétone- <i>d</i> ₆), RMN ¹³ C (125MHz, Acétone- <i>d</i> ₆) du composé FAE1.....	55
Tableau 7: Tableau des données spectrales RMN ¹ H (500MHz, CDCl ₃), RMN ¹³ C (125MHz, CDCl ₃) du composé FAE2.	64
Tableau 8: Tableau de regroupement des fractions issus de l'extrait brut des écorces de <i>F.africana</i>	71
Tableau 9: Chromatogramme de la purification	72

LISTE DES FIGURES

Figure 1: Diversités florales des plantes de la famille des Apocynaceae (Bitencourt et <i>al.</i> , 2021).....	4
Figure 2: Répartition géographique des Apocynaceae dans le monde	5
Figure 3: Répartition géographique du genre <i>Funtumia</i> en Afrique (gbif.org/02/01/2023).....	6
Figure 4: Aspect botanique du tronc, feuilles, fruits et fleurs du <i>Funtumia africana</i> (Orwa et <i>al.</i> , 2009)	8
Figure 5: Distribution géographique de l'espèce <i>Funtumia africana</i> en Afrique	9
Figure 6: Aire de répartition de <i>Funtumia africana</i> au Cameroun (<i>source: HNC</i>)	10
Figure 7: Quelques squelettes de base des triterpènes pentacycliques	21
Figure 8: Quelques structures de base des triterpènes pentacycliques.....	22
Figure 9: Numérotation des carbones et dénomination des cycles de triterpènes pentacycliques.....	23
Figure 10: Répartition géographique du paludisme dans le monde (Source: CDC, 2022).....	31
Figure 11: Anophèle femelle prenant un repas de sang (Gathany, 2015).....	32
Figure 12: <i>Plasmodium falciparum</i> vue au microscope électronique (Source : CDC).....	33
Figure 13: Cycle de vie du Plasmodium (Source: CDC, www.cdc.gov).....	34
Figure 14 : Situation du paludisme dans le monde en 2020 (WHO, 2021)	36
Figure 15: Faciès épidémiologique du paludisme au Cameroun adapté (Djeutchouang, 2022).....	37
Figure 16: Spectre LC-MS du composé FAE1	45
Figure 17: Spectre RMN ¹ H (500 MHz ; Acétone- <i>d</i> ₆) du composé FAE1	46
Figure 18: Spectre APT (125 MHz ; Acétone- <i>d</i> ₆) du composé FAE1.....	47
Figure 19: Spectre COSY (500 MHz ; Acétone- <i>d</i> ₆) du composé FAE1.....	48
Figure 20: Quelques corrélations COSY	48
Figure 21: Spectre HSQC du composé FAE1.....	49
Figure 22: Spectre HMBC du composé FAE1.....	51
Figure 23: Quelques corrélations HMBC	51
Figure 24: Spectre NOESY (500 MHz ; Acétone- <i>d</i> ₆) du composé FAE1	52
Figure 25: Quelques corrélations NOESY	53
Figure 26: Spectre TOCSY (500 MHz ; Acétone- <i>d</i> ₆) du composé FAE1	54
Figure 27: Quelques corrélations TOCSY	54

Figure 28 : Spectre LC-MS du composé FAE2	56
Figure 29: Spectre RMN ¹ H (500MHz, CDCl ₃) du composé FAE2	56
Figure 30: Spectre RMN ¹ H élargi (500MHz, CDCl ₃) du composé FAE2	58
Figure 31: spectre APT (125 MHz, CDCl ₃) du composé FAE ₂	59
Figure 32: Spectre COSY élargi (500 MHz, CDCl ₃) du composé FAE2	60
Figure 33: Quelques corrélations COSY	60
Figure 34: Spectre HSQC du composé FAE2.....	61
Figure 35: Spectre HMBC du composé FAE2.....	62
Figure 36: Quelques corrélations HMBC du composé FAE2.....	62
Figure 37: Spectre NOESY (500 MHz, CDCl ₃) du composé FAE2	63
Figure 38: Quelques corrélations NOESY du composé FAE2	63
Figure 39: Évaporateur rotatif (a), amalgame (b) (Source : Photo Bilo'o, 2023).....	70
Figure 40: Colonne (a); plaque CCM (b) du composé FAE1 (Source: Photo Bilo'o, 2023	71
Figure 41: Colonne (a) du composé FAE2 (Source: Photo Bilo'o, 2023).....	72

LISTE DES SCHÉMAS

Schéma 1: Reaction élémentaire de biosynthèse des alcaloïdes	16
Schéma 2: Exemple de biosynthèse des alcaloïdes stéroïdiques	17
Schéma 3: Biosynthèse de l'IPP et du DMAPP par la voie de l'acide mévalonique	24
Schéma 4: Formation du squalène	25
Schéma 5: Série de cyclisation du squalène.....	26
Schéma 6: Série de cyclisation conduisant aux triterpènes pentacycliques.....	28
Schéma 7 : Protocole d'extraction et d'isolement des composés à partir des écorces de <i>Funtumia africana</i>	44

RÉSUMÉ

Le travail présenté dans ce mémoire porte sur l'étude des constituants chimiques des écorces de *Funtumia africana*, une plante de la famille des Apocynaceae. Elle a conduit par des méthodes chromatographiques (CC, CCM) à l'isolement de deux composés à savoir : l'acide Arjunolique et la Funtulatine, qui ont été entièrement caractérisés.

Les structures de ces composés ont été établies sur la base des analyses de leurs données spectroscopiques RMN 1D (^1H , ^{13}C) et 2D (COSY, HSQC, HMBC...), LC-MS et par comparaison desdites données à celles de la littérature ; de plus, les tests antiplasmodiaux ont été effectués sur l'extrait méthanolique de cette plante et ont montré une activité significative ($\text{IC}_{50} = 3,32 \pm 0,29 \mu\text{g/mL}$) sur une souche CQS (3D7) de *Plasmodium falciparum* par la méthode de fluorescence SyBR® Green I.

Mots clés: Apocynaceae, *Funtumia africana*, Acide Arjunolique, Funtulatine, *Plasmodium falciparum*, activité antiplasmodiale.

ABSTRACT

The work presented in this thesis concerns the study of the chemical constituents of the bark of *Funtumia africana*, a plant in the Apocynaceae family. The chemical study of the extract of this plant led, using chromatographic methods, to the isolation of two compounds: arjunolic acid and funtulatin, which were fully characterized.

The structures of these compounds were established on the basis of analyses of their spectroscopic data 1D (^1H , ^{13}C) and 2D (COSY, HSQC, HMBC...), LC-MS and by comparison of said data with that in the literature; in addition, antiplasmodial tests were carried out on the methanolic extract of this plant and showed significant activity ($\text{IC}_{50} = 3,32 \pm 0,29 \mu\text{g/ mL}$) against a CQS (3D7) strain of *Plasmodium falciparum* using the SyBR® Green I fluorescence.

Key words: Apocynaceae, *Funtumia africana*, Arjunolic Acid, Funtulatin, *Plasmodium falciparum*, Antiplasmodial activity.

INTRODUCTION

Les plantes médicinales font l'objet de grandes études en Chimie pharmaceutique car elles restent pour la plupart, la source la plus importante de molécules entrant dans la composition des médicaments. Dans le monde en général et en Afrique en particulier, de nombreux cas de décès sont causés par des maladies dévastatrices telles que le choléra, la Leishmaniose, la tuberculose, le VIH-SIDA et surtout par le Paludisme. Le paludisme est une infection fébrile aiguë se transmettant par piqûres de moustiques du genre *Anophèles* femelles infectées et causée par le parasite *Plasmodium* qui existe sous plusieurs espèces pathogènes à savoir *P. ovale*, *P. malariae*, *P. knowlesi*, *P. vivax* et *P. falciparum*. En Afrique plus précisément au Cameroun, cette dernière ne cesse de faire de nombreux morts avec pour principal agent pathogène virulent *P. falciparum*. Selon le rapport de l'OMS en 2021, le nombre de cas de paludisme en 2020 était estimé à 241 millions pour 627000 décès contre 227 millions en 2019 pour 558000 décès avec environ 95% des décès provenant de l'Afrique tropical et subsaharienne. D'après le dernier rapport de l'OMS 2022, les cas de paludisme ont continués d'augmenter entre 2020 et 2021, mais à un rythme plus lent qu'au cours de la période 2019 à 2020 faisant ainsi passer le décompte mondial de cas de paludisme de 241 millions en 2020 à 247 millions en 2021 touchant principalement les enfants de moins de 5 ans et les femmes enceintes, deux couches les plus vulnérables au paludisme, soit 80% de tous les décès liés à la maladie dans le monde. L'OMS dans sa politique de prise en charge du paludisme chez les couches les plus exposées, recommande l'utilisation des vaccins antipaludiques RTS, S/ASO1 (RTS,S) et R21/Matrix-M (R21) chez les enfants de moins de cinq ans dans les zones à transmission modérée et à forte intensité du paludisme à *P. falciparum* réduisant de 30% la mortalité chez ces derniers. Par ailleurs, notre pays s'est inscrit comme devancier dans l'administration du vaccin R21 chez les enfants de moins de 5 ans.

Malgré les efforts internationaux (OMS), le paludisme demeure un problème de santé publique dont les effets sont particulièrement visible avec un impact socioéconomique très préoccupant du fait de ses souches qui ne cessent de développer des résistances aux divers traitements (Cisse, 2022); les vaccins étant d'efficacité limitée (30% pour RTS,S et 66% pour R21), ils nécessitent

des prises multiples ce qui entraîne des problèmes de toxicité; de même, en Afrique, il demeure le problème d'accessibilité aux médicaments thérapeutiques fourni par l'organisation en raison de leur coût parfois très élevés poussant ainsi certaines familles à opter pour la plupart du temps à des médicaments à bas prix ne soignant parfois pas la maladie (sachant que la plupart des cas de paludisme à *P. falciparum* sont soignés par combinaison thérapeutiques de divers médicaments), et parfois même à des recettes tradithérapeutiques. Cependant, en dépit du fait que ces recettes ont montré leur efficacité dans le traitement de certaines maladies, l'on note des problèmes de toxicité et de non maîtrise de la posologie (**Marins et al., 2007**).

À cet effet, il est impérieux de répondre à ces défis cliniques en recherchant de nouveaux candidats médicamenteux afin de contrecarrer le développement rapide du phénomène de résistance aux agents antipaludéens et de palier aux problèmes de toxicité des méthodes tradithérapeutiques tout en respectant les différentes classes sociales. Ainsi, dans l'optique d'apporter notre contribution à la résolution de ces problèmes, le Laboratoire de Pharmaco-Chimie des Substances Naturelles (LPSN) de l'Université de Yaoundé I a entrepris dans le cadre de nos travaux d'initiation à la recherche et pour le compte du mémoire de Master II, l'isolement et la caractérisation des constituants chimiques des écorces de *Funtumia africana*, une plante médicinale appartenant à la famille des Apocynaceae.

Ce choix est motivé par le fait que cette plante est utilisée en pharmacopée traditionnelle pour traiter diverses affections telles que l'inflammation, le cancer, la fièvre, la dysenterie, la diarrhée, les infections bactériennes, les fuites urinaires et le paludisme (**Odugbemi et al., 2006**). L'objectif général de notre travail vise en la recherche des constituants chimiques de *Funtumia africana*. Les objectifs spécifiques associés étant d'extraire, fractionner, isoler, caractériser les métabolites secondaires issus de cette plante puis évaluer leur activité antiplasmodiale.

Notre travail s'articule autour de trois chapitres : le premier chapitre consacré à la revue de littérature non exhaustive sur la famille des Apocynaceae, le genre *Funtumia* et précisément l'espèce *Funtumia africana*; le deuxième chapitre présentera et discutera des résultats des travaux personnels obtenus au Laboratoire et le troisième chapitre ayant trait à la partie expérimentale présentera le matériel et les méthodes employées suivi de la bibliographie consultée pour réaliser ce travail.

CHAPITRE I : REVUE DE LA LITTERATURE

I.1 Généralités sur la famille des Apocynaceae

I-1-1) Étude Botanique

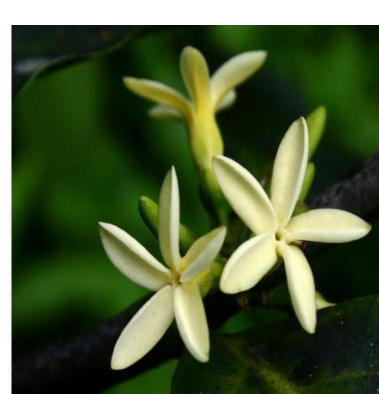
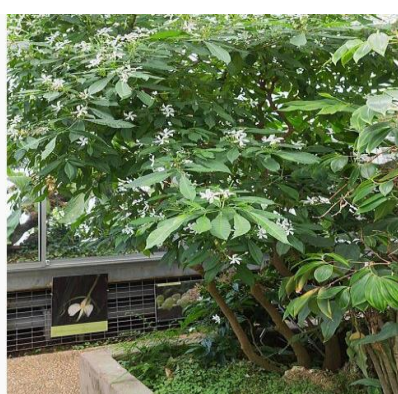
Les Apocynaceae furent décrites pour la première fois en 1789 par Antoine Laurent de Jussieu. Elles sont une famille de plantes Eudicotylédones (dicotylédones vraies) rattachée à l'ordre des Gentianales; elles sont pour la plupart des lianes ou des plantes herbacées, des arbres ou arbustes à latex blanc, à feuilles persistantes des régions tempérées et tropicales (**Endress et Bruyns, 2000**). Les plantes de cette famille ont généralement des tiges épaisses, charnues, les feuilles bisexuées alternées ou opposées, des fleurs généralement blanches ou rosâtres à cœur jaune avec de la corolle cylindrique pouvant être de toute couleur, des étamines insérées sur la corolle, des filets souvent très courts (**Leeuwenberg, 2005**).



(A) Fleurs d'*Adenium obesum*

(B) Fleurs de *Symphytum officinal*

(C) Fleurs de *Vanilla planifolia*



(D) Fleurs de *Rauvolfia liberiensis*

(E) Plante à fleurs de
Tabernamontana corymbosa

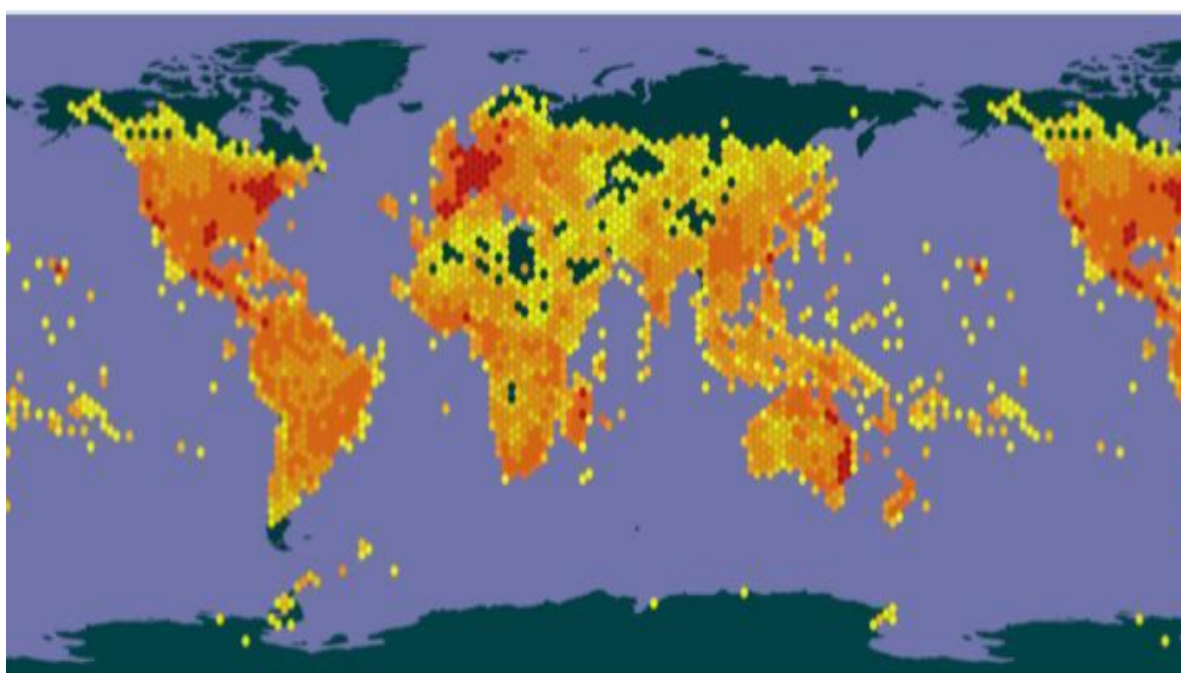
(D) Fleurs de *Funtumia africana*

Figure 1: Diversités florales des plantes de la famille des Apocynaceae (Bitencourt et al., 2021)

Cette famille de plantes comprend environ 4600 espèces réparties en 424 genres reconnus et placés au sein de 5 sous familles : Les rauvolfideae ; Apocynoideae ; Périplocoideae ; Secamonoideae ; Asclépiadoideae (Endress et al., 2014).

I.1.2) Répartition géographique des Apocynaceae dans le monde

Les plantes de la famille des Apocynaceae sont très répandues dans le monde; on les retrouve plus précisément en Asie, en Europe, en Amérique (tropical et subtropical) et en Afrique comme illustré sur la figure ci-dessous :



 Zone à faible densité des Apocynaceae  Zone à forte densité des Apocynaceae

Figure 2: Répartition géographique des Apocynaceae dans le monde
(source:gbif.org/02-01-2023)

I.2) Généralité sur les plantes du genre *Funtumia*

I.2.1) Description botanique des plantes du genre *Funtumia*

Le genre *Funtumia* appartient à la famille des Apocynaceae, à l'ordre des Gentianales et au règne Plantae. Ce sont pour la plupart des arbres ou arbustes persistants et vivaces atteignant environ 25 m de haut et ayant 0,5 m de diamètre généralement caractérisés par des feuilles simples et opposées

avec une abondance de latex dans l'écorce, les rameaux et des feuilles. Ses feuilles sont ondulées sur les bords et présentent des nervures latérales sur les faces inférieures. Elles sont de couleur vert sombre mâât au-dessus et vert clair en dessous. *Funtumia* possède des fleurs blanches odorantes, son ovaire à deux carpelles presque séparés qui se transforment dans le fruit en deux follicules allongées, opposées, soudées par la base et portées par un court pédoncule (**Aubreville, 1959**). Les graines de ce genre mesurent environ 2 cm de long (**Tailfer et Yagua, 1989**).

I.2.2) Répartition géographique des plantes du genre *Funtumia* en Afrique

Les plantes du genre *Funtumia* sont largement représentées en Afrique Centrale et en Afrique de l'ouest (**Burtault, 1992**). Trois espèces du genre *Funtumia* à savoir *Funtumia latifolia*, *Funtumia élastica* et *Funtumia africana* ont été identifiées et localisées au Cameroun principalement dans les régions du Sud (Niété), Littoral (Edea), de l'Est (Lomié) etc. (**Source HNC/Yaoundé**).

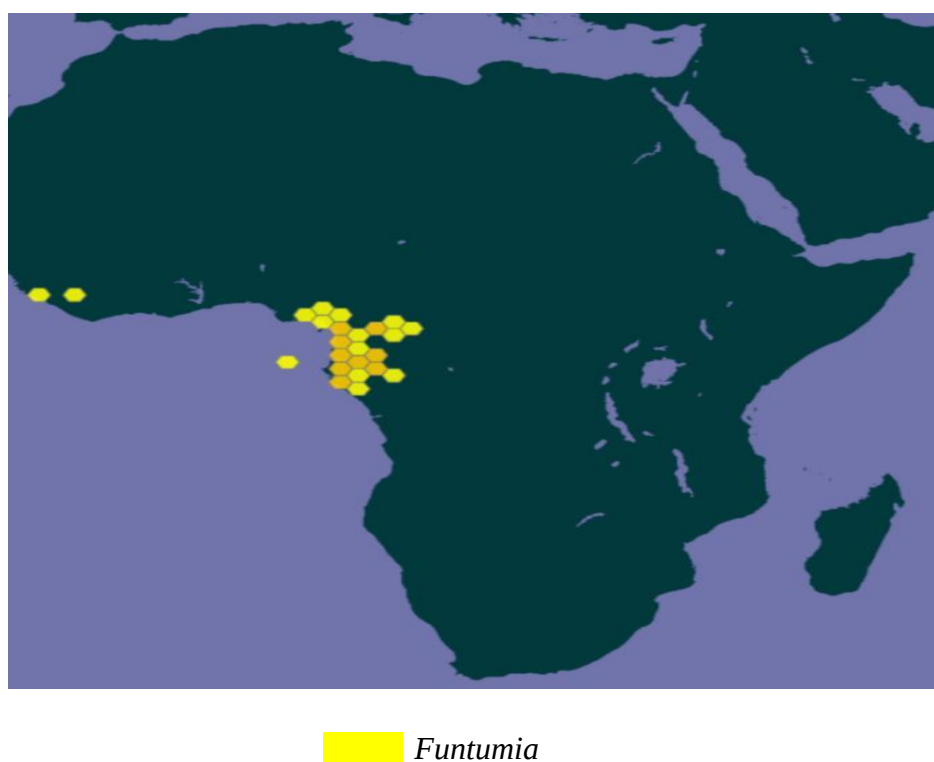


Figure 3: Répartition géographique du genre *Funtumia* en Afrique (gbif.org/02/01/2023)

I.2.3) Usages ethno-pharmacologiques des plantes du genre *Funtumia*

Les plantes du genre *funtumia* sont utilisées en pharmacopée traditionnelle pour résoudre plusieurs maux : En Afrique, le latex de tige de *F. élastica* est utilisé pour laver les plaies, ses feuilles

pour traiter les hémorroïdes et les maladies vénériennes telles que la syphilis et la gonorrhée et sa poudre d'écorce est efficace dans le traitement des affections respiratoires y compris l'asthme (**Zihiri et al., 2005**) En Côte d'Ivoire, les jeunes feuilles *F.elastica* sont utilisées avec du Kaolin pour lutter contre les maux de ventre; de même, ces feuilles mélangées à celles de *Phyllanthus mueullerianus* (Euphorbiaceae) sont utilisées pour améliorer la fertilité masculine (**Adjanohoun et Ake, 1979**). Au Congo, la décoction de ses feuilles est employée pour soigner la coqueluche et l'Asthme (**Burkill, 1985**).

L'écorce de *F. elastica* est couramment utilisée en médecine traditionnelle pour ses propriétés laxatives. Une fois broyée, pilée et ajoutée à d'autres plantes, elle soulage les règles douloureuses et la blennorragie. Au Ghana et au Nigeria, ses écorces pilées sont données en offrande aux esprits pour soigner les hémorroïdes (**Burkill, 1985**).

La décoction des racines de *F. latifolia* est utilisée pour traiter l'angine ; de même, la décoction de ses feuilles est employée dans la lutte contre les douleurs musculaires (**Adjanohoun et Ake, 1979**). Les plantes du genre *Funtumia* sont aussi des hypotenseurs ; des vasodilatateurs, des dépresseurs de systèmes nerveux, cardiaque et respiratoire (**Bouquet et Debray, 1974**).

I.3) Généralité sur l'espèce *Funtumia africana*

I.3.1) Description botanique de l'espèce *Funtumia africana*

Funtumia africana communément connu sous le nom de « Bush Rubber » est l'une des espèces appartenant au genre *Funtumia* et à la famille des Apocynaceae. C'est un arbre tropical qui pousse généralement jusqu'à environ 25 m de hauteur (**Kegy, 1989**). Ses feuilles sont allongées, elliptiques, ovales et ont de courtes tiges ; ses fleurs et fruits sont longs et son latex ne coagule pas (**Burkill, 1985**). Les écorces de cette espèce sont de couleur brun foncé, minces et fissurées, puis deviennent granuleuses au fur et à mesure que l'arbre mûrit. Ses fleurs sont blanches, jaunâtres, parfumées avec un tube de corolle et des lobes de 6 à 10 mm de largeur et 5 à 7 mm de longueur. Une fois ses fruits mûrs, ils sont bruns, grisâtres avec des graines poilues amêlées par le vent (**Orwa et al., 2009**).

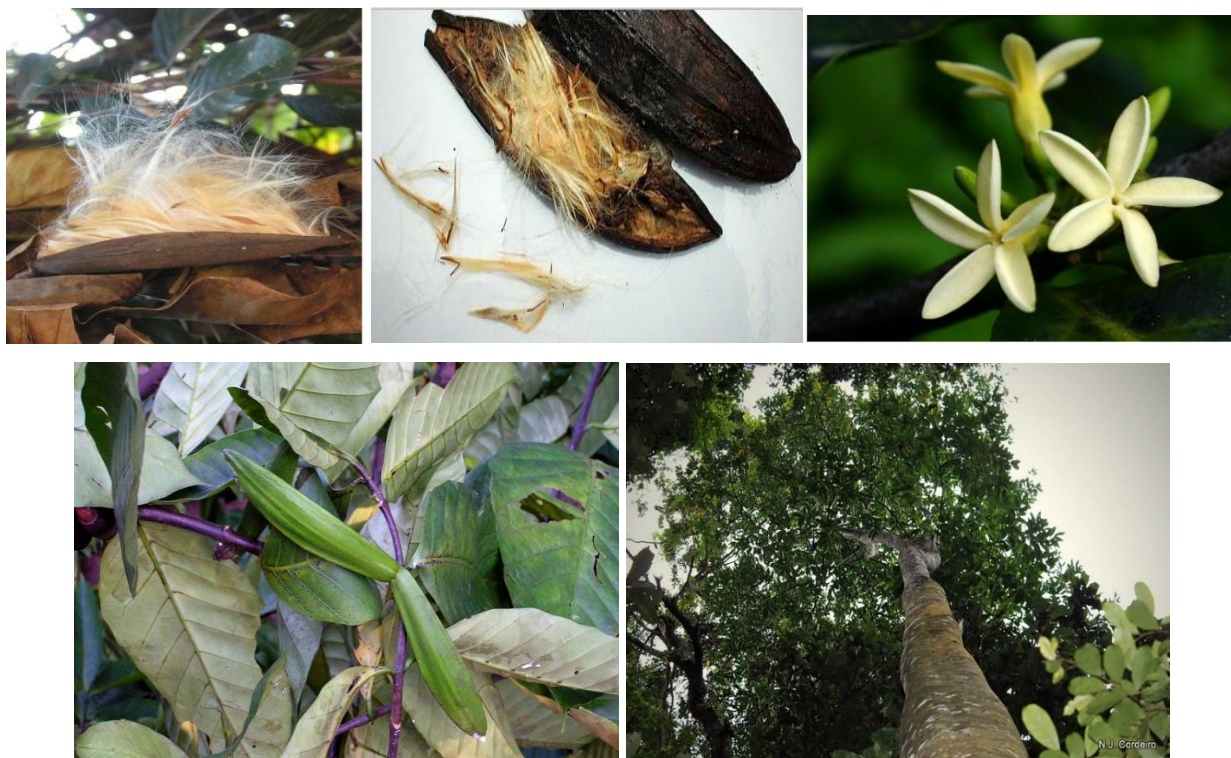


Figure 4: Aspect botanique du tronc, feuilles, fruits et fleurs du *Funtumia africana* (Orwa et al., 2009)

I.3.2) Classification systématique de l'espèce *Funtumia africana*

Le tableau ci-dessous donne une classification botanique de *Funtumia africana* sous la forme d'un arbre phylogénétique.

Tableau 1: Classification de *Funtumia africana* (APG III, 2009)

Règne	Végétal
Sous-règne	Tracheobionta
Division	Magnoliophyta
Classe	Magnoliopsida
Ordre	Gentianales
Famille	Apocynaceae
Genre	<i>Funtumia</i>
Espèce	<i>Funtumia africana</i>

I.3.3) Distribution géographique de l'espèce *Funtumia africana* en Afrique

L'espèce *Funtumia africana* est très répandue en Afrique tropical du Sénégal à la Tanzanie et du Sud au Zimbabwe et au Mozambique; elle est également présente au Sénégal, en Guinée-Bissau, en Sierra Leone, au Liberia, en Côte d'Ivoire, au Ghana, au Nigeria, au Gabon, en République démocratique du Congo, en République centrafricaine, en Guinée Equatoriale, en Ouganda, en Angola et au Cameroun comme indiqué sur la figure ci-dessous (**Bouquet et Debray, 1974**).

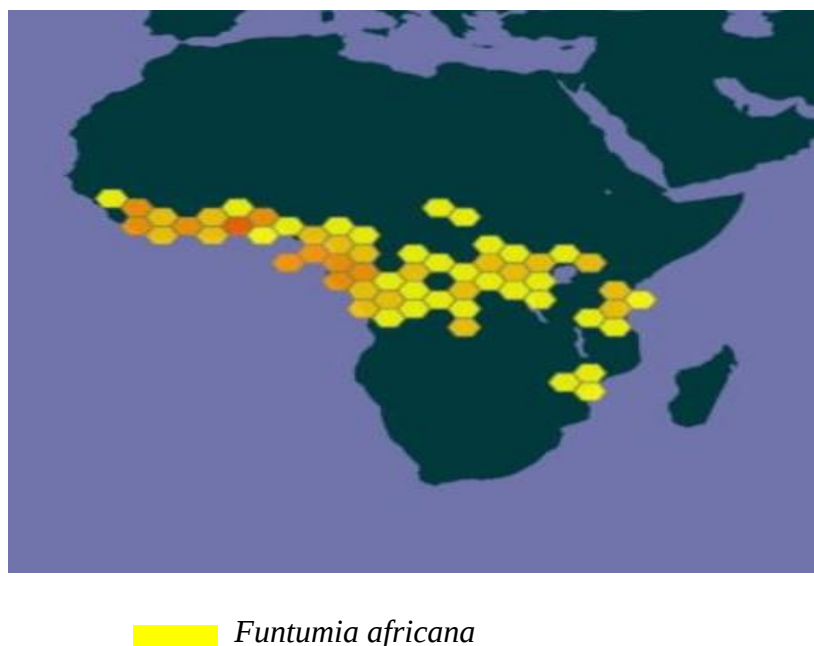


Figure 5: Distribution géographique de l'espèce *Funtumia africana* en Afrique
(Source : [gbif.org/02-01-2023](https://gbif.org/))

I.3.4) Répartition de *Funtumia africana* au Cameroun

L'espèce *Funtumia africana* est présente dans la plupart des villes camerounaises, on la retrouve principalement dans les régions du Sud-Ouest et du Sud.

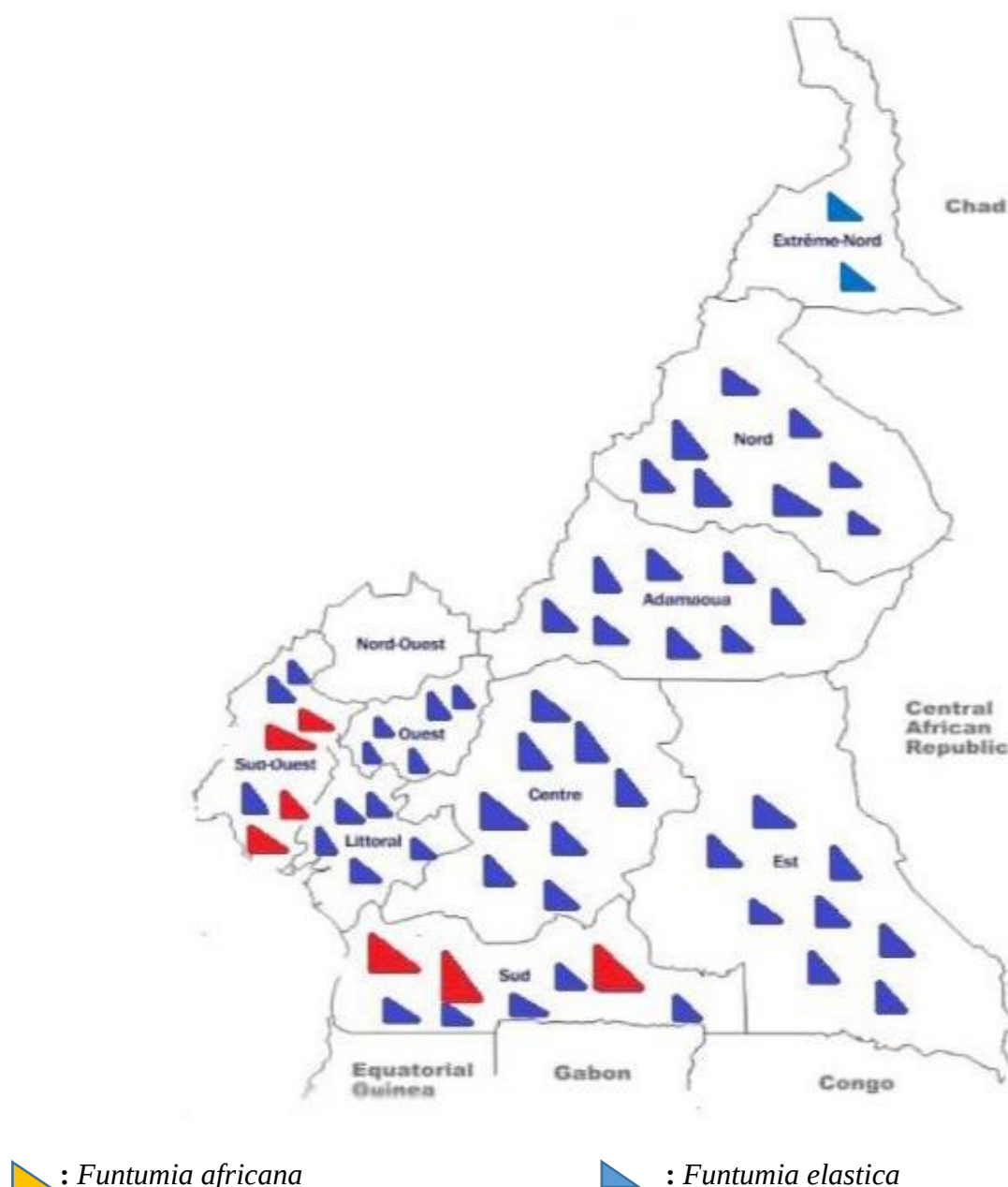


Figure 6: Aire de répartition de *Funtumia africana* au Cameroun (source: HNC)

I.4) Quelques usages de l'espèce *Funtumia africana*

I-4-1) Usage ethno-pharmacologique de l'espèce *Funtumia africana*

En Afrique, l'espèce *Funtumia africana* est une espèce de plantes commune en médecine traditionnelle grâce à ses nombreuses parties utilisées pour traiter diverses maladies comme

l'inflammation, le paludisme, le cancer, la fièvre, la dysenterie, la diarrhée et les infections bactériennes (**Odugbemi et al., 2006**). En Afrique de l'Ouest, ses racines mélangées à l'huile de palme et de l'eau sont utilisées traditionnellement pour traiter les fuites urinaire (**Wagner et al., 1987**). Au Nigéria, ses feuilles sont utilisées pour la gestion et le traitement du diabète; de même, ces feuilles ont des activités hépato-protectrice lorsqu'elles sont utilisées pour le traitement des maladies hépatiques (**Uroko et al., 2019**). Au Liberia, les feuilles de *F.africana* séchées et réduites en poudre servent à traiter les brûlures (**Burkill, 1985**); l'eau de macération de ses feuilles pilées calme la toux. (**Adjanohoun et Ake, 1979**); Au Benin et au Nigeria, les décoctions de ses racines luttent contre la dysenterie au Tanganyika (**Burkill, 1985**).

I-4-2) Usage économique

Le latex est utilisé comme matière première dans la fabrication du caoutchouc ; son bois peut être utilisé pour fabriquer des meubles bon marché (**Palgrave, 2002**). Les branches et le tronc peuvent être utilisés comme bois de chauffage ; les feuilles litières améliorent la fertilité du sol dans l'environnement ce qui favorise l'agriculture (**Orwa et al., 2009**).

I.5) Travaux chimiques et pharmacologiques antérieurs sur les plantes du genre *Funtumia*

I.5-1) Travaux pharmacologiques antérieurs sur l'espèce *Funtumia africana*

Des études approfondies sur l'espèce *Funtumia africana* ont permis de montrer que les plantes de cette espèce possèdent de nombreuses propriétés thérapeutiques telles que des propriétés antifongiques, antimicrobiennes, anticancéreuses, antiinflammatoires, antiplasmodiale et bien d'autres (**Odugbemi et al., 2006**); de même, de nombreuses études phytochimiques antérieures montrent que la présence des alcaloïdes signalés dans ce genre possède des activités biologiques intéressantes.

La funtulatine (**32**) isolé de *Funtumia elastica* a presente une bonne activite contre la souche leishmania avec une valeur de l'IC₅₀ de 9,7 µg/mL (**Kom et al., 2023**).

En outre, les travaux effectués sur l'extrait éthanolique des écorces de tiges de *F. elastica* par Zihiri et collaborateurs en 2005 ont montré une forte activité inhibitrice sur la souche FcB1 résistante à la chloroquine de la croissance de *P. falciparum* (valeur IC₅₀ de 3,3 µg/mL) sans effet significatif sur les lignées cellulaires MRC-5 humaines (valeur IC₅₀ > 50 µg/mL) (**Zihiri et al., 2005**); de même extraits éthanoliques des feuilles de *funtumia africana* obtenus par décoction ont montré une forte activité contre les souches FcB1 résistante a la chloroquine de *Plasmodium falciparum* avec une

valeur de IC₅₀ allant de 15 à 50 µg/mL; ils ont également montré une bonne activité antiplasmodiale et une faible cytotoxicité (**Ankrah, 2003**)

1-5-2) Travaux chimiques antérieurs sur le genre *Funtumia*

L'intérêt porté sur les plantes du genre *Funtumia* date de plusieurs années. En effet, les investigations effectuées sur les espèces de ce genre ont révélé la présence d'une très grande variété de métabolites secondaires allant des alcaloïdes stéroïdiques aux alcaloïdes indoliques passant par les triterpènes et les stéroïdes.

I.6) Composés isolés de l'espèce *Funtumia africana*

I.6-1) Les alcaloïdes

I-6-1-1) Généralités sur les alcaloïdes

Les alcaloïdes sont une classe de composé organique naturelle contenant un ou plusieurs atomes d'azotes souvent contenu dans un cycle hétérocyclique comme unité structurale. Ils forment généralement des cycles complexes. Le terme alcaloïde, proposé pour la première fois par le chimiste pharmacien Meissner en 1819, signifie « similaire à l'alcali ». Il a été inventé par celui-ci en raison du caractère alcalin plus ou moins prononcé des membres de cette famille de composé (**Hesse, 2002**).

Le mot alcali désigne la capacité d'une molécule à absorber les ions hydrogène (protons) d'un acide. Les alcaloïdes se trouvent sous forme de molécules individuelles et sont donc petits.

Indépendamment de leur rôle dans les plantes, de nombreux alcaloïdes sont utilisés en médecine par l'homme (**Cordell et G, 2003**).

I.6.1-2) Structures des alcaloïdes

Les structures chimiques des alcaloïdes sont extrêmement variables. En général, un alcaloïde contient au moins un atome d'azote dans une structure de type atomique c'est-à-dire un dérivé d'ammoniac remplaçant les atomes d'hydrogène par des groupes hydrogène-carbone appelés hydrocarbures. Cet atome d'azote ou un autre peut être actif comme base dans les réactions acide-base. Le nom alcaloïde a été initialement appliqué à ces substances car, comme les alcalis inorganiques, elles réagissent avec les acides pour former des sels.

La plupart des alcaloïdes ont un ou plusieurs de leurs atomes d'azote dans un cycle d'atome, souvent appelé système cyclique. Les noms des alcaloïdes se terminent généralement par le suffixe « ine », une référence à leur classification chimique en tant qu'amines (**Don Luca et St pierro, 2000**).

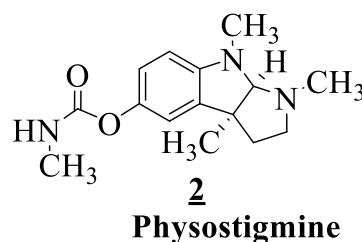
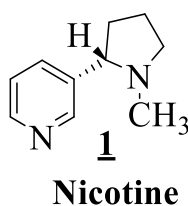
I.6.1-3) Classification des alcaloïdes

On estime qu'il y a plus de 10 000 alcaloïdes différents déjà isolés (ou détectés) à partir de sources végétales, animales ou de micro-organismes. Proposer une classification pour les alcaloïdes est une tâche difficile, en raison du grand nombre de composés connus et surtout pour leurs diversités structurale (**Kutchan.,1995**). Une façon raisonnable est alors de les classer en groupes, soit Selon leurs origine biosynthétique ou selon leur précurseur biosynthétique (**Bhat et al., 2005 ; Mann et al., 1994**).

Selon leur origine biosynthétique, les alcaloïdes sont classés en trois groupes principaux a savoir: les alcaloïdes vrais, les Protoalcaloïdes et les Pseudoalcaloïdes.

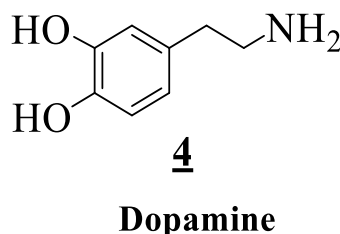
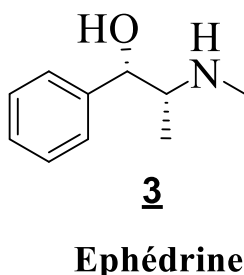
➤ Les alcaloïdes vrais

Ce sont ceux qui sont dérivés d'acides aminés et qui ont l'atome d'azote comme partie de l'hétérocycle, a titre d'exemple nous pouvons citer: hygrine, nicotine (**1**) et physostigmine (**2**).



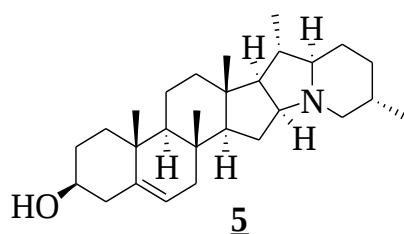
➤ Protoalcaloïdes

Ils dérivent également des acides aminés, mais ayant un atome d'azote ne faisant pas partie de l'anneau hétérocyclique, comme exemple nous avons éphédrine (**3**) et dopamine (**4**).

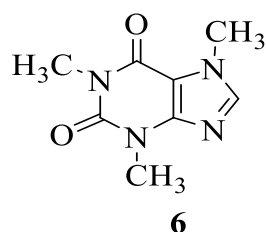


➤ Pseudoalcaloïdes

Ce sont les alcaloïdes qui ne dérivent pas des acides aminés et ayant un atome d'azote ne faisant pas partie de la structure hétérocyclique, comme exemple nous avons l'arconitine (alcaloïde terpénique), la solanidine (**5**) alcaloïde stéroïdique) et la caféine (**6**).



Solanidine

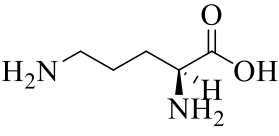
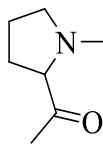
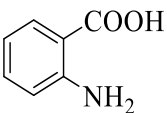
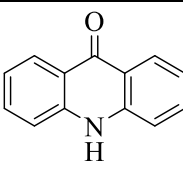
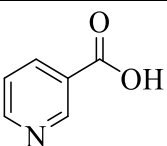
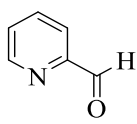


Caféine

Le tableau 1 ci-dessous présente quelques types d'alcaloïdes et leurs précurseurs d'acides aminés (Hesse, 2002).

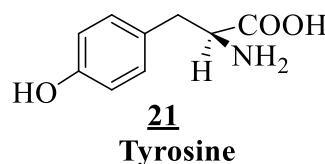
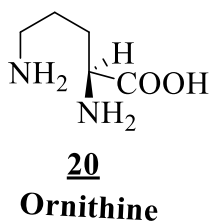
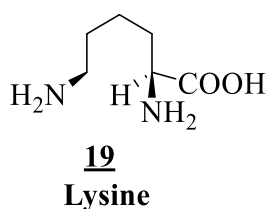
Tableau 2: Quelques types d'alcaloïdes et leurs précurseurs d'acides aminés (Hesse, 2002).

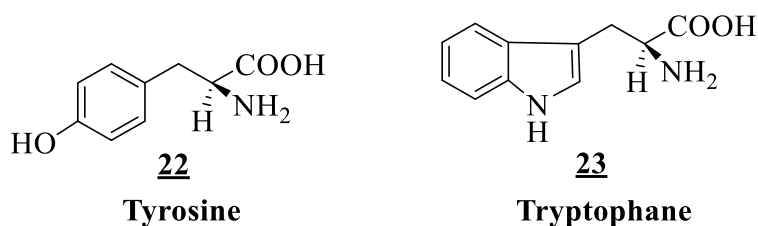
Acides aminés	Types d'alcaloïdes	Exemple
7 Tryptophane	Indoles	8 2-phenyl-1H-indole
9 Lysine	Pipéridines, quinolizidines, indolizidines	10 Nicotine
11 R = H: Phenylalanine R = OH: Tyrosine	Alcaloïdes du types éphédrine, isoquinoléines	12 Codéine

 13 Ornithine	Pyrrolidines; pyrrolisidines, tropannes	 14 Hygrine
 15 Acide anthranilique	Quinoléines, quinazolines, acridones	 16 Acridone
 17 Acide nicotinique	Pyridines	 18 2-pyridne carboxaldéhyde

I.6.1-4) Biosynthèse des alcaloïdes

La biosynthèse des alcaloïdes chez les plantes implique de nombreuses étapes métaboliques catalysées par des enzymes appartenant à une large gamme de familles de protéines. Pour cette raison, les voies de biosynthèse des alcaloïdes sont considérablement complexes (**Facchini, 2001**) du fait de leurs structures chimiques extrêmement variées, ils dérivent des métabolismes secondaires d'un petit nombre de précurseurs à savoir les acides aminés (**Bruneton, 1993**). Ils sont donc constitués d'acides aminés dont deux sont aliphatiques (lysine et ornithine) et trois sont aromatiques (phényl alanine, tyrosine et tryptophane).





De façon générale, La biosynthèse des alcaloïdes se fait à partir de deux réactions élémentaires. Le schéma 1 ci-dessous nous présente ces deux réactions.

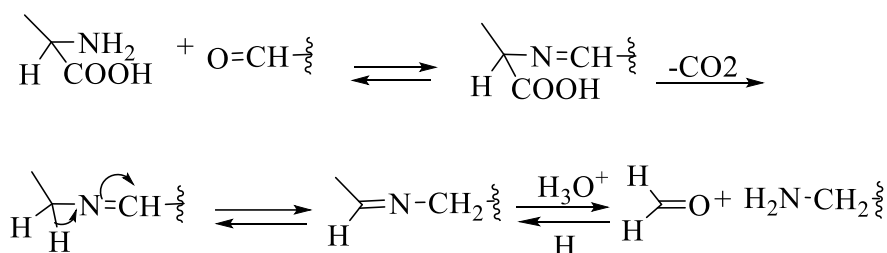


Schéma 1: Réaction élémentaire de biosynthèse des alcaloïdes (Gravel et Poupon, 2010).

Les alcaloïdes peuvent se trouver dans toutes les parties de la plante, mais selon l'espèce, ils s'accumulent uniquement dans les écorces, les racines; dans les feuilles ou les fruits (**Mauro, 2006**); c'est le cas des plantes de la familles des Apocynaceae qui regorge une grande diversité d'alcaloïdes parmi lesquelles nous avons les alcaloïdes stéroïdiques qui sont ceux les plus abondants.

I.6-2 Etude des alcaloïdes stéroïdiques

I.6-2.1) Généralités sur les alcaloides stéroïdiques

Les alcaloïdes stéroïdiques constituent une classe de composés qui possèdent un squelette stéroïdien de base et qui contient au moins un atome d'azote où l'atome d'azote peut être attaché à la chaîne latérale ou au système polycyclique. En outre, cet atome d'azote peut faire partie d'un anneau supplémentaire tel qu'un anneau de lactane, un anneau de lactone, un anneau de pyrrolidine ou un anneau de pyrroline (**Hidayatul et al., 2022**). Les alcaloïdes stéroïdiques se trouvent dans plusieurs familles de plantes, notamment les Solanaceae, les Buxaceae, les Liliaceae et les Apocynaceae.

De nombreux alcaloïdes stéroïdiques sont devenus des cibles de recherches pharmacologiques en raison de leur similitudes structurales avec les stéroïdes anaboliques, les hormones stéroïdiennes et les corticostéroïdes. Plusieurs genre de la familles des Apocynaceae possèdent des alcaloïdes

stéroïdiques ayant révélés des propriétés Antitrypanosomale, anticancérales, antibacteriennes, antidiarrheiques, antileishmaniale et antipaludéenne (**Hidayatul et al., 2022**).

I.6-2.2) Biosynthèse des alcaloïdes stéroïdiques

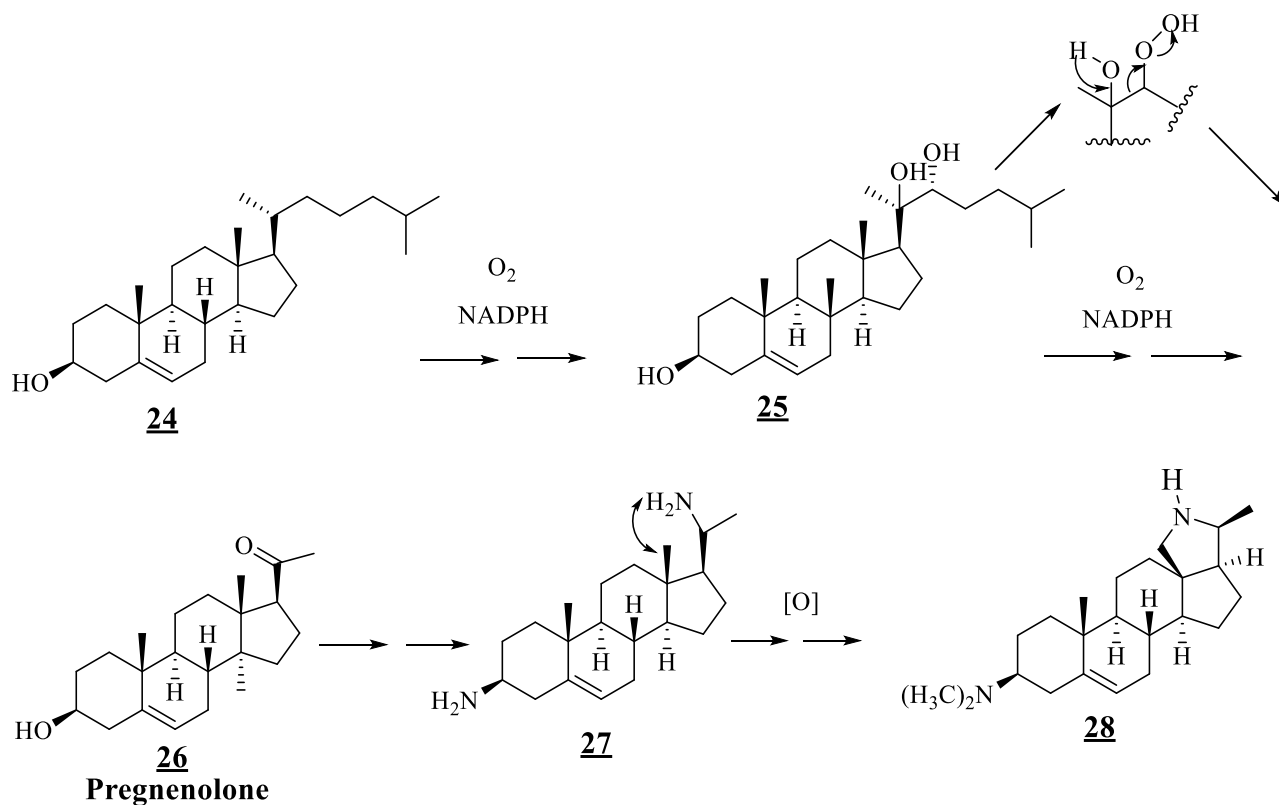


Schéma 2: Exemple de biosynthèse des alcaloïdes stéroïdiques

Tableau 3: Quelques alcaloïdes isolés des Apocynaceae

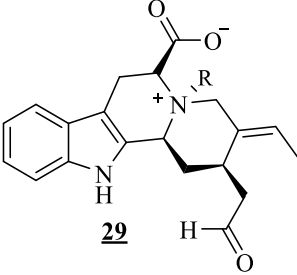
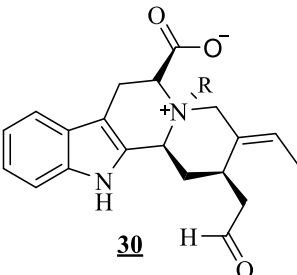
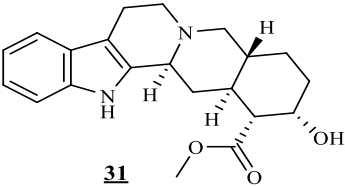
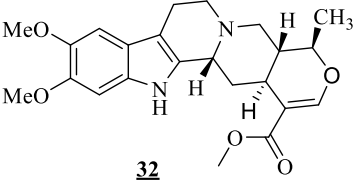
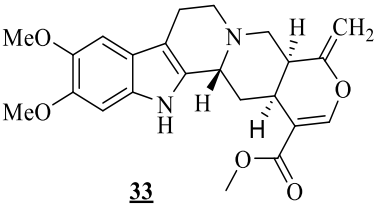
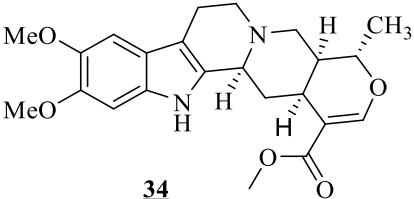
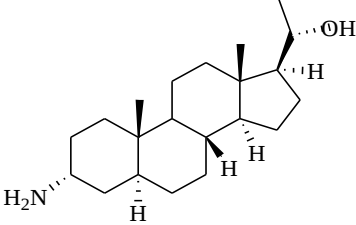
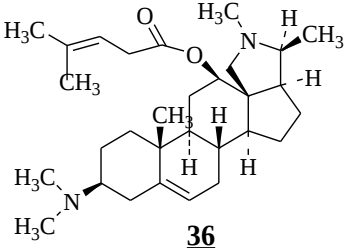
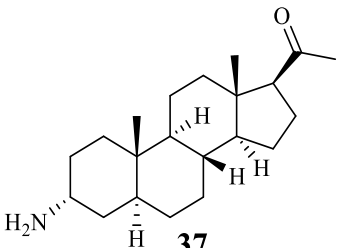
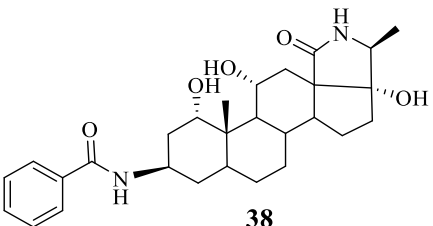
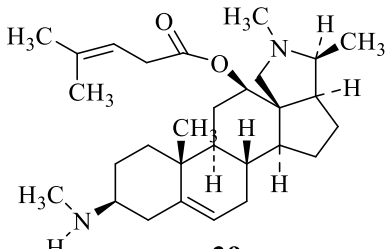
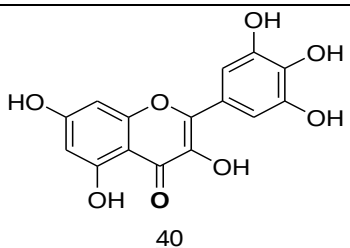
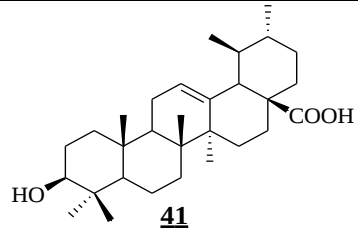
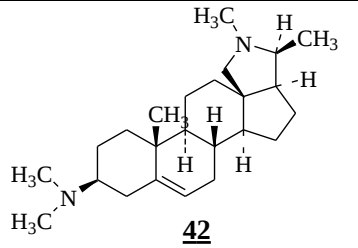
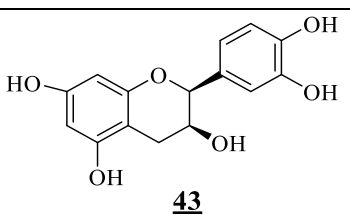
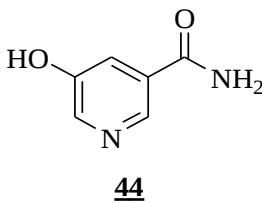
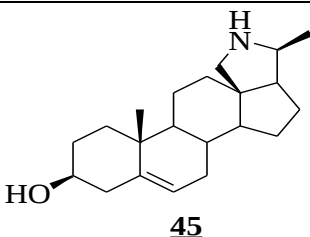
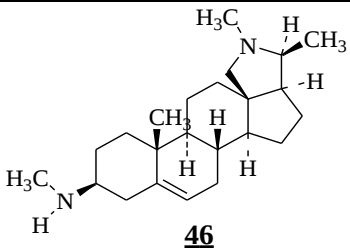
Structures	Nom	source	Activités biologiques	Références
 29 R= α-Me	Penduflorine A	<i>T. penduliflora</i>	Antiplasmodiale	Bitombo et al., 2021
 30 R= β-Me	Penduflorine B	<i>T. penduliflora</i>	Antiplasmodiale	Bitombo et al., 2021
 31	Yohimbine	Feuilles et tiges de <i>R. verticillata</i>	Antiplasmodiale	Bing-Jie et al., 2013
 32	3-épi-rauvanine	Écorces de <i>R. vomitoria</i>	Antimicrobienne	Iwu et al., 1982
 33	Darcyribeirine	Racines de <i>R. grandiflora</i>	Antimicrobienne	Cancelieri et al., 2002
 34	Isoreserpiline	Feuilles et branches de <i>R. tetraphylla</i>	Antidiabétique	Maurya et al., 2013

Tableau 4: Quelques Composés isolés des plantes du genre *Funtumia*

Structures	Nom	Source	Activité biologique	Références
 35	Funtumidine	Feuilles de <i>Funtumia latifolia</i>	Anti-cancéreux	Goutarel et Khuong-Huu, 1958 Kom et al., 2021
 36	Holarrhetine	Tige de <i>Funtumia elastica</i>	Antiplasmodiale	Zihiri et al., 2005
 37	Funtumine	Feuilles de <i>Funtumia latifolia</i>	Antiprolifératif	Goutarel et Khuong-Huu, 1958 Kom et al., 2021
 38	Elasticine	Feuilles de <i>Funtumia elastica</i>	Anti plasmodiale	Kom et al., 2021
 39	Holarrhesine	Tige de <i>Funtumia elastica</i>	Antiplasmodiale	Zihiri et al., 2005

 40	Myricetine	Ecorce du tronc de <i>Funtumia elastica</i>	Anti leishmanienne	Kom et al., 2023
 41	Methyl ursolate	Feuilles de <i>F. africana</i> et Ecorce du tronc de <i>F. elastica</i>	Antimicrobienne et Anti leishmanienne	Ramadwa, 2010; Kom et al., 2023
 42	Conessine	Tige de <i>Funtumia elastica</i>	Antiplasmodiale	Zihiri et al., 2005
 43	Epicatechine	Ecorce du tronc de <i>Funtumia elastica</i>	Anti leishmanienne	Kom et al., 2023
 44	5-hydroxypyridine-3-carboxamide	Ecorce du tronc de <i>Funtumia elastica</i>	Anti leishmanienne	Kom et al., 2023
 45	Funtulatine	Ecorce du tronc de <i>Funtumia elastica</i>	Anti leishmanienne	Oletta, 1963; Kom et al., 2023
 46	Isoconessimine	Tige de <i>Funtumia elastica</i>	Antiplasmodiale	Zihiri et al., 2005

I.6.3) Etude des triterpènes

I.6.3.1) Generalités sur les triterpènes

Les triterpènes constituent un large groupe de terpénoïdes biologiquement intéressant. Ils comprennent une grande diversité structurale de métabolites secondaires avec plus de 100 squelettes carbonés identifiés à partir d'organismes vivants terrestres et marins (**Mahato et al., 1992**). Cette classe de composés naturels se compose de plus de 30 000 composés isolés et identifiés (**Dzubak et al., 2006**). Ce sont des isoprénoïdes formés d'enchaînement de six unités isopréniques $[(C_5H_7)_6]$. Ces composés sont issus de la cyclisation du 3S-2,3-époxyssqualène, ou plus rarement du squalène lui-même. Ils sont presque toujours hydroxylés en position C-3 du fait de l'ouverture de cet époxyde (**Harkati, 2011**). Selon les espèces végétales, les métabolites secondaires appartenant à cette famille sont principalement stockés dans les mitochondries, les microsomes ou les chloroplastes des cellules (**Nes et Heftmann, 1981**). Ses composants jouent un rôle crucial dans la protection de la plante contre les insectes, les champignons et les bactéries (**Heftmann et al., 1975**).

I.6.3.2) Cas des triterpènes pentacycliques

-Description

Les triterpènes pentacycliques sont constitués de 30 atomes de carbones dont six motifs isopréniques répartis sur cinq cycles **A, B, C, D et E** respectivement. Cet agencement du cycle peut être constitué de cinq cycles à six chaînons, soit en quatre cycles à six chaînons et d'un cycle à cinq carbones ou de trois cycles à six chaînons et de deux de cinq comme indiqué sur la figure ci-dessous.



Figure 7: Quelques squelettes de base des triterpènes pentacycliques

-Nomenclature

La nomenclature est fondée sur les noms des squelettes de base de quelques triterpènes dans la figure 8 ci-dessous. Les autres squelettes triterpéniques sont des dérivés de ces composés fondamentaux par modifications (**Jacob, 2003**).

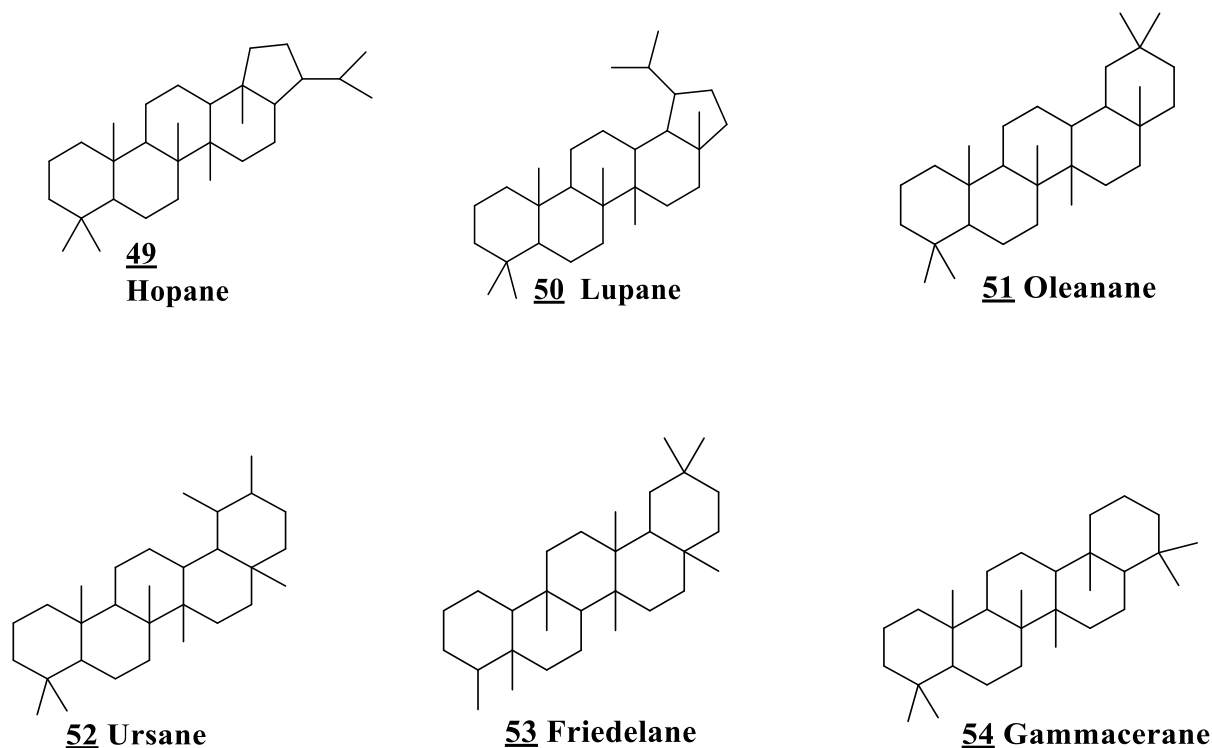


Figure 8: Quelques structures de base des triterpènes pentacycliques

La nomenclature des triterpènes pentacycliques commence par le cycle **A** et remonte vers le cycle **E**. Dans le cas des composés comportant un cycle E à cinq carbones supportant une chaîne alkyle, la numérotation continue sur le premier carbone de ce radical alkyl puis dans le reste du cycle cinq. La numérotation des groupements méthyles angulaires se fait ensuite depuis le cycle **A** vers le cycle **E**, puis se poursuit sur le reste de la chaîne alkyle comme indiqué sur la figure ci-dessous:

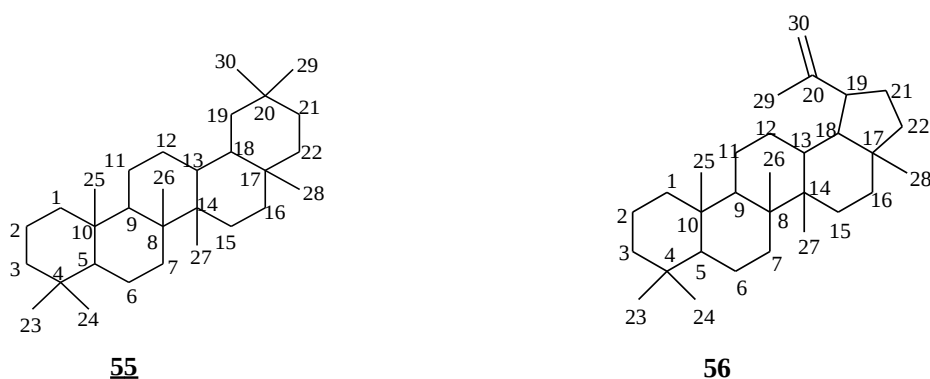


Figure 9: Numérotation des carbones et dénomination des cycles de triterpènes pentacycliques

I-6-3-3) Biosynthèse des triterpènes

Les précurseurs de tous les terpenoïdes sont le pyrophosphate d'Isopentényle (IPP) **62** et le pyrophosphate de Diméthylallyl (DMAPP) **63**. Il existe deux voies de biosynthèse de l'unité isoprène: la voie de l'acide mévalonique (MVA) et la voie du 1-deoxy-D-xylose-5-phosphate (DXP). Les deux voies partent du glucose et utilisent l'acide pyruvique comme intermédiaire. Chez les plantes supérieures, la biosynthèse des terpenoïdes a lieu exclusivement dans le cytoplasme et les plastides en suivant différentes voies. Dans le cytoplasme, la biosynthèse se fait selon la voie MVA tandis que dans les plastides c'est la voie du DXP qui est suivie (**Chappell, 1995**).

I-6-3-4) Biosynthèse de l'unité isoprénique par voie mévalonique

Lors de la biosynthèse des triterpènes, deux molécules d'acétyl CoA **57** subissent une condensation de Claisen pour donner l'acétoacétyl CoA **58**. Une addition aldolique d'une molécule d'acétyl CoA à l'acétoacétyl CoA **58** conduit au β -hydroxy- β -methylglutaryl CoA **59**, qui sera par la suite réduit en acide mévalonique **60**. L'acide mévalonique **60** est ensuite phosphorylé par l'Adénosine-Triphosphate (ATP) qui lui cède en deux étapes, deux groupements phosphates formant un pyrophosphate **61**. Ainsi activé, le mévalonate est converti par élimination du phosphate et du dioxyde de carbone en isopentényle pyrophosphate (IPP) **62** qui à son tour est converti en diméthylallylpyrophosphate (DMAPP) **63** par isomérisation de l'IPP (**Bruneton, 1993**). La séquence ainsi décrite est illustrée par le schéma ci-dessous.



Après l'isomérisation de l'IPP **62** en DMAPP **63**, les deux isomères (IPP et DMAPP) vont subir une condensation tête-queue pour former le géranyl-pyrophosphate (GPP) **64**, précurseur des monoterpènes. La condensation tête-queue de ce composé à l'IPP, conduit à la formation du farnésylpyrophosphate (FPP) **65**, précurseur des sesquiterpènes. La formation du squalène **66** s'effectue par une condensation queue-queue de deux molécules de FPP **65**. Toutes ces étapes sont résumées sur le schéma suivant (**Camargo et al., 2022**).

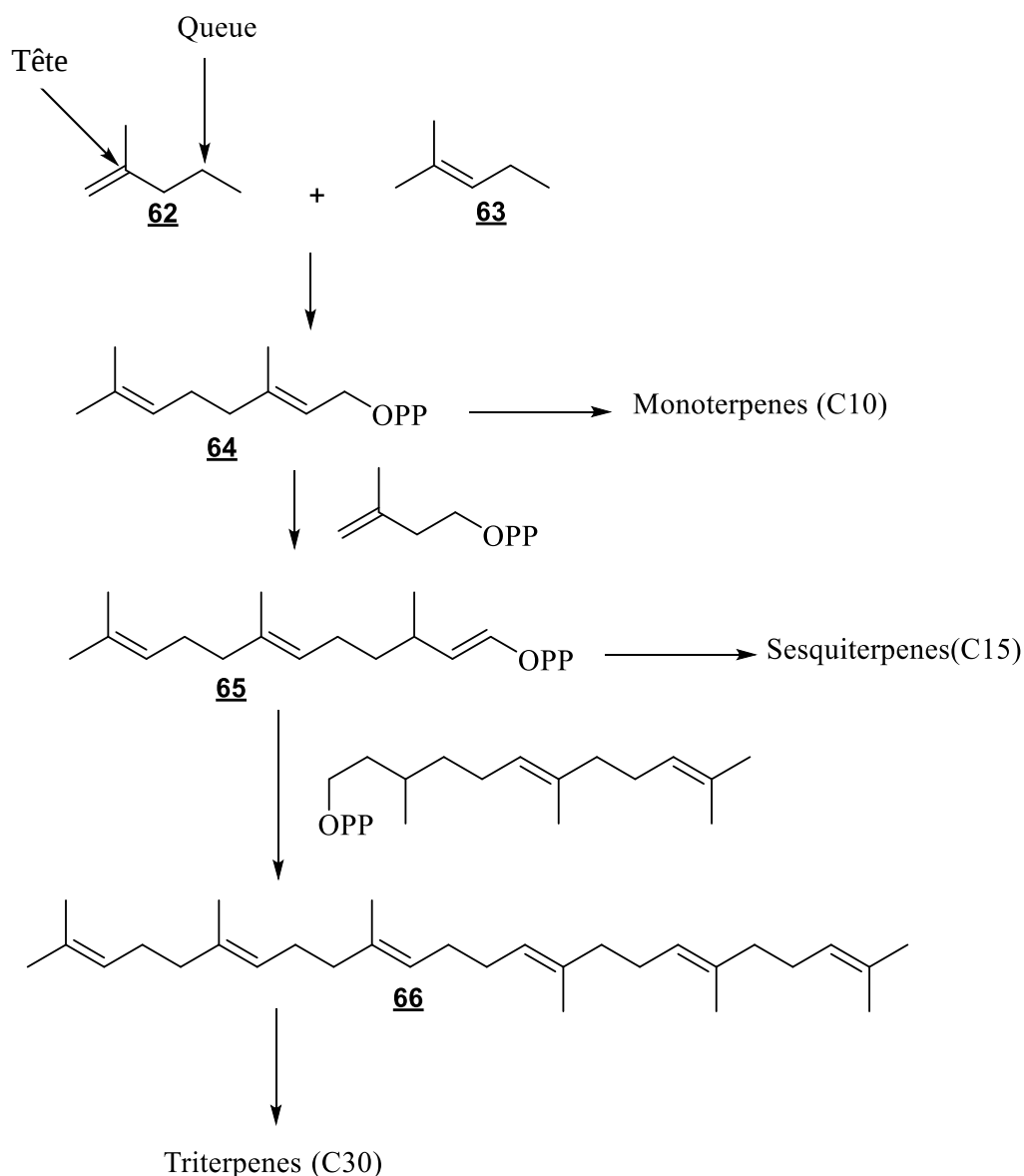


Schéma 4: Formation du squalène

I.6.3-5) Cyclisation du squalène et formation des triterpènes pentacycliques

a) Cyclisation du squalène

Le squalène **66** subit le plus souvent une oxydation de la liaison C-2/C-3 par une enzyme mono-oxygénase pour donner l'époxyde chiral correspondant. L'ouverture de cet époxyde amorce la cyclisation, l'enzyme responsable de cette cyclisation stabilise la conformation du polyisoprène de telle sorte que les impératifs stéréoélectroniques soient respectés. C'est de la conformation initiale de

l'époxysqualène **67** sur la surface de l'enzyme que dépend l'orientation de la biosynthèse vers les triterpènes tétra et pentacycliques (**Bruneton, 1999**). Lorsque l'époxysqualène **67** est dans sa conformation chaise-bateau-chaise-bateau(CBCB), la cyclisation conduit au cation protostanyle **68**, précurseur des triterpènes tétracycliques uniquement et lorsqu'il est dans la conformation chaise-chaise-bateau (CCCB), la cyclisation conduit au cation dammarynyle **69**, cation qui va évoluer pour donner les triterpènes pentacycliques de type Lupane, oléanane, Ursane, entre autre (**Thimmappa et al., 2014**).

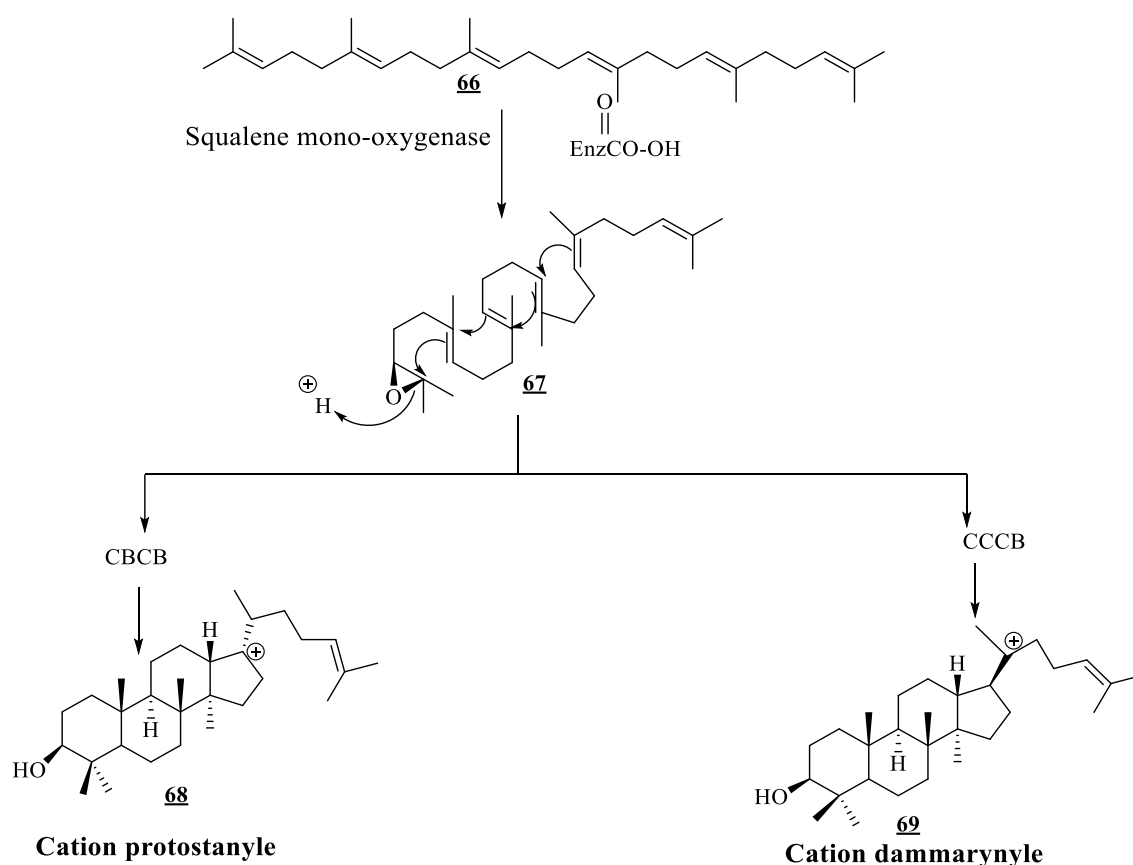


Schéma 5: Série de cyclisation du squalène

b) Formation des triterpènes pentacycliques

La formation des triterpènes pentacycliques (Schéma 6) à partir du carbocation dammarynyle **69** passe préalablement par un agrandissement du cycle **D**, pour donner le cation bacharenyle **70** qui à son tour subit une fermeture du cycle **E** sur la face β du carbone 18 pour conduire au cation lupyle **71**. Une déprotonation directe du cation lupyle **71** sans réarrangement aboutit au lupéol **72** et à ses dérivés. Le cation lupyle **71** peut également subir une expansion de cycle par une migration du

carbone pour former le cation germanicycle **73**. Ce cation subit par la suite un déplacement 1,2 du méthyle 29 sur le carbone 19 pour donner le cation taraxastyle **74**, qui par déprotonation donne le taraxasterol **75** et ses dérivés.

Le cation taraxastyle **74** subit également un déplacement 1,2 d'hydrogène pour donner le cation Ursyle **76** qui à son tour subit une succession de déplacement 1,2 de proton pour conduire à l'Ursane **52** et à ses dérivés. Les déplacements 1,2 d'hydrogène et de méthyle sur le cation germanicycle permettent de générer successivement des carbocations en C-13 (cation Oléanyle **77**) C-14, (cation taraxerane **78**), C-8 (cation Multiflorane **79**), C-9, C-10, C-5 et C-3 (cation friedelyle). Ces cations subissent le plus souvent une déprotonation ou une addition d'un groupement hydroxyle pour donner une variété de composés (Darshani et al., 2022; Camargo et al., 2022).

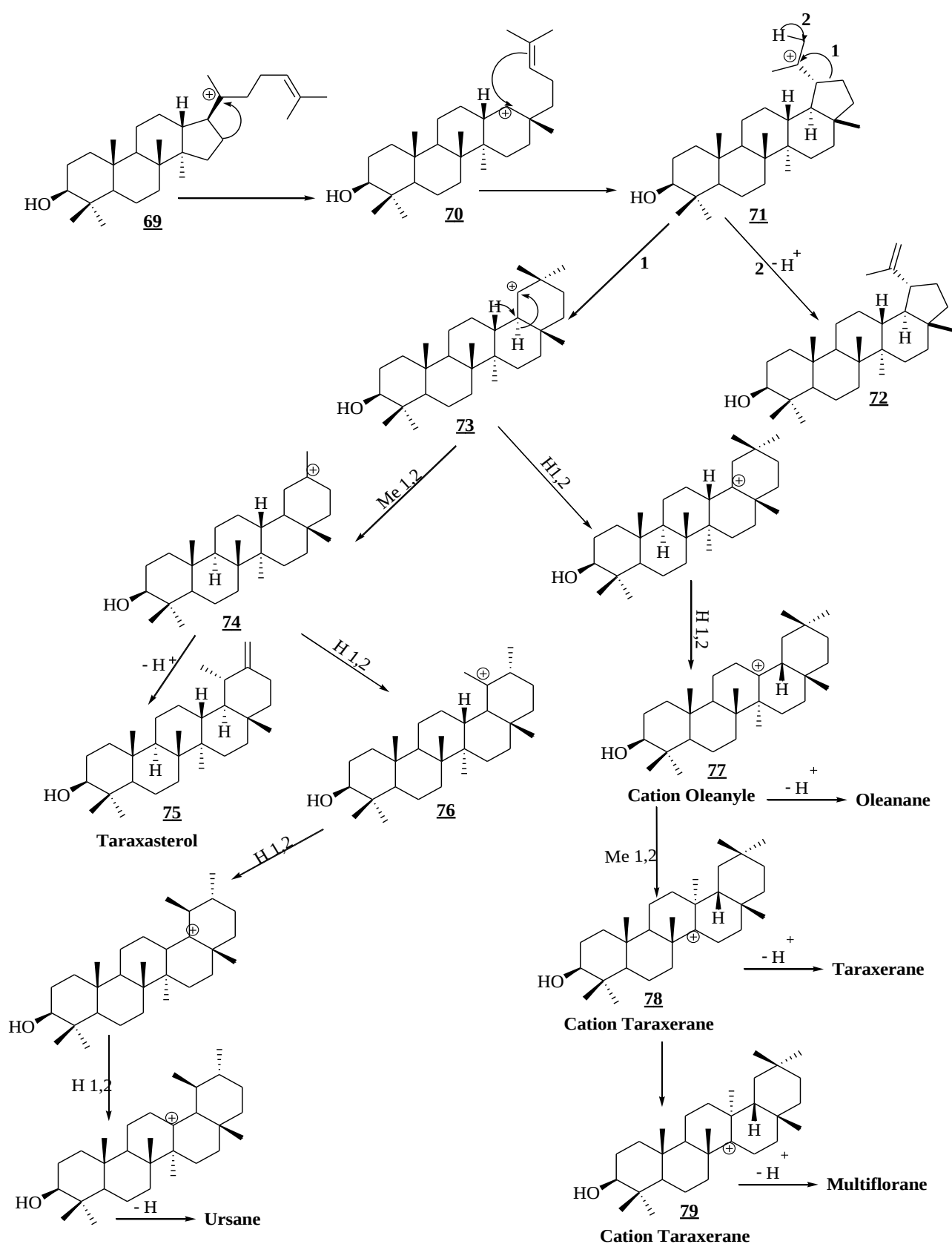
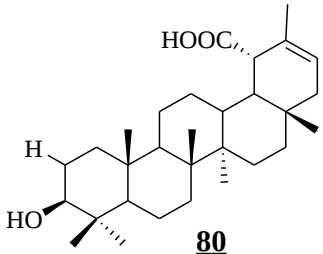
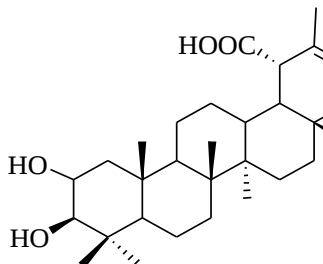
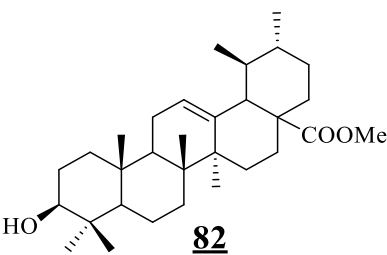
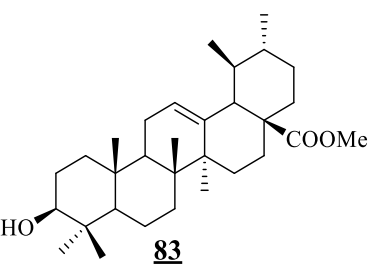
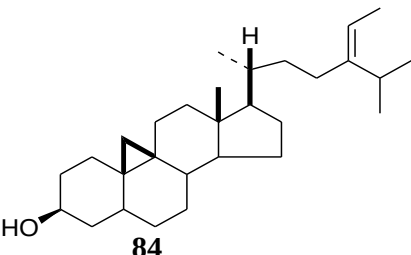


Schéma 6: Série de cyclisation conduisant aux triterpènes pentacycliques

Tableau 5: Structures de quelques composés isolés des plantes du genre *Funtumia* (suite)

Structures	Nom	Source	Activité biologique	Références
 80	Acide funtumique A	Feuilles de <i>Funtumia elastica</i>	Anti plasmodiale	Kom et al., 2021
 81	Acide funtumique B	Feuilles de <i>Funtumia elastica</i>	Anti plasmodiale	Kom et al., 2021
 82	Ursolate de méthyle	Feuilles de <i>Funtumia africana</i>	Antibactérienne	Ramadwa et al., 2016
 83	Ursolate de méthyle	Feuilles de <i>funtumia africana</i>	Antibactérienne et antifongique	Takeoka et al., 2000
 84	Cyclofuntumienol	Ecorces et feuilles de <i>funtumia elastica</i>	Antifongique	Mukam et al., 1973

I-7) Le Paludisme

I.7.1) Généralité sur le paludisme

Le paludisme est une érythrocytopathie fébrile et hémolysante causé par un développement et une multiplication d'abord dans le foie puis dans les globules rouges d'un hématozoaire du genre plasmodium, transmis à l'Homme par la piqûre infectante des moustiques femelles du genre anophèle **(Niangali, 2006)**. Il est caractérisé par plusieurs symptômes, à savoir: états fébriles cycliques, frisson, nausées, vomissement, céphalées, diarrhées, courbatures, anémie, jaunisses etc. Cinq espèces différentes causent le paludisme chez l'Homme (*P. falciparum*, *P. Vivax*, *P. Malariae*, *P. ovaes* et *P. Knowlesi*). Parmi elles *P. falciparum* est la plus dangereuse **(El Hadji, 2021)**.

I.7.2) Distribution géographique du paludisme dans le monde

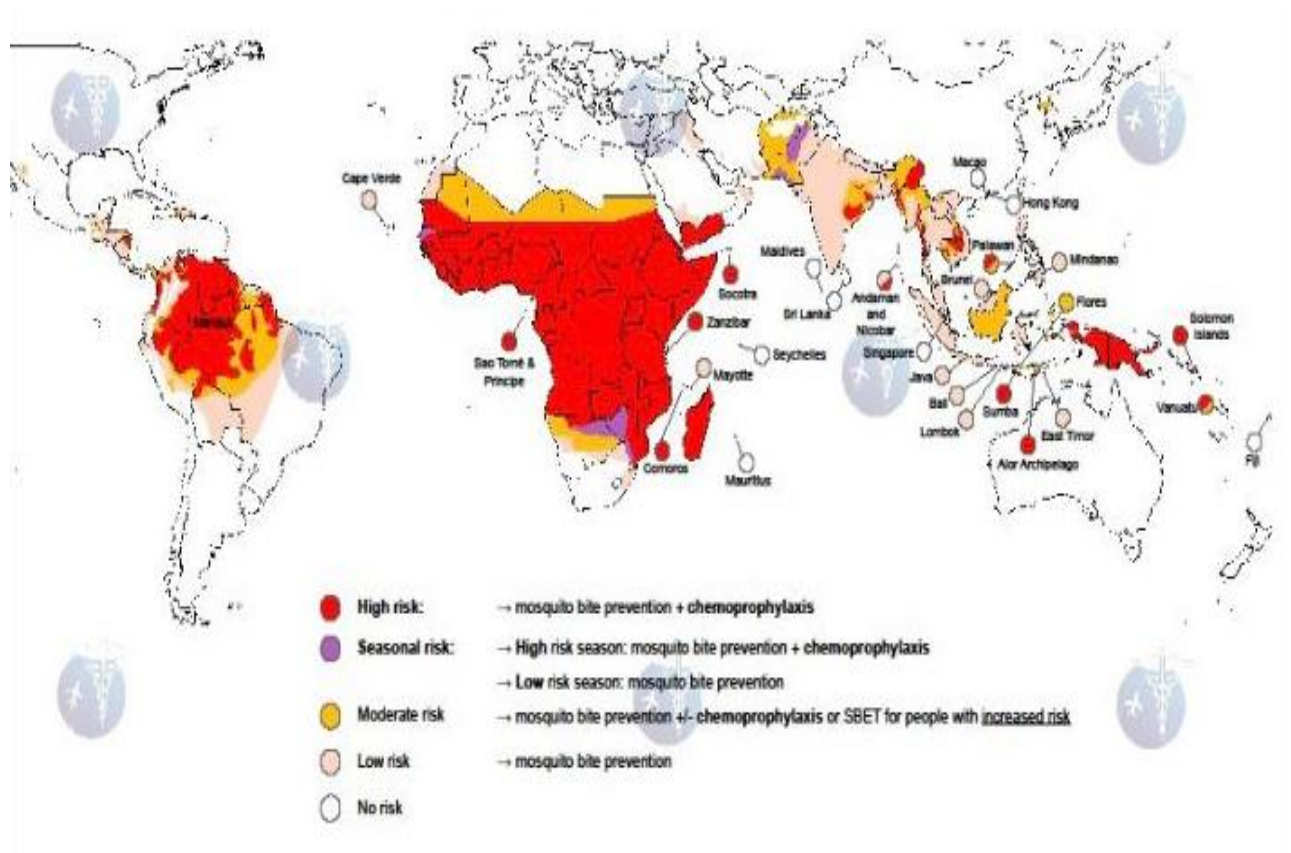


Figure 10: Répartition géographique du paludisme dans le monde (Source: CDC, 2022)

I.7-3) Vecteur

Le paludisme est une maladie transmise par un vecteur appelé anophèle femelle qui est à la fois hôte et vecteur biologique du paludisme. Les anophèles sont les seules hématophages pouvant transmettre la maladie; Elles appartiennent au règne animal, à l'ordre des *Diptera* (diptères) à la famille des Culicidae et à la classe des Insectes. Elles transmettent la maladie à travers une morsure dans la nuit ou dans les heures sombres du coucher et du lever du soleil et sont plus présents en Afrique, en Asie et en Amérique (**Mouchet et Camevale, 1991**).



Figure 11: Anophèle femelle prenant un repas de sang (Gathany, 2015)

I.7.4) Parasite du paludisme

Le paludisme (ou ‘malaria’ en anglais) est une maladie parasitaire causée par un hématozoaire appartenant au genre *Plasmodium*, transmise à l’homme essentiellement par des moustiques femelles du genre *Anophèles*. Il existe plus de 140 espèces de *Plasmodium* inféodés à diverses espèces animales mais seulement 4 espèces sont responsables du paludisme humain. Il s’agit de *P. vivax*, *P. ovale*, *P. malariae* et *P. falciparum* qui diffèrent entre elles par des critères biologiques, cliniques, par leur répartition biologique et par leur capacité à développer des résistances aux antipaludéens. Récemment, *P. knowlesi*, généralement retrouvé dans la nature chez les singes macaque, a été identifié comme étant la cinquième espèce de *Plasmodium* causant le paludisme dans la population humaine en Asie du Sud-Est (**Bronner et al., 2009**). Quatre-vingt-quinze pourcent (95%) des cas de paludisme recensés à travers le monde sont assurés par *P. falciparum* et *P. vivax*. Les infections à *P. falciparum* sont très répandues dans les grandes régions d’Afrique subsaharienne et dans le pays d’Asie de l’Est. Près de 60% des accès palustres dans le monde sont dus à *P. falciparum* (**Hay et al., 2009; Schlitzer, 2008**). De ces 5 espèces, *P. falciparum* est l’agent causal des formes cliniques potentiellement mortelles du paludisme. C’est encore elle qui présente une résistance clinique à la plupart des antipaludéens disponibles sur le marché (**Das et al., 2009**).

1.7-5) *Plasmodium falciparum*

Le *P. falciparum* est l’espèce la plus dangereuse de toutes les espèces qui infectent l’Homme; il est responsable de la “fièvre tierce maligne” et est présente dans la zone tropicale et subtropicale. Dans les régions équatoriales, il est transmis toute l’année avec cependant des recrudescences saisonnières, dans les régions subtropicales, il ne survient qu’en période chaude et humide. Sa

transmission s'interrompt lorsque la température tombe en dessous de 18 °C. Ce qui explique que, quel que soit la latitude, le paludisme n'est plus transmis en altitude (au-dessus de 1500 mètres en Afrique et 2500 mètres en Amérique et en Asie). L'évolution se fait d'un seul tenant après une incubation de 7 à 12 jours. C'est l'espèce la plus largement répandue à travers le monde qui développe des résistances aux différents médicaments antipaludiques et responsable des formes cliniques graves, notamment du neuro paludisme (ANOFEL. 2016).

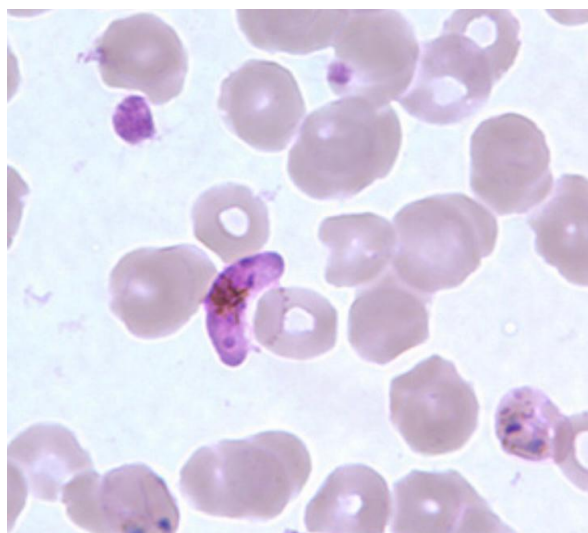


Figure 12: *Plasmodium falciparum* vue au microscope électronique (Source : CDC).

1.7.6) Cycle de vie du *Plasmodium*

Le cycle de *P. falciparum* fait intervenir deux hôtes: un moustique anophèle femelle et un être humain. Le parasite est transmis d'un individu infecté à un individu sain par piqûre de moustique appelés communément l'anophèle femelle. La transmission du paludisme est influencée par les facteurs climatiques (température et précipitation) à cause du rôle joué par ces derniers sur le cycle de vie de l'anophèle femelle (Dangbe, 2019). Les parasites du stade sanguin sont ceux qui causent les symptômes du paludisme. Lorsque les gamétocytes sont ingérés pendant l'alimentation sanguine par un moustique féminin anophèles, ils s'accouplent dans l'intestin du moustique et commencent un cycle de croissance et de multiplication chez le moustique. Après 10 à 18 jours, une forme de parasite appelée sporozoïte migre vers les glandes salivaires du moustique. Lorsque le moustique anophèle prend un repas de sang sur un être humain, la salive anticoagulante est infectée avec les sporozoïtes qui migrent vers le foie, premier endroit où se développent et se multiplient d'abord les parasites; ensuite dans les globules rouges, du sang ou les couvées successives de parasites se développent pour

les détruire libérant ainsi des parasites filles (« mérozoïtes ») de manière synchronisée pour initier le premier cycle d'infection érythrocytaire et entraînant des symptômes caractéristiques des accès palustres.

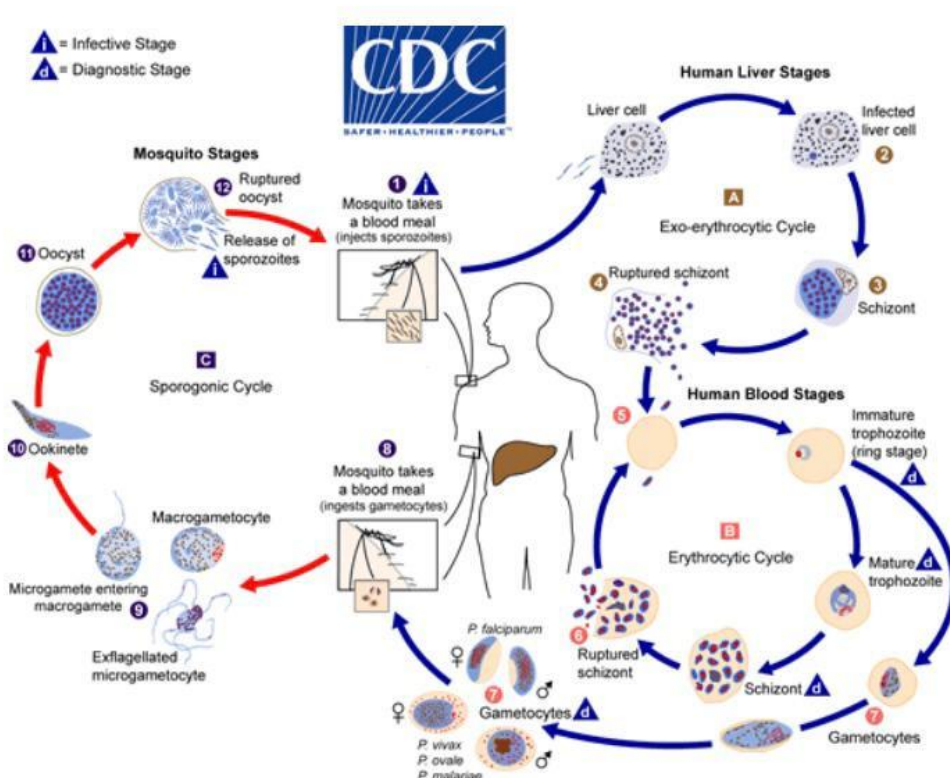


Figure 13: Cycle de vie du Plasmodium (Source: CDC, www.cdc.gov)

I.8) Manifestations cliniques des différents types du paludisme

Les manifestations cliniques du paludisme sont polymorphes. Elles varient selon l'espèce plasmodiale (Maiga, 2018)

La phase hépatique est asymptomatique, les signes cliniques sont liés à la phase de schizogonie érythrocytaire. Les manifestations cliniques dépendent de l'espèce plasmodiale à cause de l'immunité de l'hôte, de la parasitémie et de divers autres facteurs peu ou mal connus (Ouattaral, 2018). Nous avons deux formes cliniques du paludisme à savoir le paludisme non compliqué et le paludisme compliqué. Il est important d'arriver à distinguer ces derniers tout en sachant qu'un

paludisme non compliqué non pris en charge ou mal pris en charge peut virer vers un paludisme compliqué.

-**Paludisme non compliqué** est constitué de deux phases à savoir la phase de primo-évasion qui n'apparaît que chez des enfants de 4 mois à 6 ans non immunisés et chez des adultes non immunisés avec pour symptômes une fièvre progressivement croissante qui devient continue suite à plusieurs piqûres de moustiques par jour atteignant 39 à 40 °C, des courbatures, des céphalées, des douleurs abdominales, des nausées (**Maiga, 2012**), des vomissements et diarrhées et la phase d'accès palustre simple qui est très souvent précédé par des nausées, des céphalées, l'herpès labiale, des fièvres tierces causées par *P.falciparum*, *P.vivax* et *P.ovale* (**Sankare, 2019**). L'infection débute généralement le soir et dure une dizaine d'heures, associant successivement: un stade de frisson, un stade de chaleur et un stade de sueur (**Maiga, 2018**).

-**Le paludisme grave ou compliqué** que l'on mentionne à chaque fois que l'on retrouve une parasitemie positive à *falciparum* associée à l'un des signes de gravité de paludisme de l'OMS 2015 comme l'hyperparasitemie, les troubles de la conscience, des troubles respiratoires, l'anémie grave, une hypoglycémie, des convulsions, œdème pulmonaire, collapsus etc (**Maiga, 2018**).

I.9) Epidémiologie mondiale

En 2020, on estime que 627000 personnes sont mortes du paludisme, la plupart étant de jeunes enfants en Afrique subsaharienne. Dans les régions tropicales, elles sont plus souvent endémiques et constituent la première cause de mortalité infantile en Afrique; la maladie touchant particulièrement les enfants de moins de 5 ans et les femmes enceintes. D'après le rapport de l'OMS sur le paludisme dans le monde de 2018, le nombre de cas de paludisme était estimé à 219 millions, et celui de décès estimé à 435000, avec 266000 cas pour les enfants de 0 à 05 ans, soit 61% de l'ensemble de décès dû au paludisme. Malgré les différents efforts de l'Organisation Mondiale de la Santé (OMS) pour l'éradication du paludisme, celle-ci demeure toujours le problème majeur de la santé publique en Afrique subsaharienne, en Asie et en Amérique du Sud. Selon les estimations de cette dernière (OMS), le nombre de cas de paludisme est passé de 229 millions en 2019 à 241 millions en 2020. Le nombre de décès quant à lui a augmenté de 30 % passant de 409000 décès enregistrés en 2019 à 627000 en 2020. Les enfants de moins de 5 ans et les femmes enceintes payant le plus lourd prix avec 80% de tous les décès liés à la maladie dans le monde (**OMS, 2020 ; OMS, 2021**).

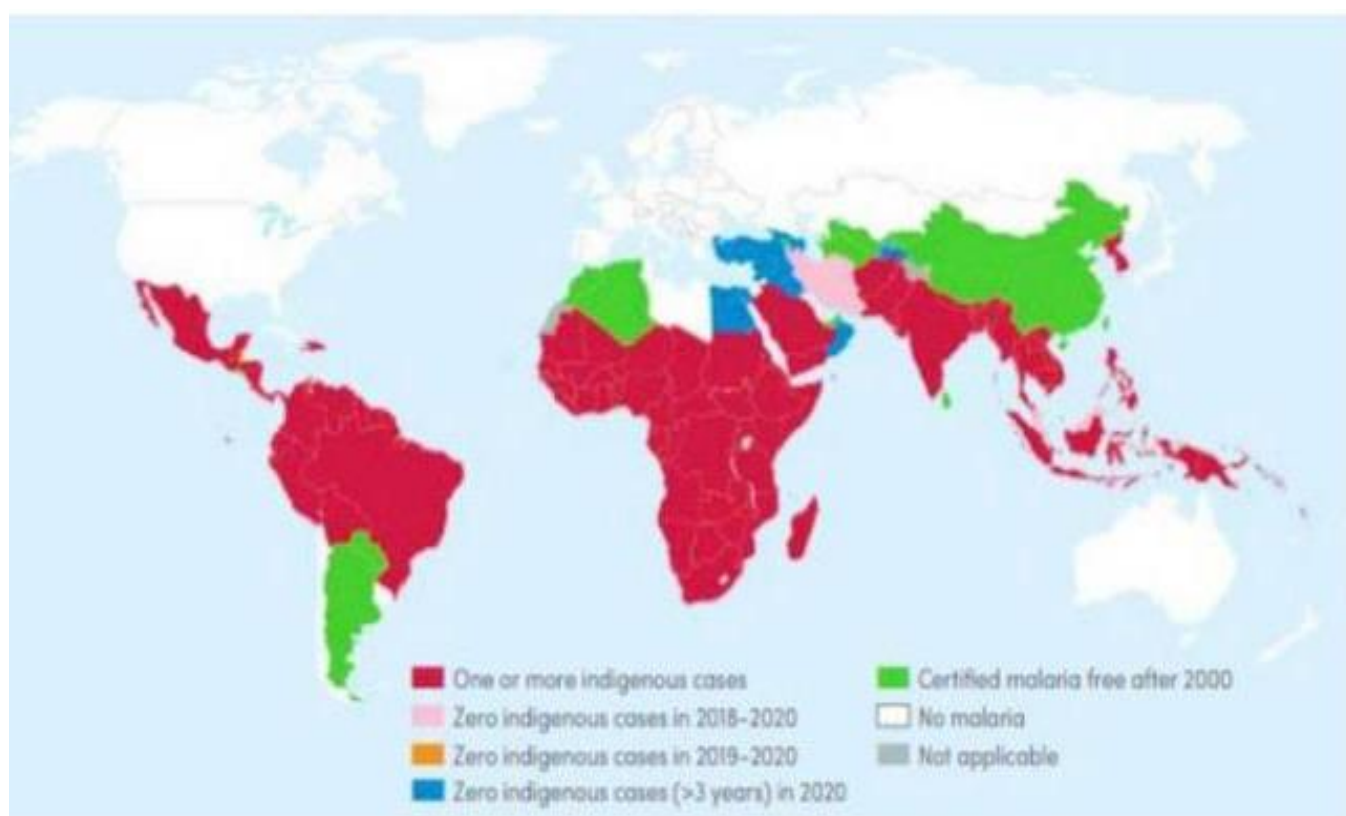


Figure 14 : Situation du paludisme dans le monde en 2020 (WHO, 2021)

I-9-1) Épidémiologie et histoire du paludisme au Cameroun

Du fait de sa grande diversité naturelle associée à sa situation géographique, le Cameroun est caractérisé par un climat équatorial de type guinéen et Camerounien dans le Sud et le Sud-Ouest et par un climat tropical de type soudanien et sahélien dans le septentrion. On retrouve cette variation climatique dans les régions du Centre, Est, Littoral, Sud et Sud-ouest. Le Cameroun fait partie des 11 pays qui, à eux seuls supportent près de 70% du fardeau du paludisme (maladie qui a toujours représenté la première cause de mortalité et de morbidité chez les enfants de moins de 5 ans et chez les femmes enceintes au Cameroun. Il induit 40 % des dépenses de santé des ménages dans ce pays). D'après le Programme Nationale de Lutte contre le Paludisme (PNLP) en 2022, plus de trois millions de cas de paludisme ont été enregistrés au Cameroun avec 2481 décès dont la plupart ont proviendrait des régions de l'Extrême-Nord et de l'Adamaoua.

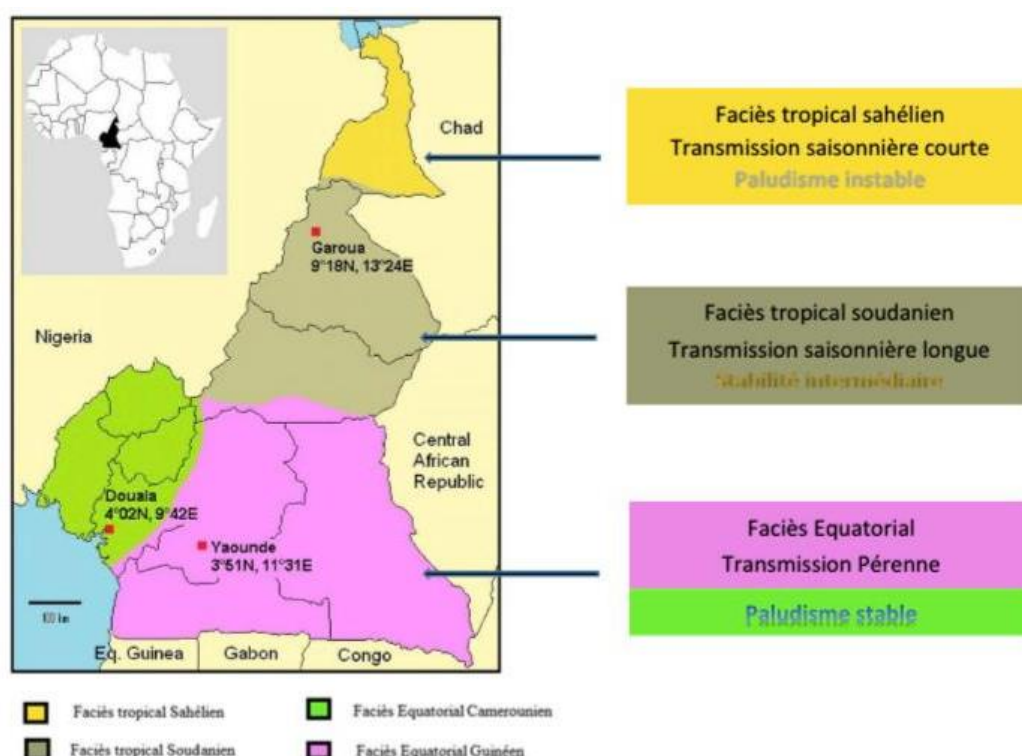


Figure 15: Faciès épidémiologique du paludisme au Cameroun adapté (Djeutchouang, 2022)

Suite à cela, de nombreuses stratégies ont été mises en place par l'OMS et les gouvernements Camerounais pour lutter contre le paludisme pour la mise au point d'un vaccin antipaludique efficace. C'est ainsi qu'en 2021, un vaccin contre *P. falciparum* a été autorisé par l'OMS pour compléter les mesures de prévention contre le paludisme et dont le Cameroun a été le premier pays africain à avoir commandé ledit vaccin; il s'agit du vaccin antipaludique R21/Matrix (OMS, 2021), qui a été développé depuis les années 1980 et visant la phase du cycle du parasite en empêchant la pénétration ou le développement des sporozoïtes dans les hépatocytes avant la phase sanguine (Foquet et al., 2014, Ngou, 2022). Le vaccin induit une réponse immunitaire humorale et cellulaire contre la protéine circumsporozoïte présente à la surface des sporozoïtes. Cependant, bien que ce vaccin réduise de manière significative le paludisme grave (efficacité à 66%), le niveau d'immunité protectrice et la durée de protection restent encore à améliorer puisqu'il faut administrer jusqu'à quatre doses pour réduire la charge de la maladie.

I-9-2) Diagnostique, traitement et prévention du paludisme

-Diagnostique

Il existe plusieurs manières de diagnostiquer le paludisme parmi lesquelles nous pouvons citer entre autres le frottis mince, la goutte épaisse et le TDR (**Maiga, 2012**).

-Le frottis mince est une technique qui consiste à dégraisser la lame à alcool, désinfecter le bout du 3^{ème} ou 4^{ème} doigt avec de l'alcool à 70 ° puis le piquer avec un vaccinostyle stérile d'un seul geste puis essuyer la première goutte de sang avec du coton sec; déposer une goutte de sang capillaire ou veineuse à l'une des extrémités de la lame tout en posant le bord de la deuxième lame en avant de la goutte de sang, puis incliner la lame supérieure de 45°, ensuite pousser fermement la deuxième lame le long de la lame de sang en la faisant sécher tout en inscrivant le nom du patient ou le numéro de l'examen sur la marge de la lame ou sur la partie large du frottis sanguin au crayon de papier; placer ensuite la lame dans la boîte horizontale à l'abri des mouches, de la poussière ou d'une forte chaleur puis fixer le frottis sanguin avec le méthanol et appliquer le colorant de May-Grunwald-Giemsa (**Cisse, 2018**).

- La goutte épaisse est une méthode de diagnostic consistant à examiner quelques gouttes de sang après hémolyse des globules rouges et coloration selon la méthode Giemsa. C'est une excellente technique mais de réalisation un peu délicate et qui nécessite une bonne expérience pour la lecture (**PNLP, 2014**).

-La méthode par TDR (Test de Diagnostic Rapide) combiné qui consiste à identifier les antigènes spécifiques de *P.falciparum* ou des autres espèces. C'est un test qui se présente sous forme de cassettes en plastique, ou sous forme de bandelettes réactives ou de carte (**Maiga, 2012**).

-Traitement

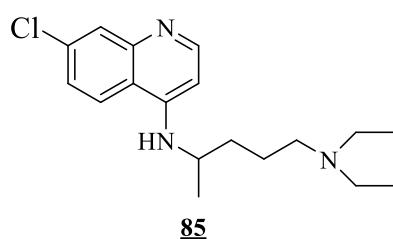
Comme traitement contre le paludisme, tous les cas sévères de *P.falciparum* doivent être traités avec l'artesunate intraveineuse ou intramusculaire, suivie d'un traitement complet de combinaison thérapeutique à base d'Artemisinine (CTA) (**OMS, 2012**). Il existe plusieurs médicaments utilisés dans la lutte contre le paludisme à savoir :

a) Les Quinolines

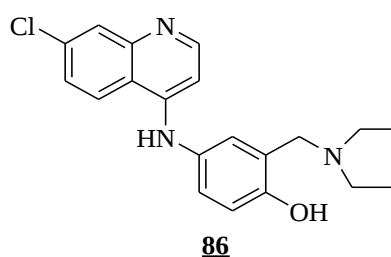
On les retrouve en trois groupes; On citera entre autres :

-Les Aryl-amino alcools constitués de: la Quinine (qui est l'antipaludique le plus ancien isolé de l'écorce de quinquina est, malgré ses effets indésirables est utilisée seule ou en association avec des antibiotiques dans le traitement du palu simple ou compliqué); la méfloquine (produit efficace contre les souches de Plasmodium résistantes à la chloroquine, il présente beaucoup d'effets secondaires. La méfloquine est néanmoins utilisée aujourd'hui en monothérapie en prévention ou traitement du paludisme simple) et la luméfantine (utilisée uniquement en association avec l'artésunate dans le traitement du paludisme simple (ACT))

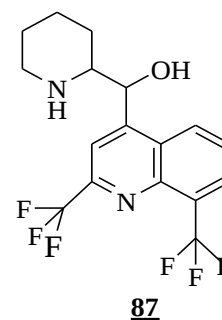
- Les 4-Amino quinoléine comportant : la Chloroquine étant une molécule à propriétés anti-inflammatoires et antipaludiques; l'amodiaquine qui est peu utilisée à cause des effets indésirables hépatiques et sanguins, utilisée aujourd'hui dans la combinaison à base d'artémisine ou dérivés (ACT) et la pyronaridine.



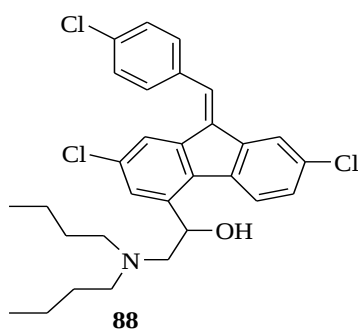
Chloroquine



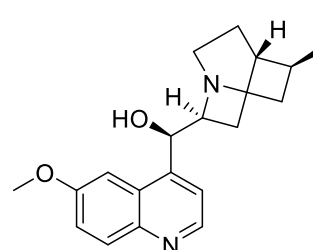
Amodiaquine



Mefloquine



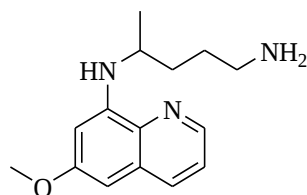
Lumefantrine



Quinine

b) Les 8-amino quinoléines

Ici, on a la primaquine qui est peu utilisée à cause de ses effets indésirables sanguins surtout chez les personnes déficientes en Glucose-6-Phosphate Déshydrogénase (G-6PD). Il s'agit du seul médicament actif contre les hypnozoïtes de *P.vivax*.

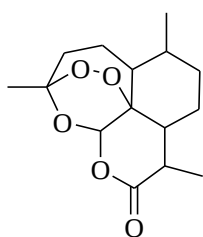


90

Primaquine

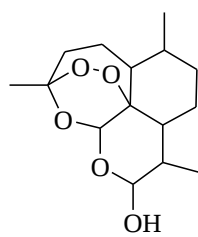
c) L'artémisine et ses dérivés

L'artémisine et ses dérivés constituent la classe la plus utilisée actuellement dans le traitement du paludisme simple ou grave. Vu sa très courte demi-vie qui favorise des recrudescences du parasite, et pourrait favoriser l'émergence de résistances, l'OMS recommande son utilisation (et celle de ses dérivés) en association à des antipaludiques de plus longue durée d'action. Plus de 60 pays ont adopté à l'heure actuelle les combinaisons à base d'artémisinine (ACT) en première intention dans le traitement du paludisme simple (**Eastman et Fidock, 2009**). Comme dérivés on a l'arthéméter, l'artésunate, le dihydroartémisinine.



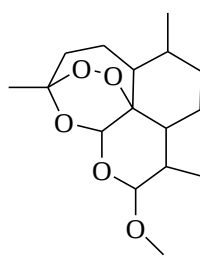
91

Artemisinine



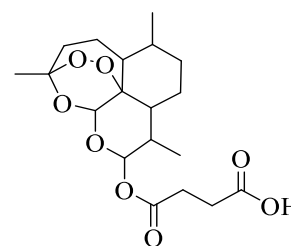
92

Dihydroxyartemisinine



93

Arthemether



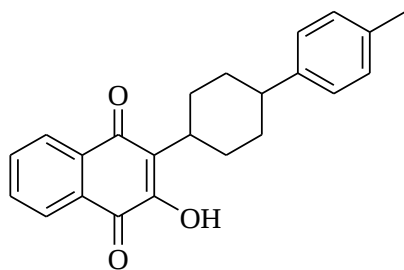
94

Artesunate

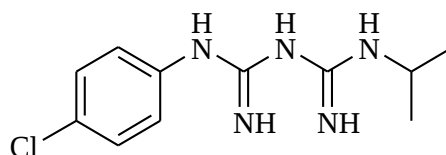
d) Les Antimétabolites

Comme antimétabolites on a les antifoliniques et les sulfamidés. Excepté le proguanil, ces différents composés ne sont pratiquement plus utilisés, des résistances importantes s'étant développées.

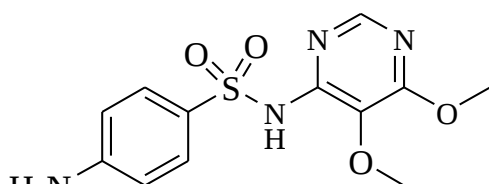
- Les antifoliques: ils sont du type biguanides-diaminopyridines et on y retrouve le proguanil utilisé en association avec l'atovaquone.
- Les sulfamidés constitués du sulfalène et sulfadoxine.



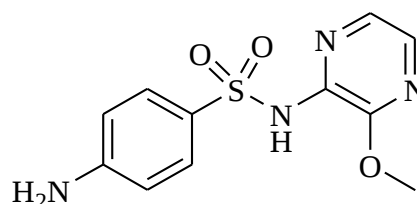
95
Atovaquone



96
Proguanil



97
Sulfadoxine



98
Sulfalene

e) Naphtoquinones

Nous avons l'atovaquone très utilisée en prévention chez les personnes vivant en zones non endémique, elle est associée au proguanil sous le nom de Malarone.

-Prévention

Comme traitement préventif contre le paludisme l'on se doit de porter des vêtements longs, utiliser des insecticides, réduire les zones marécageuses près des habitats, dormir sous une moustiquaire imprégnée.

CHAPITRE II : RESULTATS ET DISCUSSION

II-1) Extraction et isolement des composés de *Funtumia africana*

Les écorces de *Funtumia africana* ont été récoltées à Niété, petite localité située à quelques kilomètres de Kribi, région du Sud Cameroun. Un spécimen (N°2486/HNC) a été déposé à l'herbier national Du Cameroun à Yaoundé.

Les écorces de *F. africana* ont été découpées en de petits morceaux, séchées, broyées et nous avons obtenu une poudre de couleur marron de 500,23 g. Cette poudre a ensuite subi une macération au méthanol (3 L) à température ambiante pendant 72 heures répétée 3 fois puis filtré et le filtrat obtenu a été concentré à l'aide d'un évaporateur rotatif nous permettant d'obtenir un extrait brut de 40,21 g. Une partie de cet extrait (30,32 g) a subi un fractionnement par chromatographie sur colonne de gel de silice et a été élué avec le mélange CH₂Cl₂/MeOH à polarité croissante.

Les volumes de 100 mL ont été recueillis et concentrés par évaporation. Grâce aux similitudes observées sur la plaque CCM, les flacons ont été regroupés en 5 fractions (F_A à F_E); la fraction F_A a subi une purification sur colonne de gel de silice avec comme éluant Hex/AcOET (9:1) à polarité croissante nous permettant d'obtenir 4 sous fractions (A à D). La sous fraction B va subir une purification sur gel de silice avec pour éluant Hex/ AcOET de polarité (50:50) nous permettant d'obtenir le composé indexé FAE1 (39,24 mg). La sous fraction C va subir une purification au Sephadex LH₂₀ avec pour éluant le méthanol pur permettant ainsi d'obtenir le composé indexé FAE2 (55,97 mg).

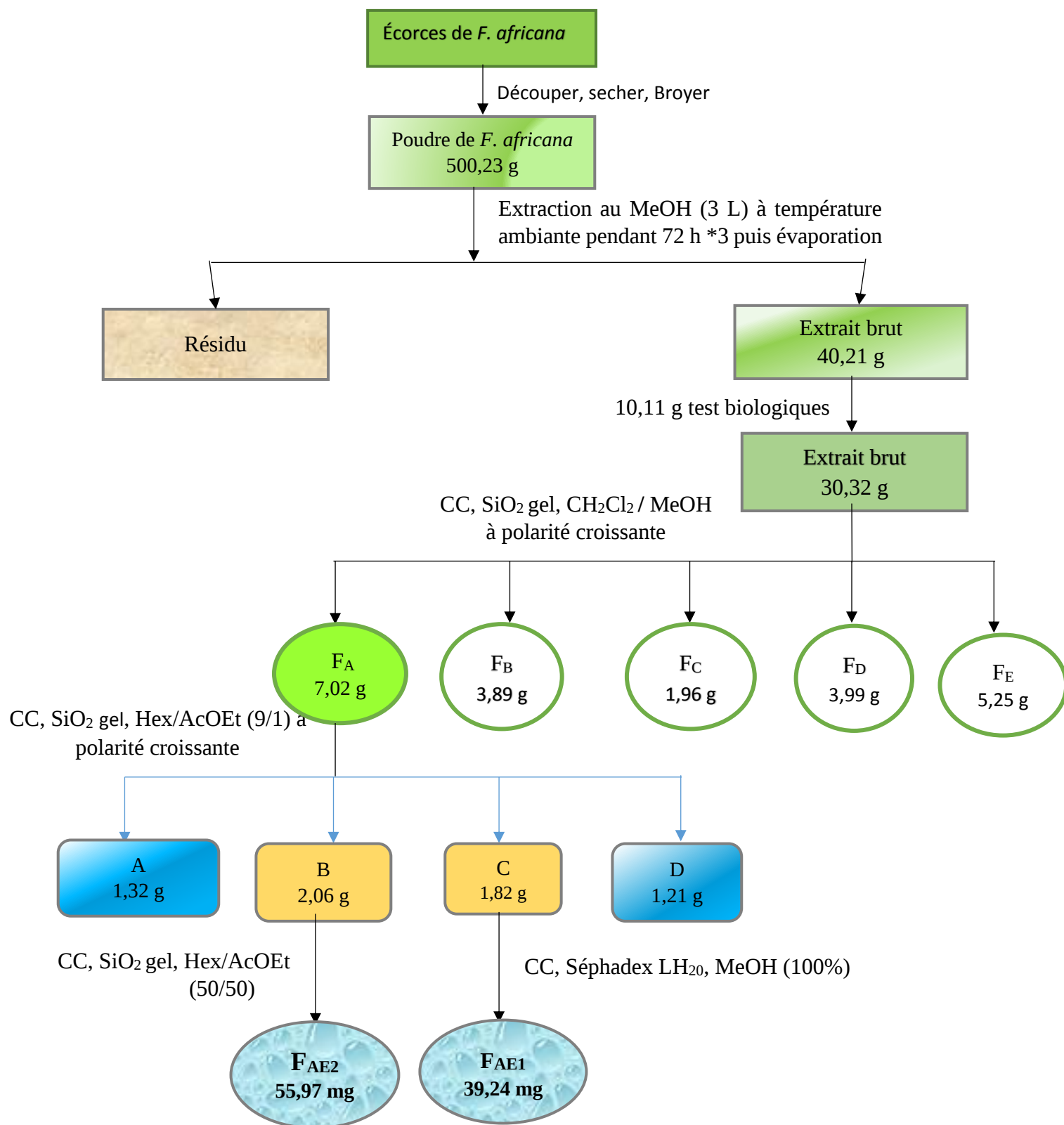


Schéma 7 : Protocole d'extraction et d'isolement des composés à partir des écorces de *Funtumia africana*

II-2) Caractérisation chimique des composés purs isolés

II-2-1) Identification du composé FAE1

Le composé **FAE1** a été obtenu sous forme de solide brun amorphe, soluble dans l'acétone et répond positif au test Libermann Buchard caractéristique des triterpènes. Le spectre de masse LC-MS en mode positif du composé **FAE1** (Figure 13) présente le pic de l'ion moléculaire $[M+H]^+$ à $m/z=489,3427$ correspondant à la formule brute $C_{30}H_{48}O_5$ renfermant 7 degrés d'insaturation.

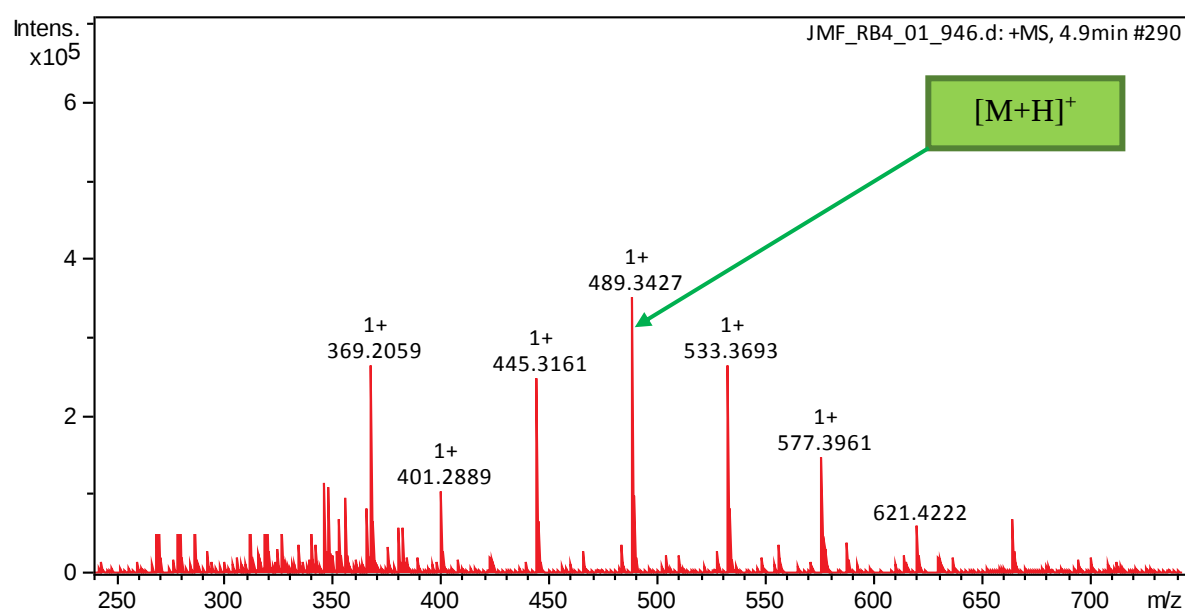


Figure 16: Spectre LC-MS du composé FAE1

Le spectre RMN 1H (figure 14) du composé **FAE1** enregistré dans l'acétone deutéré présente des signaux correspondant à plusieurs familles de protons. Parmi ces signaux nous avons les signaux de six protons méthyliques à δ_H 0,66 (3H, s, H-24); 1,03 (3H, s, H-25); 0,79 (3H, s, H-26); 1,17 (3H, s, H-27) et 0,90 (6H, s, H-29; H-30); de même, on a les signaux à δ_H 1,70 (Ha-1) et 1,16 (Hb-1) qui sont des signaux correspondant aux protons de méthylène non équivalents attaché au même carbone (**Mann et al., 2012**) ainsi que neuf autres signaux de méthylène parmi lesquels nous avons un signal de l'hydroxyméthylène à δ_H 3,28 (1H, d, $J=10,6$ Hz, Ha-23) et δ_H 3,57 (1H, d, $J=10,6$ Hz, Hb-23); On observe également des signaux à δ_H 3,63 (1H, m, H-2); 3,38 (1H, d, $J=9,5$ Hz, H-3) qui sont similaires aux signaux rapportés pour les protons liés à des carbones qui sont attachés à des groupes hydroxyles; ils indiquent la présence de groupes hydroxyles dans la molécule (**Ramseh et al., 2012**).

On a aussi le signal à δ_H 2,88 (1H, dd, $J=13,7; 4,3$ Hz, H-18) et aussi un signal à δ_H 5,26 (1H, t, $J=3.5$ Hz, H-12) caractéristique du proton olefinique.

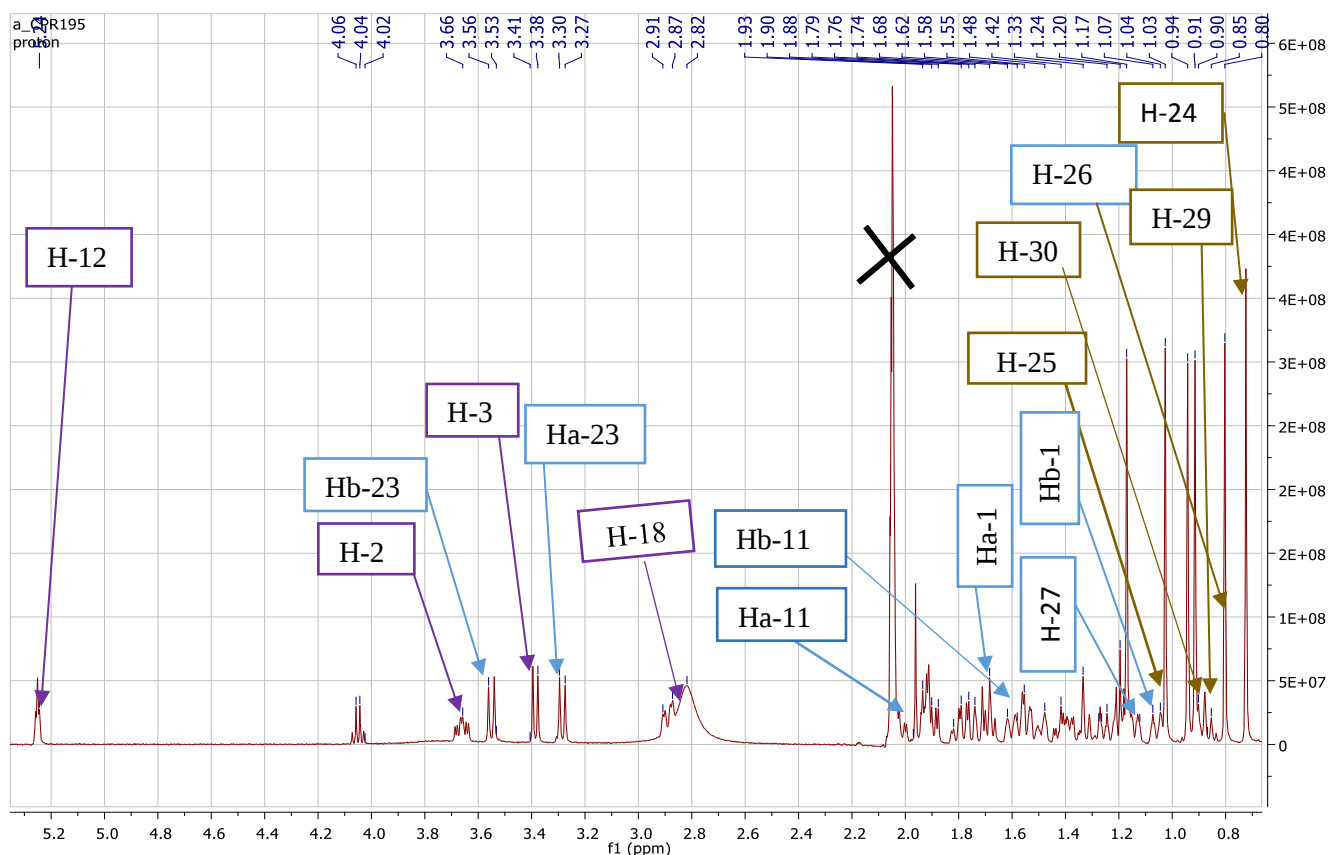


Figure 17: Spectre RMN 1H (500 MHz ; Acétone- d_6) du composé FAE1

L'analyse du spectre RMN ^{13}C découplé large bande (figure 18) du composé **FAE1** présente 30 signaux de carbone. Parmi ces signaux de carbone nous avons les signaux de six carbones méthyles au sein de la molécule à δ_C 13,0 (C-24); 16,6 (C-25) ; 16,8 (C-26); 25,5 (C-27); 32,0 (C-29) et δ_C 23,0 (C-30), dix signaux de carbones méthylène dont un hydroxyméthylène à δ_C 66,2 (C-23), six carbones de méthyne parmi lesquels nous avons deux hydroxyméthyne à δ_C 68,0 (C-2) et δ_C 77,6 (C-3) ainsi que les signaux des deux carbones olefiniques à δ_C 122,1 (C-12) et δ_C 144,4 (C-13); ces déplacements chimiques sont caractéristiques des triterpènes de type olean-12-ène (**Mahato et Kundu, 1994**); Nous avons aussi huit signaux de carbones quaternaires à δ_C 42,0 (C-4), 39,3 (C-8), 38,2 (C-10), 144,4 (C-13), 42,5 (C-14), 46,0 (C-17), 32,5 (C-20), 178,0 (C-28) parmi lesquels nous avons le signal à δ_C 178,0 (C-28) indiquant la présence d'une fonction carboxylique au sein de la molécule.

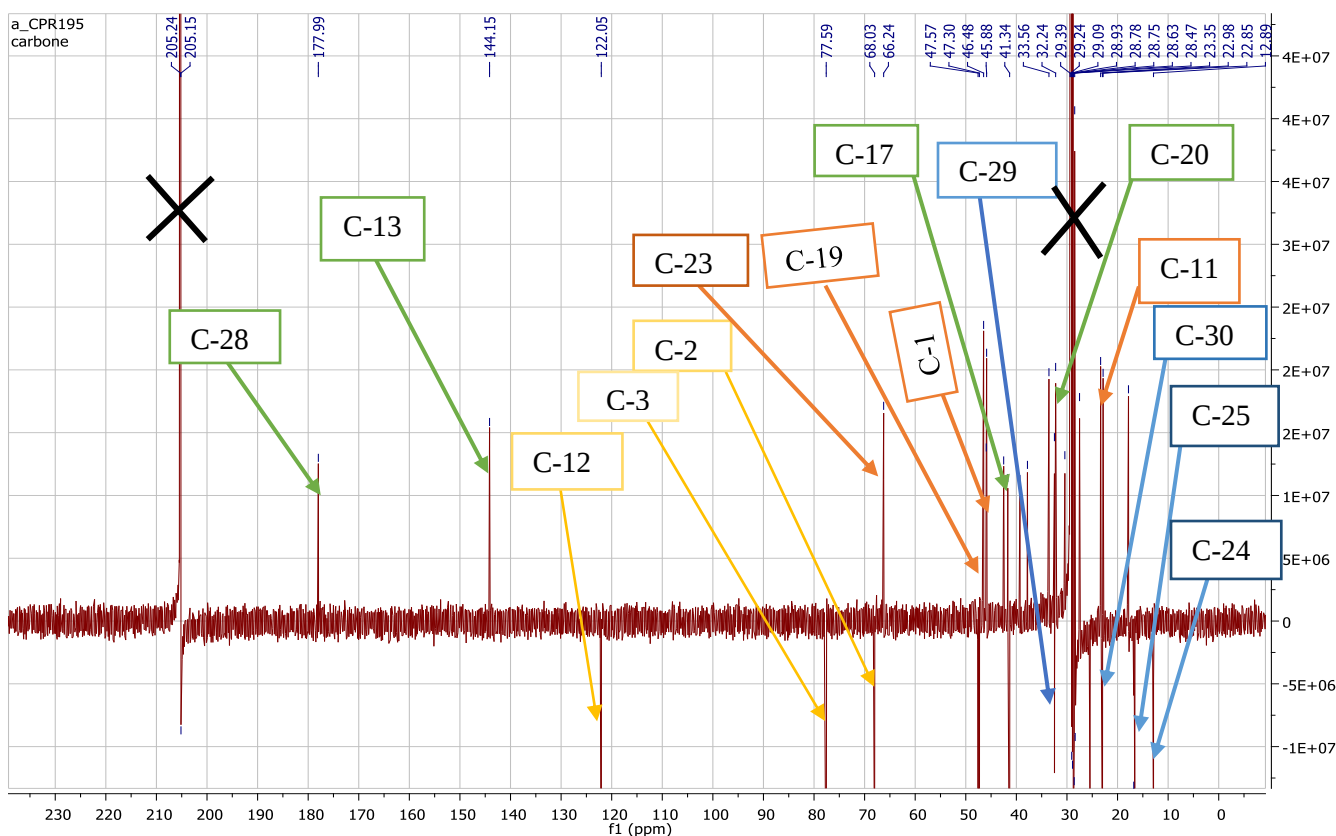


Figure 18: Spectre APT (125 MHz ; Acétone- d_6) du composé FAE1

Son spectre COSY (figure 19) nous montre les corrélations proton, proton. Sur ce spectre on observe les corrélations entre les protons H-1 et H-2; entre les protons H-2 et H-3; H-11 et H-12; H-15 et H-16; H-18 et H-19; H-21 et H-22. On observe également des tâches de corrélation entre les protons Ha-19 à δ_H 1,77 et Hb-19 à δ_H 1,19 et entre les protons Ha-23 à δ_H 3,28 et Hb-23 à δ_H 3,57 ce qui confirme la présence du noyau triterpénique au sein de notre molécule.

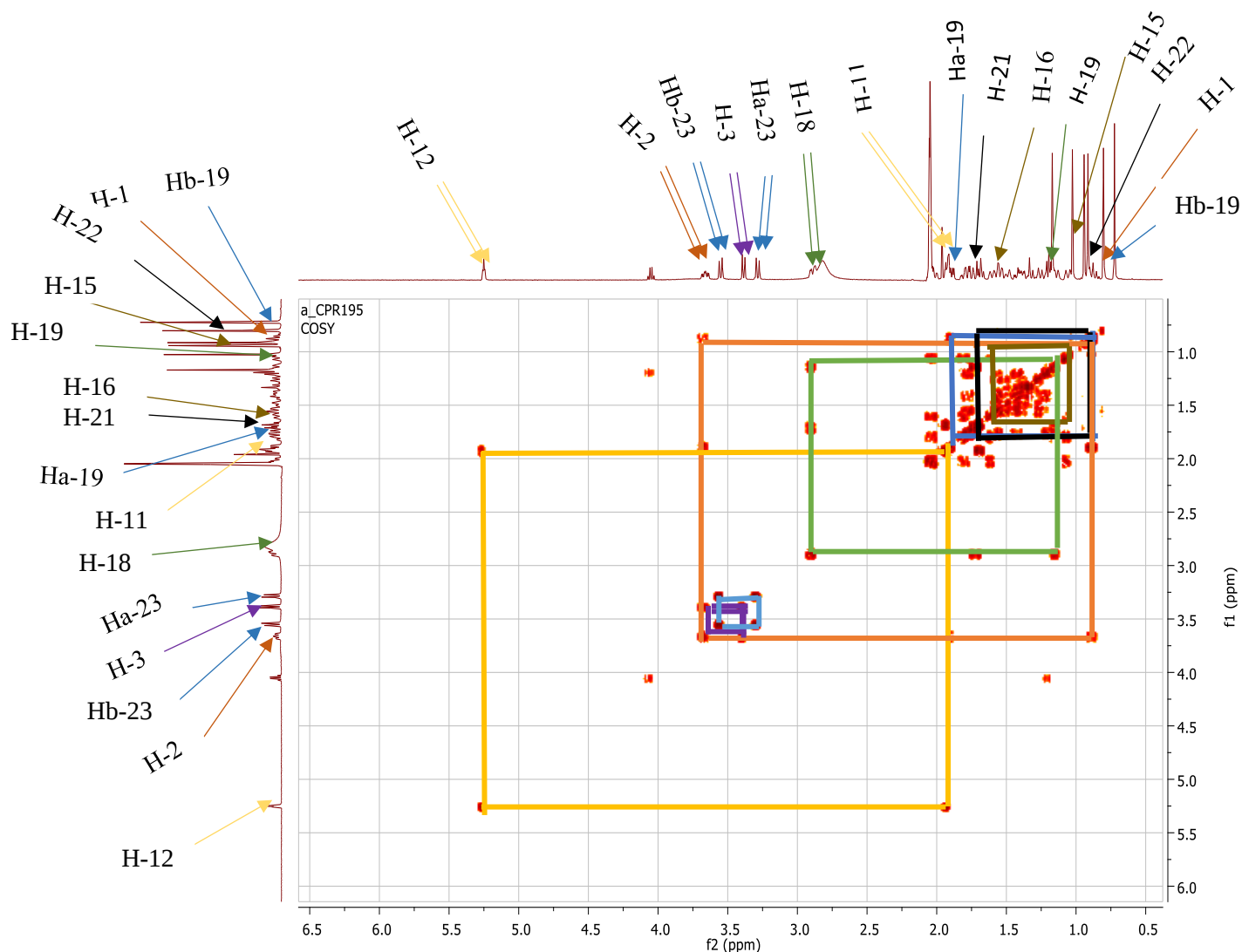


Figure 19: Spectre COSY (500 MHz ; Acétone- d_6) du composé FAE1

La figure 20 ci-dessous nous présente quelques corrélations COSY de ce composé :

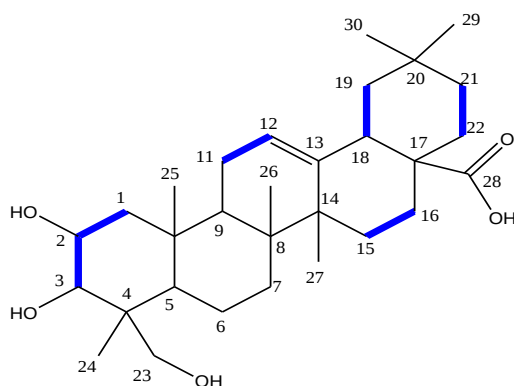


Figure 20: Quelques corrélations COSY

Le spectre HSQC (figure 21) du composé **FAE1** nous montre les corrélations carbones-protons directement liés. A cet effet, on observe les corrélations en 1J entre le proton H-2 et carbone C-2; le proton H-3 et le carbone C-3 nous confirmant la présence des deux hydroxyméthynes; le proton H-12 et le carbone C-12 confirmant la présence du proton oléfinique au sein de la molécule; les protons H-23 et le carbone C-23 montrant la présence d'un hydroxyméthylène. On observe également les corrélations en 1J entre les protons en H-1 et le carbone C-1, le proton H-18 et le carbone C-18 (proton situé en *alpha* d'une double liaison et en *beta* d'un acide carboxylique); les protons en H-19 et le carbone C-19 et entre le proton H-24 et le carbone H-24 confirmant la présence des méthynes, méthylene et méthyles dans la molécule.

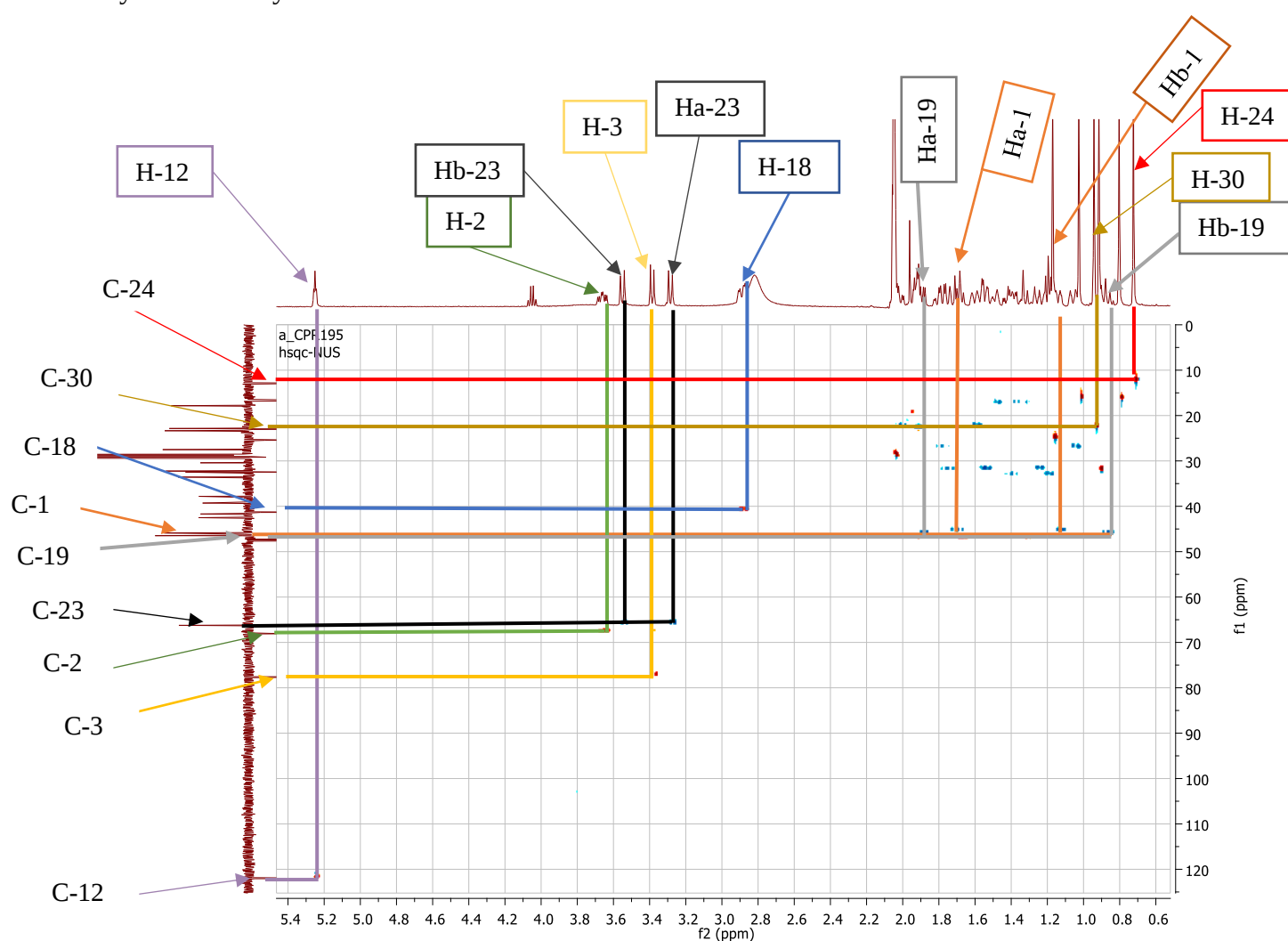


Figure 21: Spectre HSQC du composé FAE1

Plusieurs corrélations hétéronucléaires ^{13}C - ^1H ont été observées sur le spectre HMBC (figure 19) du composé **FAE1**. En effet l'hydrogène corrèle avec plusieurs carbones beaucoup plus en 2J , en 3J rarement en 4J et 5J . On observe ainsi des corrélations entre le proton à δ_{H} 3,38 (H-3) et les carbones à δ_{C} 68,0 (C-2) et à δ_{C} 42,0 (C-4) en 2J .

On note aussi une corrélation entre le proton à δ_{H} 5,26 (H-12) et le carbone à δ_{C} 41,3 (C-18) en 3J ; Aussi entre le proton à δ_{H} 3,28 (Ha-23) et les carbones à δ_{C} 42,0 (C-4) en 2J , δ_{C} 47,0 (C-5), δ_{C} 77,6 (C-3) et δ_{C} 13,0 (C-24) en 3J .

On observe également une corrélation entre le proton à δ_{H} 2,88 (H-18) et le carbone à δ_{C} 46,6 (C-19) en 2J ; le proton à δ_{H} 1,75 (H-16) et le carbone à δ_{C} 178,0 (C-28) en 2J ;

Notons aussi celle entre le proton à δ_{H} 1,77 (H-19) avec le carbone à δ_{C} 39,3 (C-8) en 5J ainsi que celle entre le proton à δ_{H} 1,70 (H-1) avec les carbones à δ_{C} 16,6 (C-25) en 2J et à δ_{C} 47,3 (C-9) en 3J ;

Également entre le proton à δ_{H} 1,66 (H-9) avec les carbones à δ_{C} 144,4 (C-13) en 4J et à δ_{C} 41,3 (C-18) en 5J ;

De même, on observe une corrélation entre le proton à δ_{H} 1,03 (H-25) avec le carbone à δ_{C} 47,3 (C-9) en 2J , entre le proton à δ_{H} 0,70 (H-24) avec les carbones à δ_{C} 77,6 (C-3) en 3J et à δ_{C} 68,0 (C-2) en 4J et entre le proton à δ_{H} 0,90 (H-29) avec le carbone à δ_{C} 23,0 (C-30) en 3J .

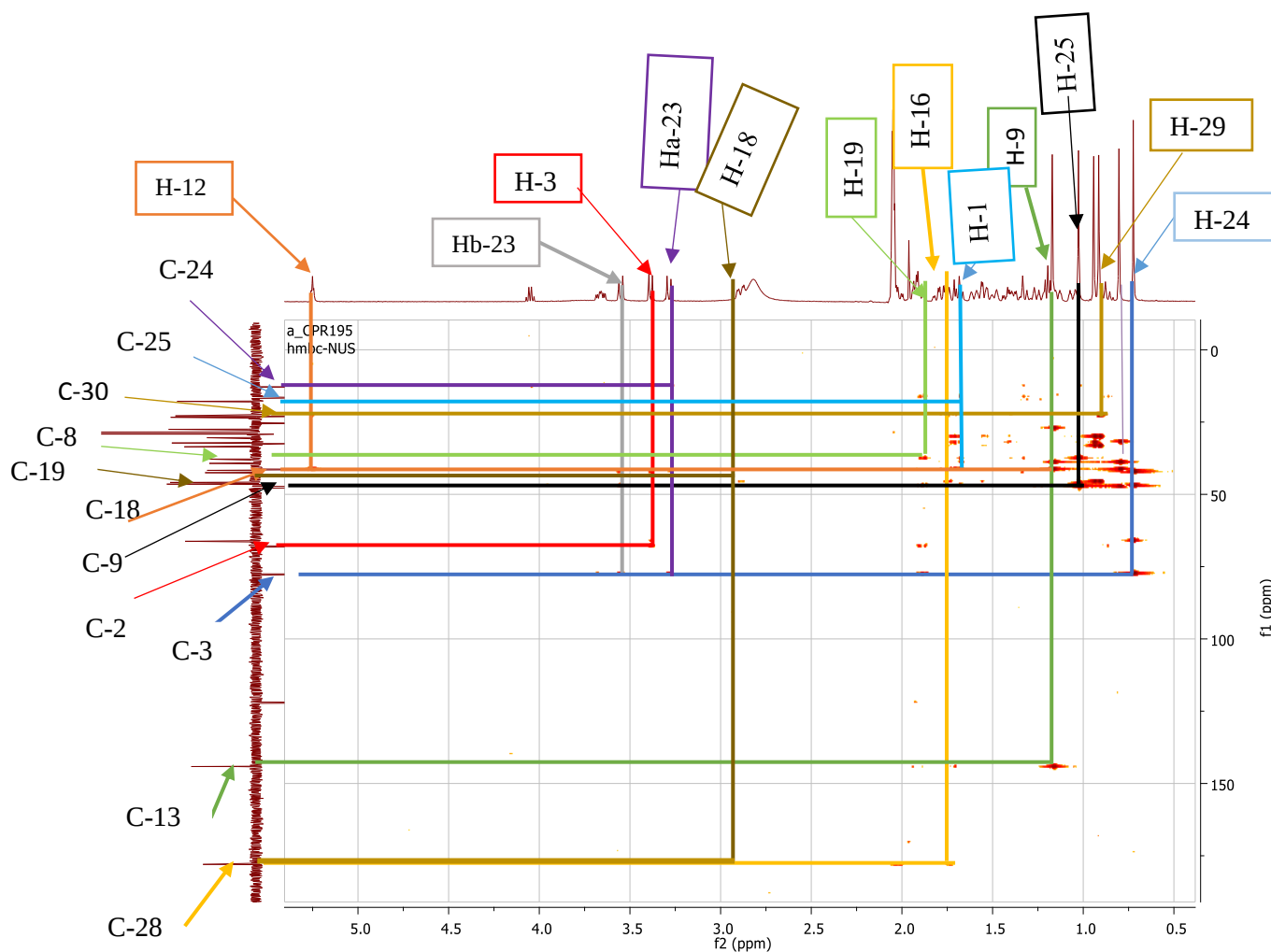


Figure 22: Spectre HMBC du composé FAE1

La figure ci-dessous nous presente quelques correlation au HMBC

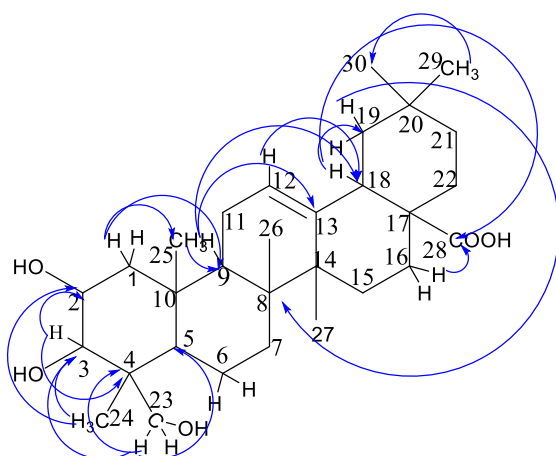


Figure 23: Quelques corrélations HMBC

Le spectre NOESY (figure 24) du composé **FAE1** montre les dispositions spatiales des atomes d'hydrogène dans la molécule ce qui nous permet d'avoir une stéréochimie de la molécule. On observe les corrélations scalaire entre les protons H-1 et H-2, H-5 et Ha-6, Hb-6 et H-7, ainsi que celles portées par les protons H-11 et H-12, H-18 et Hb-19, H-21 et H-22 et enfin Ha-23 et Hb-23.

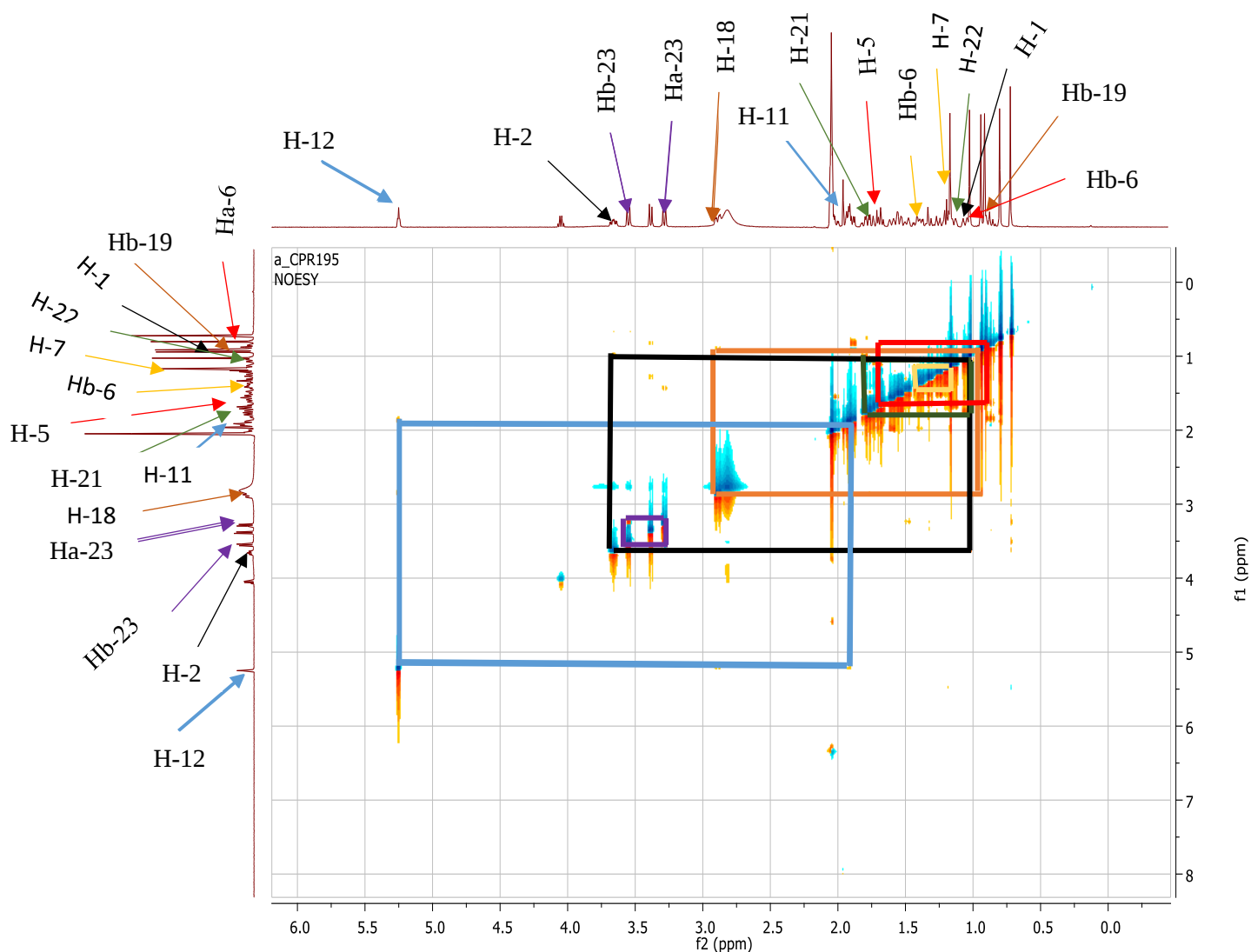
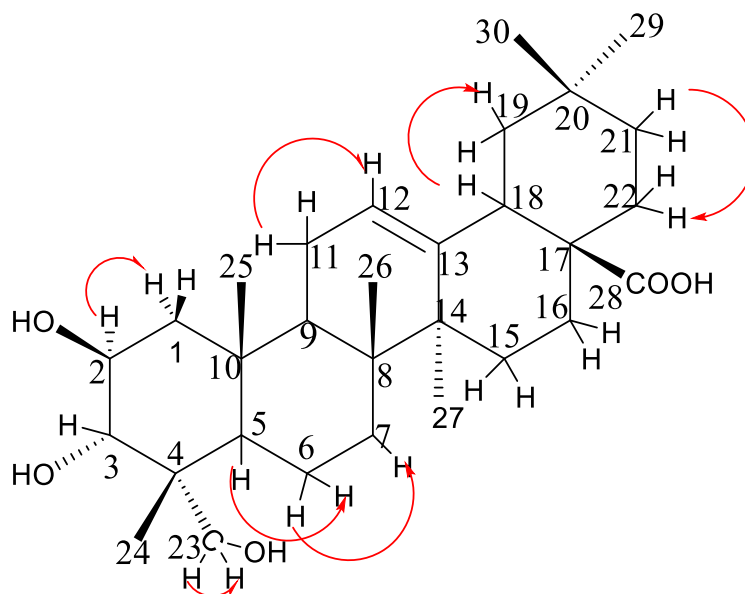


Figure 24: Spectre NOESY (500 MHz ; Acétone- d_6) du composé FAE1



Le spectre TOCSY (figure 26) du composé **FAE1** montre les couplages scalaires entre les protons H-11 et H-12 ; H-1 et H-2 ; H-2 et H-3 ; H-5 et H-6 ; H-15 et H-16 ; H-21 et H-22 et aussi les corrélations entre les protons Ha-23 à δ_H 3,28 et Hb-23 à δ_H 3,57; H-18 à δ_H 2,88 et Ha-19 à δ_H 1,77 et entre les protons H-18 et Hb-19 à δ_H 1,00.

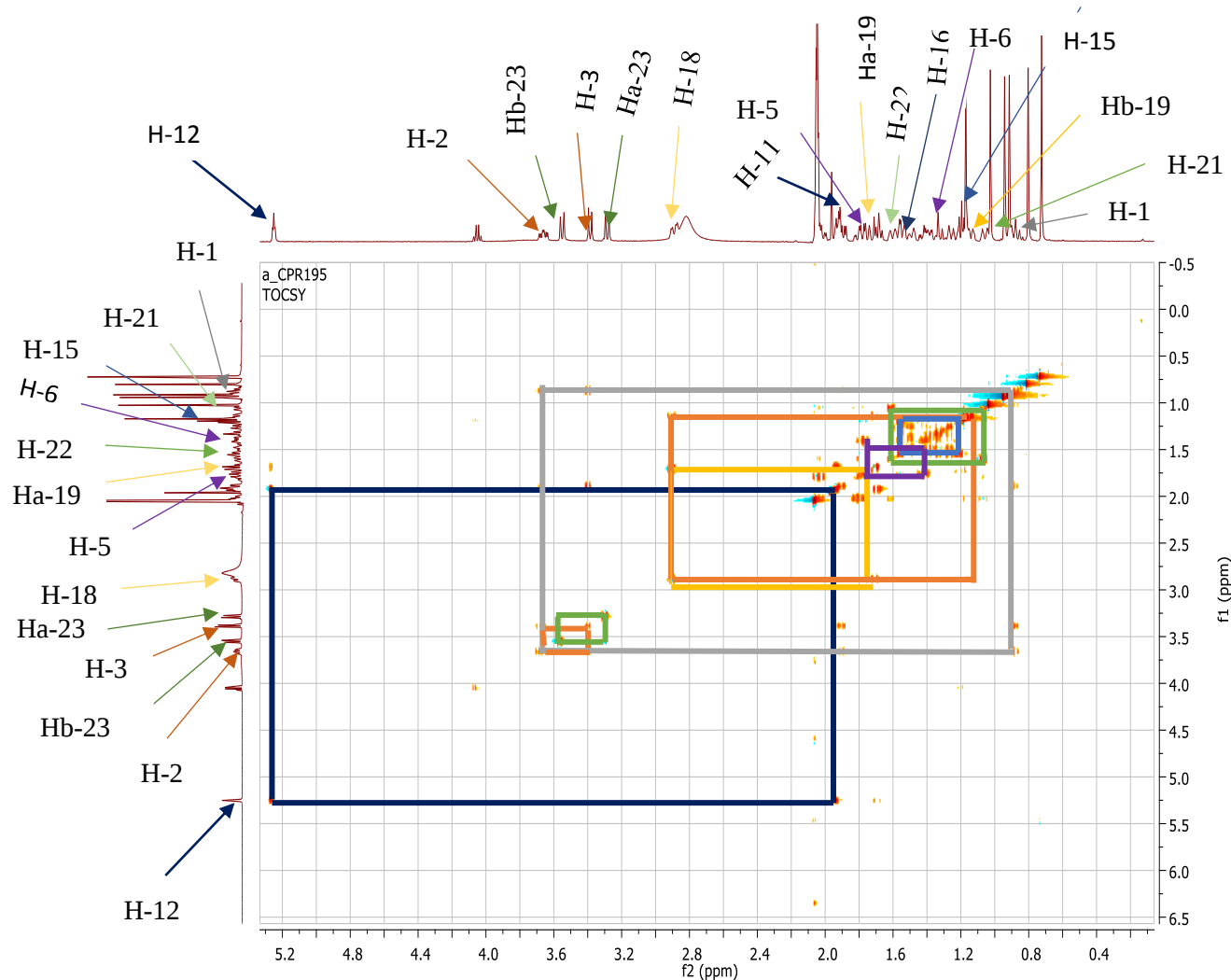


Figure 26: Spectre TOCSY (500 MHz ; Acétone- d_6) du composé FAE1

La figure ci-dessous nous montre quelques corrélations TOCSY de ce composé :

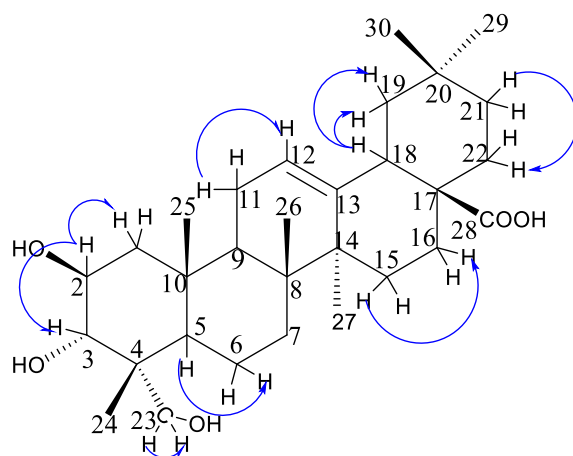


Figure 27: Quelques corrélations TOCSY

Compte tenu des données de la RMN 1D (RMN ^1H et RMN ^{13}C) et 2D (COSY, HSQC, HMBC, NOESY et TOCSY et par comparaison avec les données de la littérature, le composé **FAE1** a été identifié à l'acide Arjunolique (**99**) isolé précédemment des écorces des racines de *Terminalia catappa* Linn (Ichôron et al., 2018)

Tableau 6: Tableau des données spectrales RMN ^1H (500MHz, Acétone- d_6), RMN ^{13}C (125MHz, Acétone- d_6) du composé FAE1.

N°	δ_C de FAE1		δ_C	δ_H (m, J en Hz)	^{13}C -type
			Ichôron et al., 2018		
1	46,0	1,70; 1,16	47,1	1,74; 1,36	CH ₂
2	68,0	3,63 (m)	67,4	3,48 (m)	CH
3	77,6	3,38 (J= 9,5 Hz)	75,5	3,17 (J= 9,4 Hz)	CH
4	42,0	-	42,5	-	C
5	47,0	2,00	45,7	2,01	CH
6	17,8	1,69; 1,33	17,5	1,73; 1,33	CH ₂
7	33,6	1,46; 1,18	32,8	1,56; 1,10	CH ₂
8	39,3	-	40,8	-	C
9	47,3	1,66	47,4	1,54	CH
10	38,2	-	38,3	-	C
11	22,9	2,02; 1,50	23,4	1,83; 1,45	CH ₂
12	122,1	5,26 (1H, t, J=3.57 Hz)	121,4	5,17 (1H, t, J= 3,57 Hz)	CH
13	144,4	-	144,0	-	C
14	42,5	-	41,4	-	C
15	30,1	1,72	27,2	1,72	CH ₂
16	23,4	1,75; 3,36	23,9	1,70; 3,33	CH ₂
17	46,0	-	46,0	-	C
18	41,3	2.88 (dd, J =13,7; 4,3 Hz)	40,2	2,74 (dd, J= 13,7; 4,3 Hz)	CH
19	46,6	1,77; 1,19	46,7	1,67; 1,22	CH ₂
20	32,5	-	30,4	-	C
21	28,0	1,87; 1,71	32,1	1,87; 1,70	CH ₂
22	33,2	3,27; 1,20	35,4	3,27, 1,20	CH ₂
23	66,2	3,28 (d, J= 10,6 Hz); 3,57 (d, J= 10,6 Hz)	63,9	3,03 (d, J= 10,6 Hz); 3,30 (d, J= 10,6 Hz)	CH ₂
24	13,0	0,66 (3H)	13,7	0,54 (3H)	CH ₃
25	16,6	1,03 (3H)	16,9	0,91 (3H)	CH ₃
26	16,8	0,79 (3H)	16,8	0,71 (3H)	CH ₃
27	25,5	1,17 (3H)	25,7	1,10 (3H)	CH ₃
28	178,0	-	178,7	-	C
29	32,0	0,90 (3H)	23,0	0,87 (3H)	CH ₃
30	23,0	0,90 (3H)	22,6	0,87 (3H)	CH ₃

II-2-2 Identification du composé FAE2

Le composé **FAE2** se présente sous forme de poudre amorphe blanche. Il est soluble au MeOH et répond positivement au test de Dragendorff caractéristique des alcaloïdes.

Le spectre de masse LC-MS en mode positif du composé **FAE2** (Figure 24) présente le pic de l'ion pseudo-moléculaire $[M+H]^+$ à m/z 316,2597 (calculé pour 316,4731) correspondant à la formule brute $C_{21}H_{33}NO$, renfermant 5 degrés d'insaturations.

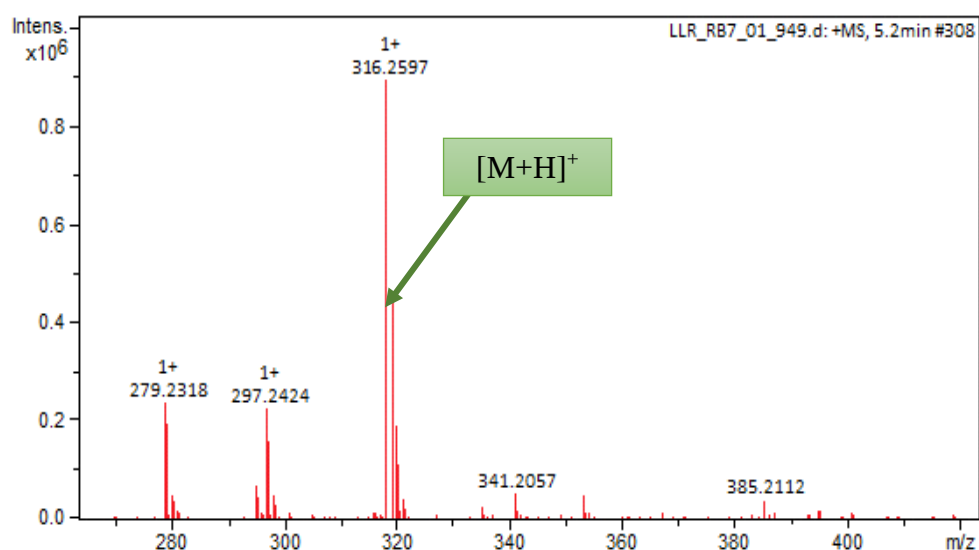


Figure 28 : Spectre LC-MS du composé FAE2

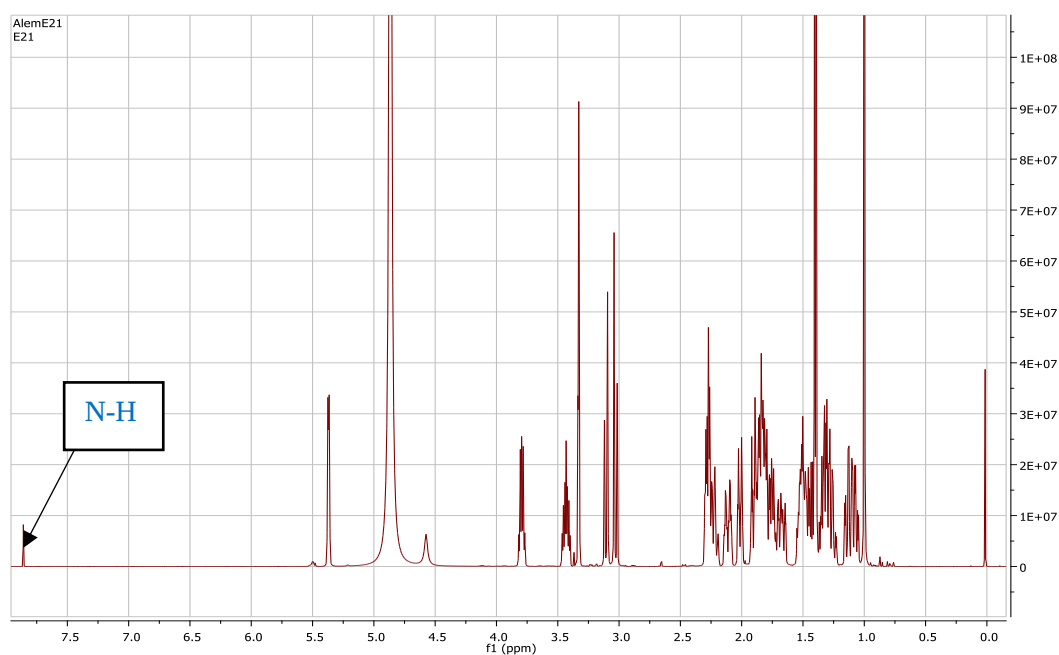
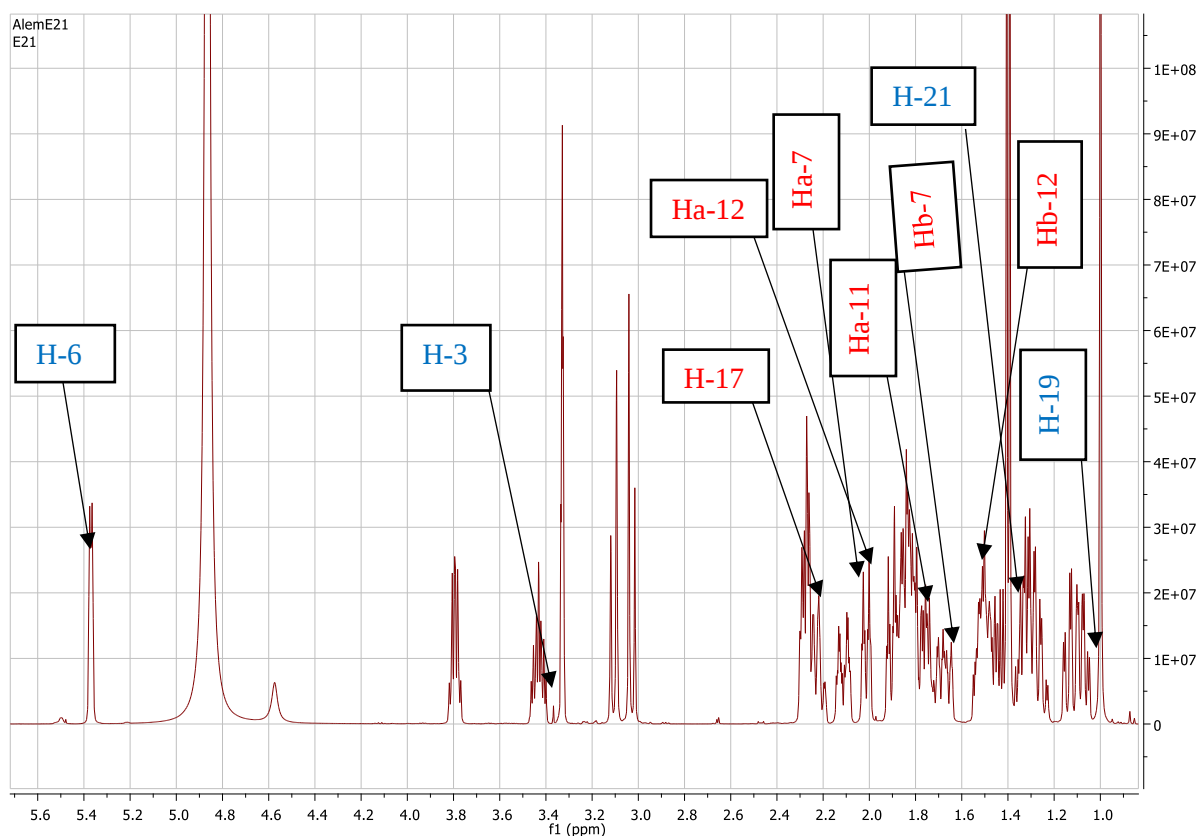


Figure 29: Spectre RMN¹H (500MHz, CDCl₃) du composé FAE2

L'analyse du spectre RMN ^1H présente plusieurs signaux de protons parmi lesquels nous avons les signaux de deux méthyles dont un tertiaire à δ_{H} 0,98 (3H, s, H-19) et l'autre secondaire à δ_{H} 1,39 (3H, d, $J = 6,3$ Hz, H-21) d'une part, et d'autre part, un signal à δ_{H} 5,37 (1H, d; $J = 4,1$ Hz, H-6) caractéristique d'un proton oléfinique. De plus, on observe la présence d'un hydroxyméthine à δ_{H} 3,35 (1H, dddd, $J = 12,0; 9,0; 6,5; 4,5$ Hz, H-3) ainsi qu'un signal à δ_{H} 7,86 (s) caractéristique du proton du groupement N-H. La présence de ce proton est confirmée sur le spectre COSY où l'on observe la corrélation entre le proton du groupement N-H et ceux à δ_{H} 2,28 (H-17) et 3,08 (H-18), de même que la corrélation entre le proton H-3 (δ_{H} 3,35) et H-4 (δ_{H} 2,22). En outre, l'on observe toujours un amas de signaux entre δ_{H} 1,20 et 2,25 caractéristiques des protons d'un squelette stéroïdien (Cheenpracha et al., 2016).



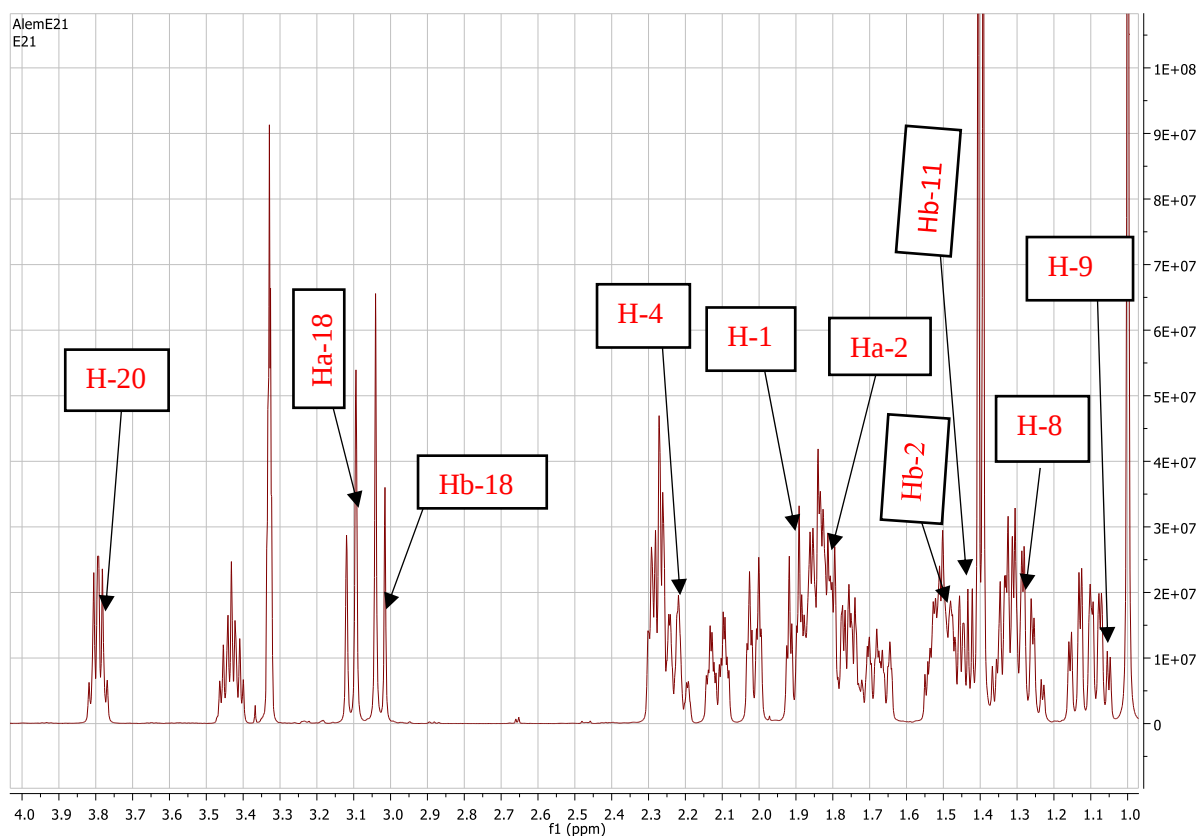


Figure 30: Spectre RMN ^1H élargi (500MHz, CDCl_3) du composé FAE2

Le spectre APT (figure 31) du composé FAE2 nous présente 21 signaux de carbone parmi lesquels nous avons les signaux de deux méthyles à δ_{C} 22,5 (C-19) et 16,3 (C-21), ainsi que les signaux à δ_{C} 144,9 (C-5) et 124,7 (C-6) caractéristiques des carbones oléfiniques; de même l'on observe les signaux de carbones à δ_{C} 53,0 (C-18) et δ_{C} 62,0 (C-20) caractéristique de la liaison C-N. l'on observe également le signal de carbone de l'hydroxyméthine à δ_{C} 74,8 (C-3).

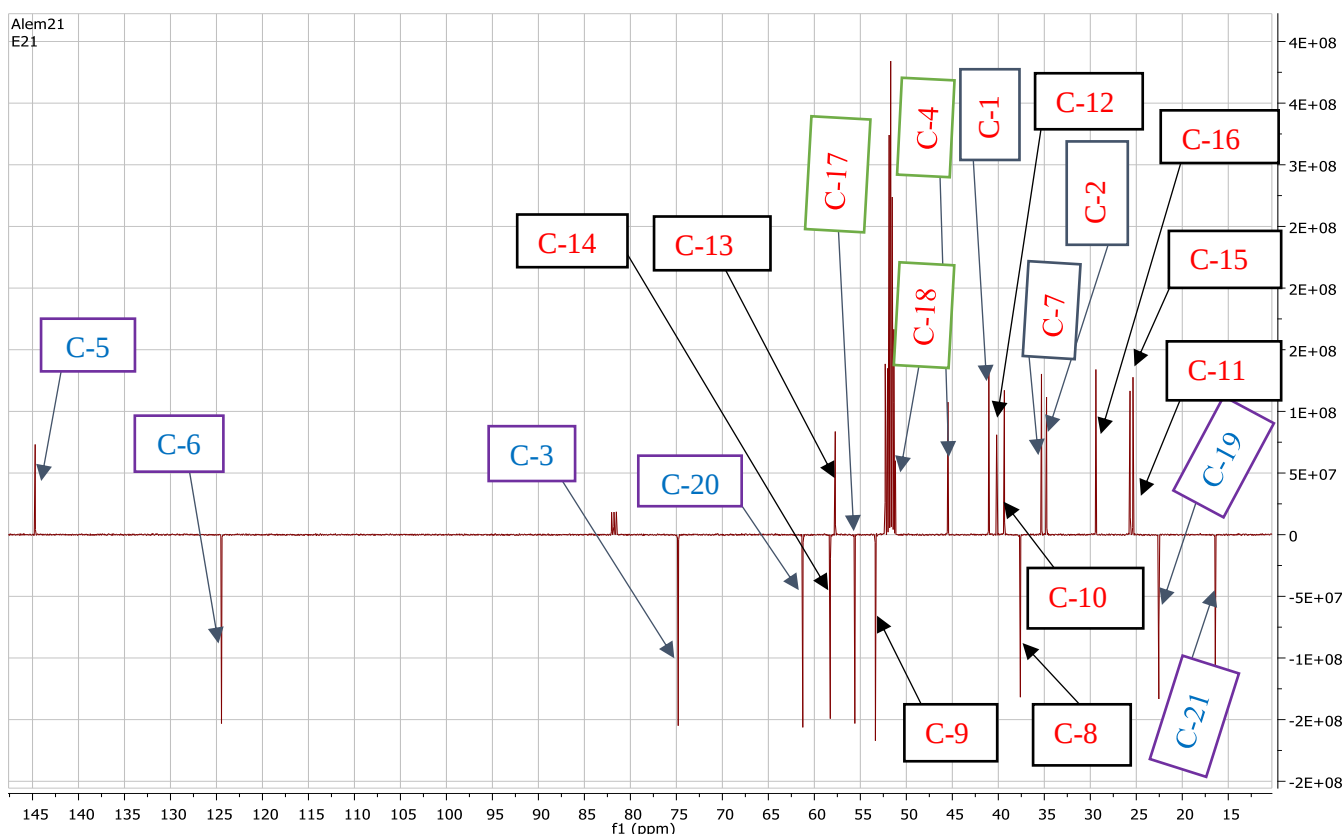


Figure 31: spectre APT (125 MHz, CDCl_3) du composé FAE_2

Le spectre COSY nous montre la corrélation entre le proton du groupement N-H et ceux à δ_{H} 2,28 (H-17) et δ_{H} 3,08 (H-18), une autre entre le proton à δ_{H} 3,35 (H-3) et à δ_{H} 2,22 (H-4) et également entre les protons à δ_{H} 3,76 (H-20) et à δ_{H} 1,39 (H-21), ensuite entre les protons à δ_{H} 3,35 (H-3) et δ_{H} 1,80 (Ha-2) et les protons à δ_{H} 1,79 (Ha-15) et δ_{H} 1,47 (H-14) ce qui confirme la présence d'un noyau stéroïdien dans la molécule.

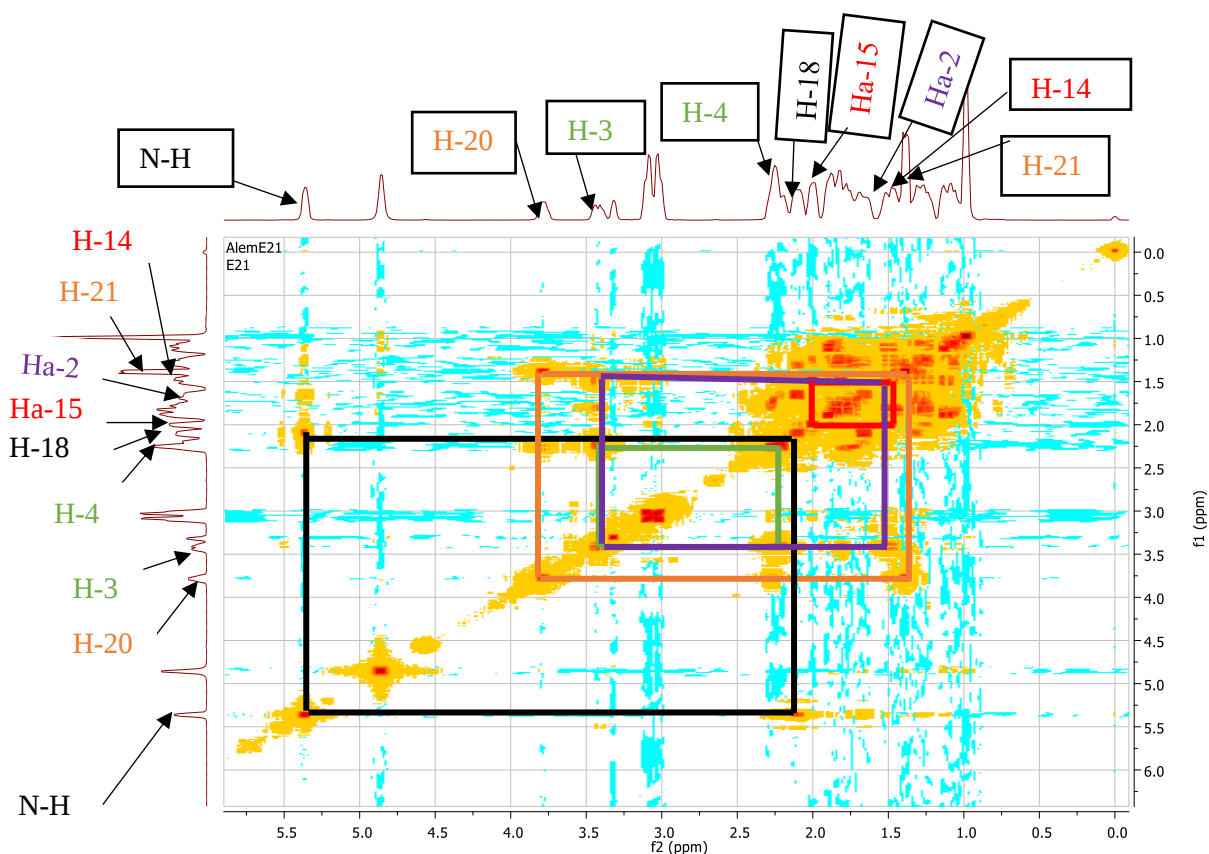


Figure 32: Spectre COSY élargi (500 MHz, CDCl_3) du composé FAE2

La figure 33 ci-dessous nous présente quelques corrélations COSY de ce composé :

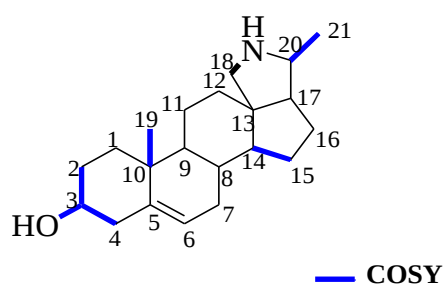


Figure 33: Quelques corrélations COSY

Le spectre HSQC (figure 30) du composé **FAE2** nous montre les corrélations carbone-proton directement liées. À cet effet, on observe les corrélations en 1J entre le proton H-3 et le carbone C-3 de l'hydroxyméthine, le proton H-6 porté par le carbone oléfinique C-6. On observe également les corrélations entre les protons H-19 et le carbone C-19, entre le proton H-21 et le carbone C-21, celui

H-14 et le carbone C-14, entre les protons de H-18 et le carbone C-18, ceux de H-16 et le carbone C-16, puis celui du proton H-17 et le carbone C-17 et les protons H-20 et le carbone C-20 prouve de la présence au sein de la molécule des carbones primaires (méthyles), secondaires (méthylènes), tertiaires (méthynes) et quaternaires.

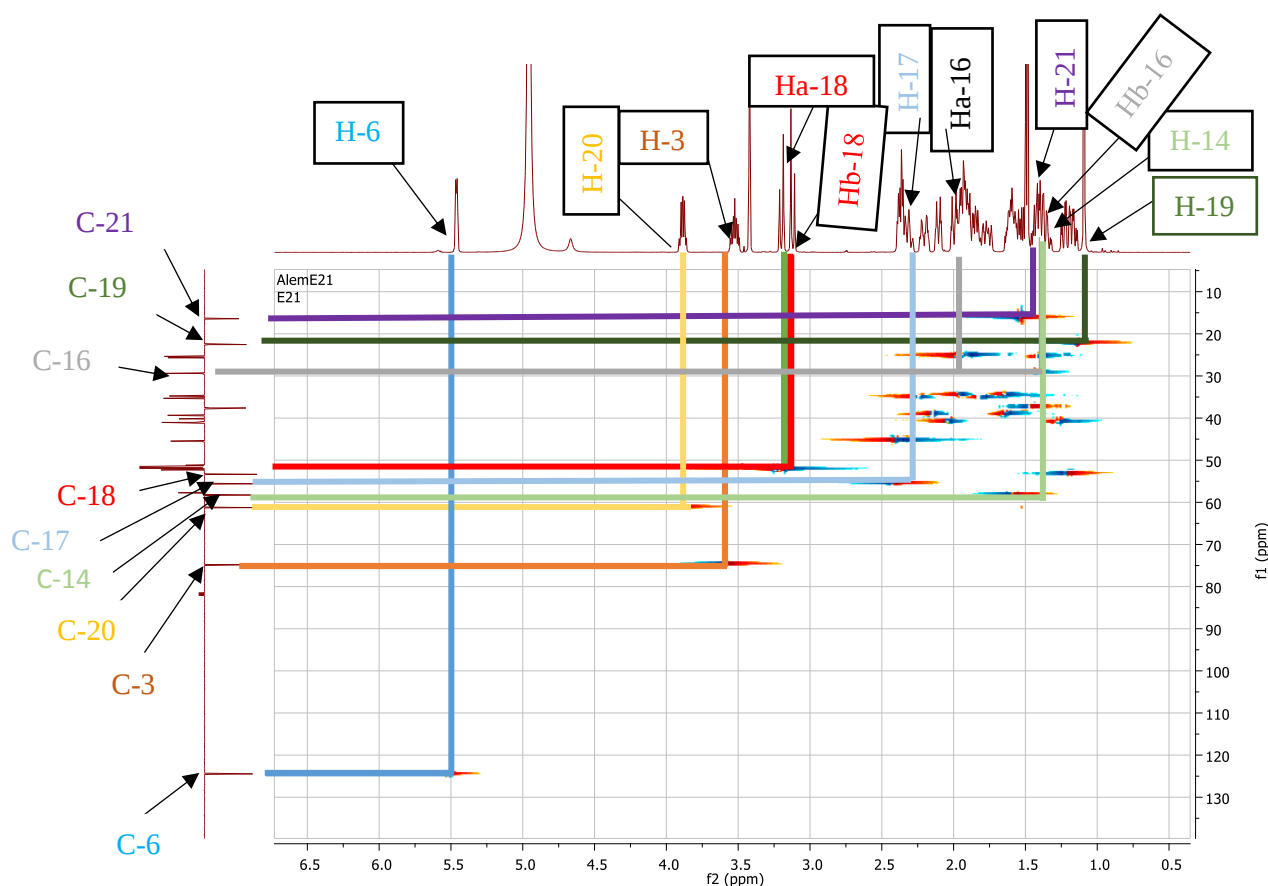


Figure 34: Spectre HSQC du composé FAE2

Les corrélations observées sur le spectre HMBC (figure 31) permettent justifier la position de la double liaison en C6-C5. En effet, pour la définir l'on s'est servi des corrélations HMBC entre le proton H-6 (δ_H 5,37) et les carbones C-5 (δ_C 144,9), C-4 (δ_C 45,5), C-2 (δ_C 35,0), C-7 (δ_C 35,4), C-10 (δ_C 39,8) ; de même ces corrélations nous ont permises de justifier la position de l'hydroxyle en C-3 passant par les corrélations entre le proton H-3 (δ_H 3,35) et les carbones C-1, C-2 (δ_C 35,0) et C-4. On observe également les corrélations en 1J entre le proton H-21 et le carbone C-21, celui H-14 et C-14; puis celles en 2J entre le proton H-15 et le carbone C-14, le proton H-20 et le carbone C-17 et aussi la corrélation en 5J entre le proton H-7 et le carbone C-19.

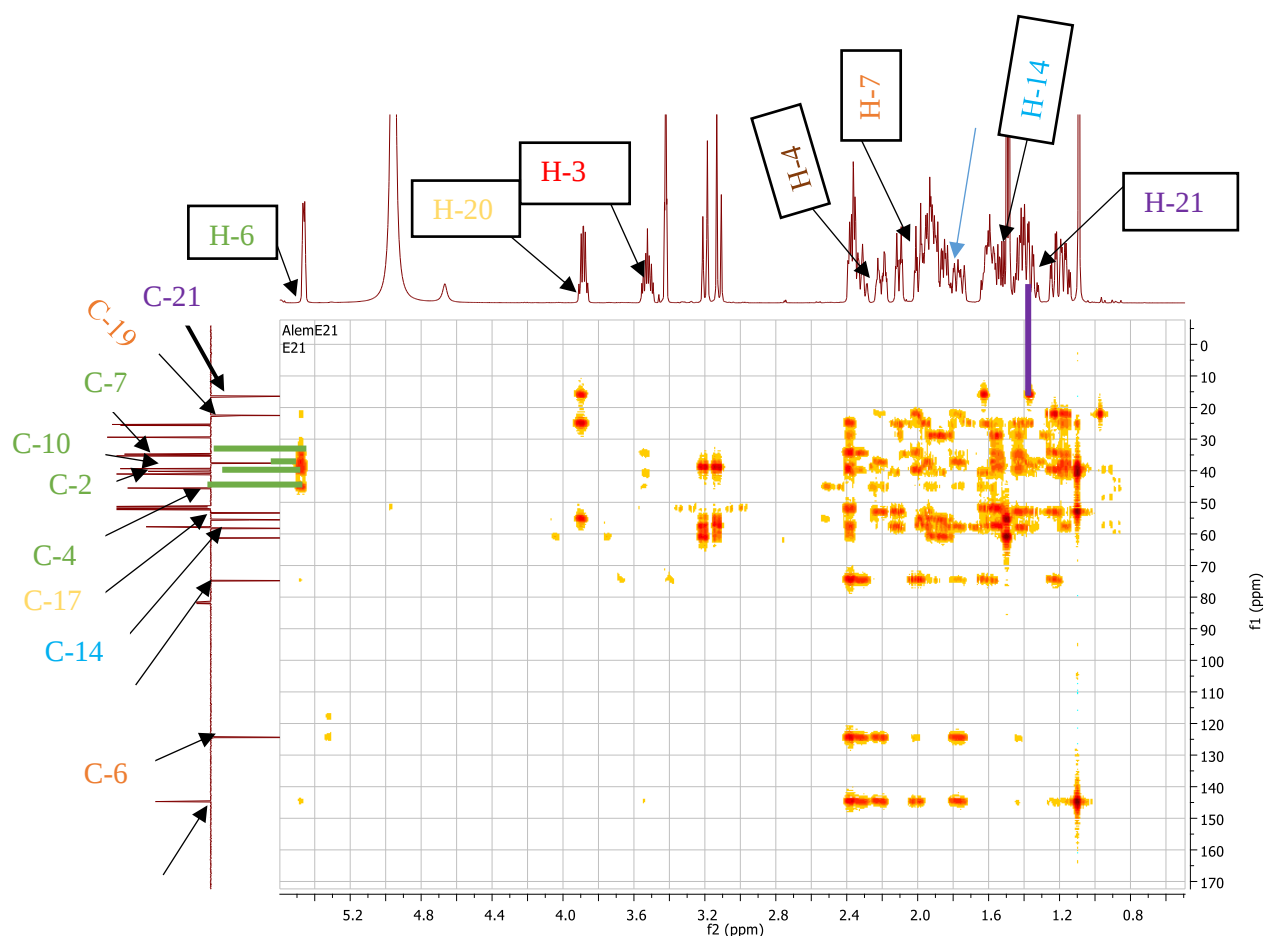


Figure 35: Spectre HMBC du composé FAE2

La figure 36 ci-dessous nous presente quelques corrélations HMBC.

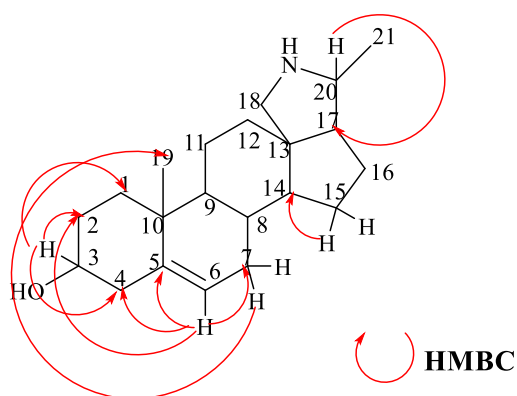


Figure 36: Quelques corrélations HMBC du composé FAE2

Le spectre NOESY (figure 33) du composé **FAE2** nous permet d'observer les corrélations scalaires entre les protons Ha-2 et H-3, H-6 et Ha-7, H-9 et H-19, ainsi que le protons H-17 et H-20

ce qui nous permet d'avoir une dispositions spatiales des atomes d'hydrogène dans la molécule et aussi d'avoir une stéréochimie dans la molécule.

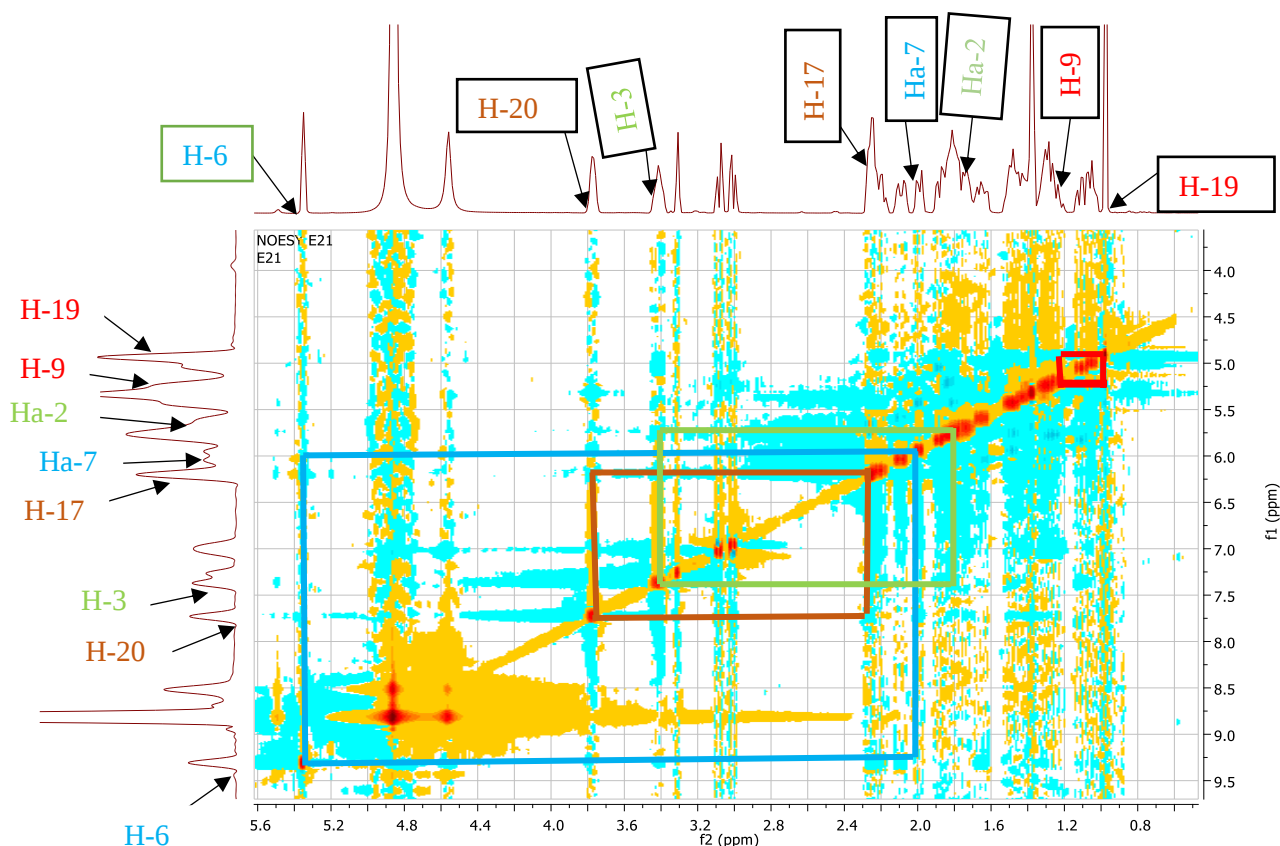


Figure 37: Spectre NOESY (500 MHz, CDCl_3) du composé FAE2

La figure 34 ci-dessous présente quelques corrélation observées au NOESY

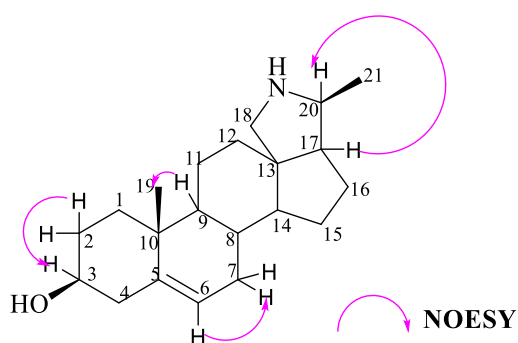
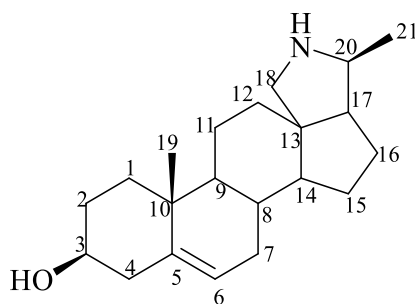


Figure 38: Quelques corrélations NOESY du composé FAE2

Après élucidation de la structure avec les différentes méthodes spectroscopiques (RMN 1D et RMN 2D) et par comparaison des données avec celles de la littérature, l'on constate que le composé **FAE2** a été identifié à la funtulatine (**100**) précédemment isolé de *Funtumia latifolia* en 1963 par Oletta et collaborateur.



100
Funtulatine

Tableau 7: Tableau des données spectrales RMN¹H (500MHz, CDCl₃), RMN¹³C (125MHz, CDCl₃) du composé FAE2.

Position	δ_C de FAE2 (ppm)	δ_H de FAE2 (ppm, <i>J</i> en Hz)	Données de la littérature dans le CDCl ₃ (Oletta et al., 1963)	
			δ_C (ppm)	δ_H (ppm)
1	42,0	1,89 (m)	42,1	1,92 (m)
2	35,0	1,80 (m)	35,2	1,83 (m)
		1,47 (m)		1,50 (m)
3	74,8	3,35 dddd (12,0; 9,0; 6,5; 4,5)	74,0	3,40 dddd (12,0; 9,0; 6,5; 4,5)
4a	45,5	2,22 (m)	44,4	2,25 (m)
5	144,9	-	144,2	-
6	124,7	5,37 <i>d</i> (<i>J</i> = 4,1)	124,5	5,40 <i>d</i> (<i>J</i> = 4,1)
7a	35,4	2,07 (m)	36,0	2,10 (m)
7b		1,66 (m)		1,69 (m)
8	37,5	1,28 (m)	36,3	1,30 (m)
9	53,4	1,06 (m)	52,1	1,08 (m)
10	39,8	-	39,8	-
11a	25,0	1,74 (m)	25,9	1,76 (m)
11b		1,43 (m)		1,45 (m)
12a	40,0	1,94 (m)	40,1	1,95 (m)
12b		1,48 (m)		1,50 (m)
13	57,5	-	57,9	-
14	58,4	1,47 (m)	60,2	1,50 (m)
15a	26,1	1,79 (m)	27,5	1,80 (m)
15b		1,28 (m)		1,30 (m)
16a	29,5	1,82 (m)	30,3	1,85 (m)
16b		1,27 (m)		1,25 (m)
17	55,8	2,28 (m)	56,5	2,30 (m)
18a	53,0	3,08 <i>d</i> (<i>J</i> = 12,5)	53,3	3,12 <i>d</i> (<i>J</i> = 12,5)
18b		3,01 <i>d</i> (<i>J</i> = 12,5)		3,09 <i>d</i> (<i>J</i> = 12,5)
19	22,5	0,98 s	21,4	0,95 s
20	62,0	3,76	62,2	3,80
21	16,3	1,39 <i>d</i> (<i>J</i> = 6,5)	16,3	1,40 <i>d</i> (<i>J</i> = 6,5)
NH	-	7,86 s	-	7,86 s

II-3 Activité antiplasmodiale

Les tests antiplasmodiaux effectués sur l'extrait brut de cette plante ont été mis au point pour justifier son usage ethno médicinale par les populations locales. En effet, cet extrait a exhibé une activité significative sur la souche CQS (3D7) de *P. Falciparum* avec une IC₅₀ de $3,32 \pm 0,29$ µg/ml ce qui démontre que cette plante détiendrait des constituants susceptibles de posséder une bonne activité antiplasmodiale (**Zihiri et al., 2005; Kom et al., 2021**).

CONCLUSION ET PERSPECTIVES

Notre étude des constituants chimiques des écorces de *F. africana* nous a permis à partir de l'extrait au méthanol et des méthodes chromatographiques usuelles d'isoler deux composés. Les techniques spectroscopiques ont permis d'identifier les deux composés comme étant l'acide arjunolique **(99)** et la funtulatine **(100)**. L'objectif que nous nous sommes fixé étant d'isoler des composé potentiellement antiplasmodiale; néanmoins, les test sur les composés isolés n'ayant pas été effectué pour cause de tps, nous avons donc testé l'extrait brut sur la CSQ (3D7) de *P. falciparum*. Au terme de cette étude, il en ressort qu'au vue de la valeur de l'IC₅₀ que l'activité de cette plante serait du à la présence de certains états seconds ayant démontré des activités significatives dans la littérature (synergie).

Compte tenu donc de l'intérêt pharmacologique de *Funtumia africana* nous envisageons poursuivre nos travaux de recherche en isolant des composés puis en effectuant des tests biologiques sur ces composés isolés afin d'évaluer leur efficacité thérapeutique.

CHAPITRE III: MATERIEL ET METHODES

III.1. Matériel végétal et appareillage

III.1.1. Matériel végétal

Récolte

Les écorces de *F.africana* ont été récoltées le 12 Décembre 2022 dans la région du Sud plus précisément à Niété, un arrondissement de ladite région situé à quelques kilomètres de la ville de Kribi et ont été identifiées par Mr NANA Victor, botaniste à l'herbier national du Cameroun où un échantillon de référence a été déposé au N°2486 SRF Cameroun.

Séchage et Broyage

Ces écorces ont été découpées, séchées pendant deux semaines à température ambiante, puis écrasées. Nous avons obtenu une poudre de 500,23 g.

III.1.2 Appareillages

Pour l'élaboration de notre travail, nous avons utilisés en plus de la verrerie standard du laboratoire de chimie les appareils et matériels ci-après :

- Balance électronique : La masse de poudre et les cristaux ont été mesurés à l'aide d'une balance électronique de marque HERN & Sohn GmbH, D-72336 Balingen, Germany.
- L'extrait au méthanol a été obtenu par évaporation à l'aide d'un évaporateur rotatif de marque BUCHI-100.
- Les chromatographies sur colonne ont été réalisées à l'aide du gel de silice 60 (0,063- 0,200) de type Merck KGaA et plusieurs colonnes ouvertes en verre frittée de dimension variables ont été utilisées.
- Les plaques chromatographiques : La réalisation des chromatographies sur couche mince de silice s'est effectuée sur des plaques pré-fabriquées sur feuilles d'aluminium de type MERCK KGaA ayant des dimensions 200x200x0,1mm. Ces plaques ont été éluées à l'aide des systèmes de solvants DCM/Méthanol et Hexane/Acétate de polarités variables.
- La révélation : Les plaques chromatographiques ont été révélées en utilisant d'abord une lampe UV de longueurs d'onde 254 nm et 365 nm et de marque FISHER BIOBLOCK SCIENTIFIC, ensuite pulvérisée au mélange H₂SO₄/ETOH dans les proportions 10/100 et enfin chauffé sur une plaque chauffante à environ 105 °C.

- La verrerie : les filtrat issu de l'extraction et les fractions provenant de la colonne de chromatographie ont été successivement concentré a l'aide d'un évaporateur rotatif de type Heidolph. La chromatographie sur colonne a été effectué dans une colonne de verre de type PYREX de hauteur 64 cm et de diamètre 3 cm. Les plaques CCM ont été développés dans une cuve chromatographique de marque DESEGA Heidelberg.
- Le chauffage à reflux a été effectué sur une plaque chauffante de marque Heidolph MR 3001 K (800W).
- Types de solvants : plusieurs solvants ont été utilisés pendant notre étude. Nous avons principalement le chlorure de méthylène (CH_2Cl_2), le méthanol (MeOH) et l'acetate d'éthyle (AcOEt) et l'hexane (Hex).

III.2. Méthode

III.2.1. Extractions

La méthode d'extraction utilisée est la macération. Les écores de *F.africana* découpées, séchées et broyées (500,23 g), ont été extraites au méthanol à 3 reprises(chacune après 72h) à température ambiante. Apres filtration et évaporisation à basse pression du MeOH, nous avons obtenu 40,2g d'extrait brut.



(a)



(b)

Figure 39: Évaporateur rotatif (a), amalgame (b) (Source : Photo Bilo'o, 2023)

III.2.2. Fractionnement et Purification

✚ Fractionnement

Une partie de cet extrait brut (30,32 g) a subi un fractionnement par CC de gel de silice de type Merck KgaA de granulometrie 0,063-0,200 mm et puis laissé sécher sous la hotte pendant 24 h et élué avec le mélange $\text{CH}_2\text{Cl}_2/\text{MeOH}$ de polarité croissante. Les volumes de 100 mL ont été recueillis et concentré par évaporation. Les différentes fractions ont été recueillies et regroupées (F_A à F_E) sur la base des CCM en fonction des similitudes observées sur les plaques.

Tableau 8: Tableau de regroupement des fractions issues de l'extrait brut des écorces de *F.africana*

Système	Flacon/Regroupement		Série	Observation à l'UV
$\text{CH}_2\text{Cl}_2/\text{MeOH}$ (50/1)	1-25	F1-F25	F_A	-Précipité+ 2 tâches
$\text{CH}_2\text{Cl}_2/\text{MeOH}$ (30/1)	26-45	F26-F45	F_B	-Trainée
$\text{CH}_2\text{Cl}_2/\text{MeOH}$ (15/1)	46-64	F46-F64	F_C	-3 tâches + trainée
$\text{CH}_2\text{Cl}_2/\text{MeOH}$ (10/1)	65-88	F65-F88	F_D	-Plusieurs tâches distinctes avec des trainées
$\text{CH}_2\text{Cl}_2/\text{MeOH}$ (5/1)	89-105	F89-F105	F_E	-Plusieurs tâches au niveau du front



(a)



(b)

Figure 40: Colonne (a); plaque CCM (b) du composé FAE1 (Source: Photo Bilo'o, 2023)

✚ Purification

La fraction F_A a subi une purification sur colonne de gel de silice avec pour éluant Hex/AcOEt (9:1) à polarité croissante donnant ainsi 4 sous fractions (A, B, C, D). Par la suite la sous fraction B a subi une purification sur colonne de gel de silice avec pour éluant Hex/AcOEt à polarité (50:50) nous permettant d'obtenir le composé sous forme de poudre indexé **FAE2** (55,97 mg) soluble au CH_2Cl_2 /MeOH (1/1). La sous fraction C quant a elle a subi une purification sur colonne de Sephadex LH₂₀ au méthanol pur nous permettant d'obtenir le composé solide de couleur marronne indexé **FAE1** (39,24 mg) soluble au CH_2Cl_2 /MeOH (2/1)

Tableau 9: Chromatogramme de la purification

Fraction	Systeme	Série	Systeme	Observation à l'UV
F_A	Hex/AcOEt (30/1)	A	-	-Plusieurs tâches distinctes
		B	Hex/AcOEt (50/50)	-Présence d'une tâche (FAE2)
		C	Sephadex LH ₂₀ (MeOH)	-Présence d'une tâche (FAE1)
		D	-	-Trainée



(a)

Figure 41: Colonne (a) du composé FAE2 (Source: Photo Bilo'o, 2023)

III.3. Test de détection des métabolites secondaires isolés

✚ Test de Liebermann Burchard: identification des triterpenes

Le réactif de Liebermann Buchard est préparé en dissolvant 3 mg du composé **FAE1** dans 10 mL de CH₂Cl₂/MeOH et quelques gouttes d'anhydride acétique ont été ajouté avec quelques gouttes d'acide sulfurique concentré dans un tube à essai. La formation de couleur rouge intense, violette puis bleu et enfin vert foncé était révélatrice de la présence de triterpenoïdes.

✚ Test de Dragendorff: identification des alcaloïdes

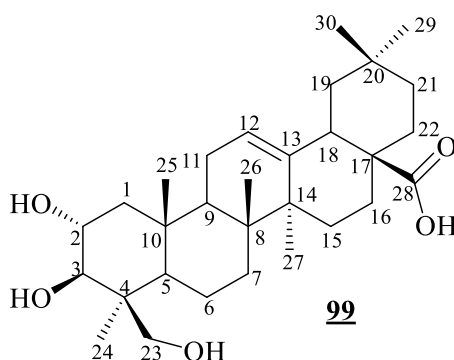
Le réactif de Dragendorff est préparé en dissolvant dans un bécher vide 0,5 g de nitrate de bismuth dans 10 mL d'eau, puis on ajoute 10 mL d'acide chlorhydrique dans un autre bécher vide on introduit par la suite 4 g d'iodure de potassium avec 3 mL d'eau; On mélange le tout et on agite légèrement.

Test: 1 mg de composé est dissout dans un tube à essai à l'aide de 5 mL de méthanol, puis quelques mL du reactif de Dragendorff. On observe un changement de coloration du mélange qui vire à l'orange caractérisant les alcaloïdes.

III.4. Caractéristiques physico-chimiques des composés isolés

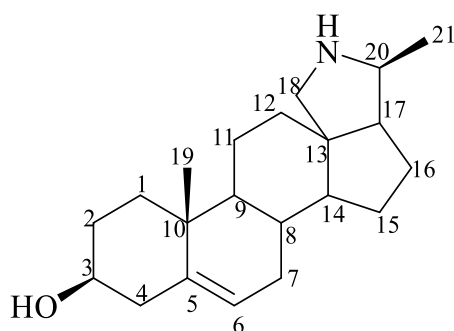
III.4.1. FAE1

- ✚ **Nom:** Acide arjunolique
- ✚ **Formule brute:** C₃₀H₄₈O₅
- ✚ **Aspect physique:** Poudre marronne
- ✚ **m/z:** 488,35
- ✚ **Solvant de solubilité:** CH₂Cl₂/MeOH (1/1)
- ✚ **Test de Liebermann Burchard:** Positif (coloration verte)

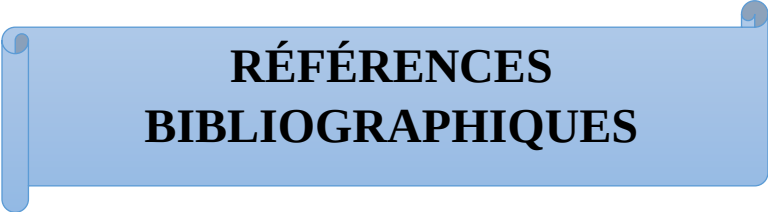


III.4.2. FAE2

- + **Nom:** Funtulatine
- + **Formule brute:** C₂₁H₃₃NO
- + **Aspect physique:** Poudre orange
- + **m/z:** 316,2597
- + **Solvant de solubilité:** CH₂CL₂/MeOH (2/1)
- + **Test de Draggendorff:** Positif (coloration orangée)



100



RÉFÉRENCES BIBLIOGRAPHIQUES

- Adjanooun E., Ake L. 1979.** Contribution au recensement des plantes medecinales de Côte d'Ivoire (I). *Ministère de la Recherche Scientifique*. Côte d'Ivoire. 358pp.
- Ankrah, Nyarko, Addo, Ofosubene, Dzokoro, Marley, Addae. 2003.** Evaluation of efficacy and safety of a harbal medecine used for the treatment of malaria. *Phytoterapy Research*. 17 (1). pp. 697-701.
- Aubreville. 1959.** La flore forestiere de cote-d'ivoire. *Tome III : Apocynaceae. Karthala Edition*; Paris,France: 334pp.
- Bhat S., Nagasampagi B., Sivakumar M. 2005.** Medicinal and therapeutic potential of Sea buckthorn (*Hippogae rhamnoides* L.). *Current Organic Chemistry*. 4, pp. 237-238.
- Bitencourt C., Nurk N., Rapini A., Fishbein M., Simoes A., David J. 2021.** Evolution of dispersal, habit, and pollination in Africa pushed Apocynaceae diversification after the Eocene-Oligoceneclimate transition. *Planta Medica* 43(1), pp. 21-22.
- Bitombo A., Zintchem A., Atchade A., Ndedi E., Kahn A., Bikobo D., Pegnyemb D., Bochet C., 2021.** Antimicrobial and cytotoxic activities of indole alkaloids and other constituents from the stem bark of *Rauvolfia caffra* Sond (Apocynaceae), *Natural Product Research*, DOI:10.1080/14786419.2021.1891054.
- Boiteau P., Allorge L. 1978.** Morphologie et biologie florale des Apocynaceae : Différences essentielles entre les plumeriodeae et les Tabemaemontanoideae. *Planta Medica*. 2(17). pp. 305-326.
- Bouquet, Debray . 1974.** Plantes medecinales de la Côte-d'Ivoire. *Ministère de la Recherche Scientifique Orstom. Paris France*. pp. 24-25.
- Bruneton J. 1999.** "Pharmacognosie phytochimie des plantes médicinales", *Technique et Documentation Lavoisier*, Paris, 2e Edition, p.915.
- Brunetton J. 1993.** "Pharmacognosie : Phytochimie, plantes médicinales", *Technique et documentation*, Paris, 3e Edition, p. 1120p.
- Burkill H., 1985.** The useful plants of West Tropical Africa, families A-D. *Royal Botanic Garden, KEW, great Britain*. 2. pp. 150-152.

- Burkill H., 1985.** Les plantes utiles de l'Afrique tropicale de l'Ouest. 2e édition. Volume 1, Famille A-D. Jardins botaniques royaux, Kew, Richmond, Royaume-Uni. p.96
- Burkill H., 2014.** The useful plants of west tropical Africa. *Royal Botanic Garden*. 50 (3). p.111-116, 985-969.
- Camargo K., Mariana G., Acácio R., Raquel G., Daiane S., Luciana M., Leila R., Grasiely F., Diogo M., Lucienir P., 2022.** "Pentacyclic Triterpenoïdes Isolated from *Celastraceae* : Afocusinthe ¹³C CNMR data", Review, 27, 959p.tps://doi.org/1ht0.3390/molecules27030959.
- Canceli N., Curcino V., Schripsema J., Mathias L., Braz-filho R., 2002.** Darcyrbeirine, a novel pentacyclic indole alkaloid from *Rauvolfia grandiflora* Mart. *Tetrahedron lett.* 43(10):1783-1787.
- Chappell J. 1995.** The Biochemistry and Molecular Biology of Isoprenoid Metabolism, *Plant Physiology and Biochemitry program*, 107, pp.1-6.
- Cisse F. 2022.** Évaluation de l'efficacité in vivo de la pyronadine-artesunate dans le traitement du paludisme non compliqué à Faladje, cercle de Kati au Mali. *Clinical Infections Diseases* 23(116). p. 3-4.
- Darshani P., Sarma S., Amit K., Rinku B., Deepak K., 2022.** "Antiviral triterpenes", *Phytochem Review*: <https://doi.org/10.1007/s11101-022-09808-1>.p.3.
- Endress M., Bruyns P. 2000.** A revised classification of the Apocynaceae s.l. According to a New Approach Combining Linnaean and Phylogenetic Taxonomy, *Botanic Review* 66, pp. 1-56.
- Endress M., Bruyns P., 2014.** A revised classification of the Apocynaceae s.l. According to a New Approach Combining Linnaean and Phylogenetic Taxonomy, *Botanic Review* 66, 1-56.
- Fouquet I., Hermsen C., Gemert V., Van B., Weening K., Sauerwein R., Meuleman P., Roels I., 2014.** Vaccine-induced monoclonal antibiobodies targeting circumsporozoite protein preven *Plasmodium falciparum*. *Journal of Clinical Investigation*, 124(1), p.140-144. <https://doi.org/10.1172/JCI70349>
- Gnahore A. 2014.** Évaluation du test "SD BIOLINE Malaria Antigen Pf(HRP2/pLDH)" pour le diagnostic rapide du paludisme à Abidjan(Cote-d'Ivoire). *Biochemistry and Pharmacology* 48(3): 569-570.

- Gnahore A. 2019.** Epatoprotective and curative effects of methanol extract of *Funtumia africana* leaves against carbon tetrachloride-induced liver damage in rat. *Drug Invention Today*. 12(2). P.352-358.
- Gravel E. and Poupon E., 2010.** Biosynthesis and biomimetic synthesis of alkaloids isolated from plants of the Nitraria and Myrioneuron genera. An unusual lysine based metabolism. *Current Organic Chemistry* 27. P. 32-56.
- Harkati B. 2011.** "Valorisation et identification structurale des principes actifs de la plante de la famille des Asteraceae : *Scorzonera undulata*", Université Mentouri-constantine : Thèse p.16.
- Heftmann E. 1975.** Functions of steroids in plants. *Journal of Phytochemistry*, 42(1): 94-96.
- Herbier National du Cameroun (HNC). 2022.** Répartition géographique de *Funtumia africana*. Volume 1. P. 1.
- Hesse M. 2002.** Alkaloids-Nature's Curse or Blessing VHCA. *Phytochemistry* 45(2): 105-111.
- Hidayatul A., Hadiani I., Che P., 2022.** Steroidal Alkaloids from the Apocynaceae Family: Their Isolation and Biological Activity, *Phytochemistry* 7(2): 76-79.
- Ichôron N., Terrumun A., Tor-Anyiin S., Igoli J., 2018.** Arjunolic Acid from the Root Bark of *Terminalia catappa* Linn. *Natural Product Research*, 2(11):494-497.
- Ikechukwu U., Egba S., Uchenna O., Orjiakor C., Agbafor A., Alaribe C., 2019.** Therapeutic effects of methanolic extract of *funtumia africana* leaves on antioxidants and hematological indices of carbon tetrachloride-induced oxidative stress in rats. *Drug Invention*. 12(1) :114-122.
- Iwu M., Court W., 1982.** Stem bark alkaloids of *Rauvolfia vomitoria*. *Planta Medica* 45(2):105-111.
- Jacob J. 2003.** "Enregistrement des variations paléo environnementales depuis 20000 ans dans le Nord Est du Brésil (Lac Caço) par les triterpènes et autres marqueurs organiques", Thèse doctorat. Université d'Orléans disponible sur <http://www.archivesouvertes.fr/tel-0002942.pdf>.
- Keay R. 1989.** Trees of Nigeria.-Clarendon Press Oxford. 11(1): 322.

- Klaus M. 1999.** « *The Shikimate Pathway* », Annual Review of Plant Physiology and Plant Molecular Biology, 7(12): 473-503.
- Kom M., Auguste Abouem A., Kopa T., Alex A., Tchokouaha A., Yamthe L., Michel F., Ngono D., Pegnyemb D., 2021.** Activité inhibitrice antiplasmodiale et antileishmaniale des triterpènes et des alcaloïdes stéroïdiens des feuilles de *Funtumia elastica* (Preuss) Stapf (Apocynaceae). *journal of fitoterapia* , 151, 104869.
- Kom M., Auguste Abouem A., Kopa T., Alex A., Tchokouaha A., Yamthe L., Michel F., Ngono D., Pegnyemb D., 2023.** Funtulaticamide, a phytosphingosine-type ceramide from *Funtumia elastica* Preuss Stapf. (Apocynaceae) trunk bark with potential antileishmanial activity. *journal of fitoterapia* , 106, 104569.
- Langlois., 2014.** Rôles et limites des tests de diagnostic rapide du paludisme (these de pharmacie). 94-98.
- Leewenberg & van Dilst. 2001.** Series of Revisions of Apocynaceae XLIX, *Phytochemistry*.42(1): 94-96.
- Mahato S. and Kundu A., 1994.** ¹³C NMR Spectra of pentacyclic triterpenoids: A compilation and some salient feature. *Phytochemistry*; 37(6):1517-1575.
- Mahato., Nandy., Gita. 1992.** Triterpenoids. *Phytochemistry*, 31. Pp. 2199-2249.
- Mann A., Fatope M., Okogum J., 2012.** Isolation and elucidation of three triterpenoids and its antimycobacterial activity of *Terminalia avicenioides*. *Organic Chemistry*, 2(2):14-20.
- Mann., Davidson., Hobbs., Banthorpe., Harborne. 1994.** Natural medical Products: A biosynthetic and chemical approach, Longman. *Chemistry*, 7, p. 389.
- Maurya A., Gupta S., Srivastava S., 2013.** Large-scale separation of antipsychotic alkaloids from *Rauvolfia tetraphylla* L. By pH-zone-refining fast centrifugal partition chromatography. *J Sep Sci.* 36(2):407-413
- Mukam L., Charles A., Hentchoya J., Njimi T. 1973.** Propriétés antifongiques des écorces et feuilles de *funtumia elastica*, Institut de Chimie, Université de Strasbourg, France, tetrahedron letter , pp2779-2782.

- Nes and Heftmann. 1981.** A Comparison of Triterpenoids with Steroids as Membrane Components. *Journal of Natural Product*. 44, pp.377–400.
- Ngou M., 2022.** ‘‘Determination des facteurs associés à l’engagement sexuel chez *Plasmodium falciparum*’’, Université de Montpellier.These doctorat. *Journal of Clinical Investigation* 249(1), pp. 27-30.<http://these.hal.science/tel-o4086675>
- Niangali. 2021.** Évolution de la tolérance et l’immunogénécité d’un candidat vaccin antipaludique dérivé de la MSPI (FMP1) associé à l’adjuvant ASO2A dans une population semi-immune à Bandiagara, Mali these pharm. 7(2): 74-77.
- Nidhi S., Shrivastava A., Saxena R. 2012.** Preliminary physico-phytochemical study of stem bark of *alstonia scholaris* (L.). *Medicinal plant*, 4. pp 1071-1075.
- Odugmebi A., Akinsulire O., Aibinu I., Fabeku P. 2006.** Medecinal plants useful for malaria therapy in Okeigbo, Ondo State, Southwest Nigeria. *African Journal of Traditional & Complementary alternative Medecine*. 4 :191-198.
- Oletta C., S.A., 1963.** An alkaloid obtained from the bark of *Funtumia latifolia*, 1, 328,589 in Chemical Abstract (1964). French Patent 60, 642.
- Organisation Mondiale de la Santé, 2021.** Paludisme. <http://www.who.int/fr/news-room/fact-sheet/detail/malaria>.
- Organisation Mondiale de la Santé, 2022.** Paludisme. <http://www.who.int/fr/news-room/fact-sheet/detail/malaria>.
- Orwa C., Mutua A., Kindt R., Jamnadass R., Anthony S. 2009.** Agroforestry tree database, a tree reference and selection guide version 4.0,. (<http://www.worldagroforestry.org/sites/tree-database.asp>).
- Palgrave. 2002.**Trees of Southerm Africana. *Phytochemistry*, 3rd edition,New Holland Publishing,South Africa.1, p. 958.
- PNLP, Programme National de Lutte contre le Paludisme 2022.** Palusdisme et histoire du paludisme au Cameroun.
- PNPMT, Programme National de la promotion de la Médecine Traditionnelle 2020.** Plantes et outils de la médecine traditionnelle en côte d’ivoire.

- Ramadwa T., Elgorashi E., McGawa L., Ahmed A., Eloff J., 2017.** Antimicrobial, anti-inflammatory activity and cytotoxicity of *funtumia africana* leaf extract fractions and the isolated methyl ursolate. *Natural Product Research* 108, pp. 126-131.
- Ramadwa., Elgorashi., McGaw., Ahmed., Eloff., 2016.** Antimicrobial, anti-inflammatory activity and cytotoxicity of *Funtumia africana* leaf extracts, fractions and the isolated methyl ursolate. *Journal of botany*, 108. Pp. 126-131.
- Ramesh A., Christopher J., Radhika R., Setty C., 2012.** Isolation, characterization and cytotoxicity study of Arjunolic acid (1) from *Terminalia arjuna*. *Natural Product Research*, 26(16):1549-1552.
- Rodney., Toni., Buchanan., Gruissen., Jones., Norman. 2000.** Natural Products (Secondary Metabolites) in Biochemistry and Molecular Biology of plants; Eds. *American Society of Plant Physiologists*. 7, pp. 1250-1318.
- Tailter., Yagua. 1989 .** La flore dense d'Afrique centrale: Identification pratique des principaux arbres, Approche botanique et systematiques. 56, p 1205-1208.
- Thimmappa R., Geisler K., Louveau T., O'Maille P., Osbourn A. 2014.** "Triterpene Biosynthesis in Plants", *Review. Plant Biologcal*, 65, pp. 225–57.
- Uroko R., Agbafor A., Nwuke C., Uhwo E., Nweje-Anyalowu P., Orjiakor C. 2017.** The worldwide trend of using otanical drugs and strategiea for developping global drugs. *Planta Medica*. 3, pp. 111-116.
- Uroko R., Chukwu C., Egba S., Adamude F., Ajuzie J. 2020.** Combined ethanol extract of *funtumia africana* and *Abutilon mauritianum* laeves improves the lipid profile and kidney function indices of benign prostatic hyperplasia in rats. *Acta Scientarium polonorum, Technologia Alimentaria*. 19(4): 395-404.
- Wagner H., Seegert K., Sonnenbichler H., Ilyas M. 1987.** Steriodal alkaloid of *funtumia africana*. *Planta Medica*. 53(5): 444-9.
- WHO, World Health Organization 2015.** Foundation for innovation new diagnostic, contents for deseases control and prevention. Malaria rapid diagnostic test performance: Results of Who product testing of malaria RDTs, 9789241510035.

Zihiri G., Grellier P., Guédé-Guina F., Bodo B., Mambou L., 2005. Isolation, characterization and antiplasmodial activity of steroidal alkaloids from *Funtumia elatica* (Preuss) Stapf. *Bioorganic & Medicinal Chemistry Letter*, 15, pp2637-2640.