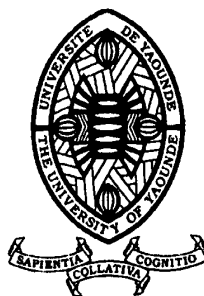


REPUBLIQUE DU CAMEROUN

Paix – Travail – Patrie

UNIVERSITE DE YAOUNDE I
ECOLE NORMALE SUPERIEURE
DEPARTEMENT DE DEPARTEMENT DE
CHIMIE



REPUBLIC OF CAMEROUN

Peace – Work – Fatherland

UNIVERSITY OF YAOUNDE I
HIGHER TEACHER TRAINING COLLEGE
DEPARTMENT OF CHEMISTRY DEPARTMENT

ETUDE CHIMIQUE DUNE FRACTION DE L'EXTRAIT AU METHANOL DES FEUILLE DE L'ESPECE CAMEROUNAISE LANTANA CAMARA (VERBENACEAE)

Mémoire présenté et soutenu en exigences des conditions requises pour
l'obtention du Diplôme de Professeur de l'Enseignement Secondaire 2ème
Grade(DI.P.E.S.II)

Par :

NJOMO Daris Maxime
Licencié ès Sciences

Sous la direction
NGOUELA Silvère Augustin
Professeur

Année Académique
2015-2016





AVERTISSEMENT

Ce document est le fruit d'un long travail approuvé par le jury de soutenance et mis à disposition de l'ensemble de la communauté universitaire de Yaoundé I. Il est soumis à la propriété intellectuelle de l'auteur. Ceci implique une obligation de citation et de référencement lors de l'utilisation de ce document.

D'autre part, toute contrefaçon, plagiat, reproduction illicite encourt une poursuite pénale.

Contact : biblio.centrale.uyi@gmail.com

WARNING

This document is the fruit of an intense hard work defended and accepted before a jury and made available to the entire University of Yaounde I community. All intellectual property rights are reserved to the author. This implies proper citation and referencing when using this document.

On the other hand, any unlawful act, plagiarism, unauthorized duplication will lead to Penal pursuits.

Contact: biblio.centrale.uyi@gmail.com



CERTIFICATION

Ce papier certifie que le présent mémoire portant sur "l'étude chimique d'une fraction de l'extrait au méthanol des feuilles de l'espèce camerounaise *lantana camara* (VERBENACEAE)" est le travail de recherche effectué par **NJOMO Daris Maxime** (matricule **10T0325**) au laboratoire de Substance Naturelle et de Synthèse de la Faculté des Sciences de l'Université de Yaoundé I sous ma supervision et déposé à l'Ecole Normale Supérieure de Yaoundé I en vue de l'obtention en accomplissement partielle du Diplôme de Professeur de l'Enseignement Secondaire Deuxième Grade (DI.P.E.S.II).

Fait à Yaoundé, le 05 juillet 2016



DEDICACE

Je dédie ce mémoire à :

- Mon papa **TCHENJIO Joseph**
- Ma maman **DIEUNGOUA Jacqueline**
- Mes frères et *sœurs*

REMERCIEMENTS

Ce travail a été effectué au laboratoire de substance naturelle et de synthèse organique à la Faculté des Sciences de l'Université de Yaoundé I, sous la direction du **Professeur NGOUELA Silvère Augustin**. Je tiens à le remercier vivement pour m'avoir accueilli et pour m'avoir aidé à réaliser ce travail avec rigueur et patience. Ses qualités scientifiques, humaines et ses conseils judicieux m'ont été profitables au plus haut point.

Je tiens à remercier chaleureusement **Professeur NOUNGOUE Tchamo Didérot** pour son soutien sans cesse, sa confiance et ses conseils ainsi que les différentes techniques et méthodes de laboratoire dont j'ai bénéficié malgré son emploi de temps surchargé. Vous êtes un modèle de rigueur, de disponibilité et d'ouverture aux autres.

Mes sincères remerciements vont également:

A tous les enseignants de l'Ecole Normale Supérieure de Yaoundé I pour leurs conseils et les enseignements qu'ils m'ont dispensés.

A tous les enseignants de Chimie de la Faculté de Sciences de l'Université de Yaoundé I pour la formation de base et les nombreux conseils qu'ils m'ont fait acquérir.

A toute la famille TCHENJIO qui a été une source inépuisable d'encouragement et un pilier d'appui sans faille.

A tous mes camarades de promotion pour leurs encouragements et les bons moments inoubliables passés ensemble depuis l'entrée à l'école normale jusqu'à la réalisation de ce mémoire.

Bien que le mémoire soit fondamentalement un travail individuel, il n'aurait pu être mené à bien sans l'intervention des amis avec lesquels il est possible d'échanger conseils et suggestions et qui assurent une atmosphère de travail donnant envie de se lever chaque matin. Je remercie pour cela tous mes amis.

Dans le désordre : **TCHINDA WAMBA Olivier, AGUEDA Fabrice, MADOPSI Sidoine, NGAYAM Casimir, MAJOU MOU Michelle et NKOULO Pascal**

SOMMAIRE

DEDICACE	i
REMERCIEMENTS	ii
SOMMAIRE	iii
RESUME	v
ABSTRACT	vi
ABREVIATIONS ET SYMBOLES	vii
LISTE DES FIGURES	viii
LISTE DES TABLEAUX	ix
INTRODUCTION GENERALE	1
CHAPITRE I: REVUE DE LA LITTERATURE	3
I.1-Aperçu botanique	4
I.1.1-La famille des Verbenaceae	4
I.1.2-Le genre <i>Lantana</i>	4
I.1.3-L'espèce <i>Lantana camara</i>	4
I.1.3.1-Description botanique	4
I.1.3.2-Répartition géographique	8
I.2- Quelques usages des espèces du genre <i>Lantana</i>	6
1.2.1- Sur le plan ornemental	6
I.2.2- Sur le plan de la médecine traditionnelle	6
1.3- Etudes chimiques et pharmacologiques antérieures des espèces du genre <i>Lantana</i> ..	7
I.3.1- Etudes chimiques antérieures des espèces du genre <i>Lantana</i>	7
I.3.1.1- Les glycosides iridoïdes	7
I.3.1.2- Les Furanonaphthoquinones	8
I.3.1.3- Les glycosides phényléthanoïdes	9
I.3.1.4- Les flavonoïdes.....	10
I.3.1.5- Les stéroïdes.....	11
I.3.1.6- Les triterpènes	12
I.3.2- Etudes pharmacologiques de l'espèce <i>Lantana camara</i>	14
I.3.2.1- Activités antimicrobienne et antiparasitaire.....	15
I.3.2.2- Activités anti-inflammatoires.....	16

I.3.1.3- Activités antivirale et anticancéreuse	14
I.3.2.4- Autres activités	15
I.4- Généralité sur les triterpènes.....	15
I.4.1- Définition	15
I.4.2- Différents groupes de structures des triterpènes pentacycliques.....	16
I.4.3- Triterpènes de type ursane	17
I.4.4- Biosynthèse des triterpènes.....	17
I.4.4.1-Biosynthèse du squalène	17
I.4.4.2- Cyclisation du squalène	16
CHAPITRE II: RESULTATS ET DISCUSSION	22
II.1-Extraction et isolement des Composés.....	22
II.2:Analyse structurale des composés isolés.....	22
II.2.1 : Analyse structurale du composé LC2	22
II.2.2 : Analyse structurale du composé LC1	22
INTERET PEDAGOGIQUE	32
CONCLUSION	33
CHAPITRE III: PARTIE EXPERIMENTALE	34
III: Généralités	37
III.1: Chromatographie sur colonne (CC).	37
III.2: Méthodes physico-chimiques	37
III.2.1: Spectroscopie de Résonance Magnétique Nucléaire (RMN).	37
III.3: Extraction, isolement et purification	37
III .4: Extraction.....	37
III.5: Isolement et purification.....	38
III.6: Test de Liebermann Burchard.....	40
REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES	39

RESUME

Dans le souci d'apporter une contribution à la valorisation de la pharmacopée traditionnelle Camerounaise, nous avons entrepris l'étude chimique de l'espèce *Lantana camara*. Une plante de la famille des Verbenaceae.

L'étude des constituants chimiques des feuilles de cette espèce nous a permis d'isoler grâce aux méthodes chromatographiques usuelles (CC, CCM) cinq composés. Les structures de trois d'entre eux ont été élucidées grâce à l'interprétation de leurs données spectroscopiques et par comparaison avec celles décrites dans la littérature. Il s'agit respectivement d'un triterpène (l'acide pomolique) et un mélange de stéroïde (β -sistostérol et stigmastérol).

Mots clés : Verbenaceae, *Lantana camara*, phytochimie, triterpène, stérol.

ABSTRACT

The present research work describes the phytochemical investigations of the *Lantana camara* leaves a Cameroonian plant of the Verbenaceae family.

Phytochemical study of the plant material by usual chromatography methods (CC, CCM) led to the isolation of five compounds. The structures of three of them were elucidated through spectroscopic methods and by comparison of their NMR and physical data with those reported in the literature; it's were respectively a triterpene (pomolic acid) and a mixture of two steroids (β -sistostérol and stigmasterol).

Key words: Verbenaceae, *Lantana camara*, phytochemical, triterpene, sterol.

LISTE DES ABREVIATIONS ET SYMBOLES

1D	:	Monodimensionnel
2D	:	Bidimensionnel
AE	:	Acétate d'éthyle
AMPc	:	Adénosine monophosphate cyclique
ATCC	:	American Type Culture Collection
CC	:	Chromatographie sur colonne
CCM	:	Chromatographie sur couche mince
CMI	:	Concentration minimale inhibitrice
COSY	:	CORrelation SpectroscopY
DEPT	:	Distorsionless Enhancement by Polarization Transfer
Hex	:	Hexane
HMBC	:	Heteronuclear Multiple Bond Coherence
HSQC	:	Heteronuclear Single Quantum Coherence
Hz	:	Hertz
IC₅₀	:	Concentration inhibitrice de 50 %
J	:	Constante de couplage
L. camara	:	<i>Lantana camara</i>
m	:	multiplet
OMS	:	Organisation Mondiale de la Santé
ppm	:	Parties par million = 10 ⁻⁶ , RMN
s	:	Singulet
t	:	Triplet
TMS	:	TétraMéthylSilane
TPA	:	Tetradecanoylphorbol-13-acétate
U-V	:	Ultra-violet
δ	:	Déplacement chimique

LISTE DES FIGURES

Figure 1: Fruits de <i>Lantana camara</i> L. (NJOMO Daris, 15/01/2016 à 09h 20mn).....	5
Figure 2: Feuilles de <i>Lantana camara</i> L. (NJOMO Daris, 15/01/2016 à 09h 20mn).....	5
Figure 3: Répartition géographique de <i>Lantana</i> en Afrique.....	5
Figure 4: Biosynthèse du squalène (voie mévalonique).....	19
Figure 5: Cyclisation du Squalène (Bruneton, 1999).....	20
Figure 6 : Protocole d'extraction et d'isolement des composés des feuilles de <i>L. camara</i>	23
Figure 7: Spectre de masse du composé LC ₂	24
Figure 8: Spectre RMN ¹ H (pyridine- <i>d</i> ₅ , 300 MHz) de LC ₂	25
Figure 9: Spectre RMN ¹³ C (pyridine- <i>d</i> ₅ , 125 MHz) de LC ₂	26
Figure 10: Spectre COSY (pyridine- <i>d</i> ₅ , 125 MHz) de LC ₂	27
Figure 11: Spectre HSQC (pyridine- <i>d</i> ₅ , 125 MHz) de LC ₂	28
Figure 12: Spectre HMBC (pyridine- <i>d</i> ₅ , 125 MHz) de LC ₂	29
Figure 13: Spectre RMN ¹ H (acétone- <i>d</i> ₆ , 300 MHz) de LC ₁	32
Figure 14: Spectre RMN ¹³ C (acétone- <i>d</i> ₆ , 300 MHz) de LC ₁	32

LISTE DES TABLEAUX

Tableau 1: Répartition géographique de <i>Lantana camara</i> au Cameroun	6
Tableau 2: Quelques structures des molécules de glycosides iridoïdes isolés des espèces du genre <i>Lantana</i>	8
Tableau 3: Quelques structures des molécules de Furanonaphthoquinones isolées des espèces du genre <i>Lantana</i>	9
Tableau 4: Quelques structures des molécules de glycosides phenylethanoïdes isolées des espèces du genre <i>Lantana</i>	11
Tableau 5: Quelques structures des molécules de flavonoïdes isolées des espèces du genre <i>Lantana</i>	12
Tableau 6: Quelques structures des molécules de stéroïdes isolées des espèces du genre <i>Lantana</i>	13
Tableau 7: Quelques structures des molécules de triterpènes isolées des espèces du genre <i>Lantana</i>	14
Tableau 8: Différents groupes structuraux des triterpènes pentacycliques (Mahato et <i>al.</i> , 1994).....	17
Tableau 9: Données spectrales de RMN ¹ H et RMN ¹³ C de LC ₂ (Pyridine-d ₅) comparées aux données RMN ¹ H et RMN ¹³ C (Pyridine-d ₅) de l'acide pomolique (Mahato et <i>al.</i> , 1994).	30
Tableau 10: Données spectrales de RMN ¹³ C de LC ₁ (acétone-d ₆) comparées aux données RMN ¹³ C de la littérature.....	33
Tableau 11: Chromatographie de l'extrait total.	38
Tableau 12: Chromatographie de la série F ₁	38
Tableau 13: Caractéristiques physico-chimiques des composés LC ₁ et LC ₂	39

INTRODUCTION GENERALE

La culture des soins basée sur l'usage des ressources naturelles constitue un élément important de santé publique dans beaucoup de pays africains pour des raisons historique, culturelle et sociale (**Bouquet, 1969; Kerharo, 1974**).

Selon l'Organisation Mondiale de la Santé (OMS), plus de 6377 espèces de plantes sont utilisées en Afrique et environ 4000 sont à la base de 90% de la médecine traditionnelle (**Diallo A., 2005**).

Malgré de nombreuses utilisations et l'efficacité thérapeutique démontrée des plantes sur plusieurs maladies telles que le cancer, le paludisme, les maladies neurodégénératives et les maladies parasitaires, il se pose toujours le problème de toxicité et de posologie. Ceci s'explique par le fait que le principe actif et sa quantification ne sont pas bien connues.

Une des solutions à ce problème pourrait passer par la connaissance du principe actif qui constitue ces médicaments traditionnels afin de mesurer sa toxicité et de le quantifier.

Dans le but de valoriser l'utilisation de ces plantes médicinales en pharmacopée traditionnelle, les chimistes organiciens de l'Université de Yaoundé I, en collaboration avec d'autres Universités à travers le monde, s'intéressent à l'isolement, l'identification des métabolites secondaires, issus des plantes et à l'évaluation des activités biologiques des extraits bruts et des produits purs isolés.

C'est dans cette optique que nous avons entrepris dans le cadre de la préparation de ce mémoire de D.I.P.E.S II, l'étude chimique des feuilles de *Lantana camara*, une plante médicinale Camerounaise appartenant à la famille des Verbenaceae.

Le choix de cette plante a été motivé par le fait qu'elle est utilisée en médecine naturelle pour soigner des maladies telles que le cancer, le paludisme, les maux d'estomac, le rhumatisme, l'hypertension et les maladies parasitaires (**Geissler et al., 2002; Agra et al., 2007; Chowdhury et al., 2007; Ganjewala et al., 2009; Dua et al., 2010; N'guessan et al., 2011**) qui sont les cibles thérapeutiques de notre laboratoire.

L'objectif général de notre travail est de contribuer à la connaissance des métabolites secondaires contenus dans l'espèce *Lantana camara* en passant par l'isolement, la purification et la caractérisation des constituants chimiques contenus dans cette plante.

Notre travail s'articulera autour de trois grandes parties à savoir:

- une revue de la littérature ;
- les résultats et discussion,
- une partie expérimentale



CHAPITRE I :
REVUE DE LA LITTERATURE

I.1-Aperçu botanique

I.1.1- La Famille des Verbenaceae

Les Verbenaceae sont une famille de plantes dicotylédones. Elles ont été décrites pour la première fois par Linnaeus en 1753 comme une plante comprenant environ 1200 espèces réparties en 35 genres (**Ghisalberti, 2000**). Cette famille est constituée d'arbre, d'herbes, d'arbustes originaires des zones tempérées et tropicales du globe (**Ethnopharmacologia, 2009**). Leurs tiges présentent 4 angles et sont parfois épineuses. Leurs feuilles sont disposées de façon opposée, rarement alternées et quelquefois verticillées. Leurs fleurs sont généralement groupées en grappes denses ou lâches, terminales ou axillaires, en épis ou en panicules et leurs fruits sont des drupes ou des tétrakènes (**Arbonnier, 2002**).

Au Cameroun, quatre genres sont rencontrés parmi lesquels le genre *Lantana*.

I.1.2- Le genre *Lantana*

Les plantes du genre *Lantana* sont des plantes constituées d'arbustes ou d'herbes pouvant atteindre 2 m de haut. Elles contiennent sept genres dont six sont originaires de l'Amérique subtropical et tropical, et le dernier de l'Afrique en particulier de l'Ethiopie. (**Erlânio et al., 2012**). Cependant, les espèces du genre *Lantana* sont importées dans plus de 50 pays notamment le Cameroun. De même il est difficile de faire une classification taxonomique puisque les plantes du genre *Lantana* ne sont pas stables et l'hybridation est très répandue car la forme de l'inflorescence change avec l'âge et les couleurs des fleurs varient avec la maturité (**Ghisalberti, 2000; Erlânio et al., 2012**).

Parmi les plantes du genre *Lantana*, on rencontre l'espèce *Lantana camara* qui est la plus répandue.

I.1.3- L'espèce *Lantana camara*

I.1.3.1- Description botanique

Les espèces du genre *Lantana* sont des plantes dicotylédones, comprenant environ 150 espèces parmi lesquelles *Lantana camara*, une plante arborescente, arbustive ou arbrisseau de la forêt tropicale de l'Amérique du nord et du centre (**Ghisalberti, 2000**). C'est une plante dressée pouvant atteindre 2 à 5 m de hauteur avec un tronc de 3 à 6cm de diamètre. L'écorce est grise à beige, lenticellée, à tranche jaune verdâtre. Les feuilles sont opposées, plus ou

moins scabres dessus, pubescentes dessous, ovales et oblonques, de 2-7x2-4 cm, dégageant une odeur camphrée plus ou moins désagréable au froissement. La floraison dure presque toute l'année, surtout à proximité des habitations. L'inflorescence axillaire est en capitule hémisphérique constituée de 30 à 50 petites fleurs jaune orangé, tournant au rose en vieillissant. Les tiges et les branches sont parfois armées avec les piquants ou épines. La floraison et la fructification se déroulent presque toute l'année (**Ghisalberti, 2000; Arbonnier, 2002**). Les figures 1 et 2 représentent les feuilles et fruits de *Lantana camara*.

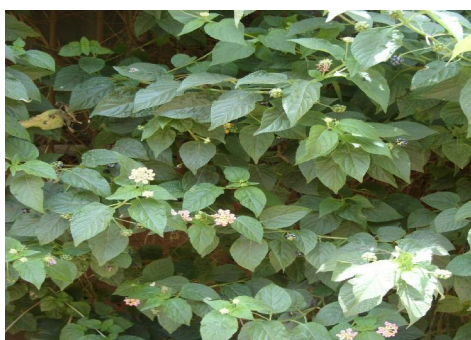


Figure 2: Feuilles de *Lantana camara* L. (NJOMO Daris, 15/01/2016 à 09h 20mn)



Figure 1: Fruits de *Lantana camara* L. (NJOMO Daris, 15/01/2016 à 09h 20mn)

I.1.3.2: Répartition géographique

Lantana camara est très répandu en Afrique tropicale, en Amérique subtropicale et tropicale, mais également en Europe.

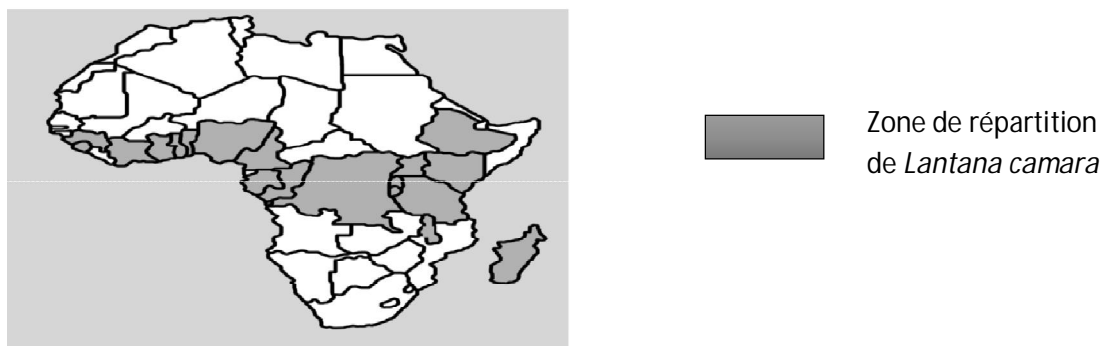


Figure 3: Répartition géographique de *Lantana* en Afrique.

Au Cameroun, cette plante est retrouvée dans plusieurs régions. Le tableau 1 donne la répartition géographique de *lantana camara* au Cameroun

Tableau 1: Répartition géographique de *Lantana camara* au Cameroun

Espèce	Régions	Localités
<i>Lantana camara</i>	Centre	Yaoundé, Bafia, Mbalmayo
	Est	Bertoua, Batouri
	Ouest	Bangangté, Dschang, Mbouda
	Nord-ouest	Bamenda, Banboui
	Sud-ouest	Nya soso, Tombel, Kumba

I.2- Quelques usages des espèces du genre *Lantana*

Plusieurs espèces du genre *Lantana* sont largement répandues en Afrique, ceci pour leur application sur le plan ornemental ainsi qu'en médecine naturelle.

I.2.1- Sur le plan ornemental

Les plantes de la famille des Verbenaceae en général et celle du genre *Lantana* en particulier, sont des plantes décoratives. En effet, par leurs fleurs aux couleurs variées, celles-ci se rencontrent très fréquemment dans les jardins.

I.2.2- Sur le plan de la médecine traditionnelle

En Amérique, tout comme en Afrique et au Cameroun en particulier, de nombreux tradipraticiens utilisent cette plante pour soigner plusieurs pathologies:

Lantana camara est utilisée comme remède dans le traitement des cancers et tumeurs (Ghisalberti, 2000; Chowdhury *et al.*, 2007).

Un thé préparé à partir des feuilles et des fleurs est pris contre la fièvre, la grippe et les maux d'estomac (Ghisalberti, 2000; Geissler *et al.*, 2002).

En Amérique centrale et du sud, les feuilles sont faites en cataplasme pour traiter les plaies, la varicelle et la rougeole. La fièvre, les rhumatismes, l'asthme et l'hypertension artérielle sont traités avec l'extrait de la plante entière (Agra *et al.*, 2007; Ganjewala *et al.*, 2009; Dua *et al.*, 2010; N'guessan *et al.*, 2011).

Au Ghana, l'infusion de la plante entière est utilisée pour la bronchite et la poudre de racine associée au lait est donnée aux enfants pour le traitement des maux d'estomac.

Dans les pays asiatiques, les feuilles sont utilisées pour traiter les blessures par coupure, les rhumatismes, les ulcères et les maladies parasitaires. Les décoctions sont utilisées en application externe contre la lèpre et la gale (Madiega *et al.*, 2002).

L. hispida est traditionnellement utilisé au Mexique pour traiter la tuberculose, la bronchite, la toux, le rhume, l'asthme, les maux d'estomac, les douleurs rénales et la diarrhée (**Erlânio et al., 2012**).

L. salvifolia est une plante largement utilisée au Congo comme une tisane. La décoction des feuilles est utilisée contre la fièvre typhoïde (**Madiega et al., 2002**).

Au Cameroun, les feuilles de *L. camara* est utilisée contre le paludisme et la fièvre jaune (**Dibong et al., 2011**).

I.3- Etudes Chimiques et pharmacologiques antérieures des espèces du genre *Lantana*

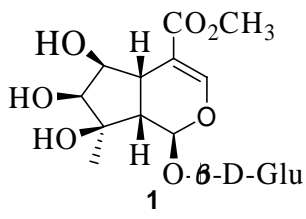
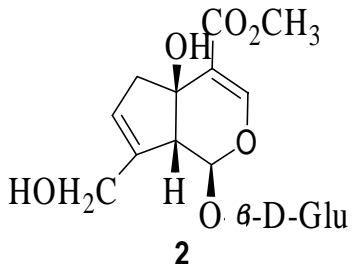
I.3.1- Etudes chimiques antérieures sur les espèces du genre *Lantana*

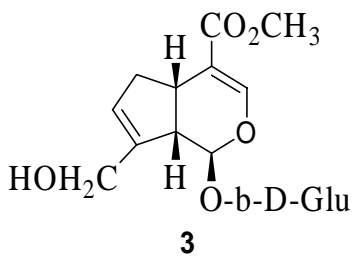
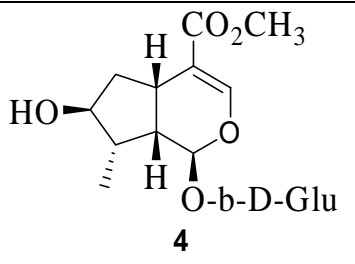
Les précédentes études menées sur les plantes de la famille des Verbenaceae ont révélé la présence de bon nombre de métabolites secondaires. C'est ainsi que le genre *Lantana* est caractérisé par une riche présence des glycosides iridoïdes, des Furanonaphtoquinones, glycosides phenyléthanoïdes, des flavonoïdes et des triterpénoïdes (Ghisalberti, 2000).

I.3.1.1- Les glycosides iridoïdes

Plusieurs composés glycosides iridoïdes ont été isolés de *Lantana camara*. Les feuilles, les racines et les fleurs produisent à suffisance de theveside (2) qui sont présents sous forme de sel sodique (Ghisalberti, 2000). D'autres composés tels que le géniposide (3) (précurseur du theviside), 8-épiloganine (4) et le lamiridoside (1) ont été également isolés des racines de *Lantana camara* (Ghisalberti, 2000). Les structures des composés glycosides iridoïdes isolées des espèces du genre *Lantana* sont représentées dans le tableau ci-dessous.

Tableau 2: Quelques structures des molécules de glycosides iridoïdes isolés des espèces du genre *Lantana*

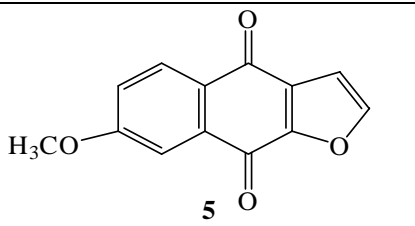
Structures	Noms	Espèces (parties utilisées)	Références
 <p>1</p>	Lamiridoside	<i>L. viburnoides</i> (racines)	(Erlanio et José, 2012)
 <p>2</p>	Theveside	<i>L. camara</i> (fleurs et racines)	(Rimpler et Sauerbier, 1986)

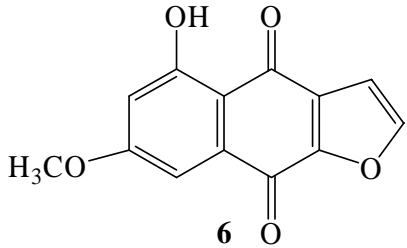
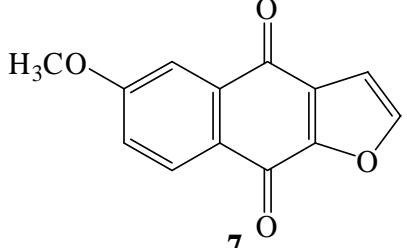
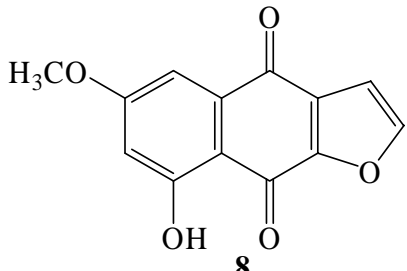
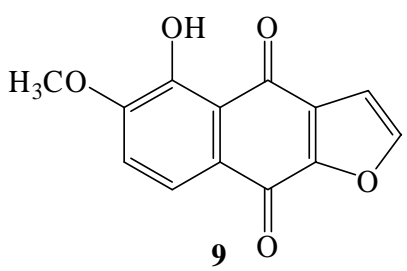
 <p style="text-align: center;">3</p>	Geniposide	<i>L. camara</i> (racines)	(Ghisalberti, 2000)
 <p style="text-align: center;">4</p>	8-épiloganine		

I.3.1.2- Les Furanonaphthoquinones

Plusieurs composés furanonaphthoquinones ont été isolés des extraits hexaniques et méthanoliques des racines du genre *Lantana* (Ghisalberti, 2000). Les molécules de furanonaphthoquinones sont mentionnées dans le tableau ci-dessous.

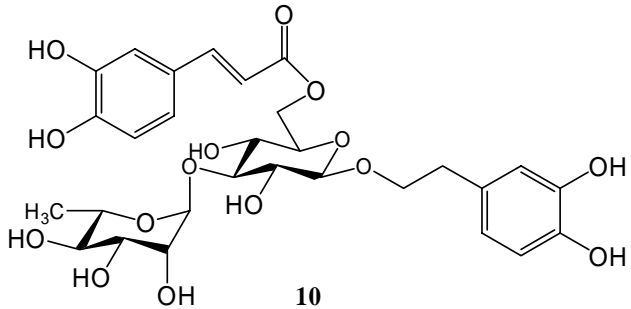
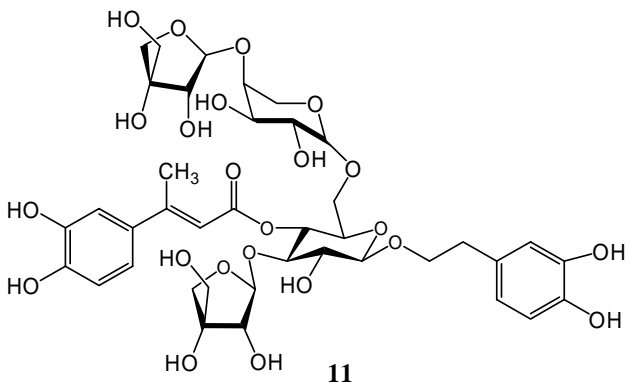
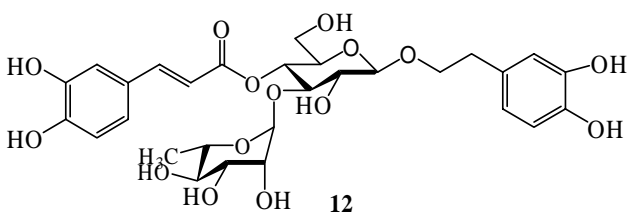
Tableau 3: Quelques structures des molécules de Furanonaphthoquinones isolées des espèces du genre *Lantana*

Structures	Noms	Espèces (parties utilisées)	Références
 <p style="text-align: center;">5</p>	6-méthoxydiodantunezone	<i>L. camara</i> (racines)	(Erlanio et

 <p style="text-align: center;">6</p>	<p>6-méthoxy-8- hydroxydiodantunezone</p>		<p>José, 2012)</p>
 <p style="text-align: center;">7</p>	<p>7-méthoxydiodantunezone</p>		
 <p style="text-align: center;">8</p>	<p>7-méthoxy-5- hydroxyisodiodantunezone</p>	<p><i>L.</i> <i>achyranthifolia</i> (racines)</p>	<p>(Erlanio et José, 2012)</p>
 <p style="text-align: center;">9</p>	<p>7-méthoxy-8- hydroxydiodantunezone</p>		

I.3.1.3- Les glycosides phényléthanoïdes

Tableau 4: Quelques structures des molécules de glycosides phenylethanoïdes isolées des espèces du genre *Lantana*

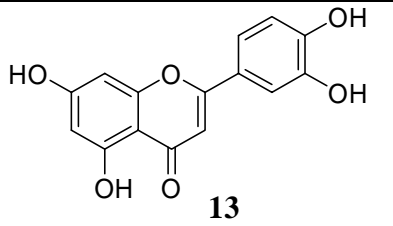
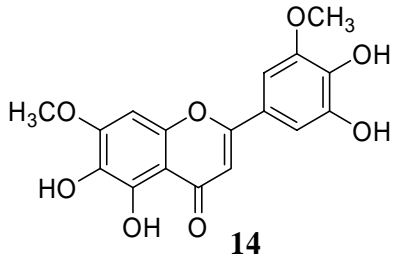
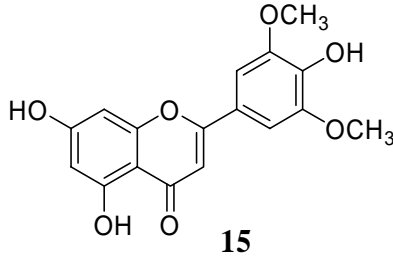
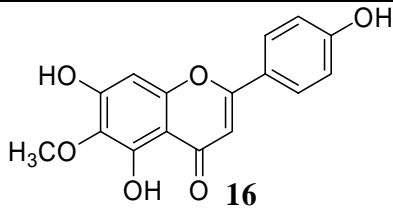
Structures	Noms	Espèces (parties utilisées)	Références
 <p style="text-align: center;">10</p>	Isoverbacoside	<i>L. camara</i> (feuilles)	(Erlanio et José, 2012)
 <p style="text-align: center;">11</p>	Raduloside	<i>L. radula</i> (racines)	
 <p style="text-align: center;">12</p>	Verbascoside	<i>L. trifolia</i> (feuilles)	

I.3.1.4- Les flavonoïdes

Ce sont des pigments des végétaux responsables de la coloration des fleurs, des fruits et parfois des feuilles (**Bruneton, 1999**). Ils contiennent un squelette de base en C₁₅, dont l'enchaînement C₆-C₃-C₆ est du type 1,2 ou 1,3 diphénylpropane.

Cependant, ces composés peuvent se condenser pour donner les unités dimères des flavonoïdes appelées biflavonoïdes (**Bahm et Harborne, 1986**). Les structures des composés flavonoïdes isolées des espèces du genre *Lantana* sont représentées dans le tableau ci-dessous.

Tableau 5: Quelques structures des molécules de flavonoïdes isolées des espèces du genre *Lantana*

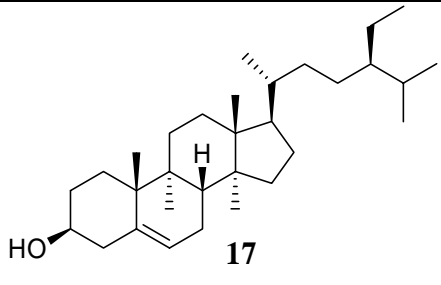
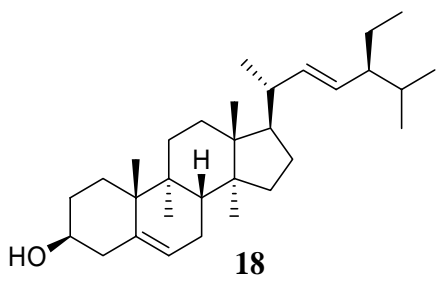
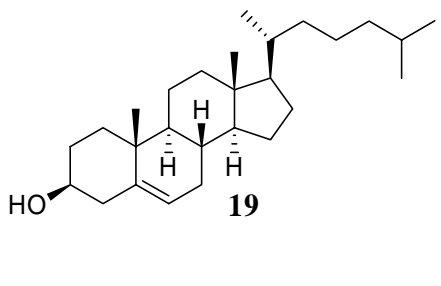
Structures	noms	Espèces (sources)	Références
 <p>13</p>	Luteoline	<i>L. montevidensis</i> (feuilles)	(Erlanio et José, 2012)
 <p>14</p>	5,6,4',5'- tetrahydroxyl- 7,3' dimethoxy flavone	<i>L. trifolia</i> (feuilles)	(Erlanio et José, 2012)
 <p>15</p>	Tricine	<i>L. camara</i> (feuilles)	(Gautam et al., 2015)
 <p>16</p>	Hispiduline		

I.3.1.5- Les stéroïdes

Les stéroïdes sont des alcools secondaires d'origine animale et végétale ayant un squelette de base perhydrocyclo- pentanophenanthrène (Tangmouo, 2006).

Les stérols très largement répandus dans le monde vivant et se caractérisent par la présence en position 3β du squelette, d'un hydroxyle libre, étherifié (glycosides) ou estérifié (stérides), de deux méthyles en position 10β , 13β et d'une chaîne carbonée en 17β (Ramdane, 2006).

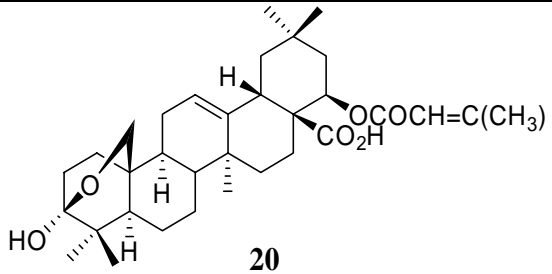
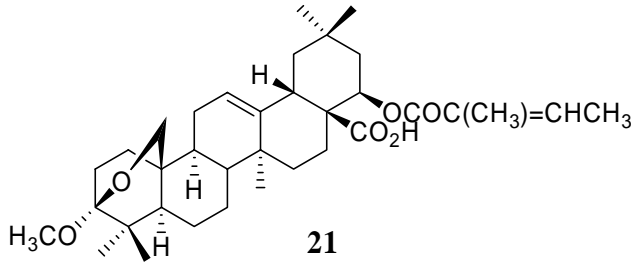
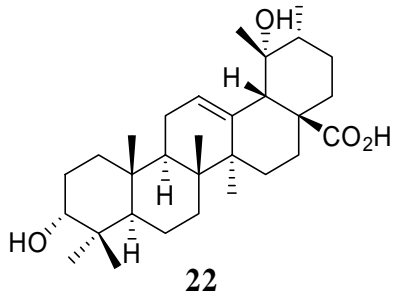
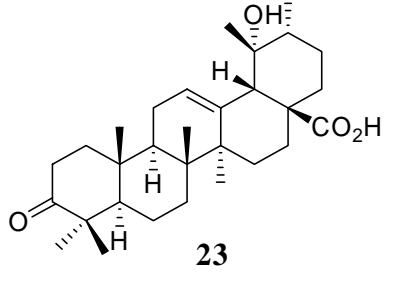
Tableau 6: Quelques structures des molécules de stéroïdes isolées des espèces du genre *Lantana*

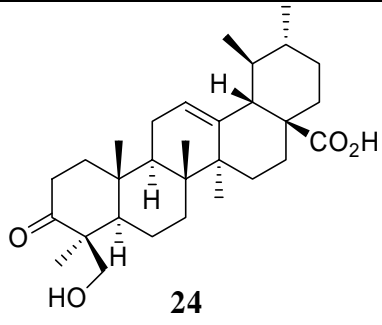
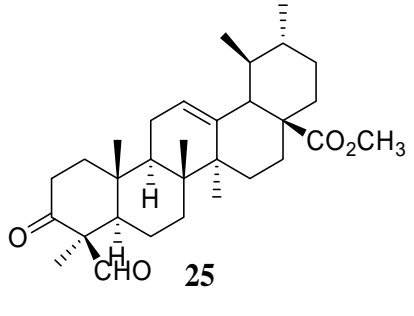
Structures	Noms	Espèces (sources)	Références
 <p>17</p>	β -sistostérol	<i>L. camara</i> (feuilles)	(Erlanio et José, 2012)
 <p>18</p>	Stigmastérol		
 <p>19</p>	Cholestérol		

I.3.1.6- Les triterpènes

Les triterpènes forment un groupe de substances naturelles contenant dans leur squelette une trentaine d'atome de carbone et dérivant du squalène par une série de cyclisation (Bruneton, 1993). Les premiers travaux sur les triterpènes de *Lantana camara* ont concerné l'élucidation de la structure des lantadènes A et B, premières molécules reconnues très toxiques (Ghisalberti, 2000). Le tableau 7 présente les structures de quelques triterpènes isolées des espèces du genre *Lantana*.

Tableau 7: Quelques structures des molécules de triterpènes isolées des espèces du genre *Lantana*

Structures	Noms	Espèces (sources)	Références
 <p>20</p>	Acide lantanilique	<i>L. camara</i> (feuilles)	(Barre et al., 1997)
 <p>21</p>	Acide camarilique	<i>L. cujabensis</i> (feuilles)	(Begun et al., 1995)
 <p>22</p>	Acide pomolique	<i>L. camara</i> (racines, tiges)	
 <p>23</p>	Acide pomonique	<i>L. camara</i> (racines)	Misra et Laastch, 2000

 <p>24</p>	<p>Acide 24-hydroxy-3-oxours-12-en-28-oïque</p>	<p><i>L. trifolia</i> (feuilles)</p>	<p>Rwangabo et al., 1988)</p>
 <p>25</p>	<p>Acide 3,24-dioxurs-12-èn-28-oïque</p>	<p><i>L. camara</i> (feuilles)</p>	<p>(Erlanio et José, 2012)</p>

I.3.2- Etudes pharmacologiques sur l'espèce *Lantana camara*

I.3.2.1- Activités antimicrobienne et antiparasitaire

L'ursulate acétique qui est un triterpène pentacyclique a été trouvé actif à 30µg/disque contre *Staphylococcus aureus* et *Salmonella Typhi*. Ce résultat s'est trouvé comparable au diamètre d'inhibition produit par le chloramphénicol (*Staphylococcus aureus*) et la tétracycline (*Salmonella Typhi*) pour des mêmes concentrations (**Barre et al., 1997**).

Les furanonaphthoquinones sont actifs sur les bactéries, surtout celles à gram positif, les mycètes et possèdent une très bonne activité contre les *Trypanosoma* (**Ethnopharmacologia, 2009**). Le verbascoside présente une activité antibactéricide contre *E. coli* (**Ghisalberti, 2000**).

I.3.2.2- Activités anti-inflammatoires

Les triterpènes à l'exemple de l'acide oléanolique et l'acide ursolique, isolés de *L. camara* possèdent des activités anti-inflammatoires. Ces composés triterpéniques ont donné des activités significatives (IC₅₀ 2-4,6 µM) sur l'inhibition de leucocyte élastase humain (LEH). Ils possèdent également des effets inhibiteurs sur l'inflammation et sur les diverses étapes du développement des tumeurs (**Ghisalberti, 2000**).

I.3.2.3- Activités antivirale et anticancéreuse

Les lantadènes A et C inhibent l'activation du virus d'Epstein-Barr dans les cellules Raja, induite par le 12-O-tétradécanoylphorbol-13-acétate (TPA) (Ghisalberti, 2000). 10 moles de triterpènes contenant les lantadènes B et C, en association avec une mole de TPA sont indiqués pour une promotion du traitement des tumeurs (Ghisalberti, 2000). Les lantadènes A et B possèdent également des effets inhibiteurs sur la cancinogénèse (Ghisalberti, 2000).

Le verbascoside présent dans plusieurs familles de plantes de *Lantana* joue un rôle crucial dans la prolifération cellulaire (Ghisalberti, 2000). Il a montré *in vivo* une activité contre la leucémie lymphocytaire minime P388 comparée à l'activité antiproliférative de l'isoverbascoside (Ghisalberti, 2000).

Selon Ghisalberti (2000), les acides ursoliques et oléanoliques possèdent des propriétés antitumorales sur les diverses étapes de leur développement. De même le genre *Lantana* est riche en composés verbascoside qui sont des antiprolifératifs cellulaires.

I.3.2.4- Autres activités

L'ursulate acétique est un dérivé d'acide oléanolique, deux dérivés triterpènes pentacycliques exercent une grande activité antimutagénique sur les souris. Les verbascoside inhibent l'aldolase réductase et la peroxydation lipidique (Barre *et al.*, 1997). Ils ont également présenté une activité immunomodulatrice, des propriétés immunosuppressives et ont apparemment renforcé l'effet anti-tremblement de la L-DOPA (Ghisalberti, 2000).

I.4- Généralité sur les triterpènes

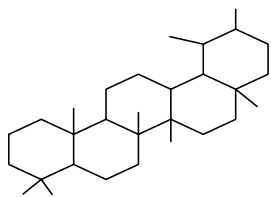
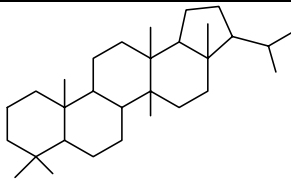
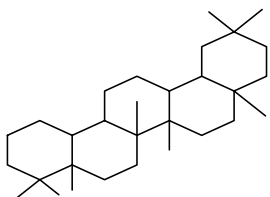
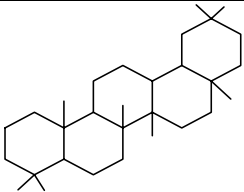
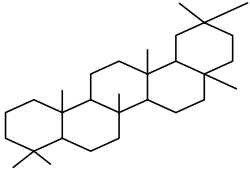
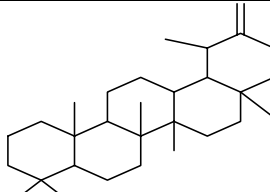
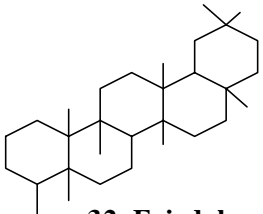
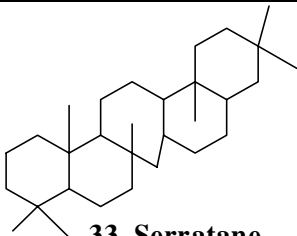
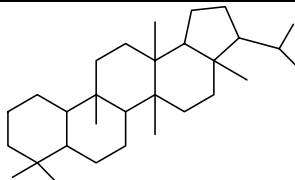
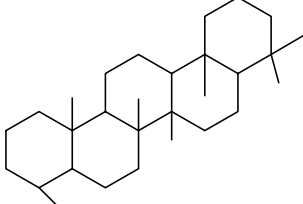
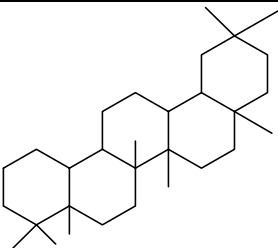
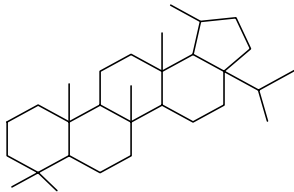
I.4.1- Définition

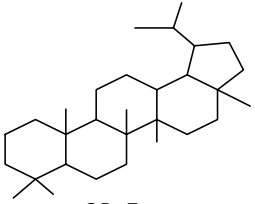
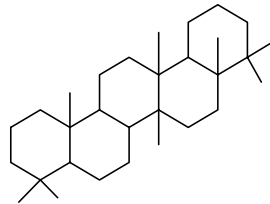
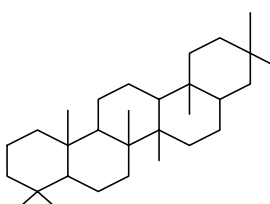
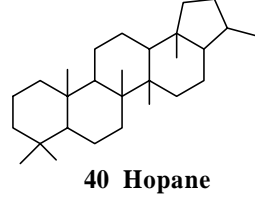
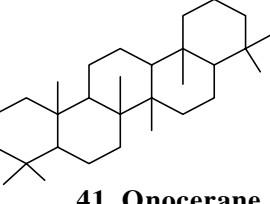
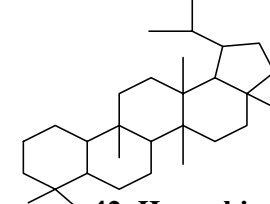
Les triterpénoïdes forment un groupe de métabolites secondaires très répandus dans les végétaux. Ce sont des substances naturelles organiques contenant dans leur squelette une trentaine d'atomes de carbone et dérivant du squalène par une série de cyclisation et de modification (Boiteau *et al.*, 1964). Lorsque la cyclisation est incomplète, elle donne lieu aux triterpènes bicycliques ou tétracycliques. Lorsqu'elle est complète, on obtient un triterpène pentacyclique (Mofu, 1990). Cette classe de triterpène pentacyclique se subdivise en plusieurs groupes structuraux.

I.4.2- Différents groupes de structures des triterpènes pentacycliques

Les triterpènes pentacycliques sont classés en plusieurs groupes structuraux et sont formés de cycles généralement notés A, B, C, D et E. Certains groupes sont constitués de cinq cycles à six atomes de carbone chacun, d'autres ont quatre cycles à six atomes de carbone et un cycle à cinq atomes de carbone.

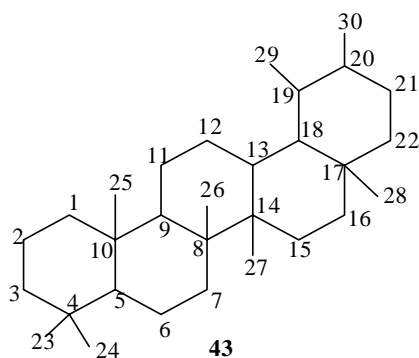
Tableau 8: Différents groupes structuraux des triterpènes pentacycliques (Mahato et *al.*, 1994)

 <p>26 Ursane</p>	 <p>27 Fernane</p>	 <p>28 Mimusopane</p>
 <p>29 Oléanane</p>	 <p>30 Taraxane</p>	 <p>31 Taraxastane</p>
 <p>32 Friedelane</p>	 <p>33 Serratane</p>	 <p>34 Sorghumane</p>
 <p>35 Rammacerane</p>	 <p>36 Glutane</p>	 <p>37 Friedomadeirane</p>

 <p>38 Lupane</p>	 <p>39 Swertane</p>	 <p>40 Stictane</p>
 <p>40 Hopane</p>	 <p>41 Onocerane</p>	 <p>42 Hancokinane</p>

I.4.3- Triterpènes de type ursane

Ils possèdent deux groupements méthyles ayant pour numéro 29 et 30 fixés respectivement aux carbones C- 19 et C-20. De plus le méthyle 29 sur C-19 est équatorial et le méthyle 30 sur C-20 est axial. Le composé ci-dessous est un exemple de composé de type ursane.



I.4.4- Biosynthèse des triterpènes

Dans le règne animal et végétal, la biosynthèse des triterpènes se fait en deux étapes : la synthèse du squalène ou de l'époxy-squalène, puis sa cyclisation qui conduit aux composés triterpéniques de squelettes tétracycliques ou pentacycliques (**Bruneton, 2009**).

I.4.4.1- Biosynthèse du squalène

La biosynthèse du squalène se fait généralement par voie mévalonique. Elle débute avec l'acétyl-CoA (forme active de l'acide acétique) et conduit par des réactions

d'aldolisation successives à l'acide mévalonique. Par la suite il y a production du pyrophosphate d'isopentyle, puis du pyrophosphate de géranyle et enfin du pyrophosphate de farnesyle, qui subit une dimérisation pour donner le squalène (**Bruneton, 1999**).

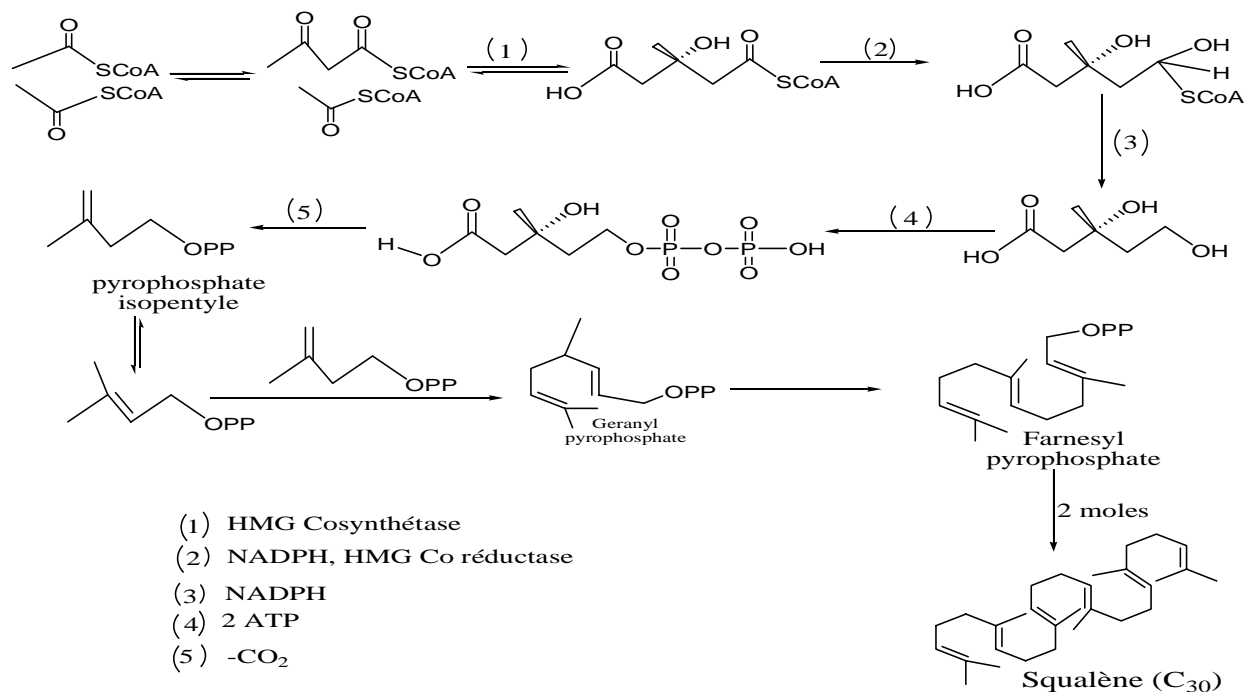


Figure 4: Biosynthèse du squalène (voie mévalonique)

I.4.4.2- Cyclisation du squalène

La cyclisation du squalène se fait en plusieurs étapes et aboutit aux triterpènes pentacycliques lorsqu'elle est complète (**Bruneton, 1999**).

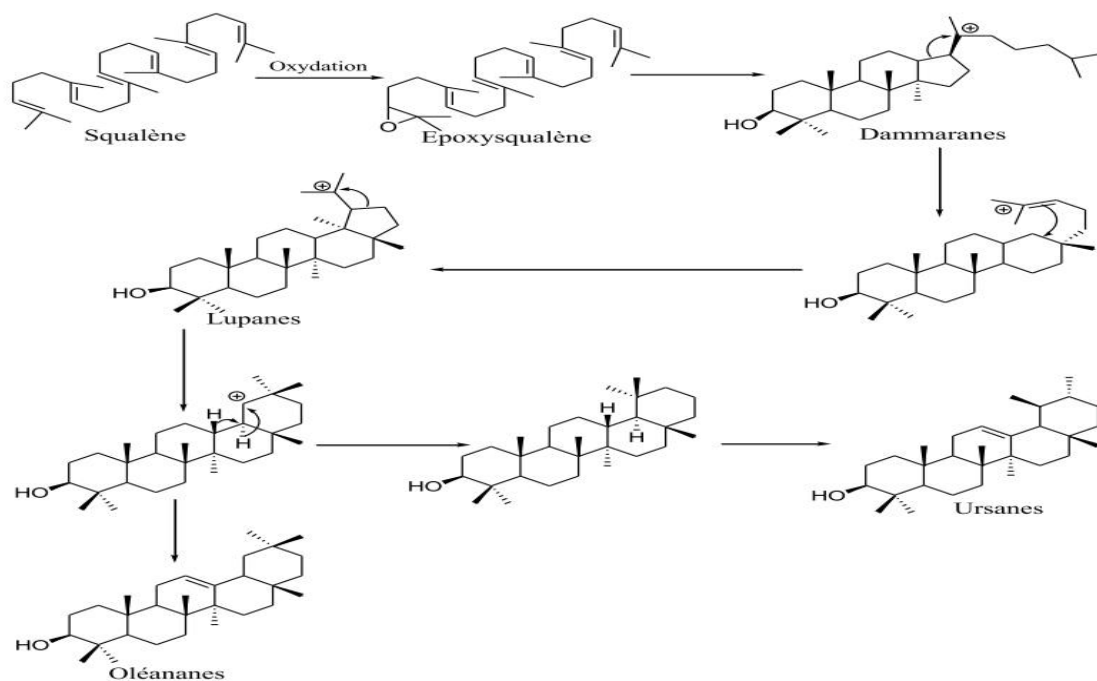


Figure 5: Cyclisation du Squalène (Bruneton, 1999).

CHAPITRE II :

RESULTATS ET DISCUSSION

II.1 Extraction et isolement des composés

Les feuilles de *Lantana camara* ont été récoltées à Yaoundé dans le Département du Mfoudi, Région du Centre Cameroun le 15 Janvier 2016. L'identification a été faite par NANA Victor, botaniste à l'Herbier National du Cameroun (HNC).

Les feuilles de *Lantana camara* ont été séchées et environ 400 g de ces feuilles ont subi une extraction par macération à température ambiante au méthanol pendant 48 heures. Après filtration et évaporation du solvant, environ 100 g d'extrait obtenu a subi une chromatographie sur colonne. l'élution a été faite avec un mélange de solvant CH₂Cl₂/MeOH de gradient de polarité croissante. A l'issue de cette chromatographie, nous avons obtenu 04 fractions indexées F₁, F₂, F₃, F₄ respectivement.

La fraction F₁ a subi une chromatographie sur colonne avec pour éluant le mélange Hex-AE de gradient de polarité croissante. A l'issue de cette chromatographie, 05 composés indexés de LC₁ (mélange de 2 composés), LC₂, LC₃ et LC₄ ont été isolés.

Le protocole d'extraction et d'isolement de ces composés est résumé dans la figure ci-dessous.

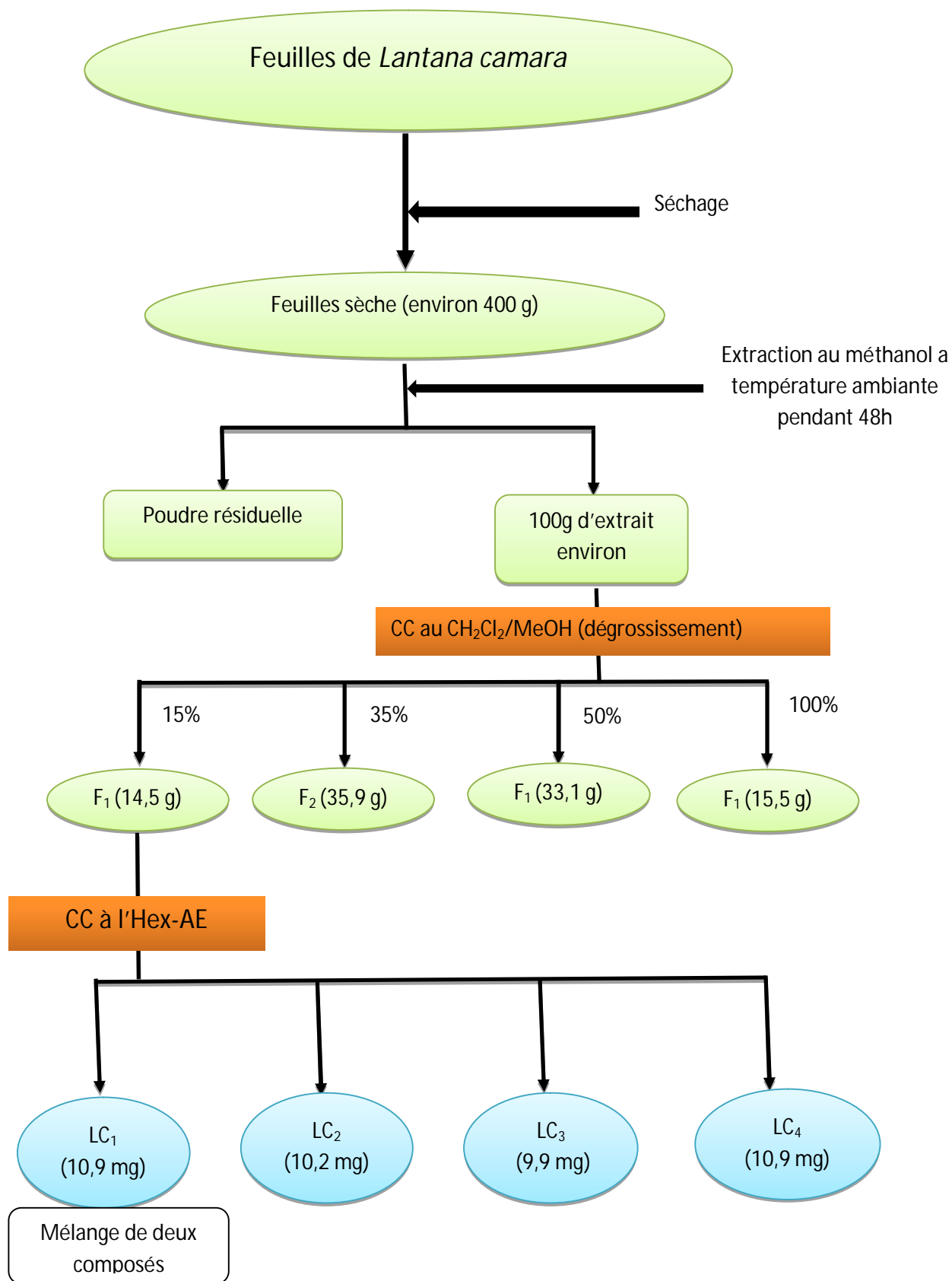


Figure 6 : Protocole d'extraction et d'isolement des composés des feuilles de *L. camara*

II.2 Analyse structurale des composés isolés.

Les structures des composés purs isolés ont été établies par analyse de leurs données spectrales et par comparaison des données spectroscopiques et physiques avec celles décrites dans la littérature.

II.2.1 : Analyse structurale du composé LC₂

Le composé LC₂ se présente sous forme de poudre blanche dans un système Hex/AE (90:10). Il est soluble dans le méthanol et répond positivement au test de Liebermann-Burchard donnant une coloration rouge violacée caractéristique des triterpènes.

Sur son spectre de masse HR-ESI, nous observons le pic de l'ion pseudo moléculaire $[M+Na]^+$ à m/z 495,3401; soit une masse molaire de 472,3401, suggérant la formule brute $C_{30}H_{40}O_4$ renfermant 7 insaturations.

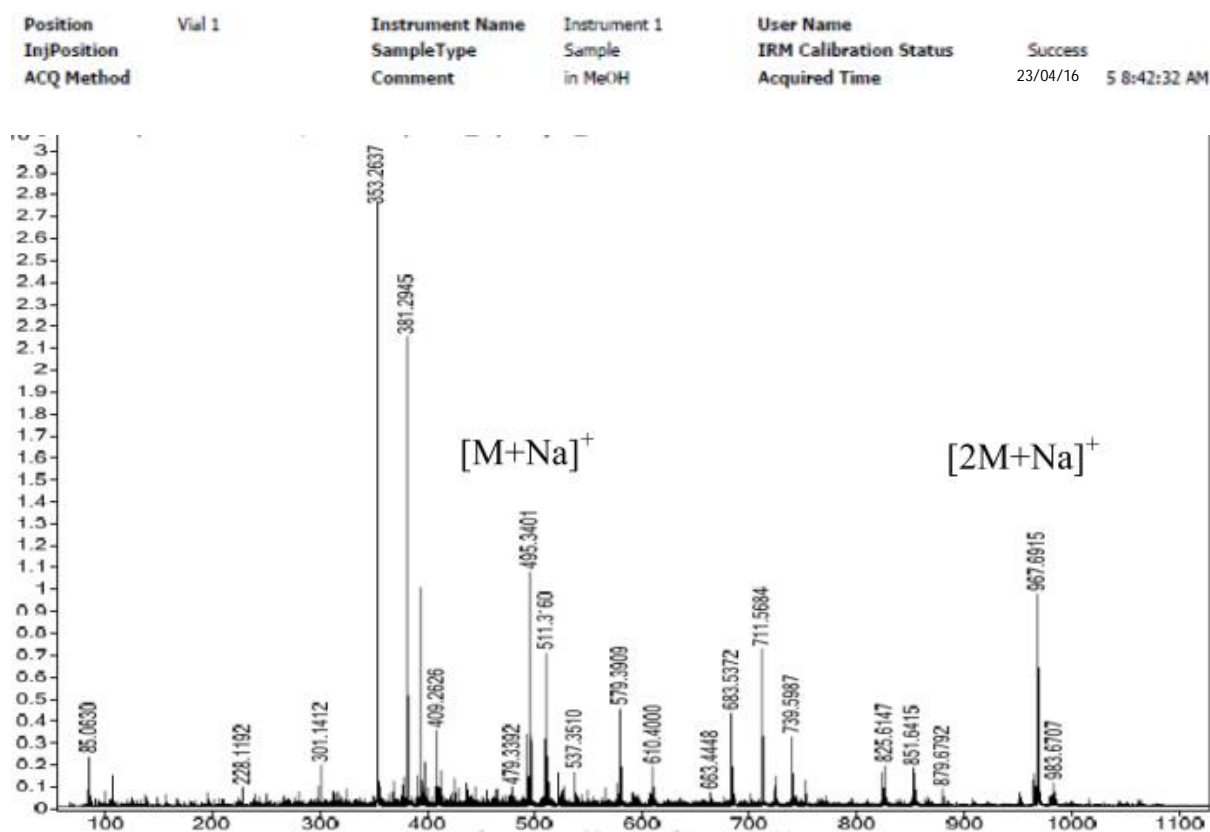


Figure 7: Spectre de masse du composé LC₂

Son spectre RMN ^1H (Fig 8) montre les signaux caractéristiques :

- Dans les champs forts (0,91-1,74) ppm, on observe sept signaux dont six singulets à δ_{H} 0,91; 1,03; 1,11; 1,24; 1,46; 1,74 et un doublet à δ_{H} 1,13 intégrant chacun pour trois protons et attribuable aux groupes méthyle.
- Un doublet dédoublé à δ_{H} 3,46 (1H ; dd ; $J=4,5$; 10Hz H-3) qui serait due à un proton situé sur un carbone oxygéné, probablement le groupement OH.
- Un signal à δ_{H} 5,62 (1H ; d ; $J=$; H-12), intégrant pour un proton et attribuable à un proton vinylique, montrant que LC_2 contient en son sein une double liaison.

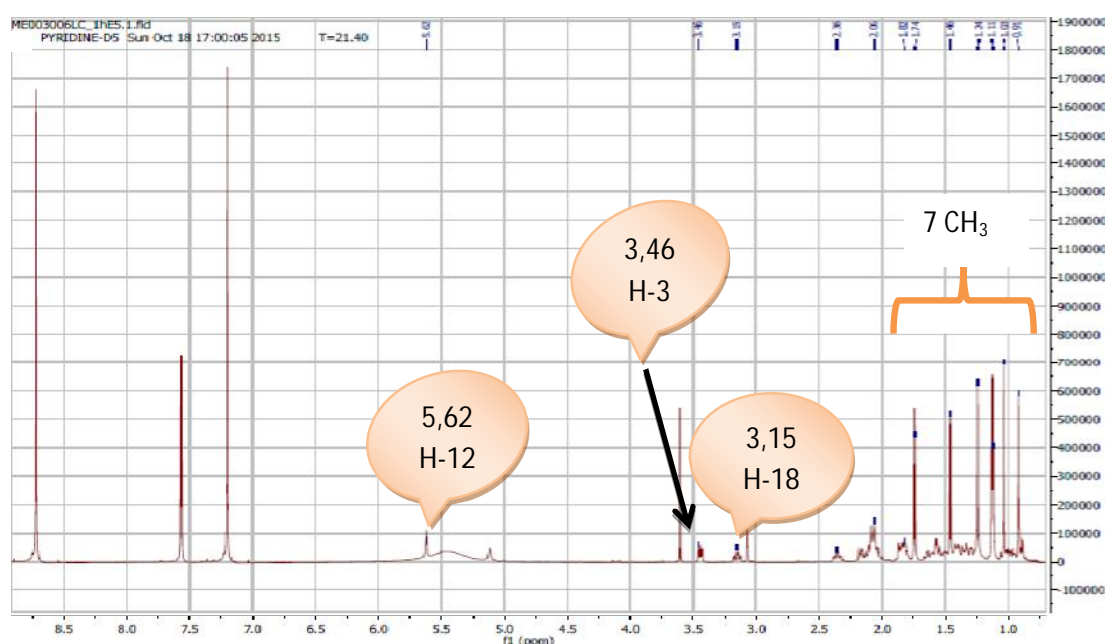


Figure 8: Spectre RMN ^1H (pyridine- d_5 , 300 MHz) de LC_2

De même l'analyse de son spectre RMN ^{13}C large bande totalement découplé (**Fig 9**) fait ressortir 30 signaux confirmant ainsi que LC_2 est un triterpène et mettant en évidence :

- Deux signaux à δ_{C} 27,0 et 17,1 attribuables respectivement aux carbones C-29 et C-30 fixés sur les carbones C-19 et C-20 caractéristiques du squelette types ursane.
- Un signal δ_{C} 78,0 caractéristique du carbone C-3 lié à un groupement hydroxyle OH dans les triterpènes.
- Deux signaux à δ_{C} 128,0 et δ_{C} 139,9 seraient attribuables respectivement aux carbones C-12 et C-13 des urs-12-ène (**Das et al., 1983**).
- Le signal à δ_{C} 180,5 correspond à un carbonyle de l'acide carboxylique en position

C-28.

En associant ces valeurs spectroscopiques et par comparaison avec celles de la littérature, nous permet de ressortir le squelette ci-dessous:

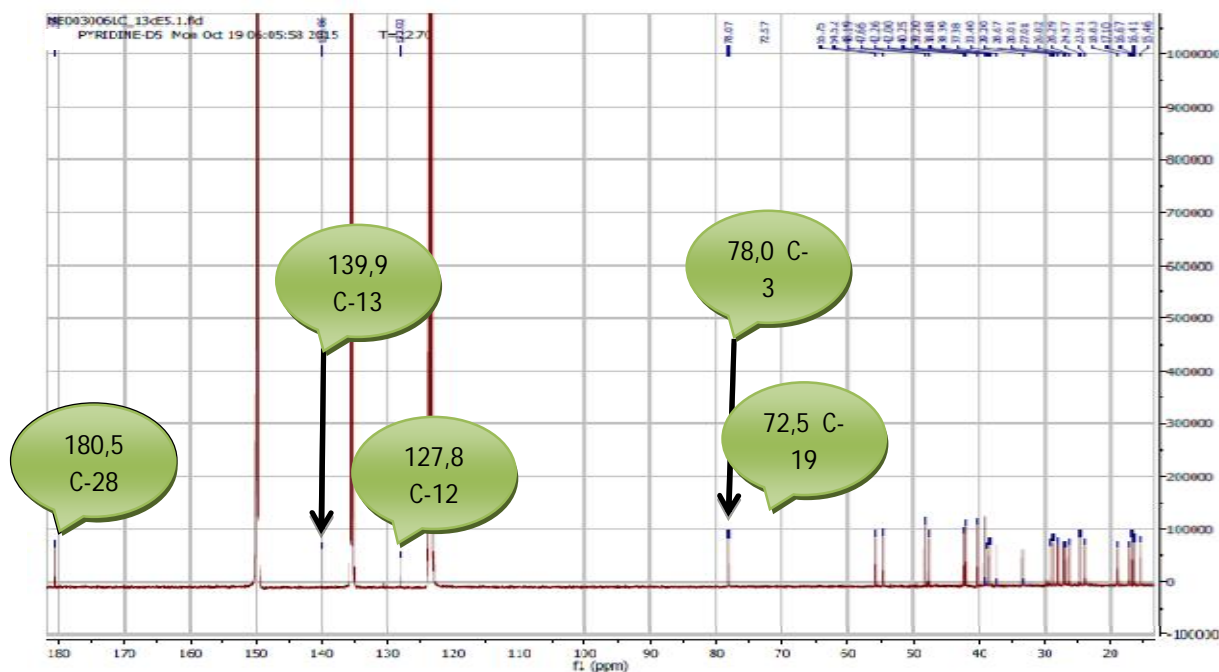
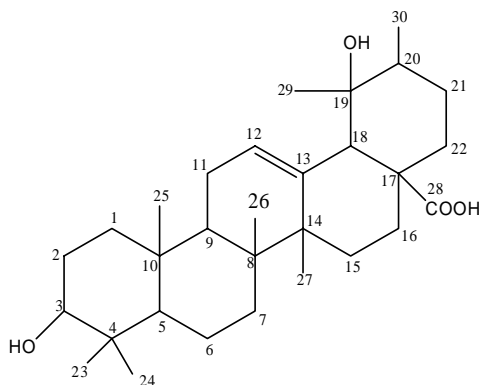


Figure 9: Spectre RMN ^{13}C (pyridine- d_5 , 125 MHz) de LC₂

Sur son spectre COSY (fig 10), nous observons une corrélation entre le proton H-9 (1,82) et le proton H-11 (2,06) ainsi qu'une corrélation entre ce même proton H-11 (2,06) et le proton H-12 (5,62).

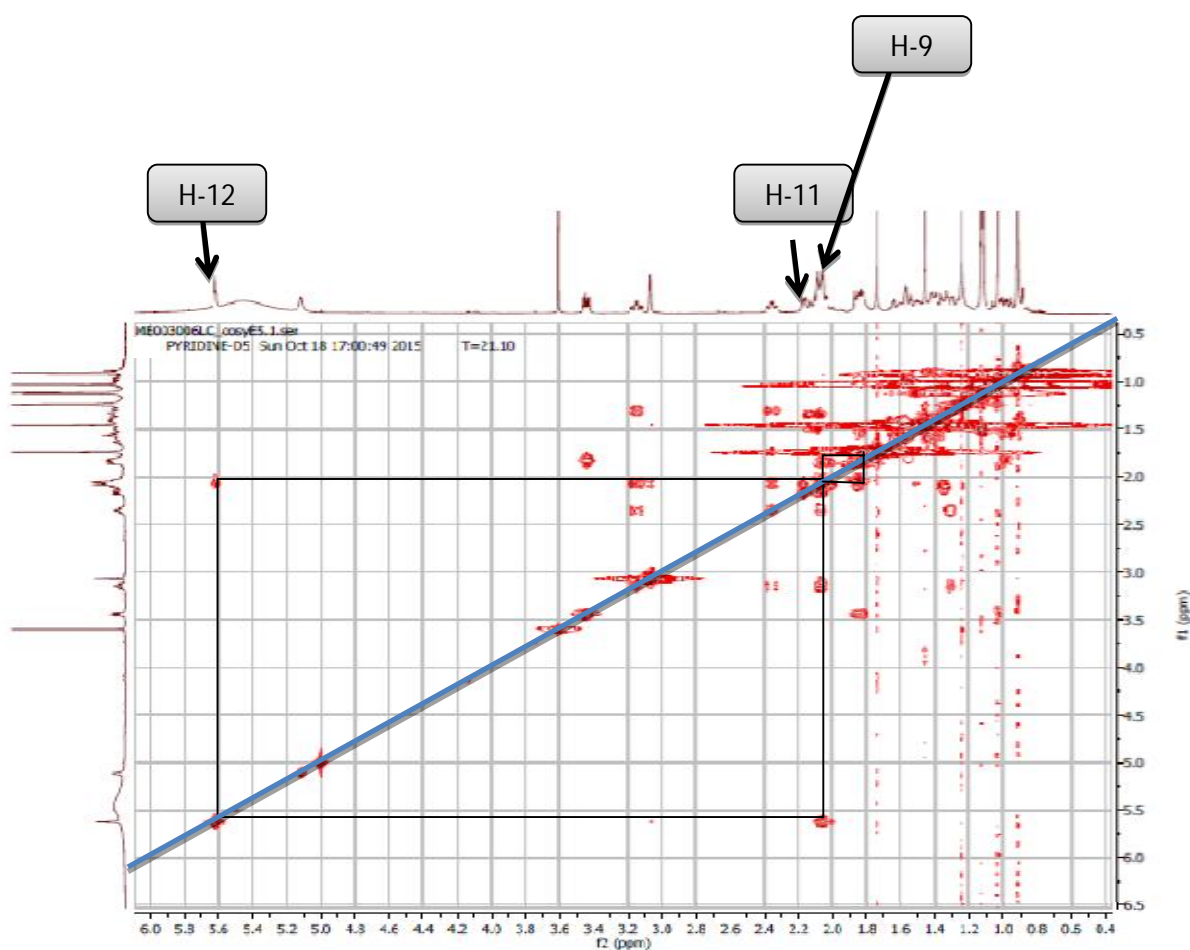
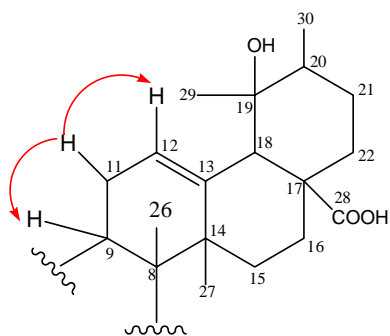


Figure 10: Spectre COSY (pyridine-*d*₅, 125 MHz) de LC₂

De son spectre HSQC (fig 11), nous observons des corrélations entre le proton H-12 (5,62) et le carbone C-12 (127,8), entre le proton H-3 (3,46) et le carbone C-3 (78,0) et enfin une corrélation entre le proton H-18 (3,15) et le carbone C-18(54,5).

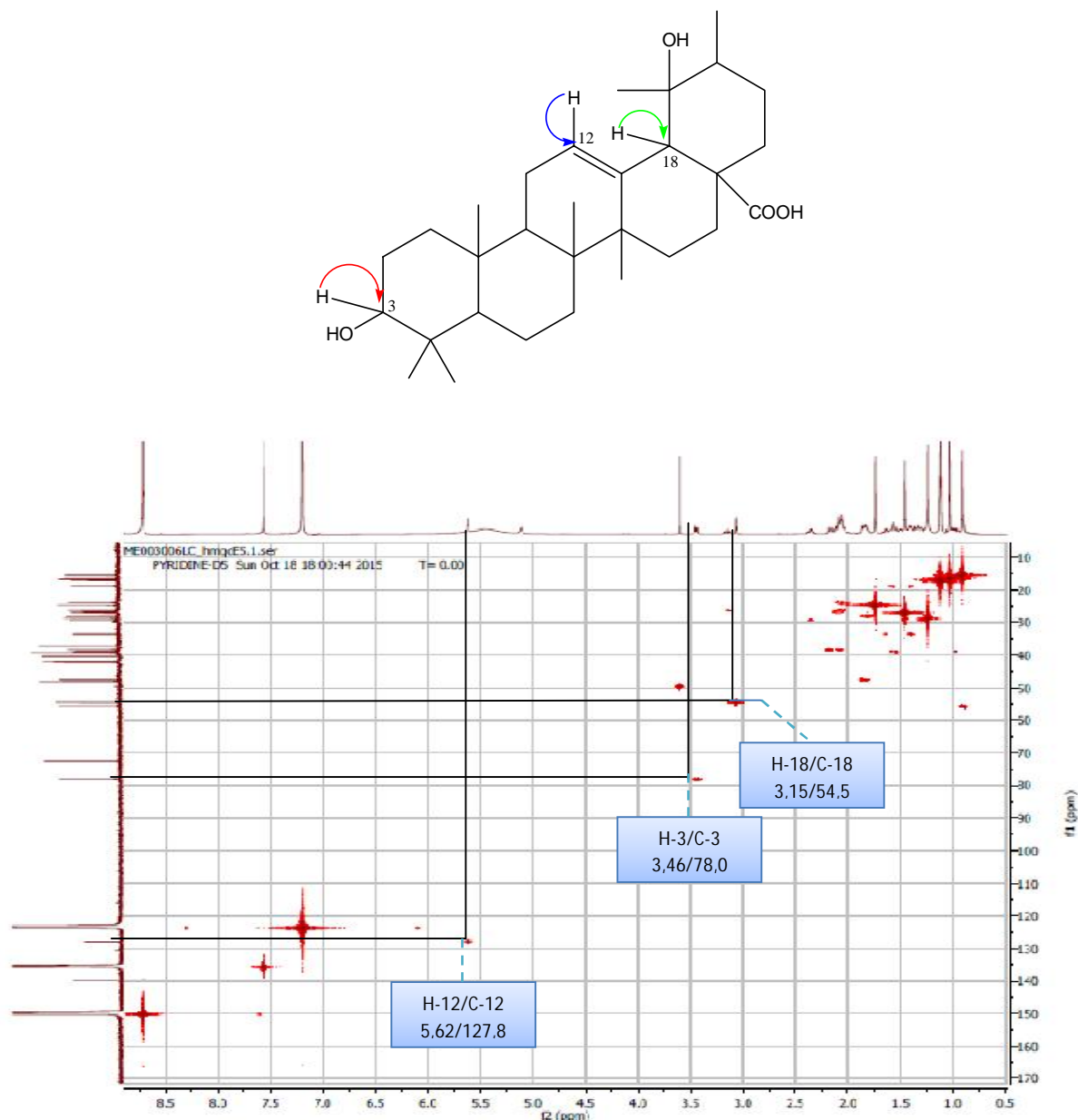


Figure 11: Spectre HSQC (pyridine-*d*₅, 125 MHz) de LC₂

Son spectre HMBC (fig 12) montre des corrélations entre le proton H-12 et les carbones C-14, C-9, C-18; une corrélation entre le proton H-18 et les carbones C-12 et C-13; une corrélation entre le proton H-29 et les carbones C-18 et C-19 ainsi qu'une corrélation entre le proton H-30 et le carbone C-19

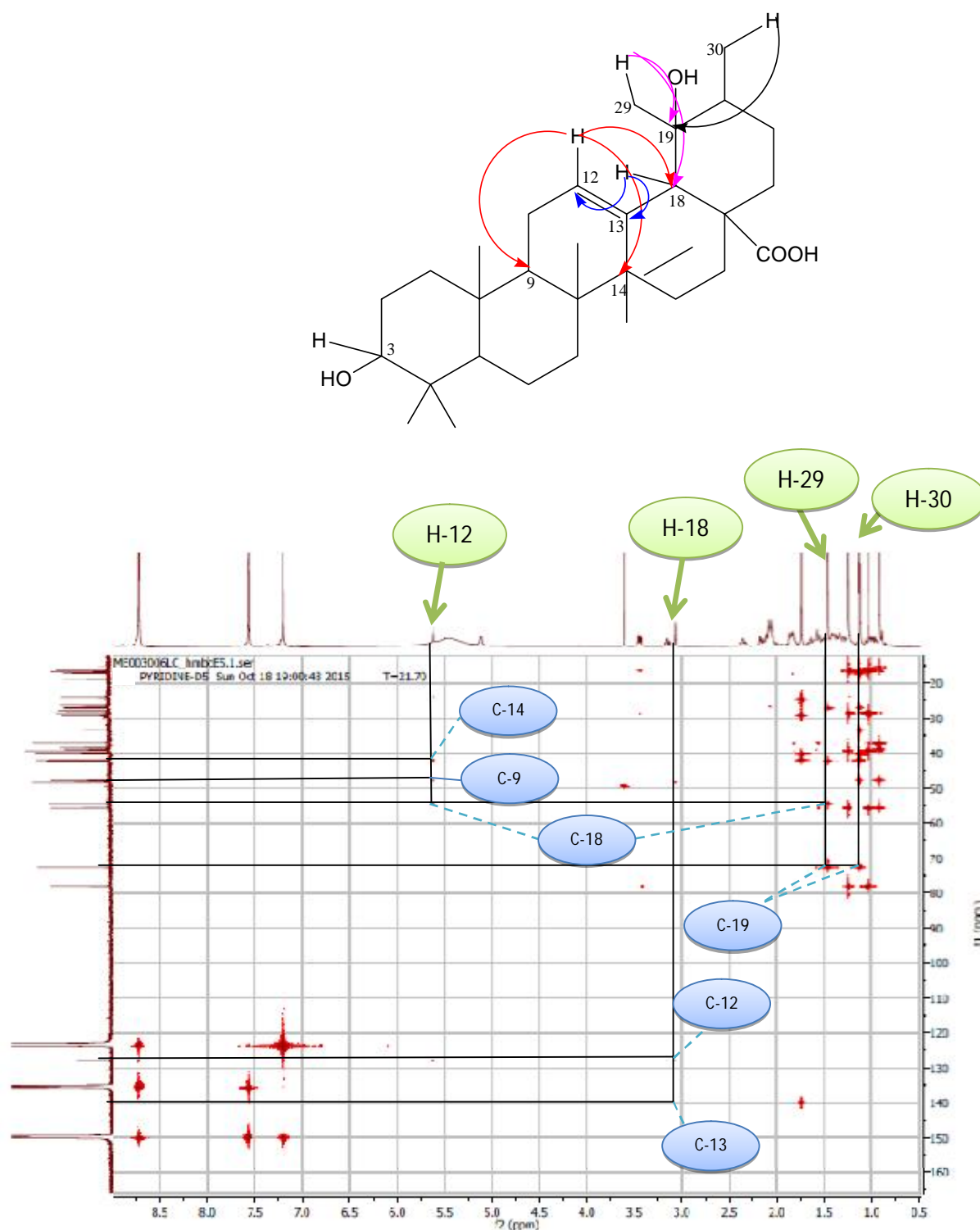


Figure 12: Spectre HMBC (pyridine-*d*₅, 125 MHz) de LC₂

L'ensemble de toutes ces données spectroscopiques comparées à celle décrite par Mahato et *al.*, (1994), nous a permis d'attribuer à LC₂ la structure ci-dessous qui est celle de l'acide pomolique (3 β ,19 α -dihydroxyurs-12-ène-28-oïque) déjà isolé des racines et tiges de *Lantana camara* par Begun et *al.*, (1995).

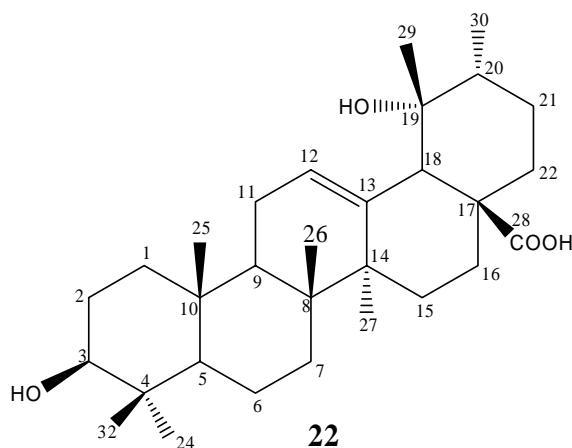


Tableau 9: Données spectrales de RMN ^1H et RMN ^{13}C de LC₂ (Pyridine-d₅) comparées aux données RMN ^1H et RMN ^{13}C (Pyridine-d₅) de l'acide pomolique (Mahato et al., 1994).

Positi ons	LC ₂		Acide pomoliqu e	Positi ons	LC ₂		Acide pomolique
	δ_c	δ_H			δ_c	δ_H	
1	38,8		38,7	16	26,3		26,6
2	28,0		28,0	17	48,2		48,2
3	78,0	3,46 (1H; dd $J=4,5$)	78,2	18	54,5	3,09 (1H; s)	54,5
4	39,2		39,3	19	72,5		72,7
5	55,7		55,8	20	42,2		42,3
6	18,8		18,9	21	26,8		27,0
7	33,4		33,6	22	38,3		37,4
8	40,2		40,3	23	16,4	1,03 (3H; s)	17,0
9	47,6		47,7	24	28,6	15,4 (3H; s)	29,3
10	37,4		37,3	25	15,4	0,91 (3H; s)	15,5
11	23,9		24,0	26	16,6	1,11 (3H; s)	17,1
12	128,0	5,62 (1H; brs)	128,1	27	24,4	1,74 (3H; s)	24,6
13	139,9		139,9	28	180,5		180,6
14	42,0		42,1	29	27,0	1,46 (3H; s)	26,8
15	29,2		29,2	30	17,1	1,14 (3H; d $J=6$)	17,4

II.2.2- Analyse structurale du composé LC₁

Le composé LC₁ se présente sous forme de paillette blanche dans l'hexane pur. Il est soluble dans le CH₂Cl₂ et donne une coloration bleue virant rapidement au vert avec le test de Liebermann-Burchard caractéristique des stéroïdes.

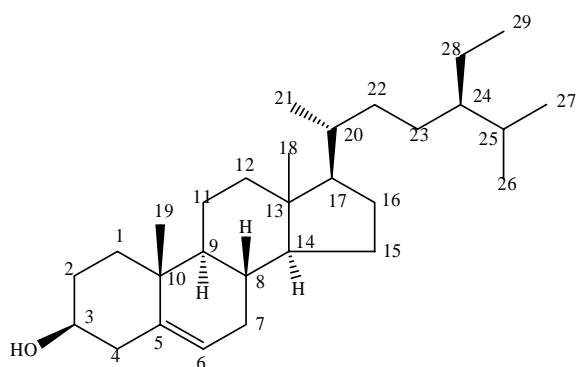
Son spectre RMN ¹H (**Fig13**) montre les signaux caractéristiques:

- à δ_H 5,32 attribuable au proton oléfinique H-6 et δ_H 3,64 correspondant au proton lié au carbone oxygéné H-3 en position C-3 des stéroïls type β (**Pateh et al., 2009**).
- à δ_H 5,21 et 5,08; on observe les signaux des protons oléfiniques H-22, H-23 attribuables au stigmastérol.

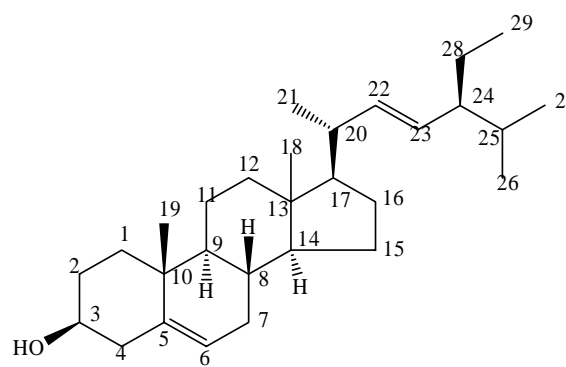
L'analyse de son spectre RMN ¹³C (**Fig14**) fait ressortir 29 atomes de carbone, mettant ainsi en évidence :

- Un signal à δ_C 70,8 attribuable au carbone portant le groupement hydroxyle en position C-3 des stéroïdes.
- Les signaux des carbones de la double liaison à δ_C 141,4 et 120,6 correspondant aux carbones C-5 et C-6 des stéroïls de type β (**Pateh et al., 2009**).
- Les signaux des carbones oléfiniques à δ_C 138,4 et 129,2 correspondant aux carbones C-22 et C-23 du stigmastérol (**Pateh et al., 2009**).

Au vu de ces informations couplées à celles décrites dans la littérature, la structure de LC₁ a été identifiée à celle d'un mélange de β -sistostérol et stigmastérol.



45 β -sistostérol



46 stigmastérol

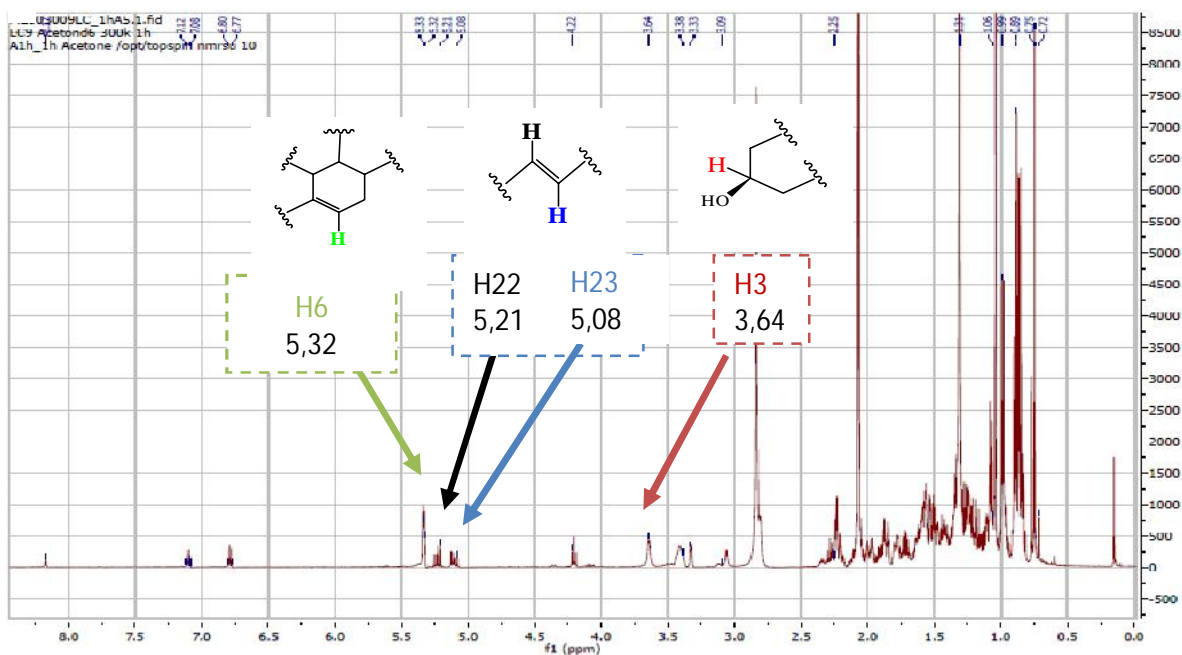


Figure 13: Spectre RMN ^1H (acétone- d_6 , 300 MHz) de LC_1

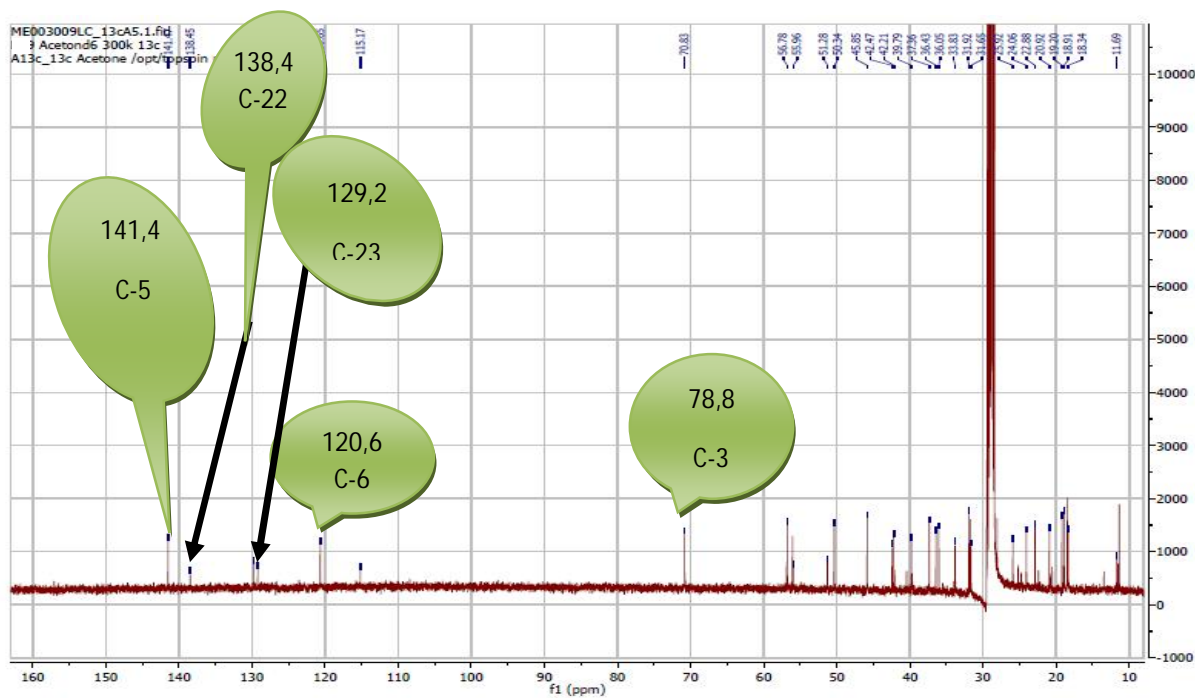


Figure 14: Spectre RMN ^{13}C (acétone- d_6 , 300 MHz) de LC_1

Tableau 10: Données spectrales de RMN ^{13}C de LC₁ (acétone-d₆) comparées aux données RMN ^{13}C de la littérature.

	LC ₁	Données Littérature		LC ₁	Données Littérature
Positions	δ_c	δ_c	Positions	δ_c	δ_c
1	37,3	36,7	16	25,9	28,2
2	31,9	29,7	17	55,9	56,2
3	70,8	71,9	18	11,3	12,0
4	45,8	42,3	19	18,2	19,0
5	140,9	140,9	20	42,2	41,3
6	120,6	120,6	21	19,2	31,1
7	33,8	32,3	22	138,4	138,4
			22'		34,2
8	31,6	30,1	23	129,2	129,3
			23'		30,2
9	50,3	50,0	24	51,2	51,2
10	36,4	36,0	25	36,0	34,0
11	20,9	24,3	26	18,3	21,2
12	37,7	39,8	27	18,9	22,9
13	42,7	40,3	28	24,0	25,2
14	56,7	56,5	29	11,6	12,0
15	22,8	24,3			

INTERET PEDAGOGIQUE

La rédaction de ce mémoire a été d'un intérêt capital dans la mesure où elle nous a permis de nous familiariser avec la recherche, une tâche qui comblera toute notre carrière car tout enseignant de science physique doit être permanemment dans la documentation pour mieux meubler son cours, sa compréhension et celle des élèves. Par ailleurs ce travail a également été d'un grand apport car tout au long, nous nous sommes familiarisés aux nombreuses techniques de laboratoire tel que la filtration, la distillation, l'extraction, la chromatographie.... techniques qui pourront être utilisées au profit des élèves pendant les séances de travaux pratiques. Ceci dit, elles pourront faciliter la construction des savoirs chez l'apprenant.

La rédaction de ce mémoire et la représentation des structures nous a également permis de nous familiariser avec les logiciels tels que: Word, Chem-Draw ce qui nous permettra de bien concevoir les sujet d'évaluation au lycée.

La recherche des métabolites secondaires de l'espèce *Lantana camara* nous a conduites à l'identification de différentes classes de composés (triterpène, stérol) renferment plusieurs groupements fonctionnels tels que les alcools, les acides carboxyliques, les alcènes qui peuvent être caractérisés par des tests d'identification (test de Lucas, test au papier pH, l'eau de brom), et sur lesquels plusieurs réactions d'addition et de substitution vues dans les classes au secondaire peuvent avoir lieu.

En fin ce mémoire nous a permis de mettre en évidence l'esprit de synthèse (introduction, résumé, utilisation de différentes méthodes d'analyse), qualité indispensable pour les futurs enseignants. En tant qu'éducateur, nous devons transmettre aux apprenants cet esprit de synthèse, ce qui les aidera dans toutes les disciplines.

CONCLUSION ET PERSPECTIVES

Le travail que nous avons effectué sur l'extrait méthanolique des feuilles de *Lantana camara* a conduit à l'isolement et à la purification de cinq composés indexés LC₁ (mélange de 2 composés), LC₂, LC₃ et LC₄. A l'aide des méthodes chromatographiques (CC et CCM), trois de ces composés ont été caractérisés et identifiés à la l'acide pomolique (LC₂) et à un mélange de β -sistostérol et de stigmastérol (LC₁).

Les structures de ces composés ont été élucidées sur la base des méthodes spectroscopiques (RMN 1D et RMN 2D) et confirmées par comparaison avec celles décrites dans la littérature.

Les résultats obtenus dans ces travaux confirment que les feuilles de *Lantana camara* possèdent des biomolécules donc les structures de certaines ont été clairement définies. Cependant l'étude des autres composés étant en cours est indispensable. De ce fait nous envisageons dans un futur proche:

- D'achever la purification des fractions restantes;
- De réaliser des tests biologiques sur l'extrait brut et les composés isolés afin de confirmer la présence des principes actifs dans *Lantana camara*;
- D'étudier le profil toxicologique de l'extrait brut et des composés purs isolés en vue de valoriser l'emploi de celle-ci dans la pharmacopée.



CHAPITRE III :
PARTIE EXPERIMENTALE

III Généralités

III.1 Chromatographie sur colonne (CC).

C'est une technique de fractionnement des extraits bruts et de purification. La phase stationnaire utilisée pour la CC est le gel de silice 230-400 mesh (Merck) et 170-230 (Merck). La phase mobile est un mélange binaire de solvant qui est déterminée par l'analyse CCM sur des plaques chromatographiques réalisées à partir des feuilles d'aluminium recouvertes de gel de silice de type 60F₂₅₄, d'épaisseur 0,2 mm et de dimension 20×20 cm. Les fractions sont recueillies dans des petits flacons de 50 mL et sont analysées par CCM puis regroupées. Le solvant est évaporé à l'aide d'un évaporateur rotatif. Les révélateurs utilisés pour visualiser les composés sont : l'acide sulfurique dilué, la lampe ultra-violet (UV) et l'iode.

III.2 : Méthodes physico-chimiques

III.2.1 : Spectroscopie de Résonance Magnétique Nucléaire (RMN).

Les spectres monodimensionnels RMN ¹H et RMN ¹³C ont été enregistrés dans la pyridine-d₅ et l'acétone-d₆ de même que les expériences de RMN multidimensionnelles (HSQC, HMBC, COSY). Ces enregistrements sont effectués à l'aide d'un spectromètre de type Bruker avec pour référence interne le tétraméthylsilane (TMS) et à température ambiante. Les déplacements chimiques de RMN sont exprimés en partie par million (ppm) sur l'échelle δ et relatif au TMS avec $\delta=0,00$ ppm.

III.3 Extraction, isolement et purification

III .3.1 Matière végétale

Les feuilles de *Lantana camara* ont été récoltées à Yaoundé dans le Département de Mfoudi, Région du Centre Cameroun en Janvier 2016. L'identification a été faite par M. Victor NANA, botaniste à l'Herbier National du Cameroun.

III .3.2 Extraction

Les feuilles de *Lantana camara* ont été séchées et 0,4 Kg de ces feuilles ont subi une extraction par macération à température ambiante au méthanol pendant 48 heures. Après filtration et évaporation du solvant, on obtient environ 100g d'extrait brut qui ont subi une chromatographie sur colonne successive. A l'issue de cette chromatographie, quatre fractions indexées F₁, F₂, F₃ et F₄ ont été obtenus.

III.3.3 Isolement et purification

100 g d'extrait au méthanol ont subi un dégrossissement par chromatographie sur colonne. L'élution a été faite au mélange CH₂Cl₂ /MeOH de polarité croissante. 60 fractions ont été recueillies et regroupées sur la base des CCM en quatre séries F₁ (14,5 g), F₂ (35,9 g), F₃ (33,1 g) et F₄ (15,5 g). Le tableau suivant présente la chromatographie sur colonne effectuée.

Tableau 11: Chromatographie de l'extrait total.

Solvants	Fractions	Remarques	Série
CH ₂ Cl ₂ pur	1-7	Mélange de cinq composés au moins	F ₁
CH ₂ Cl ₂ /MeOH (85 : 15)	7-15		
CH ₂ Cl ₂ /MeOH (75 : 35)	16-34	Mélange de trois composés au moins	F ₂
CH ₂ Cl ₂ /MeOH (50 : 50)	35-47	Mélange de six composés au moins	F ₃
CH ₂ Cl ₂ /MeOH (25 : 75)	48-54	Mélange de cinq composés au moins dont un mélange de deux produits cristallise	F ₄
MeOH pur	55-60		

10 g de la série F₁ ont été chromatographiés sur colonne de gel de silice. L'élution a été faite au mélange Hex/AE de polarité croissante et 110 flacons de 50 mL ont été recueillies, concentrées et regroupées sur la base de la CCM analytique. Les résultats sont représentés dans le tableau suivant.

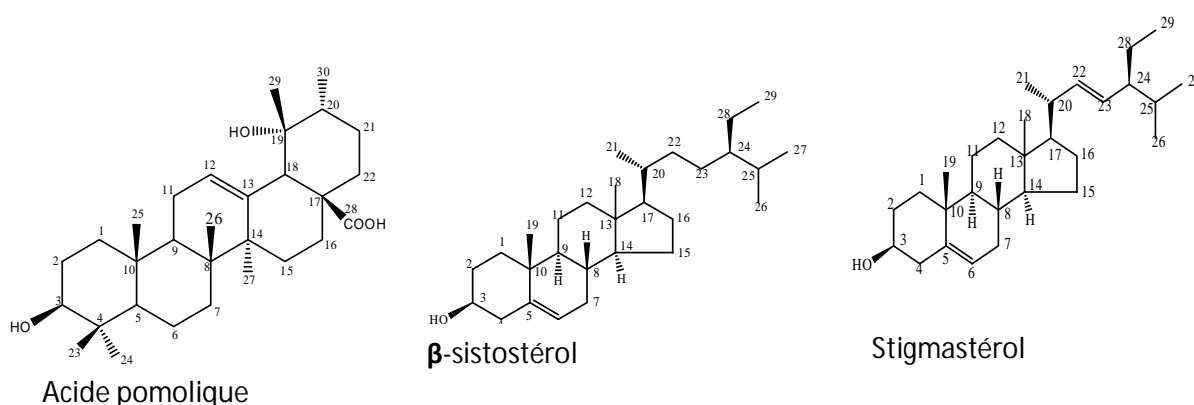
Tableau 12: Chromatographie de la série F₁

Solvants	Fractions	Remarques
Hex pur	1-5	Mélange d'au moins 5 produits dont un cristallise (LC ₁)
Hex/AE (95 : 5)	6-11	Mélange d'au moins 7 composés
Hex/AE (90 : 10)	12-20	Mélange d'au moins 4 produits dont un cristallise (LC ₂)
Hex/AE (85 : 15)	21-30	Mélange d'au moins 3 composés
Hex/AE (80 : 20)	31-39	Mélange d'au moins 4 produits dont un cristallise (LC ₃)
Hex/AE (70 : 30)	40-50	Mélange d'au moins 2 produits dont un cristallise (LC ₄)
Hex/AE (60 : 40)	51-63	Mélange d'au moins 3 composés
Hex/AE (50 : 50)	64-75	Mélange d'au moins 2 composés + une trainée
Hex/AE (25 : 75)	76-84	Mélange d'au moins 2 composés
Hex/AE (10 : 90)	85-97	Mélange d'au moins 2 composés
AE pur	98-110	Mélange d'au moins 2 composés

LC₁ et LC₃, précipitent sous forme de paillette blanche; LC₂ sous forme de poudre blanche et LC₄ sous forme de paillette jaune respectivement dans les flacons (1-5), (31-39), (12-20) et (40-50). Après filtration et lavage dans le solvant approprié, on obtient 10,9 mg de LC₁; 10,2 mg de LC₂; 9,9mg de LC₃ et 10,9 mg de LC₄.

Tableau 13: Caractéristiques physico-chimiques des composés LC₁ et LC₂.

	LC ₁	LC ₂
Noms des composés	β-sistostérol stigmastérol	acide pomolique
Aspect physique	paillette blanche	poudre blanche
Masse molaire	$m/z = 412$ (β-sistostérol) $m/z = 410$ (stigmastérol)	$m/z = 472$
Formule brute	C ₂₉ H ₅₀ O (β-sistostérol) C ₂₉ H ₄₈ O (stigmastérol)	C ₃₀ H ₄₀ O ₄
Test positif	Liebermann-Burchard	Liebermann-Burchard
Nombre d'insaturation	5 (β-sistostérol) 6 (stigmastérol)	7



III.6 Test de Liebermann Burchard

But : Identification des triterpènes et des stérols

Mode opératoire : Dissoudre une petite quantité de composé dans 1mL de chloroforme. Ajouter à la solution obtenue quelques gouttes d'anhydride acétique puis d'acide sulfurique.

Observation : les triterpènes donnent en présence du réactif de Liebermann Burchard une coloration rouge violacée pendant que les stérols donnent une coloration bleue qui vire rapidement au vert.

REFERENCES

BIBLIOGRAPHIQUES

- Agra M.F., Baracho G.S., Nurit K., Basilio I.J.L.D., Coelho V.P.M., (2007).** Medicinal and poisonous diversity of the flora of “Cariri Paraibano”, Brazil. *Journal of Ethnopharmacology* **111**, 383–395.
- Arbonnier M., (2002).** Arbres, arbustes et lianes des zones sèches d’Afrique de l’Ouest. *Edition ISBN CIRAD*, Pont-sur-Yonne, pp. 392, 574.
- Banthorpe, D. V., (1991).** Classification of Terpenoids and General Procedures for their Characterization in *Methods in plant Biochemistry*, Terpenoids, Dey, P. M. and Harbone. *Journal Botanic Academic* **7**, 1– 42.
- Barre J.T., Bowden B.F., Coll J.C., Jesus J., Fuente V., Janairo G.C., Ragasa C.Y., (1997).** A bioactive triterpenoid from *Lantana camara*. *Phytochemistry* **4**, 321–324.
- Begum S., Raza SM., Siddiqui BS., Siddiqui S., (1995).** Triterpenoids from the aerial parts of *Lantana camara*. *Journa of Natural Products* **58**, 1570–1574.
- Boiteau, Pasick B., Ratsimanaga A. R., (1964).** Liebermann-Burchard in: Les triterpènes en physiologie végétale et animale, édité par Gautier Villars, Paris, p. 469.
- Bouquet A., (1969).** Féticheurs et médecines traditionnelles du Congo (Brazzaville). Mémoires O.R.S.T.O.M. N° 36, 305p.
- Bruneton J., (1993).** Pharmacognosie : Phytochimie des plantes médicinales. 2^e Edition Paris, pp. 527– 611.
- Bruneton J., (1999).** Pharmacogonosie, Phytochimie et Plantes médicinales. 3^{ème} Edition. Rue Lavoisier, France: Technique et Documentation, pp. 279–283.
- Bruneton J., (2009).** Pharmacognosie, Phytochimie et plantes médicinales. 4^{ème} Edition revue et augmentée, Techniques et Documentation - Editions médicinales internationales, Paris, p. 1288.
- Chowdhury J.U., Nandi N.C., Bhuiyan N.I., (2007).** Chemical composition of leaf essential oil of *Lantana camara* L. from Bangladesh. Short communication. *Bangladesh Journal of Botany* **36**, 193– 194.

- Das M. C. Singh B., (1983).** Chemistry of heterocyclic compounds: The pyrimidine. *Phytochemistry* **22**, 1071– 1078.
- Diallo A., (2005).** Etude de la phytochimie et des activités biologiques de *Syzygium guineense* Willd (Myrtaceae). Thèse de Doctorat d'Etat en pharmacie, Université de Bamako, Mali. p. 2.
- Dibong S. D., Mpondo M. E., Ngoye A., Kwin M. F., Betti J. L., (2011).** Ethnobotanique et phytomédecine des plantes médicinales de Douala, Cameroun. *Journal of Applied Biosciences* **37**, 2496 – 2507.
- Dua V.K., Pandey A.C., Dash A.P., (2010).** Adulticidal activity of essential oil of *Lantana camara* leaves against mosquitoes. *Indian Journal of Medical Research* **131**, 434 – 439.
- Erlânio O. S., José G.M., (2012).** Genus *Lantana*: chemical aspects and biological activities. *Brazilian Journal of Pharmacognosy* **22**(5), 1155 – 1180.
- Ethnopharmacologia (2009).** Pratiques traditionnelles de santé à travers le monde. Bulletin de la Société Française d'Ethnopharmacologie et de la Société Européenne d'Ethnopharmacologie. N° 44, 91 p. ISSN: 1261– 4572.
- Ganjewala D., Sam S., Khan K.H., (2009).** Biochemical compositions and antibacterial activities of *Lantana camara* plants with yellow, lavender, red and white flowers. *EurAsia Journal of BioSciences* **3**, 69 – 77.
- Gautam P., Anand B.K., Keh-Feng H., Fuh-Mei L., (2015).** Bioactive Chemical Constituent from the leaves of *Lantana camara* L. *Indian Journal of Chemistry* **54**, 691– 697.
- Geissler P.W., Harris S.A., Prince R.J., Olsen A., Odhiambo R.A., Oketch-Rabah H., Madiaga P.A., Andersen A., Mølgaard P., (2002).** Medicinal plants used by Luo mothers and children in Bondo district, Kenya. *Journal of Ethnopharmacology* **83**, 39 – 54.
- Ghisalberti E.L., (2000).** *Lantana camara* L. (Verbenaceae). *Fitoterapia* **71**, 467 – 486.

- Kerharo J., Adam J. G., (1974).** La pharmacopée Sénégalaise traditionnelle. Plantes médicinales et toxiques. Editions Vigot Frères, p. 1012.
- Mahato S. B., Kundu (1994).** ¹³C NMR Spectra of Pentacyclic Triterpenoids. A Compilation and Some Salient Features. *Phytochemistry* **37**, 1517 – 1575.
- Mahato S. B., Nandy A. K., Gita, R., (1992).** Triterpenoids. *Phytochemistry* **31**, 2199 – 2249.
- Misra L., Laatsch H., (2000).** Triterpenoids, essential oil and photooxidative 28413 lactonization of oleanolic acid from *Lantana camara*. *Phytochemistry* **54**, 969 – 974.
- Mofu F., (1990).** Thèse de doctorat de 3^e Cycle en Chimie Organique, Université de Yaoundé, pp.8-10, 50 – 55.
- N'guessan K., Soro D., Amon A.D.E., (2011).** Plantes utilisées en médecine traditionnelle dans le traitement des maladies cardiovasculaires, en pays Abbey et Krobou, dans le Sud de la Côte-d'Ivoire. *Phytothérapie* **9**, 199 – 208.
- Ramdane S., (2006).** Recherche et Détermination structurale des métabolites secondaires du genre *centaurea*: *C. A. fricana*, *C. nicaensis*. Thèse de Doctorat en Chimie Organique. Option phytochimie, Université Mentouri-constantine, p. 12.
- Rimpler H., Sauerbier H., (1986).** Iridoid glucosides as taxonomic markers in the genera *Lantana*, *Lippia*, *Aloysia* and *Phyla*. *Biochemical Systematics and Ecology* **14**, 307 – 310.
- Rwangabo P.C., Claeys M., Pieters L., Corthout J., (1988).** Umuhengerin new antimicrobially active flavanoid from *Lantana trifolia*. *Journal of Natural Products* **51**, 966 – 968.
- Pateh, U. U., Haruna, A. K., Garba, M., Iliya, I., Sule, I. M., Abubakar, M. S., Ambi, A. (2009).** A Isolation of stigmasterol, β -sitosterol and 2-hydroxyhexadecanoic acid methyl ester from the rhizomes of *Stylochiton lancifolius* Pyer and Kotchy (Araceae). *Nigerian Journal of Pharmaceutical Sciences*, **7**, 19-25.

Tangmouo J. G., Lontsi D., Ngounou F. N., Kuete V., Meli A. L., Manfouo R. N., Kamdem H. W., Tane P., Penlap V., Sondengam B. L, Connolly J. D., (2005). Diospyrone, a new coueraminybinaphthoquinone from *diospyros canaliculata* (Ebenaceae): structure and antimicrobial activity. *Journal of Natural Products* **19**, 81 – 88.