

REPUBLIQUE DU CAMEROUN

Paix – Travail – Patrie

UNIVERSITE DE YAOUNDE I
ECOLE NORMALE SUPERIEURE
DEPARTEMENT DE CHIMIE



REPUBLIC OF CAMEROUN

Peace – Work – Fatherland

UNIVERSITY OF YAOUNDE I
HIGHER TEACHER TRAINING COLLEGE
DEPARTMENT OF CHEMISTRY

ÉTUDE CHIMIQUE DE L'EXTRAIT AU CH₂Cl₂ /MeOH DES ÉCORCES DU TRONC DE UVARIA ANGOLENSIS (ANNONACEAE)

Présentée en vue de l'obtention du Diplôme de Professeur de l'Enseignement
Secondaire deuxième grade

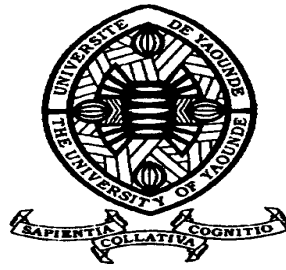
Par :

NOUMI LOWE Vanessa Esther
Licenciée en chimie

Sous la direction
KOUAM FOGUE Siméon
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

Je soussigné, Pr KOUAM FOGUE Siméon (Professeur), certifie que ce travail intitulé « **Etude chimique de l'extrait au CH₂Cl₂/MeOH des écorces du tronc d'*Uvaria angolensis* (Annonaceae)** », a été effectué par NOUMI LOWE Vanessa Esther au laboratoire de Chimie organique de l'Ecole Normale Supérieure de Yaoundé sous ma direction.

Ce travail n'a jamais été présenté devant un jury dans le cadre d'une thèse ou d'un mémoire.

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

Yaoundé le.....

Le Directeur

TABLE DES MATIERES

DEDICACE

REMERCIEMENTS

LISTE DES ABREVIATIONS, SYMBOLES ET FORMULES

LISTE DES FIGURES

LISTE DES SCHEMAS

LISTE DES TABLEAUX

RESUME

ABSTRACT

INTRODUCTION GENERALE.....1

CHAPITRE 1 : REVUE DE LA LITTERATURE.....3

1.1 - APERCU BOTANIQUE.....4

1.1.1- Généralités sur les *Annonaceae*.....4

1.1.2-Généralités sur le genre *Uvaria*.....4

1.1.3- Généralités sur l'espèce *Uvaria angolensis*.....5

1.1.4- Répartition géographique de l'espèce *Uvaria angolensis*.....5

1.1.5- position systématique.....6

1.2- QUELQUES USAGES DES PLANTES DU GENRE *UVARIA*.....7

1.3- TRAVAUX BIOLOGIQUES ANTERIEURS SUR LE GENRE *UVARIA*.....7

1.4- TRAVAUX CHIMIQUES ANTERIEURS SUR LE GENRE *UVARIA*.....8

1.4.1- Les alcaloïdes isolés des plantes du genre *Uvaria*.....8

1.4.2- Les triterpènes isolés des plantes du genre *Uvaria*.....9

1.4.2.1- Définition9

1.4.2.2-Classification des triterpènes.....9

1.4.2.3- Biosynthèse des triterpènes.....10

1.4.3-Les flavonoïdes isolés des plantes du genre *Uvaria*.....13

1.5- TRAVAUX CHIMIQUES ANTERIEURS SUR L'ESPECE *UVARIA ANGOLENSIS*.....15

1.5.1 - Généralités sur les flavonoïdes.....15

1.5.1.1- Définition.....15

1.5.1.2- Classification des flavonoïdes.....15

1.5.1.3- Biosynthèse des flavonoides.....16

1.5.2-Flavonoïdes isolés d'*Uvaria angolensis*.....17

1.5.2.1- Les dihydrochalcones isolés d'*Uvaria angolensis*.....18

1.5.2.2-Flavanones isolés d' <i>Uvaria angolensis</i>	19
1.5.3 Méthode de détermination des structures des flavonoïdes.....	20
1.5.3.1-Spectroscopie UV.....	20
1.5.3.2-Spectroscopie IR.....	21
1.5.3.3- Spectroscopie de Résonance Magnétique Nucléaire à une dimension (RMN 1D)..	21
1.5.3.4- Spectroscopie de Résonance Magnétique Nucléaire à deux dimensions (RMN 2D).....	23
1.5.3.5- Intérêts biologiques des flavonoïdes.....	24
1.6- ETUDE DES LIGNANES.....	24
1.6.1-Définition.....	24
1.6.2- Classification des lignanes.....	25
1.6.3- biosynthèse des lignanes.....	26
1.6.4-Méthodes d'analyse des lignanes.....	27
1.6.4.1-Analyse qualitative.....	27
1.6.4.2-Analyse quantitative.....	27
CHAPITRE II : RESULTATS ET DISCUSSION.....	29
2.1- EXTRACTION ET ISOLEMENT DES COMPOSES.....	30
2.2- IDENTIFICATION DES COMPOSES.....	31
2.2.1-Identification de MU ₃	31
2.2.2- Identification de MU ₄	39
INTERET PEDAGOGIQUE.....	40
CONCLUSIONS ET PERSPECTIVES.....	42
CHAPITRE III : PARTIE EXPERIMENTALE.....	44
3.1- METHODES, APPAREILLAGE ET MATERIEL VEGETAL.....	45
3.1.1- Méthodes et appareillage.....	45
3.1.2- Matériel végétal.....	45
3.2-EXTRACTION, ISOLEMENT ET PURIFICATION DES COMPOSES.....	46
3.2.1- Extraction.....	46
3.2.2-Isolement et purification des composés.....	46
3.2.3- Obtention des composés.....	47
3.2.3.1-Obtention de MU ₃	47
3.2.3.2- Obtention de MU ₄	47
3.2.3.3- Obtention de MU ₅	47

3.3- CARACTERISTIQUES PHYSICO-CHIMIQUES DES PRODUITS ISOLES.....	47
REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES.....	49

DEDICACE

Je dédie ce travail à :

➤ *Mes parents NOUMI Emmanuel et ABOGO ZE*

Delphine

➤ *Mon fils OSSALOA René Gabriel*

REMERCIEMENTS

Ce travail n'aurait pas vu le jour sans le soutien et l'encouragement de plusieurs personnes.

Mes sincères remerciements :

Au professeur KOUAM FOGUE Siméon pour la confiance qu'il m'a accordée en acceptant de diriger ce travail, pour ses conseils, ses encouragements, sa disponibilité, sa patience.

A tous les enseignants des départements de Chimie, Physique, et sciences de l'éducation de l'école normale de l'Université de Yaoundé I pour les enseignements et les conseils reçus.

A mon père, NOUMI Emmanuel pour son soutien permanent.

A mes aînés de laboratoire KENGNI M., GUIFFO, TCHAMGOUE J., MBOBDA

A. et MELONG R. pour leurs conseils, leurs critiques constructives et leur disponibilité.

Aux familles NOUMI et OSSALOA pour leurs encouragements.

A ETIEGNE OSSALOA Rodin pour son aide et ses encouragements.

A mon fils Gabriel pour son soutien moral.

A tous mes camarades de laboratoire et de promotion, en particulier MBAKUI S., KAMOU J., DAWA KEGNE N., NELO C. pour leur esprit d'équipe et les moments passés ensemble.

A mes sœurs MEA Gislaine et EBA Thérèse Aurélie pour leur soutien permanent.

A ma cousine MBIDA Madeleine pour ses encouragements.

Et à ceux que j'aurais manqué de citer nommément, je leur exprime ici ma profonde gratitude.

LISTE DES ABREVIATIONS, SYMBOLES ET FORMULES

A.E	Acétate d'éthyle
¹³ C	Carbone 13
CC	Chromatographie sur colonne
CCM	Chromatographie sur couche mince
CH₂Cl₂	Chlorure de Méthylène
COSY	Correlationspectroscopy
d	doublet
dd	doublet dédoublé
Hex	Hexane
DEPT	Distortionless Enhancement by Polarisation Transfer
DMSO-<i>d</i>₆	Diméthylsulfoxyde /deuté
HMBC	Heteronuclear Multiple Bond Correlation
HSQC	Heteronuclear Single Quantum Coherence
Hz	Hertz
IR	Infrarouge
m	multiplet
Me	Méthyle
MeOH	Méthanol
MHz	Méga Hertz
ppm	partie par million
RMN	Résonance Magnétique Nucléaire
RMN 1D	Résonance Magnétique Nucléaire à une dimension
RMN 2D	Résonance Magnétique Nucléaire à deux dimensions
s	singulet
U.	Uvaria
SM	Spectre de masse
UV	Ultraviolet
δ	Echelle de déplacement chimique

LISTE DES FIGURES

Figure 1 : <i>Uvaria angolensis</i>	5
Figure 2 : Spectre RMN ¹ H (Chloroform-d, 500 MHz) de MU ₃	35
Figure 3 : Spectre RMN ¹³ C (Chloroform-d, 125 MHz) de MU ₃	36
Figure 4 : Spectre DEPT de MU ₃	36
Figure 5: Spectre HMBC de MU ₃	37
Figure 6 : Spectre HMQC de MU ₃	37
Figure 7 : Spectre COSY de MU ₃	38

LISTE DES SCHEMAS

Schéma 1 : Biosynthèse du squalène.....	11
Schéma 2 : Cyclisation du squalène.....	12
Schéma 3: Squelette de base des flavonoïdes et numérotation adoptée (Cook et <i>al.</i> 1996)	15
Schéma 4: Biosynthèse des flavonoïdes illustrant les voies de l'acétyl CoA et de la phénylalanine (Harbone, 1988).....	17
Schéma 6: Squelette de base des lignanes.....	25
Schéma 7 : Biosynthèse des lignanes.....	27
Schéma 8: Protocole d'extraction et d'isolement des composés des écorces d' <i>Uvaria angolensis</i>	31
Schéma 9 : Quelques corrélations COSY de MU ₃	33
Schéma 10 : Quelques corrélations HMBC de MU ₃	33

LISTE DES TABLEAUX

Tableau 1 : Répartition géographique de l'espèce <i>Uvaria angolensis</i> au Cameroun.....	6
Tableau 2 : Position systématique de l'espèce <i>Uvaria angolensis</i>	6
Tableau 3 : Quelques alcaloïdes isolés des espèces du genre <i>Uvaria</i>	8
Tableau 4 : Quelques triterpènes isolés des plantes du genre <i>Uvaria</i>	13
Tableau 5 : Quelques flavonoïdes isolés des plantes du genre <i>Uvaria</i>	14
Tableau 6 : Différentes classes de flavonoïdes.....	16
Tableau 7: Les dihydrochalcones isolés de l'espèce <i>Uvaria angolensis</i>	18
Tableau 8 : Flavones isolés de l'espèce <i>Uvaria angolensis</i>	20
Tableau 9 : Différentes bandes d'absorption de quelques classes de flavonoïdes.....	21
Tableau10 : déplacements chimiques des protons caractéristiques de quelques classes de flavonoïdes.....	22
Tableau 11 : Déplacements chimiques des carbones centraux de quelques classes de flavonoïdes	23
Tableau 12 : Données spectrales de RMN ¹³ C (chloroform- <i>d</i> , 125,76) de MU ₃ comparées à celles du 3,4-bis(3',4'-diméthoxybenzyl)-dihydrofuran-2-one.....	34
Tableau 13 : Chromatogramme de l'extrait au CH ₂ Cl ₂ /MeOH (1 :1) des écorces d' <i>Uvaria angolensis</i>	47

RESUME

Le travail présenté dans ce mémoire porte sur l'extraction, l'isolement et la caractérisation des métabolites secondaires de l'extrait au CH₂Cl₂/MeOH des écorces du tronc d'*Uvaria angolensis*, une plante médicinale du Cameroun appartenant à la famille des Annonaceae. Les chromatographies successives faites sur cet extrait ont conduit à l'isolement de 03 composés.

De ces composés, seuls deux ont été identifiés sur la base des données spectroscopiques (RMN1D et RMN2D) et par comparaison de ces données avec celles de la littérature respectivement à la 3,4-bis(3',4'-diméthoxybenzyl)-dihydrofuran-2-one et au mélange β-sitostérol et stigmastérol qui sont des composés connus.

ABSTRACT

This work deals with extraction, isolation and characterization of secondary metabolites isolated from the stem bark of *Uvaria angolensis*, a Cameroonian medicinal plant of the Annonaceae family. Chromatography separation of the extract obtained with CH₂Cl₂/MeOH yielded three compounds.

Amongst these compounds, only two amongst the four were elucidated and identified to the known compounds 3,4-bis(3',4'-diméthoxybenzyl)-dihydrofuran-2-one and a mixed of β -sitostérol by means of their spectroscopic data (1D-NMR and 2D-NMR) and by comparison with those obtained for the literature .

INTRODUCTION GENERALE

Les plantes sont une source essentielle de médicaments. Aujourd'hui encore, une majorité de la population mondiale, plus particulièrement dans les pays en voie de développement de soigne à base de plantes médicinales. L'industrie pharmaceutique moderne s'appuie encore largement sur la diversité des métabolites secondaires issus des végétaux afin de trouver de nouvelles molécules aux propriétés biologiques inédites. Cette source semble inépuisable puisque seule une partie des 400 000 espèces végétales connues a été investiguée sur les plans phytochimiques et pharmacologiques (Wadriel, 2003). Chaque plante peut contenir jusqu'à plusieurs milliers de constituants différents (Wadriel, 2003). Ainsi, les laboratoires de par le monde ont initié des programmes de recherche en vue d'intégrer les procédés traditionnels et modernes de la médecine, dans le but de procurer à l'ensemble de la population mondiale des moyens plus réalistes, plus efficaces et moins onéreux d'accès à la santé. La chimie des substances naturelles occupant une place de choix dans ces programmes, la valorisation des plantes médicinales constitue un des axes privilégiés de la recherche au Département de Chimie de l'Ecole Normale Supérieure de Yaoundé. Les chimistes y travaillent dans le but d'isoler, de purifier, de caractériser les composés bioactifs des plantes reconnues pour leurs vertus thérapeutiques permettant ainsi aux firmes pharmaceutiques de les incorporer dans la formulation des médicaments. Pour apporter notre modeste contribution à ce vaste programme, nous nous sommes intéressés, dans le cadre de nos travaux de recherche en accomplissement partiel en vue de l'obtention du **Diplôme de Professeur de l'Enseignement Secondaire Deuxième Grade (D.I.P.E.S. II)**, à l'étude chimique de l'espèce *Uvaria angolensis* ; une plante médicinale du Cameroun de la famille des Annonaceae. Le choix de cette espèce a été motivé premièrement par les usages multiples dans la pharmacopée traditionnelle des plantes du genre *Uvaria* à l'instar d'*Uvaria afzali* utilisé pour soigner les douleurs d'estomac, et deuxièmement parce que jusqu'ici elle a fait l'objet de très peu d'études chimiques au Cameroun (Annick, 1969). Notre objectif général est d'extraire, d'isoler et de caractériser les métabolites secondaires des écorces du tronc d'*Uvaria angolensis*.

Après une revue de la littérature sur la famille des Annonaceae, le genre *Uvaria* et l'espèce *Uvaria angolensis*, nous allons tour à tour présenter et discuter les résultats obtenus, les méthodes expérimentales utilisées et la bibliographie consultée.

CHAPITRE 1 : REVUE DE LA LITTERATURE

1.1 - APERCU BOTANIQUE

1.1.1- Généralités sur les *Annonaceae*

Les *Annonaceae* forment une des familles de plantes les plus homogènes, tant par leur morphologie que par leur habitat, que l'on retrouve dans les régions tropicales, majoritairement dans les forêts denses et humides. On y compte environ 120 genres et 1100 espèces (Annick, 1969). En effet, les *Annonaceae* trouvent un climat de prédilection chaud et humide dans les forêts et c'est ainsi qu'on les retrouve en Australie, en Amérique et en Afrique, notamment au Cameroun, au Gabon, au Congo, à Madagascar... (Annick, 1969). Cette famille regroupe des arbres de taille moyenne (15-20m), des arbustes (7-10m) parfois grimpants et des lianes ligneuses persistantes ou plus rarement caducs (Annick, 1969). L'écorce est souvent gris-clair, peu épaisse, fissurée ou plissée longitudinalement, agréablement odorante, à rhytidome mince, noirâtre. Le tronc est cylindrique, droit, chez la plupart des grands arbres. Quelques espèces ont des racines en échasses (Annick, 1969). Les feuilles sont alternes, simples et entières, sans stipules, distiques et possèdent un limbe aux nervures pennées. Le fruit est un syncarpe plus ou moins charnu (Pauwels, 1993). Cette famille regroupe plusieurs genres dont le genre *Annona*, *Oxandra*, *Guatteria*, et le genre *Uvaria* auquel nous nous intéressons pour ne citer que ceux là (Annick, 1969).

1.1.2-Généralités sur le genre *Uvaria*

Le genre *Uvaria*, de la famille des *Annonaceae* comprend environ 220 espèces qu'on trouve en majorité dans les régions humides et dans les régions tropicales d'Afrique (Zhou, 2010). En Afrique, il est représenté par une quarantaine d'espèces avec un maximum au Gabon et au Congo, en forêt dense humide. Les plantes de ce genre sont caractérisées par des lianes grimpeuses à poils étoilés, avec des corolles à 6 pétales presque égales, des fruits et des graines apocarpes, des fleurs hermaphrodites avec des capelles exempts d'une fleur à l'autre et possédant 2 ou plusieurs pistils distincts (Kessler, 1993). Genre assez mal connu, dans lequel de nombreuses espèces ont été décrites dont *Uvaria afzalii*, *Uvaria shefferi*, *Uvaria grandiflora*, *Uvaria angolensis* l'espèce sur laquelle est porté notre intérêt (Annick, 1969).

1.1.3- Généralités sur l'espèce *Uvaria angolensis*



Figure 1 : *Uvaria angolensis*

Encore appelée *Uvaria bukobensis*, *Uvaria nyassensis* ou *Uvaria variabilis*, *Uvaria angolensis* est décrite comme un arbuste grimpant, arbre ou liane persistante, haut de 2 à 9 m, aux rameaux poussant pubescents. Ses feuilles oblongues à ovales ou oblanceolées sont longues de 4 à 13 cm et larges de 2,5 à 6 cm aux pétioles pubescents longs de 3 à 8 mm. Les fleurs aux sépales connées à base pubescents longs de 4 à 8 mm ont des pétales jaunes ou jaunes verdâtre ovales. Les fruits sont composés de méricarpes stipités cylindriques et pubescents longs de 13 à 38 mm, de diamètre 8 à 12 mm (Annick, 1969).

1.1.4- Répartition géographique de l'espèce *Uvaria angolensis*

Uvaria angolensis est une espèce répandue dans les régions tropicales d'Afrique. On la retrouve principalement en Angola, au Congo, en Tanzanie, Ouganda, au Soudan, en Serria Leone et au Cameroun, à la lisière des forêts et broussailles. D'après les informations recueillies à l'herbier national du Cameroun, *Uvaria angolensis* a déjà été récolté dans les régions suivantes :

Tableau 1 : Répartition géographique de l'espèce *Uvaria angolensis* au Cameroun

région	Lieu géographique
Centre	* Pentes orientales du mont Yangba (1437m d'altitude) à 42km de Bafia * Mont Elounden (800 m d'altitude)
Nord	* Pentes nord-ouest de l'Hosere Banyo (1100-1400m d'altitude) * Parc national de la Bénoué, près du campent du buffle noir
Ouest	6 km au nord-est de Bangangté (environ 1350 m d'altitude)
Adamaoua	NGaoundéré, réserve forestière
Sud	A 24 km Kribi

1.1.5- position systématique

La position systématique de l'espèce *Uvaria angolensis* est donnée par le tableau 2

Tableau 2 : Position systématique de l'espèce *Uvaria angolensis*

Règne	Végétal
Embranchement	Spermaphytes
Sous embranchement	Angiospermes
Classe	Dicotylédones
Ordre	Magnoliales
Famille	Annonaceae
Sous-famille	Annonoideae
Tribu	Unoneae
Sous-tribu	Xylopineae
Genre	<i>Uvaria</i>
Espèce	<i>Uvaria angolensis</i>

1.2- QUELQUES USAGES DES PLANTES DU GENRE *UVARIA*

Les plantes du genre *Uvaria* sont grandement utilisées en pharmacopée traditionnelle, principalement en Afrique :

*En Tanzanie, la macération des feuilles d'*Uvaria schefferi* est utilisée pour soigner le paludisme (Kokwaro, 1993).

*A Madagascar, les écorces d'*Uvaria acuminata* infusées sont utilisées pour se purger et les fruits sont utilisés comme tonique et comme apéritifs stomachiques (Bernard, 2013).

Uvaria afzali s'utilise dans le traitement de diverses maladies :

*Au Ghana, le mélange d'extrait de ses feuilles et de jus de citron est utilisé pour soigner l'épilepsie (Irvine, 1961).

*Au Sénégal, ses feuilles sont utilisées pour traiter les infections sexuellement transmissibles, la malaria, les caries dentaires. Les fruits sont utilisés pour soigner la dysenterie et les maladies de la peau (Koch, 1965).

*Au Nigeria, la macération de ses feuilles est utilisée comme laxatif, antipyrétique, et pour soigner les douleurs d'estomac (Irvine, 1961).

Les plantes du genre *Uvaria* sont grandement utilisées dans la pharmacopée ce qui a suscité l'intérêt chez les chercheurs et a conduit à l'isolement de plusieurs métabolites secondaires.

1.3- TRAVAUX BIOLOGIQUES ANTERIEURS SUR LE GENRE *UVARIA*

L'extrait à l'éthanol d'*Uvaria chamae* a révélé une activité antipaludique contre les infections précoces sur des souris infectées par *plasmodium berghei berghei* (Okokon et al., 2006).

L'extrait au chloroforme des feuilles d'*Uvaria afzali* montre une activité antituberculeuse importante avec une valeur de concentration inhibitrice minimale MIC de 100µg/ml (Lawal et al., 2011).

L'extrait à l'éther de pétrole, au dichlorométhane et à l'éthanol des feuilles d'*Uvaria schefferi* a présenté une activité antifongique contre *Niger aspergillus* et *Fumigatus aspergillus* (Manen et al., 2004).

1.4- TRAVAUX PHYTOCHIMIQUES ANTERIEURS SUR LE GENRE *UVARIA*

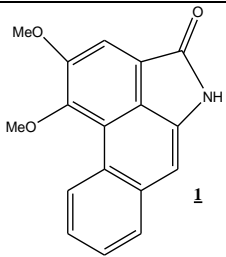
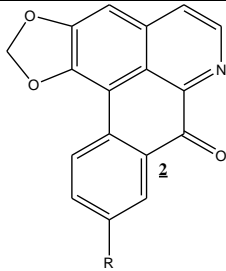
Les études chimiques faites sur les espèces du genre *Uvaria* ont conduit à l'isolement de plusieurs composés regroupés en plusieurs classes parmi lesquels **les flavonoïdes, les alcaloïdes, les triterpènes, les stéroïdes, ...**

1.4.1- Les alcaloïdes isolés des plantes du genre *Uvaria*

Les alcaloïdes sont des composés organiques d'origine naturelle le plus souvent végétale à caractère basique possédant un ou plusieurs atomes d'azote dans leur structure hétérocyclique. Les alcaloïdes peuvent être bio synthétiquement formés à partir des acides aminés (Pelletier,

1970). Le tableau 3 illustre quelques alcaloïdes isolés des plantes du genre *Uvaria*.

Tableau 3 : Quelques alcaloïdes isolés des espèces du genre *Uvaria*

Structures des composés	Noms	Sources	Références
	Aristolactam B-II	<i>Uvaria hamiltonii</i>	(Kamrun et al., 2004)
	R=H Liriodenine R=OH Oxoanolobine R=OMe Lanuginosine	<i>Uvaria rufa</i>	(Santi et al., 2011)

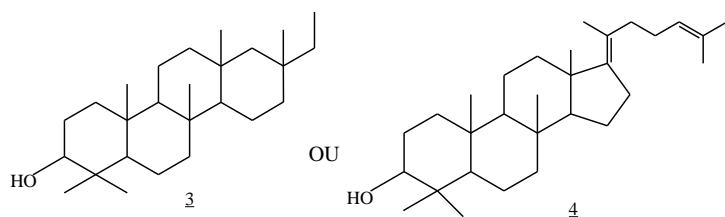
1.4.2- Les triterpènes isolés des plantes du genre *Uvaria*

1.4.2.1- Définition

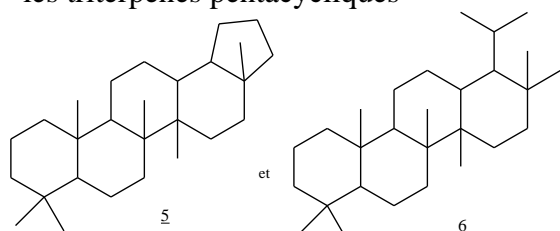
Les triterpènes forment un groupe de substances naturelles dont le squelette compte une trentaine d'atomes de carbone, dérivant du squalène par une série de cyclisations et d'autres modifications (Boiteau et al., 1964). Lorsque ces cyclisations sont incomplètes, on obtient des terpènes monocycliques, bicycliques ou des terpènes tetracycliques. Lorsque les cyclisations sont complètes, on obtient des triterpènes pentacycliques (Bruneton, 1999) qui sont les principaux triterpènes que l'on retrouve dans les plantes du genre *Uvaria*.

1.4.2.2-Classification des triterpènes

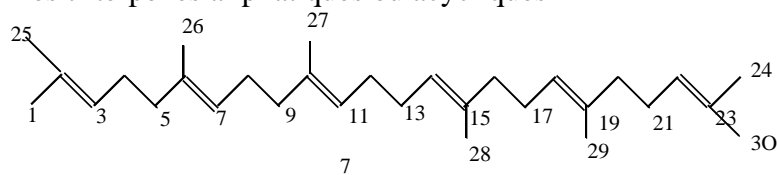
* les triterpènes tetracycliques



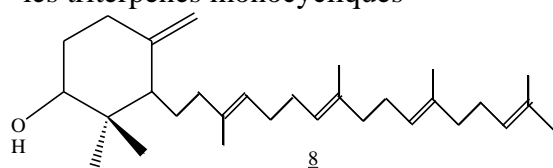
*les triterpènes pentacycliques



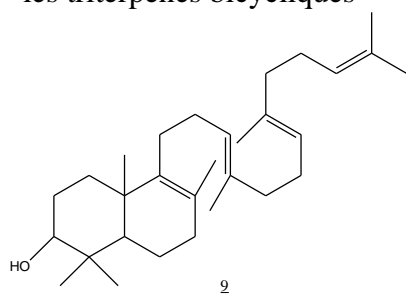
*les triterpènes aliphatiques ou acycliques



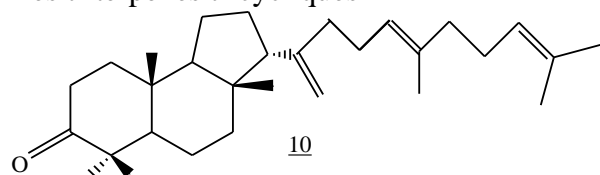
*les triterpènes monocycliques



*les triterpènes bicycliques



*les triterpènes tricycliques



1.4.2.3- Biosynthèse des triterpènes

Dans la cellule vivante, la biosynthèse des triterpènes pentacycliques se fait en deux temps : la synthèse du squalène, puis sa cyclisation.

- 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 les réactions successives à l'acide mévalonique. Par la suite, il y a la production des pyrophosphates d'isopentényle, de géranyle et de pyrophosphates de farnésyle, qui subit une dimérisation pour donner le squalène (Bruneton, 1999).

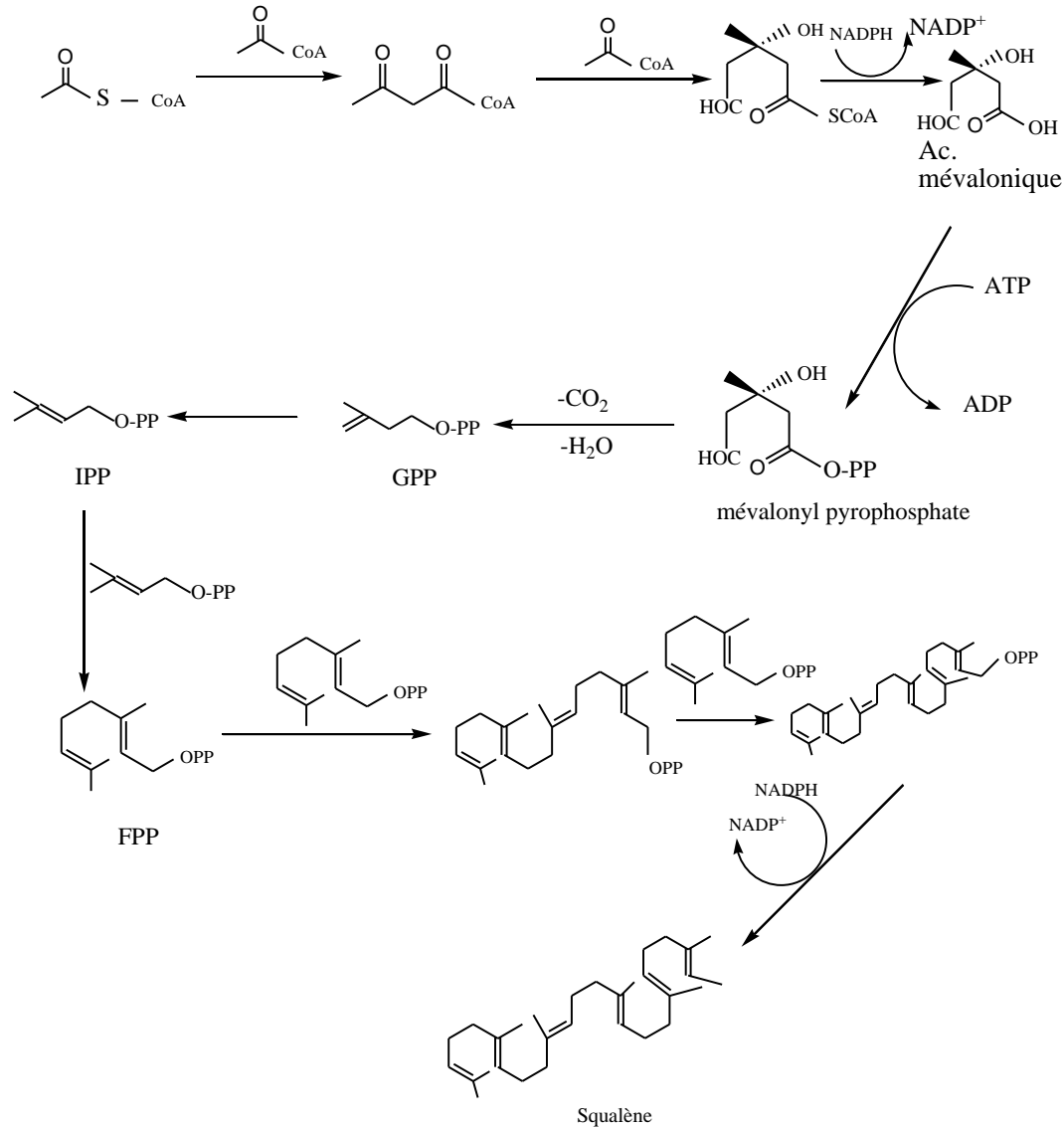
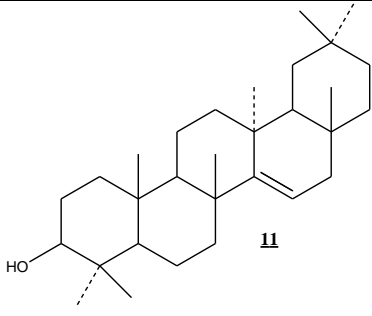
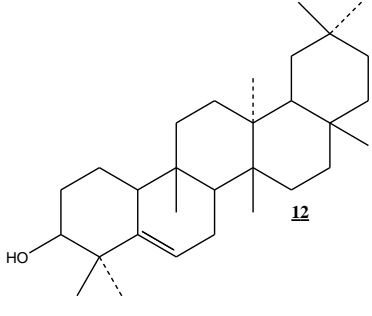
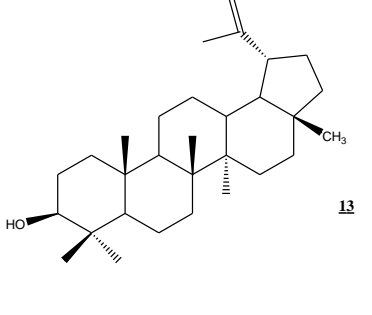


Schéma 1 : Biosynthèse du squalène

- Cyclisation du squalène

La cyclisation du squalène se fait en plusieurs étapes et aboutit aux triterpènes pentacycliques lorsqu'elle est complète.

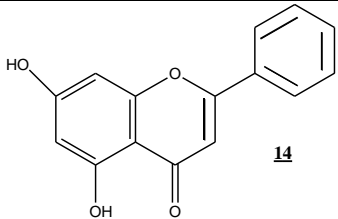
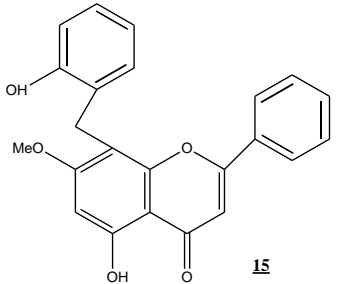
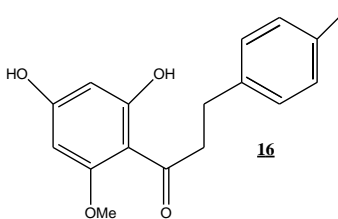
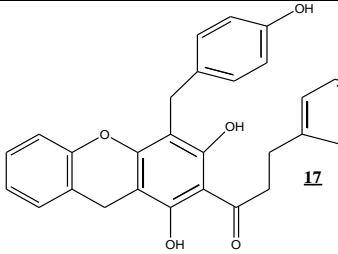
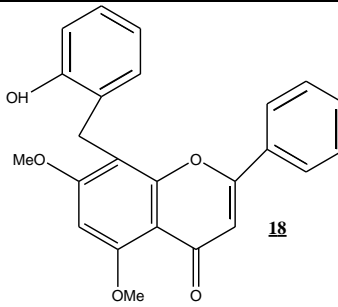
Tableau 4 : Quelques triterpènes isolés des plantes du genre *Uvaria*

Structures des composés	Noms	Sources	Références
 11	Taraxerol	<i>Uvaria cordata</i>	
 12	Glutinol	<i>Uvaria cordata</i>	(Kamaliah et al., 1995)
 13	Lupéol	<i>Uvaria grandiflora</i>	(Zhongguo, 1999)

1.4.1-Les flavonoïdes isolés des plantes du genre *Uvaria*

Il existe de nombreux flavonoïdes isolés des plantes du genre *Uvaria* dont certains sont regroupés dans le tableau suivant :

Tableau 5 : Quelques flavonoïdes isolés des plantes du genre *Uvaria*

Structures des composés	noms	sources	références
 <p style="text-align: right;">14</p>	Pinocembrin	<i>Uvaria chamae</i>	(Lebœuf et al., 1982)
 <p style="text-align: right;">15</p>	Chamanetin	<i>Uvaria chamae</i>	
 <p style="text-align: right;">16</p>	Uvangoletin	<i>Uvaria angolensis</i>	
 <p style="text-align: right;">17</p>	Chamuvaritin	<i>Uvaria chamae</i>	
 <p style="text-align: right;">18</p>	Chamanetin-5-méthyléther	<i>Uvaria chamae</i>	

1.5- TRAVAUX PHYTOCHIMIQUES ANTERIEURS SUR L'ESPECE *UVARIA ANGOLENSIS*

Les études chimiques faites sur l'espèce *Uvaria angolensis* ont conduit principalement à l'isolement des flavonoïdes.

1.5.1 - Généralités sur les flavonoïdes

1.5.1.1- Définition

Les flavonoïdes sont des molécules qui font partie de la classe des polyphénols, principaux métabolites secondaires des plantes. Ils sont des pigments universels responsables de la coloration des fleurs et des fruits. Les flavonoïdes ont une origine biosynthétique commune qui est basée sur un enchainement C₆-C₃-C₆ (Bruneton, 1993 ; Paris et Moyes, 1965). La plupart des flavonoïdes présentent tous le même élément structural de base (sauf exceptions : les chalcones, les isoflavones, les aurones), à savoir quinze atomes de carbones constitués de deux cycles en C₆ (A et B) reliés par une chaîne en C₃ (noyau 2-phényl-1benzopyrane).

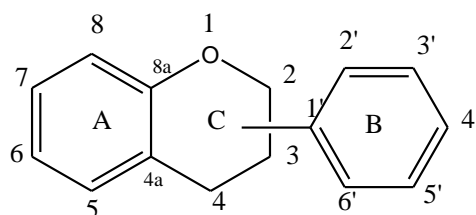
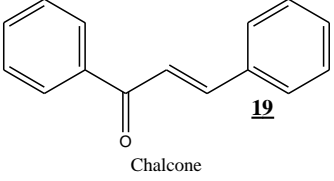
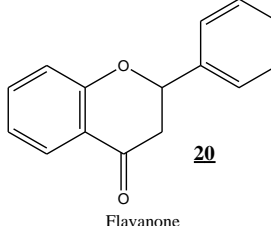
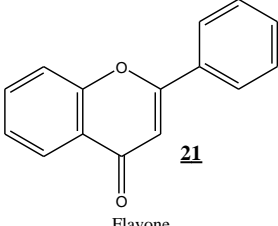
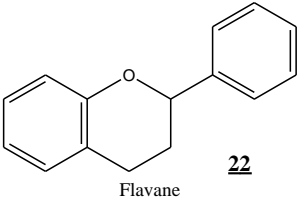
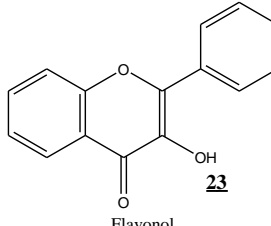
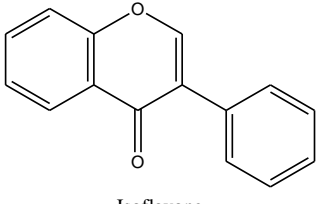
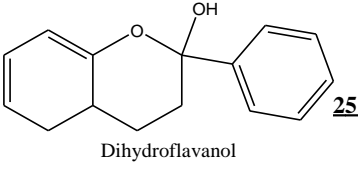
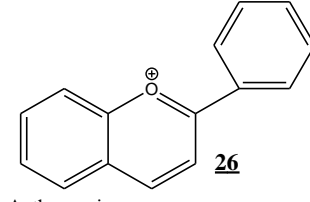
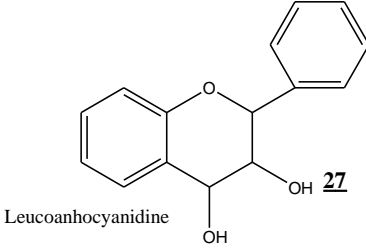
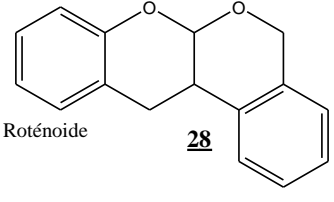
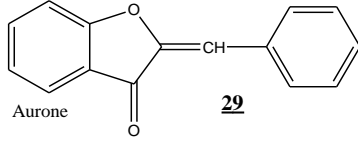
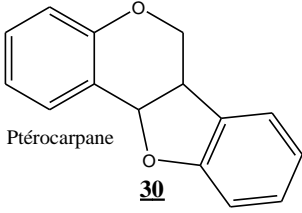


Schéma 3: Squelette de base des flavonoïdes et numérotation adoptée (Cook et al. 1996)

1.5.1.2- Classification des flavonoïdes

Les flavonoïdes forment une classe de composés présentant une grande variété de structures. Il en résulte un grand nombre de classe de flavonoïdes regroupés selon le degré d'oxydation du noyau pyranique (Harat, 2008). Quelques flavonoïdes sont présentés dans le tableau suivant :

Tableau 7 : Différentes classes de flavonoïdes. (Harborne J. B., Williams C. A., 1992)

 <p>Chalcone 19</p>	 <p>Flavanone 20</p>	 <p>Flavone 21</p>
 <p>Flavane 22</p>	 <p>Flavonol 23</p>	 <p>Isoflavone 24</p>
 <p>Dihydroflavanol 25</p>	 <p>Anthocyanine 26</p>	 <p>Leucoanthocyanidine 27</p>
 <p>Roténoïde 28</p>	 <p>Aurone 29</p>	 <p>Ptérocarpane 30</p>

1.5.1.3- Biosynthèse des flavonoides

Tous les flavonoides ont une même origine synthétique. Le cycle A est formé à partir de trois molécules de malonyl-coenzyme A (malonyl-CoA), issues du métabolisme du glucose. Les cycles B et C proviennent aussi du métabolisme du glucose mais par voie shikimique en passant par la phénylalanine qui est convertie en p-coumarate puis en p-coumaryl-CoA. Le cycle C quant à lui se forme par cyclisation de la chalcone (Heller et Forkmann, 1988).le schéma biosynthétique des flavonoides est résumé par le schéma 2.

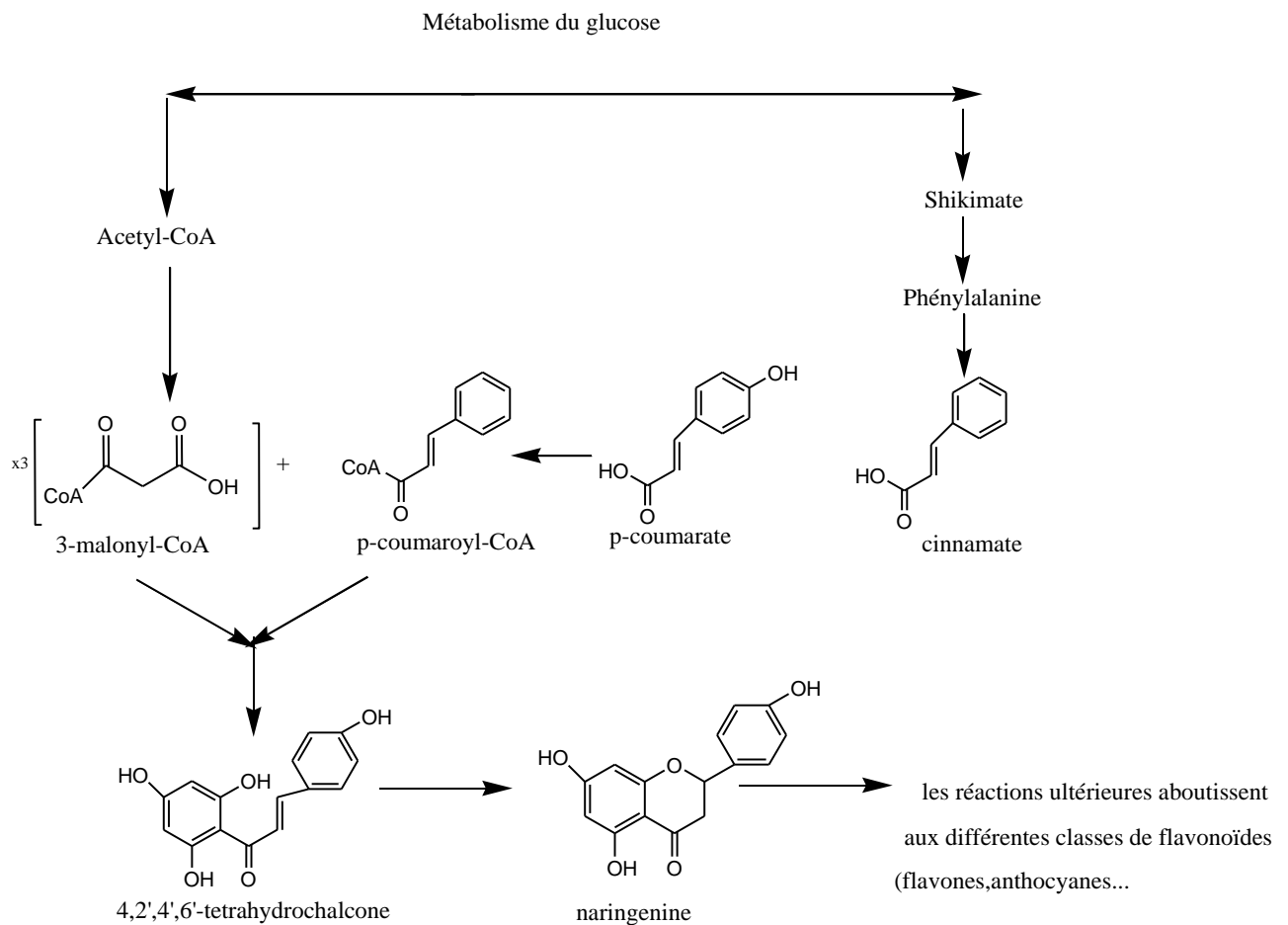


Schéma 4: Biosynthèse des flavonoïdes illustrant les voies de l'acétyl CoA et de la phénylalanine (Harbone, 1988).

Les flavonoïdes issus de l'espèce *Uvaria angolensis* appartiennent principalement à la classe des dihydrochalcones et des flavones (Hufford et al., 1980).

1.5.2- Les dihydrochalcones isolés de l'espèce *Uvaria angolensis*

Les dihydrochalcones isolés d'*Uvaria angolensis* sont présentés dans le tableau suivant :

Tableau 6 : Les dihydrochalcones isolés d'*Uvaria angolensis*

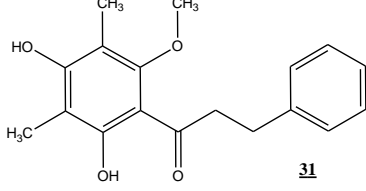
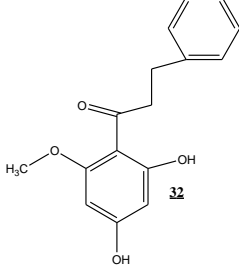
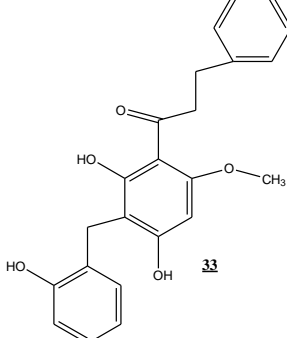
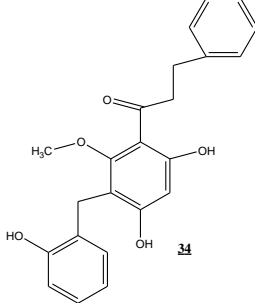
Structure des composés	Noms	Références
 <p style="text-align: center;">31</p>	Angoletin	
 <p style="text-align: center;">32</p>	Uvangoletin	
 <p style="text-align: center;">33</p>	Uvaretin	(Hufford et <i>al.</i> , 1980)
 <p style="text-align: center;">34</p>	Isouvaretin	

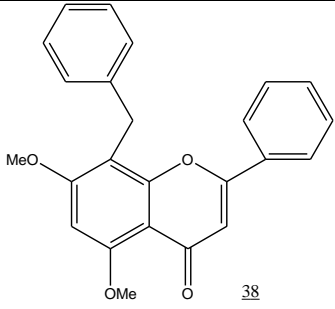
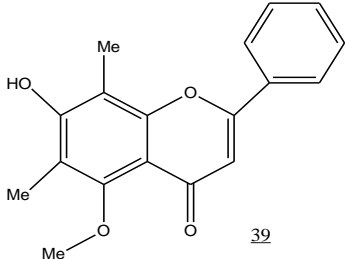
Tableau 6 : Les dihydrochalcones isolés d'*Uvaria angolensis* (suite et fin)

 35	Angoluvarin	
 36	Flavokawin	(Hufford et al., 1980)
 37	Anguветin	

1.5.3-Flavones isolés d'*Uvaria angolensis*

Les flavones isolés d'*Uvaria angolensis* sont présentés dans le tableau suivant :

Tableau 8 : Flavones isolés d'*Uvaria angolensis*

Structures	Noms	Références
	(±) Chamanetin-5-méthyléther (5)	(Hufford et al., 1980)
	6,8-diméthylpinocembrin-5-méthyléther	

1.5.4 Méthode de détermination des structures des flavonoïdes

Grace aux différentes méthodes spectroscopiques telles que l'ultraviolet, l'infrarouge, la résonance magnétique nucléaire à une dimension (RMN ¹H) et à deux dimensions Correlation Spectroscopy (COSY), Heteronuclear Multiple Bond Coherence (HMBC), Heteronuclear Multiple Quantum Correlation (HMQC) on peut déterminer la structure des métabolites secondaires.

1.5.4.1-Spectroscopie UV

Les flavonoïdes ont le plus souvent sur leurs spectres UV deux bandes d'absorption maximales, l'une entre 300 et 400 nm (bande I) caractérisant le système cinnamoyle du cycle B, et l'autre entre 240 et 295 nm (bande II) caractérisant le système benzoyle du cycle A (Harbone J. B., Williams C. A., 1992). En dehors des bandes d'absorption des chromophores présents dans les flavonoïdes, le spectre UV nous renseigne sur le type de squelette des flavonoïdes et sur la position des groupements hydroxyles. Le tableau 9 donne les bandes d'absorption de quelques classes de flavonoïdes.

Tableau 9 : Différentes bandes d'absorption de quelques classes de flavonoïdes.

Bande 1(λ_{\max} en nm)	Bande 2 (λ_{\max} en nm)	Classes de flavonoïdes
310-330	250-280	Flavones
330-360	250-280	Flavonol
310-330	245-295	Isoflavones
300-330	275-295	Flavones et isoflavones
340-390	230-270	Chalcones
380-430	230-270	Aurones
465-500	270-280	Anthocyanides et anthocyanines

1.5.4.2-Spectroscopie IR

Les spectres IR fournissent des informations sur les groupements fonctionnels présents dans une molécule. La spectroscopie IR permet de détecter les groupements hydroxyles et carbonyles des flavonoïdes. Les groupements hydroxyles contenus dans les flavonoïdes présentent une large bande d'absorption entre 3300 et 3600 cm^{-1} et les groupements carbonyles présentent une bande d'absorption autour de 1680 cm^{-1} et diminue jusqu'à 1620 cm^{-1} le groupement carbonyle est chélaté avec le groupement hydroxyle. Les doubles liaisons aromatiques des flavonoïdes présentent une bande observée autour de 1600 cm^{-1} (Harbone J. B., Williams C. A., 1992).

1.5.4.3- Spectroscopie de Résonance Magnétique Nucléaire à une dimension (RMN 1D)

- Résonance Magnétique Nucléaire du proton (RMN¹H) (Kapche, 2002)

La RMN¹H est une méthode spectroscopique qui permet de déterminer la structure des flavonoïdes. Elle permet grâce aux déplacements chimiques des protons de savoir le type de squelette des flavonoides par identification des cycles A, B, C et leur constante de couplage. Certaines valeurs de ces déplacements chimiques sont consignées dans le tableau suivant :

Tableau10 : déplacements chimiques des protons caractéristiques de quelques classes de flavonoïdes

Groupes de flavonoides	H ₂ (δ en ppm)	H ₃ (δ en ppm)
Dihydroflavones	5,2	4,2
Flavones	5,0-5,5	6,5-6,8
Isoflavones	7,7-7,8	3,9-4,0

- Résonance Magnétique Nucléaire du carbone 13 (RMN¹³C)

La RMN du ¹³C permet d'identifier les positions des substituants sur les cycles A et B et de confirmer le squelette de base des flavonoïdes (flavones, flavanones, isoflavones, isoflavanones, chalcones). Elle permet aussi de distinguer les flavonoïdes méta hydroxylés de celles des ortho hydroxylés. Les déplacements chimiques des carbones métras hydroxylés apparaissent entre 151 et 159 ppm alors que ceux des carbones ortho hydroxylés apparaissent entre 141 et 149 ppm (Grayer R. J., 2009). La RMN du ¹³C permet de donner les déplacements chimiques des carbones C-2, C-3 et C-4 qui sont très utiles pour la détermination de la classe du flavonoïde étudié. Le tableau 11 donne les déplacements chimiques des carbones centraux de quelques classes de flavonoïdes

Tableau 11 : Déplacements chimiques des carbones centraux de quelques classes de flavonoïdes (Grayer R. J., 2009).

Classes	C-2	C-3	C-4
Flavones	160,5-165,5 (s)	103,9-112,5 (d)	176,3-183,5 (s)
Flavonol :			
3-OH libre	145,4-147,1 (s)	133,5-141,4 (s)	171,4-176,7 (s)
3-OH chélaté ou glycosylés	151,4-156,4 (s)	136,0-138,1 (s)	173,6-180 (s)
Isoflavones	149,8-155,4 (d)	119,3-125,9 (s)	174,5-180,6 (s)
Dihydroflavonols	78,3-83,6 (d)	70,9-72,5 (d)	189,7-198,4 (s)
Flavanones	75,0-80,3 (d)	42,0-44,8 (t)	189,5-196,7 (s)
Isoflavanones	71,5-71,7 (t)	50,9-51,5 (d)	190,4-190,6 (s)
Isoflavanés	69,6-70,3 (t)	31,4-32,5 (d)	30,1-31,5 (t)
Chalcones	136,5-145,8 (d)	116,6-128,1 (d)	88,6-195,0 (s) C=O
	Carbone β	Carbone α	
Aurones	146,1-147 (s)	111,6-111,9 (d)	182,5-182,7 (s)
		=CH-	C=O

1.5.3.4- Spectroscopie de Résonance Magnétique Nucléaire à deux dimensions (RMN 2D) (Bria et Watkin, 1997)

La RMN à deux dimensions permet de mettre en évidence les différents atomes dans une molécule. On peut observer deux types de corrélations

*Les corrélations hétéronucléaires qui s'établissent entre les noyaux de nature différente, de spins différents, telles que les corrélations hétéronucléaires carbone-proton (¹³C-¹H) ou azote-proton (¹³N-¹H). les spectres de corrélation hétéronucléaire les plus utilisés sont HMBC et HMQC.

*Les corrélations homonucléaires qui s'établissent entre les noyaux de même nature et de mêmes spins tels que les corrélations homonucléaires proton-proton (¹H-¹H) ou carbone-carbone (¹³C-¹³C). Les corrélations homonucléaires les plus utilisées sont NOESY et COSY.

Les méthodes spectroscopiques telles que l'IR, l'UV et la RMN sont très importantes et fournissent des informations pour la détermination complète des structures des composés organiques. Mais dans certains cas on peut ne pas pouvoir trancher entre deux structures possibles pour un même composé. Dans ce cas on peut faire appel à la RMN 2D qui présente des avantages tels que :

*Une grande sensibilité qui permet de travailler avec de petites quantités de produits.

*Un grand nombre d'informations qui permet de rendre la détermination des structures plus aisée.

1.6- Intérêts biologiques des flavonoïdes

Les flavonoïdes sont des métabolites secondaires considérés comme responsables de la pigmentation des fleurs et des fruits. D'autres travaux ont permis de mettre en évidence d'autres utilités des flavonoïdes : ils sont utilisés pour la fermentation du thé, le bronzage du cuir, la bonne saveur des produits alimentaires, etc.

Les flavonoïdes grâce à leur pouvoir d'absorption de la lumière UV (300-400 nm), sont considérés comme un filtre interne dans les organismes vivants car ils protègent l'usure des chloroplastes et autres organes contre la lumière (Harbone J. B., Williams C. A., 1992).

Par contre, les flavonoïdes peuvent affecter biologiquement une large variété d'enzymes, chélater certains cations métalliques, affecter les protéines cellulaires phosphorylées et avoir des propriétés anti oxydantes.

Uvaria angolensis a fait l'objet de peu d'études chimiques, c'est pourquoi notre intérêt s'est porté sur cette plante. Notre but ici est de faire l'extraction, l'isolement et la caractérisation de certains métabolites secondaires issus d'*Uvaria angolensis*.

CHAPITRE II : RESULTATS ET DISCUSSION

2.1- Extraction et isolement des composés

Les écorces d'*Uvaria angolensis* ont été récoltées le 9 Décembre 2014 à Bangou dans la région de l'ouest Cameroun. L'identification a été faite par Mr NANA Victor, botaniste à l'herbier national du Cameroun. Les écorces ont été séchées, puis broyées. La poudre obtenue (4Kg) a été extraite au mélange CH₂Cl₂/MeOH (1 :1) à température ambiante pendant 72 heures. Après évaporation du solvant à l'évaporateur rotatif, nous avons obtenu 499g d'extrait. Des chromatographies successives sur colonne de gel de silice effectuées sur 268g de cet extrait ont permis d'isoler les composés MU₃, MU₄ et MU₅. Les structures des composés MU₃ et MU₄ ont été identifiées grâce aux méthodes d'analyse spectroscopiques usuelles. Le schéma 3 suivant résume le protocole d'extraction et d'isolement de ces composés.

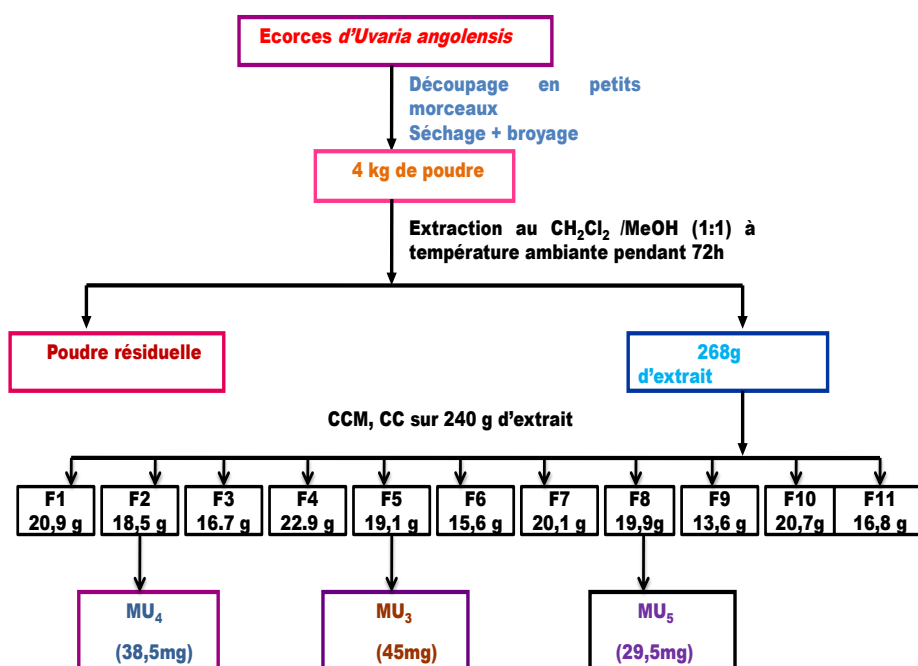


Schéma 8: Protocole d'extraction et d'isolement des composés des écorces d'*Uvaria angolensis*

2.2- IDENTIFICATION DES COMPOSES

2.2.1-Identification de MU₃

Le composé MU₃ précipite sous forme de poudre blanche dans le mélange hexane /acétate (80 :20). Il est soluble dans le chloroforme et répond positivement au test de Badouin, indiquant ainsi qu'il appartient à la classe des lignanes.

Sur son spectre de RMN¹H (Figure 2), on observe certains signaux caractéristiques :

Dans la région des champs entre δ_H 2.90 et 2.97, on peut observer quatre singulets intégrant chacun pour trois protons et attribuables aux groupes méthyles portés par les groupements méthoxy.

-Un doublet dédoublé d'un proton à δ_H 6,54 (1H,dd, j=2 et 8 Hz) attribuable au proton H-11.

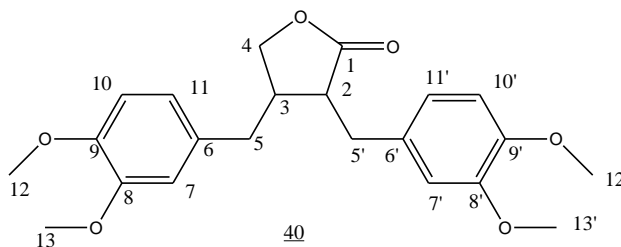
-Un doublet à δ_H 4,13 (2H, d, J=7) attribuable au proton H-4 méthylénique du cycle furane.

-Un multiplet d'un proton à δ_H 2,68 correspondant au proton porté par le carbone C-3.

L'analyse du spectre de RMN¹³C découplé large bande (Figure 3) en association avec la séquence DEPT (Figure 4) du composé MU₃ fait ressortir vingt et deux signaux ressortant la structure d'un squelette d'une lignane symétrique. Elle met en évidence :

- Quatre groupements méthyles à δ_C 71,22 C-12, C-13, C-12' et C-13'.
- Trois méthylènes à δ_C 41,11(C-3), 34,54 (C-5) et 38,22 (C-5')
- Six carbones quaternaires à δ_C 130,26 (C-6), 130,49 (C-6'), 147,97 (C-9), 148,03 (C-9') et 149,14 (C-8 et C-8').
- Six carbones tertiaires à δ_C 120,60 (C-11), 111,98 (C-10), 111,22 (C-7), 121,38 (C-11'), 112,49 (C-10') et 111,45 (C-7').

La présence du signal à δ_C 178,64 est la caractéristique d'une double liaison de type carbonyle du cycle furane. Sur la base de ces données spectrales, MU₃ a été identifié comme le 3,4-bis(3',4'-diméthoxybenzyl)-dihydrofuran-2-one dont la structure est la suivante :



En effet, sur son spectre COSY, nous observons quelques taches de corrélations qui confirment la position des protons sur le cycle benzénique et sur le cycle furane (schéma 4).

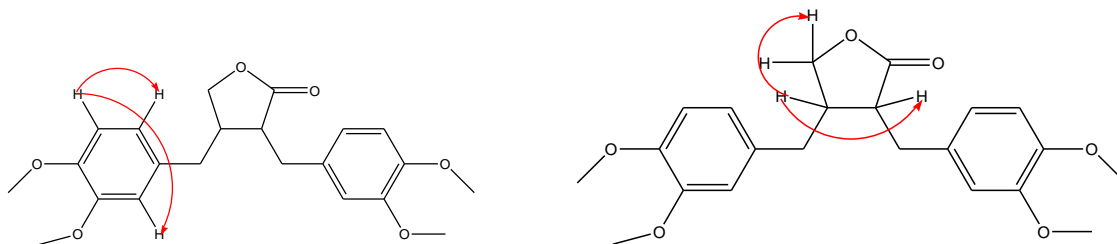


Schéma 6 : Quelques corrélations COSY de MU₃

De plus, la position des protons des carbones du cycle furane et du cycle benzénique est confirmée par les taches de corrélations observées sur le spectre HMBC (Figure 4) entre le proton à δ_H 6,61 ppm (H-10) et les carbones à δ_C 149,14 (C-8) et 147,97 (C-9) d'une part, et le proton à δ_H 2,68 et les carbones à δ_C 34,54 (C-5) et 55,89 (C-4) d'autre part (schéma 7).

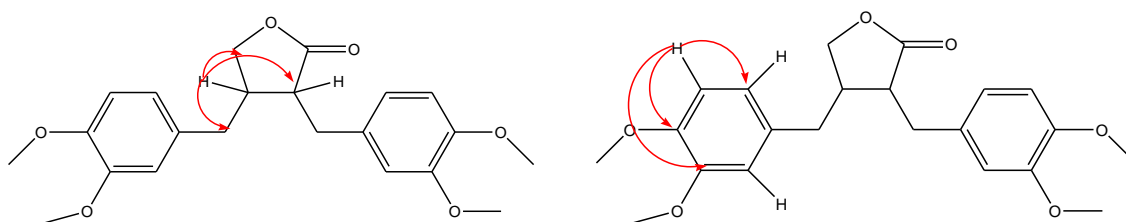


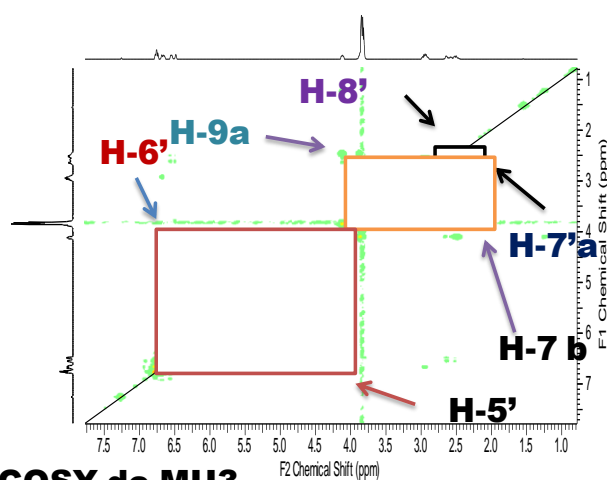
Schéma 7 : Quelques corrélations HMBC de MU₃

L'analyse de spectres HMBC, HMQC et COSY a permis l'attribution complète de tous les protons et des carbones.

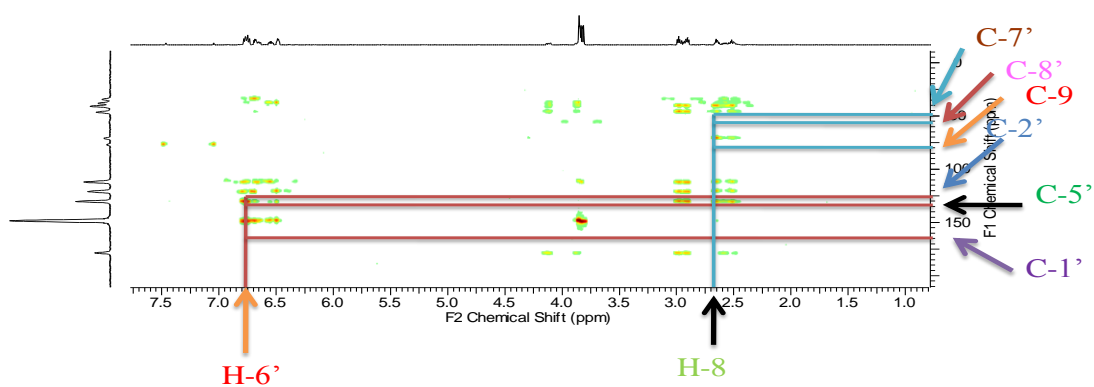
L'ensemble de ces données, comparées à celles décrites dans la littérature, nous a permis d'attribuer au composé MU₃ la structure 21 qui est celle du 3,4-bis(3',4'-diméthoxybenzyl)-dihydrofuran-2-one.

Tableau 12 : Données spectrales de RMN¹³C (chloroform-*d*, 125,76) de MU₃ comparées à celles du 3,4-bis(3',4'-diméthoxybenzyl)-dihydrofuran-2-one.

N° du carbone	MU ₃		3,4-bis(3',4'- diméthoxybenzyl)- dihydrofuran-2- one
	δ _C	DEPT	
1	178,54	C=O	177,4
2	46,59	CH	49,2
3	41,11	CH	40,9
4	55,89	CH ₂	72,5
5	34,54	CH ₂	40,1
6	130,26	C	132,0
7	111,22	CH	113,20
8	149,14	C	149,6
9	147,97	C	147,0
10	111,98	CH	115,1
11	120,60	CH	121,5
12	71,22	CH ₃	56,2
13	71,22	CH ₃	56,2
5'	38,22	CH ₂	35,4
6'	130,49	C	132,0
7'	111,45	CH	113,20
8'	149,14	C	149,6
9'	148,03	C	147,0
10'	112,49	CH	115,1
11'	121,38	CH	121,5
12'	71,22	CH ₃	56,2
13'	71,22	CH ₃	56,2



Spectre COSY de MU3



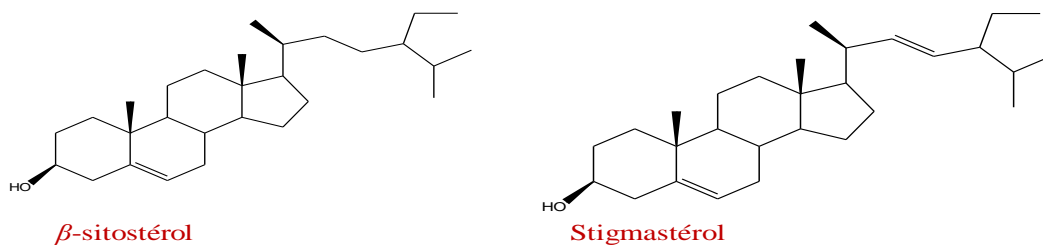
Spectre HMBC de MU3

2.2.2- Identification de MU₄ (Kouam, 2005)

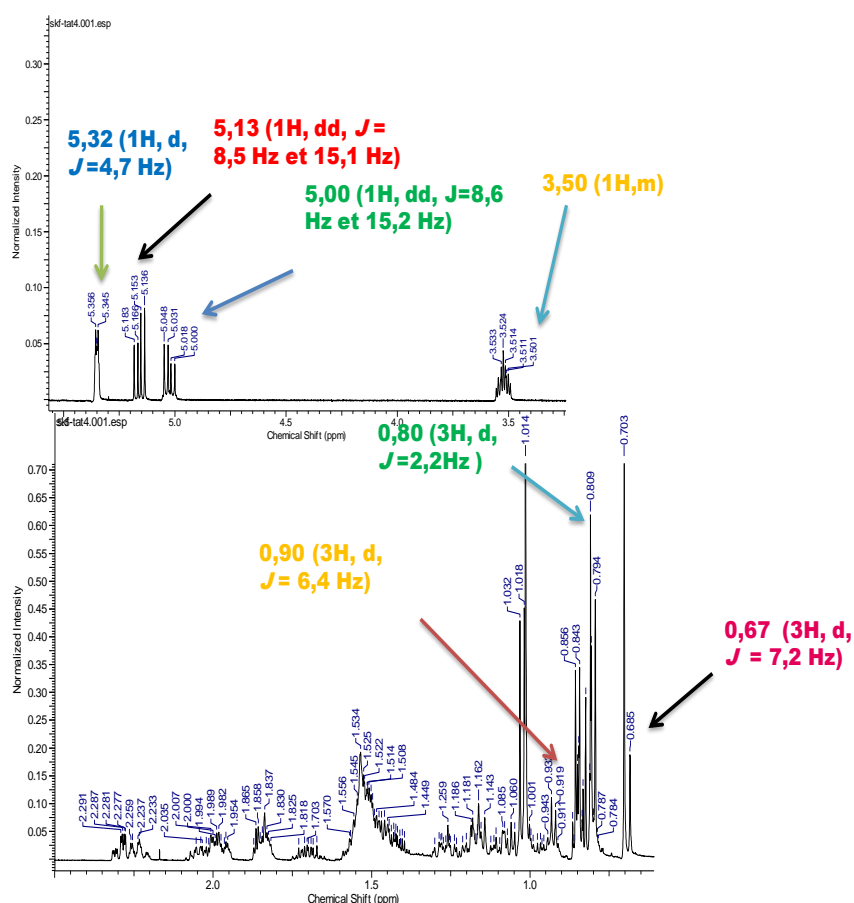
Le composé MU₄ a été obtenu sous forme d'aiguilles blanches dans le système hexane /acétate (5 :95). Il est soluble dans le Chloroform-d. il réagit positivement au test de Liebermann-Burchard en donnant une coloration vert bleuâtre, caractéristiques des stérois.

Le spectre RMN¹H de MU₄ révèle la présence de six méthyles entre δ_H 0,66 et 1,54 ppm dont deux méthyles angulaires à δ_H 0,78 et 0,99 ppm. Le doublet de δ_H 5,32 (1H, d, J=4,7 Hz) et le multiplet à δ_H 3,50 sont caractéristiques respectivement d' un proton vinylique et d' un proton géminé au groupement hydroxyle. trois autres doublets de trois protons chacun apparaissent respectivement à δ_H = 0,67 (d, J= 7,2 Hz) ; 0,80 (d, J=2,2Hz) ; 0,90 (d, J= 6,4 Hz).

Cependant, la présence sur le spectre RMN¹H de deux doublets dédoublés à δ_H 5,13 (1H, dd, J= 8,5 Hz et 15,1 Hz et à 5,00 (1H, dd, J=8,6 Hz et 15,2 Hz) nous fait penser à un mélange de stérois. La comparaison des données spectroscopiques de MU₄ avec celles trouvées dans la littérature permet de l' identifier au mélange de β -sitostérol (50) et de stigmastérol (51).



17



❖ RMN ¹H de MU4

16

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 nous accompagnera tout au long de notre carrière car un bon enseignant de chimie doit être permanent dans la documentation pour mieux concevoir ses cours et faciliter sa compréhension et celle des élèves. Par ailleurs, ce travail a été d'un grand apport car nous nous sommes familiarisés avec plusieurs techniques de laboratoire telles que la distillation, l'extraction, la chromatographie...qui, pourront être utilisées lors des séances de travaux pratiques, en vue de faciliter la construction des savoirs chez l'apprenant.

La recherche des métabolites secondaires de l'espèce étudiée nous a conduit à l'identification de différentes classes de composés (triterpènes, lignanes) renfermant quelques groupements fonctionnels tels que les alcools, les alcènes...qui peuvent être caractérisés par des tests d'identification et sur lesquels plusieurs réactions telles que les réactions d'addition et de substitution peuvent avoir lieu.

Enfin, ce mémoire nous a permis de mettre en évidence l'esprit de synthèse (introduction, résumé, utilisation des méthodes d'analyse) qualité indispensable pour les futurs enseignants. En tant que éducateurs, nous devons transmettre cet esprit de synthèse aux apprenants, ce qui les aidera tout au long de leur parcours scolaire.

CONCLUSIONS ET PERSPECTIVES

Le présent travail a été porté sur l'étude phytochimique des écorces du tronc d'*Uvaria angolensis*, une plante appartenant à la famille des Annonaceae.

L'objectif visé était de contribuer à la connaissance des métabolites secondaires contenus dans cette plante en passant par les méthodes d'isolement, de purification et de caractérisation de ces métabolites.

Au terme de notre travail, trois composés ont été isolés. Les structures de deux de ces composés ont été élucidées. L'un a été identifié au 3,4-bis(diméthoxybenzyl)-dihydrofuran-2-one, de la classe des lignanes, qui est une nouvelle classe de composés isolée de la plante et l'autre... Qui est un terpénoïde. Nous envisageons dans la suite de nos travaux de recherche :

- Parachever l'analyse structurale de MU₅
- Evaluer les composés MU₃ et MU₄ pour leurs activités.
- Etendre notre étude à d'autres parties d'*Uvaria angolensis* ainsi qu'à d'autres plantes du genre *Uvaria*.

CHAPITRE III : PARTIE EXPERIMENTALE

3.1- Méthodes, appareillage et matériel végétal

3.1.1- Méthodes et appareillage

- Méthodes spectroscopiques et physiques

Les spectres de résonance magnétique nucléaire (RMN) ont été enregistrés dans le diméthylsulfoxyde (DMSO) deutérés sur des spectromètres de types VNMRS-300 et MERCURY-300 opérant à 400 MHz et 600 MHz pour le proton, et INOVA-500 opérant à 100 et à 150 MHz pour le carbone.

Les spectres de masse ont été enregistrés à l'aide d'un instrument de type micro TOF 10237.

-Méthodes chromatographiques

Les chromatographies sur colonne que nous avons effectuées ont été faites en utilisant les gels de silice de taille 35-70 µm et 70-200 µm comme phase stationnaire. Les dimensions des colonnes et les masses des adsorbants ont été prises en fonction de la quantité de substrat à séparer. Les solvants utilisés comme phase mobile ont été choisis en fonction de la polarité des composés du mélange à séparer.

Les chromatographies sur couches minces (CCM) ont été faites sur des feuilles d'aluminium recouvertes de gel de silice de type 60 F₂₅₄, d'épaisseur 0,05 mm et de dimensions 5 m x 0,2 m ou 20 cm x 20 cm. Les révélateurs utilisés pour visualiser les composés sont : l'acide sulfurique dilué et la lampe UV (254 et 366 nm).

3.1.2- Matériel végétal

Les écorces d'*Uvaria angolensis* ont été récoltées le 9 Décembre 2014 à bangou, département du Ndé dans la région de l'Ouest Cameroun. L'identification a été faite par Nana Victor botaniste à l'herbier national du Cameroun.

3.2- Extraction, isolement et purification des composés

3.2.1- Extraction

Le matériel végétal a été séché, puis broyé. La poudre obtenue de masse 4 kg a été extraite au mélange CH₂Cl₂/CH₃OH (1:1), conduisant à 499g d'extrait brut. Les chromatographies successives sur 268g de cet extrait sur colonne de gel de silice ont conduit à l'obtention de 2 composés indexés MU₃ ET MU₄.

3.2.2-Isolement et purification des composés

268g de l'extrait brut ont subi des chromatographies successives sur colonne en utilisant comme éluant le mélange Hex-AE de polarité croissante, un total de 61 fractions de 150 mL chacune ont été recueillies et regroupées sur la base des CCM analytiques.

Tableau 14: Chromatogramme de l'extrait au CH₂Cl₂/MeOH (1 :1) des écorces d'*Uvaria angolensis*.

Système d'éluant	fraction	regroupement
Hex pur	1-5	1-9 : trainée
Hex /AE 10%	6-11	
Hex /AE 20%	12-17	10-19 : mélange de composés dont MU ₄
Hex /AE 30%	18-22	20-29 : environ 5 taches dont MU ₃
Hex /AE 40%	23-30	
Hex /AE 50%	31-39	30-48 : mélange complexe
Hex /AE 60%	40-45	
Hex /AE 70%	46-49	49-61 : environ 5 taches dont MU ₅
AE pur	50-53	
A/MeOH 10%	54-56	
MeOH	57-61	

3.2.3- Obtention des composés

3.2.3.1-Obtention de MU₃

Le composé MU₃ a précipité sous forme de cristaux blancs dans les fractions (10-19). Après filtration et lavage de ce précipité au méthanol, on a obtenu MU₃ (45mg) qui à l'UV montre une tache fluorescente qui devient jaune après révélation à l'acide sulfurique. Il est soluble dans le chloroforme.

3.2.3.2- Obtention de MU₄

Le composé MU₄ a été obtenu sous forme de d'aiguilles blanches des fractions (30-48). Après lavage et filtration, nous avons obtenu MU₄ (38,5 mg) soluble dans le chloroforme.

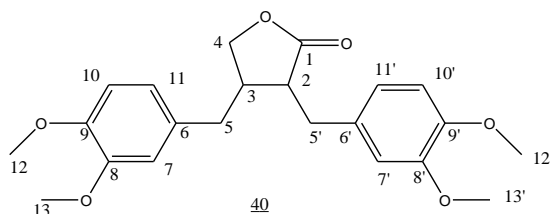
3.2.3.3- Obtention de MU₅

Les fractions (49-61) ont été regroupées et fixées sur un minimum de silice, puis chromatographiées. L'éluion a été faite avec de l'acétate d'éthyle pur, conduisant au composé MU₅ (29,5mg). Il se présente sous forme jaunâtre et est soluble dans la CH₂Cl₂.

3.3- Caractéristiques physico-chimiques des produits isolés

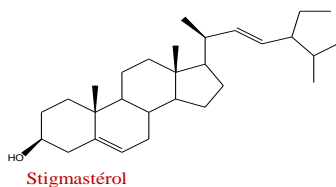
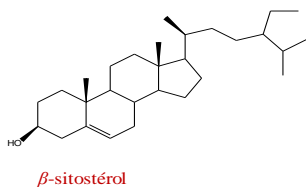
*MU₃

- Solubilité : Chloroforme
- Aspect physique : cristaux blancs
- Masse : 45 mg



*MU₄

- Solubilité : Chloroforme
- Aspect physique : aiguilles blanches
- Masse 38,5 mg



***MU₅**

- **Solubilité : CH₂Cl₂**
- **Aspect physique : poudre jaunâtre**
- **Masse :29,5 mg**

REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

- Annick L., 1969. "Flore du Gabon", Ed. du Muséum National d'Histoire Naturelle. N°16, pp.09-16 et 199-206.
- Bernard B., 2013 <http://www.books.google.cm> consulté le 05 Février 2016.
- Bruneton J., 1999. « Pharmacognosie, phytochimie et plantes médicinales ». 3^{ème} édition Technique et documentation, Rue Lavoisier, France, pp.279-283, 309-353, 781-785.
- Grayer R. J., 1989. "Plant phenolics", (Eds. Harborne J. B.), In Flavonoids, San Diego, Academic Press, pp.283-323.
- Harborne J. B., 1994. Phytochemistry of the Leguminosae. In: Bisby, F. A., Buckingham, J. and Harborne J.B., (eds), *Phytochemical Dictionary of the Leguminosae – Vol. I Plants and their constituents*. Chapman & Hall, Cambridge.
- Hufford D., Obajide O. (2004) New dihydrochalcones and Flavanones from *Uvaria angolensis*.
- Irvine F. R. 1961 : "Woody plants of Ghana. With special reference to their uses". London: Oxford.
- Kapche. Z. F. G. D., 2000. "Contribution à l'étude phytochimiques de deux plantes médicinales du Cameroun: *Dorstenia poinsettifolia* et *Dorstenia psilurus* (Moraceae) et Hémisynthèse de quelques flavonoides". Thèse de doctorat de troisième cycle en chimie organique, Faculté des sciences, Université de Yaoundé I- Cameroun, pp 22-30.
- Kamaliah M., Hapipah M.A., Rohano Y., Hamid H.A., and Mary P. 1995. Chemical components from the light petroleum soluble fraction of *Uvaria cordata*. *Pertanika. Journal science and technologies*, **3**, 197-202.
- Kamrun N.A., Rasheduzzaman C., Choudhury M.H., and Mohammad A. R. 2004. Steroids and polyketides from *Uvaria hamiltonii* stem bark. *Actapharmacol*, **54**, 57-63.
- Kessler, P. J. A. 1993. "Annonaceae In: The families and genera of vascular plants". Eds. K. Kubitzki, **11**, 93-129.
- Koch M. 1965. Gentianine et Swertinamarine de l'*Anthoelisa procera* la prieur ex burea (Logniacées). Thèse de Doctorat en pharmacie, Université de Paris.
- Kokwaro, J. O. 1993. "Medicinal plants of East Africa", second edition. Kenya literature bureau, Nairobi p 401.
- Lawal T. O., Adeniyi B. A., Wan B., Franzblau S. G. and Mahady G. B. 2011 In vitro susceptibility of Mycobacterium Tuberculosis to Extracts of *Uvaria Afzelli* Scott Elliot and *Tetracera Alnifolia* Willd. *Journal of pharmacological research*, **14**, 17-21.
- Leboeuf M., Cavé A, Bhaumik K., Mukherjee R., and Mukherjee B. 1982. The phytochemistry of the Annonaceae. *Phytochemistry*, **21**, 2783-2813.
- Manen M., Cosam J., Esther I., Mayunga N. 2004. *In vitro* antibacterial and antifungal activities of extracts and compounds from *Uvaria schefferie*. *Pharmaceutical Biology*, **42**, 269-273.
- Margareth B.C.G., and Miranda J.S. 2009. Biological activities of Lupéol. *International Journal of Biomedical and pharmaceutical science*, **3**, 46-66.
- Okokon J. E., Ita B. B. N., Udokpoh A.E., 2006. The in-vivo antimalarial activities of *Uvaria chamae* and *hippocratea*. *Africana Annals of Tropical Medicine and Parasitology*, **100**, 585-590.
- Pauwels L., 1993. "Guide des arbres et arbustes de la région de Kinshasa Brazzaville". Belgique : Meise p486.
- Pelletier S.W., 1970. "Chemistry of the alkaloids. Edition VanNostrand Reinhold Company": Nex York, Etats-unis, p 795.
- Plante botanique ., 2012. www.plantebotanique.com consulté le 15 février 2015.
- Santi T. P., Kanogporn P., Jirapast S., Preecha P., 2011. Chemical constituents from the roots of *Uvaria rufa*. *Chemistry of natural compounds*, **3**, 474-476.

Zhongguo Z., Yao Z., 1999. A study on major chemical components of *Uvaria grandiflora*. *National library of medicine*, **24**, 476-477.

Zhou L., 2010. Systematic and Phylogenetics of the *Uvaria* (*Annonaceae*): Origin, Dispersal and Morphological Diversification of a major palaeotropical lineage. Unpublished PhD thesis, University of Hong Kong.