

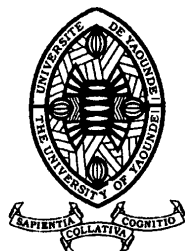
REPUBLIQUE DU CAMEROUN

Paix – Travail – Patrie

UNIVERSITE DE YAOUNDE I

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

UNITE DE RECHERCHE ET DE
FORMATION
DOCTORALE CHIMIE ET APPLICATIONS



REPUBLIC OF CAMEROON

Peace- Work- Fatherland

THE UNIVERSITY OF YAOUNDE I

POSTGRADUATE SCHOOL OF SCIENCE,
TECHNOLOGY AND GEOSCIENCES

RESEARCH AND DOCTORAL TRAINING
UNIT IN CHEMISTRY AND
APPLICATIONS

DEPARTEMENT DE CHIMIE ORGANIQUE
DEPARTMENT OF ORGANIC CHEMISTRY

LABORATOIRE DE PHARMACOCHEMIE DES SUBSTANCES NATURELLES (LPSN)
LABORATORY OF PHARMACOCHEMISTRY OF NATURAL SUBSTANCES (LPSN)

ISOLEMENT DES ALCALOÏDES DU TRONC DE *HUNTERIA BALLAYI* (APOCYNACEAE)

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

Option : **Chimie et Applications**

Spécialité : **Chimie Organique**

Présenté par :

FOPA TIOMELA Leatitia

Matricule : 18Y066

Licence en Chimie



Sous la Supervision de :

NDONGO Joseph Thierry

(Maître de Conférences)

Année académique : 2023-2024

DEDICACE

A MES PARENTS :

Monsieur **TIOMELA ROGER** et Madame **MALONGOUM
ABALICE**

REMERCIEMENTS

Ce mémoire n'aurait vu le jour sans les efforts réunis de certaines personnes que je tiens honorablement à remercier pour leur participation de près ou de loin, notamment :

M. **Dieudonné Emmanuel PEGNYEMB**, *Professeur*, chef de département de chimie organique qui m'a accueilli au sein du Laboratoire de Pharmacochimie des Substances Naturelles (LPSN) de l'Université de Yaoundé I.

Mme. **Joséphine NGO MBING Epse PEGNYEMB**, *Professeur*, pour ses multiples conseils dans le laboratoire de Pharmacochimie des Substances Naturelles (LPSN).

M. **Joseph Thierry NDONGO**, *Maître de Conférences*, pour son accueil et ses conseils pratiques au sein de l'annexe du Laboratoire de Pharmacochimie des Substances Naturelles (LPSN) sis à l'Ecole Normale Supérieure de Yaoundé I.

Tous les enseignants du Département de Chimie (Organique et Inorganique) de l'Université de Yaoundé I pour leurs précieux enseignements.

Au Dr. **Guy EBEDE** pour son dynamisme, sa patience, sa simplicité et sa disponibilité.

À M. **Alexis NAMA** pour sa simplicité et ses multiples conseils.

À Mme. **Merveilles BELLA** pour sa disponibilité, son intelligence, ses encouragements.

À Mes aînés de laboratoire : Mme. **Christelle TSAFFO**, M. **Michel POM**, Mme **Merveille DONGMO**, M. **Benoît ESSAMA**, M. **Lamanje NJOYA**, Mme. **Larisse TCHOWA**, Mme. **Darlyne YEMELE**, Mme **Marlyne MAFFO**, M. **Jean KOFFI GARBA**, Mme. **Mathilda Loinseboth AMAHNDONG**, Mr. **Sylvestre SAIDOU TSILA**, Mr. **Franck Landry POSSI**, Mme. **Larissa NGUEMBU TCHONENG**, M. **Jule Delain TADJUIDJE**, Mme. **Anicet NZEPANG** pour leur collaboration, leurs conseils durant ce travail.

À mes amies spécialement **Starienne DJUKA**, **Doria NGATSING**, **Christelle MAGNE**, **Sorelle MAKOUTING** pour les moments agréables, festifs et joyeux qu'on a eu ensemble permettant de mieux gérer la pression.

À ma famille spécialement à **Martial TINDO**, **Romuald JATSA**, **Annicet DJIMO**, **Colette TADJOU**, **Baros TIOMELA**, **Arena TADJOU**, **Abigael TIOMELA**, **Paguiel TIOMELA**, **Jordan DZIMI** pour leur soutien, encouragements et prières.

À mon bien aimé **Gildas ASSOFAK** pour son soutien et ses encouragements.

À tous ceux qui de près ou de loin ont contribué à la réalisation de ce travail qu'ils trouvent ici ma profonde reconnaissance.

TABLE DES MATIERES

DEDICACE.....	i
REMERCIEMENTS.....	ii
TABLE DES MATIERES	iv
LISTE DES ABREVIATIONS ET DES SYMBOLES	vi
LISTE DES FIGURES.....	vii
LISTE DES SCHEMAS.....	viii
LISTE DES TABLEAUX	ix
RESUME.....	x
ABSTRACT	xi
INTRODUCTION GENERALE	1
CHAPITRE I : REVUE DE LA LITTERATURE.....	4
I.1. Famille des Apocynaceae.....	5
I.1.1. Etude botanique.....	5
I.1.2 Distribution géographique.....	5
I.1. 3. Usage des plantes de la famille des Apocynaceae	6
I.2 Le genre <i>Hunteria</i>	7
I.2.1 Description botanique	7
I.2.2 Usages des plantes du genre <i>Hunteria</i>	7
I.2.2.1 Usages du genre <i>Hunteria</i> en médecine traditionnelle	8
I.2.2.2 Usages commerciaux des plantes du genre <i>Hunteria</i>	8
I.2.3 Travaux chimiques antérieurs sur le genre <i>Hunteria</i>	8
I.2.4 Quelques propriétés pharmacologiques des plantes du genre <i>Hunteria</i>	13
I.3 Espèce <i>Hunteria ballayi</i>	13
I.3 .1 Description botanique	13
I.3.2 Répartition géographique.....	14
I.3.3 Usage de l'espèce <i>Hunteria ballayi</i>	14
I.3.4 Travaux chimiques antérieures sur l'espèce <i>Hunteria ballayi</i>	14
I.4 Alcaloïdes	15
I.4.1 Généralités sur les alcaloïdes.....	15
1.4.1.1. Les alcaloïdes vrais	15
I.4.1.2. Les pseudo-alcaloïdes	15

I.4.1.3. Les proto-alcaloïdes.....	15
I.4.2 Biosynthèse des alcaloïdes.....	15
I.4.2.1. Voie des acides aminés aliphatiques	17
I.4.2.2. Voie des acides aminés aromatiques.....	18
CHAPITRE 2 : RESULTATS ET DISCUSSION	20
II-1 Extraction et isolement des composés de <i>Hunteria ballayi</i>	21
II.2 Caractérisation chimique des composés purs isolés	23
II.2.1 Identification du composé HB ₁	23
II.2.2 Identification du composé HB ₂	36
CONCLUSION ET PERSPECTIVES	51
CHAPITRE III : MATERIELS ET METHODES	53
III-1 Matériel.....	54
III-1.1 Matériel végétal.....	54
III-1.2 Autres matériels	54
III .2. METHODES	55
III.2.1. Extraction par macération	55
III.2.2. Extraction liquide -liquide.....	55
III.2.3. Fractionnement et purifications.....	56
III.2.3.1. Fractionnement.....	56
III.2 .3.2 Purifications	57
III.2.4. Tests de détection des alcaloïdes	57
III.2.4. Caractéristiques physicochimiques des composés isolés.....	58
REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES.....	60

LISTE DES ABREVIATIONS ET DES SYMBOLES

CC	: Chromatographie sur Colonne
CCM	: Chromatographie sur Couche Mince
CH₂Cl₂	: Chlorure de Méthylène
COSY	: <i>Correlation Spectroscopy</i>
<i>d</i>	: Doublet
DCM	: Dichlorométhane
<i>dd</i>	: Doublet dédoublé
EI-MS	: <i>Electronic Impact-Mass spectrometry</i>
GC-MS	: <i>Gas Chromatography-Mass Spectrometry</i>
HMBC	: Heteronuclear Multiple Bond Correlation
HNC	: Herbar National du Cameroun
HSQC	: Heteronuclear Single Quantum Coherence
Hz	: Hertz
IUPAC	: International Union for Pure and Applied Chemistry
J	: Constante de couplage
<i>m/z</i>	: Mass by charge number
MeOH	: Méthanol
MHz	: Méga Hertz
Ppm	: Partie par million
RMN ¹³C	: Résonance Magnétique Nucléaire du carbone
RMN ¹H	: Résonance Magnétique Nucléaire du proton
RMN-1D	: Résonance Magnétique Nucléaire à une dimension
RMN-2D	: Résonance Magnétique Nucléaire à deux dimensions
<i>s</i>	: Singulet
<i>t</i>	: Triplet
δ	: Déplacement chimique en partie par million

LISTE DES FIGURES

Figure 1: Répartition géographique des Apocynaceae dans le monde	6
Figure 2: Répartition géographique du genre <i>Hunteria</i> en Afrique	7
Figure 3: Feuilles de <i>Hunteria ballayi</i>	14
Figure 4: Spectre de masse ESI haute résolution en mode positif du composé HB ₁	23
Figure 5: Spectre de RMN ¹ H (400 MHz, CD ₃ OD) du composé HB ₁	25
Figure 6: Spectre de RMN ¹³ C (100 MHz, CD ₃ OD) du composé HB ₁	27
Figure 7: Spectre HSQC du composé HB ₁	29
Figure 8: Spectre COSY du composé HB ₁	31
Figure 9: Quelques corrélations observées sur le spectre COSY du composé HB ₁	32
Figure 10: Spectre HMBC du composé HB ₁	33
Figure 11: Quelques corrélations observées sur le spectre HMBC du composé HB ₁	34
Figure 12: Structure du composé HB ₁	34
Figure 13: Spectre de masse ESI haute résolution en mode positif du composé HB ₂	37
Figure 14: Spectre de RMN ¹ H du composé HB ₂ (500 MHz, DMSO- <i>d</i> ₆).....	39
Figure 15: Spectre de RMN ¹³ C (125 MHz, DMSO- <i>d</i> ₆) du composé HB ₂	41
Figure 16: Spectre HSQC du composé HB ₂	43
Figure 17: Quelques corrélations sur le spectre COSY du composé HB ₂	44
Figure 18: Spectre COSY du composé HB ₂	45
Figure 19: Spectre HMBC du composé HB ₂	47
Figure 20: Quelques corrélations sur le spectre HMBC du composé HB ₂	48
Figure 21: Structure du composé HB ₂	48
Figure 22: Concentration de l'extrait de <i>Hunteria ballayi</i> au MeOH	55
Figure 23: Extraction liquide-liquide de <i>Hunteria ballayi</i>	56

LISTE DES SCHEMAS

Schéma 1: les précurseurs des alcaloïdes.	16
Schéma 2: La biosynthèse des alcaloïdes.	16
Schéma 3: Biosynthèse du tropanol.	17
Schéma 4: La biosynthèse des pyrrolizidines.	18
Schéma 5: Biosynthèse des isoquinoléiques.	18
Schéma 6: Biogenèse des indolomonoterpeniques	19
Schéma 7: Protocole d'extraction et d'isolement des composés de <i>Hunteria ballayi</i>	22

LISTE DES TABLEAUX

Tableau 1: Composés phénoliques isolés du genre <i>Hunteria</i>	9
Tableau 2: Triterpenoides isolés du genre <i>Hunteria</i>	10
Tableau 3: Alcaloïdes isolés de <i>Hunteria zeylanica</i>	11
Tableau 4: Alcaloïdes isolés de <i>Hunteria umbellata</i>	12
Tableau 5: Répartition géographique de <i>Hunteria ballayi</i> en Afrique	14
Tableau 6: Données spectrales RMN ^1H (400 MHz, CD_3OD), RMN ^{13}C (100 MHz, CD_3OD) du composé HB_1 comparées à celles de la littérature.....	35
Tableau 7: Données spectrales RMN ^{13}C (125 MHz, $\text{DMSO}-d_6$) du composé HB_2 comparées à celles (125 MHz, $\text{DMSO}-d_6$) de la littérature.....	49
Tableau 8: Résumé du fractionnement	57

RESUME

Le présent travail porte sur l'extraction, l'isolement et l'identification des alcaloïdes contenus dans le tronc de *Hunteria ballayi*, une plante médicinale camerounaise de la famille des Apocynaceae. Cette plante est utilisée en médecine traditionnelle pour soigner la stérilité chez les femmes. L'étude chimique de l'extrait au méthanol du tronc de *Hunteria ballayi* au moyen des méthodes chromatographiques usuelles (CC, CCM), a permis d'isoler quatre (04) composés purs indexés HB₁ (4 mg), HB₂ (6 mg), HB₃ (5 mg), et HB₄ (6 mg). Les composés HB₁ et HB₂ ont entièrement été caractérisés grâce aux méthodes spectrométriques (SM) et spectroscopiques (RMN 1D et 2D). Ainsi ils ont été identifiés par comparaison de leurs données spectrales avec celles de la littérature comme étant la 1-[2-[2-(carboxyméthyl)indole-3-yl]-3-éthylpyridinium hydroxyde et *N*⁴-méthyl-10-hydroxygeissochizol, respectivement.

Mots clés : Apocynaceae, *Hunteria ballayi*, alcaloïdes, 1-[2-[2-(carboxyméthyl)indole-3-yl]-3-éthylpyridinium hydroxyde et *N*⁴-méthyl-10-hydroxygeissochizol.

ABSTRACT

The present work describes the extraction, the isolation and the identification of alkaloids contents from the trunk of *Hunteria ballayi*, a Cameroonian medicinal plant from Apocynaceae family. This plant is used in traditional medicine for the treatment of infertility women. Chemical study done on the methanol extract of trunk from *Hunteria ballayi* using usual chromatographic methods such as Column Chromatography (CC) and Thin Layer Chromatography (TLC) led to the isolation of four (04) pure compounds labelled: HB₁ (4 mg), HB₂ (6 mg), HB₃ (5 mg) and HB₄ (6 mg). Compounds HB₁ and HB₂ were fully characterized using mass spectrometry (MS) and spectroscopic methods (NMR 1D and 2D). Therefore by comparison of their spectral data with those reported in the literature, there were identified as 1-[2-[2-(carboxyméthyl)indole-3-yl]-3-éthylpyridinium hydroxyde and *N*⁴-méthyl-10-hydroxygeissochizol, respectively.

Keys words: Apocynaceae, *Hunteria ballayi*, alkaloids, 1-[2-[2-(carboxyméthyl)indole-3-yl]-3-éthylpyridinium hydroxyde and *N*⁴-méthyl-10-hydroxygeissochizol.

INTRODUCTION GENERALE

Les plantes médicinales sont une source importante de médicaments et jouent un rôle clé dans la santé mondiale, elles sont connues comme une source potentielle de produits thérapeutiques. Leur utilisation a acquis un rôle prépondérant dans le système sanitaire et de nombreux pays dans le monde dépendent des plantes médicinales pour les soins de santé primaires (**Islam et al., 2019**).

Grace aux travaux de recherche en cours, des milliers de métabolites secondaires actifs ont été isolés des sources naturelles pouvant ainsi être rangés en plusieurs classes de composés parmi lesquelles les alcaloïdes plus précisément les alcaloïdes indoliques tels que la vinblastine, la vincristine, et la docetaxel (**Javed et al., 2017**). Ces derniers ont été identifiés dans plusieurs plantes de la famille des Rubiaceae, des Loganiaceae et des Apocynaceae qui est la famille étudiée dans ce travail. Ces alcaloïdes ont un pouvoir biologique et présentent des activités pertinentes dans le domaine médical notamment antidiabétique, anticancéreuse, antibactérienne, antiviral, antipaludique, antiinflammatoire, antidépresseur, analgésique, hypotenseur, anti diarrhéique, antileishmanienne (**Omar et al., 2021**).

Cependant, l'utilisation de ces alcaloïdes indoliques a été confrontée à plusieurs problèmes parmi lesquels les effets secondaires, la toxicité, la cherté et la complexité (**Javed et al., 2017**). Il est donc urgent de rechercher des alcaloïdes indoliques présentant moins d'effets secondaires et moins toxiques.

C'est dans cette optique que le Laboratoire de Pharmacochimie et de Substances Naturelles du Département de Chimie Organique de l'Ecole Normale Supérieure de Yaoundé I a entrepris depuis quelques années la valorisation et la vulgarisation des plantes du genre *Hunteria* en vue de rechercher les métabolites secondaires moins toxiques et avec peu d'effets secondaires. Ainsi, dans le cadre de nos travaux de Master, nous avons entrepris une étude chimique des alcaloïdes du tronc de *Hunteria ballayi*. Le choix de cette plante a été motivé par son utilisation en médecine traditionnelle pour traiter l'infertilité chez les femmes (**Boone, 2006**). A notre connaissance, aucun travail chimique n'a encore été fait sur cette plante. L'objectif général de ce travail est d'identifier et caractériser les alcaloïdes présents dans le tronc de *Hunteria ballayi* plus spécifiquement :

- Récolter la matière végétale ;
- Isoler et purifier les alcaloïdes,
- Caractériser et identifier les composés isolés,

- Evaluer les activités biologiques des extraits et des composés obtenus.

Ce mémoire s'articule autour de trois chapitres :

Le premier chapitre est consacré à une revue de littérature non exhaustive sur le genre *Hunteria* et plus précisément sur l'espèce *Hunteria ballayi*,

Le deuxième chapitre présente les résultats obtenus et une discussion suivie d'une conclusion et perspectives,

Le troisième chapitre a trait à la partie expérimentale qui présente le matériel et les méthodes utilisées suivie d'une liste de références bibliographiques.

CHAPITRE I : REVUE DE LA LITTERATURE

I.1. Famille des Apocynaceae

I.1.1. Etude botanique

Les Apocynaceae sont une famille de plantes dicotylédones. Ils représentent une famille cosmopolite pour la plupart des lianes ou plantes herbacées, quelques arbustes ou arbres à latex et feuilles persistantes. Les plantes de cette famille ont des caractéristiques morphologiques communes : les feuilles sont généralement opposées ou verticillées à nervation pennée. Les inflorescences sont groupées en cymes ou en racèmes ; les fleurs peuvent être soit solitaires, soit terminales, ou axillaires. Les fleurs, pentamères, sont remarquables et de grande taille, à corolle tubulaire avec 5 lobes, 5 étamines insérées sur la corolle, 2 à 8 carpelles fusionnés ou 2 carpelles libres. Les fruits, souvent géminés, sont des baies ; des drupes ou alors des follicules déhiscent (Dupont et *al.*, 2012).

I.1.2 Distribution géographique

Les espèces appartenant à la famille des Apocynaceae se trouvent majoritairement dans les régions tropicales, subtropicales et rarement dans les régions tempérées. Les Apocynaceae sont regroupés en cinq sous familles à savoir : les Rauvolfioïdes ; les Apocynoidées ; les Périplocoidées ; les Sécamonoidées et les Asclepiadoidées.

Selon la classification phylogénique **APG III (2009)**, cette famille compte près de 4600 espèces divisées en 424 genres (**Endress et *al.*, 2014**) à l'exemple du genre *Alafia*, *Carissa*, *Elytropus*, *Rauvolfia*, *Tabernaemontana* et le genre *Hunteria* qui fait l'objet de notre étude.

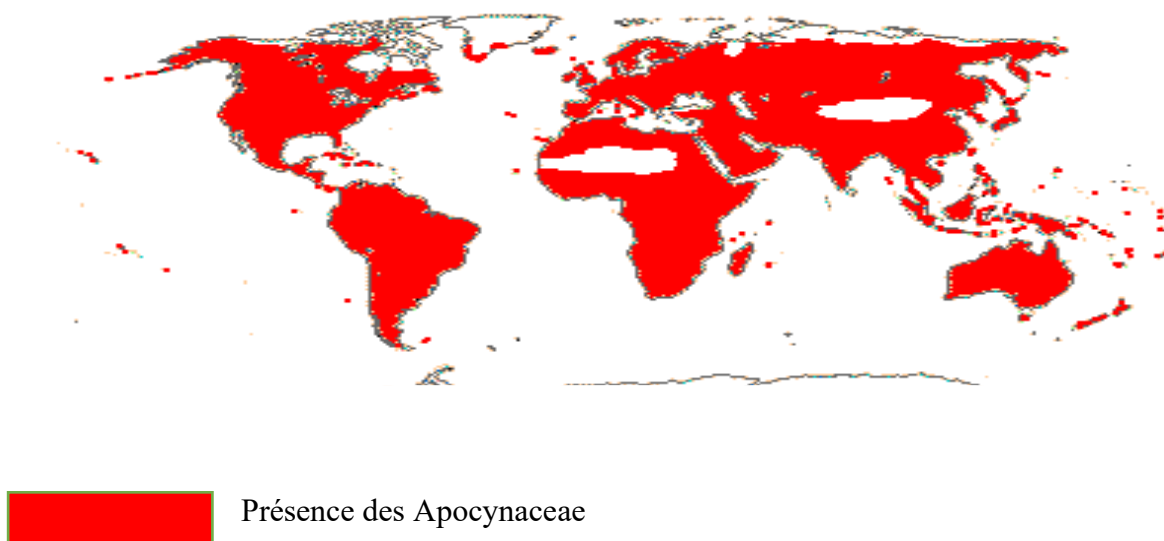


Figure 1: Répartition géographique des Apocynaceae dans le monde (Vernon et Françoise, 1996)

I.1. 3. Usages des plantes de la famille des Apocynaceae

Les plantes de la famille des Apocynaceae possèdent plusieurs usages en médecine traditionnelle, nous pouvons citer :

- Les feuilles et les tiges de *Tabernaemontana divaricata* sont utilisées pour le traitement de la fièvre, de la douleur et la dysenterie. Elles sont également utilisées pour soigner l'asthme, les infections oculaires, l'épilepsie, la lèpre, ces plantes ont des propriétés aphrodisiaques, diurétiques, et sont un remède contre le poison et un tonique pour le cerveau (Warrier, 1993).
- Les feuilles de *Catharanthus roseus* sont utilisées comme agent antiseptique pour cicatriser les plaies et comme bain de bouche pour traiter les maux de dents (Kuo *et al.*, 2001).
- Les tiges d'*Alstonia boonei* sont utilisées pour traiter les maladies fébriles, les mictions douloureuses, la jaunisse, le paludisme et la fièvre (Bello *et al.*, 2009).
- *Carissa carandas* produit des fruits qui sont utilisés comme produits gastriques, anthelminthiques ; des feuilles pour soigner la fièvre (Kirtikar, 1998).

I.2 Le genre *Hunteria*

I.2.1 Description botanique

Hunteria est un genre de la famille des Apocynaceae décrit en 1824 et comprend 12 espèces à savoir *Hunteria umbellata*, *Hunteria Smii*, *Hunteria ghanensis*, *Hunteria camerunensis*, *Hunteria congolona*, *Hunteria densiflora*, *Hunteria hexaloba*, *Hunteria macrosiphon*, *Hunteria myriantha*, *Hunteria oxyantha*, *Hunteria zeylanica* et *Hunteria ballayi* qui fait l'objet de notre étude. Les espèces de ce genre sont originaires de la Guinée - Bissau, Sierra Leone, Liberia, Ghana, Benin, Gabon, Nigeria, République Démocratique du Congo et Cameroun (**Kaur et al., 2016**).

C'est un arbuste d'environ 15 à 22 m de haut qui pousse dans toute l'Afrique occidentale et centrale, il est glabre et lisse contenant au moins 12 graines en forme de disque noyées dans la pulpe gélatineuse, les fleurs ont une forte odeur agréable, constituée d'une corolle crème ou jaune fleurit en novembre et de mars en mai. Le fruit est d'environ 5,25 cm diamètre, jaune à orange pale (**Omino, 1996**).

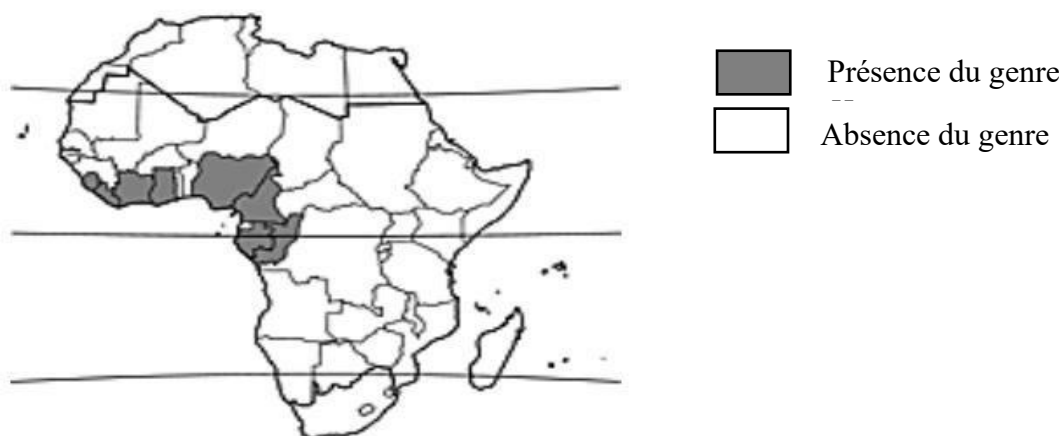


Figure 2: Répartition géographique du genre *Hunteria* en Afrique

I.2.2 Usages des plantes du genre *Hunteria*

Les plantes du genre *Hunteria* ont une très grande importance en médecine traditionnelle et aussi dans le domaine commercial.

I.2.2.1 Usages du genre *Hunteria* en médecine traditionnelle

En Sierra Leone, on prépare l'écorce du tronc de *Hunteria umbellata* comme un tonique amer est employé comme stomachique en lotion pour traiter la fièvre (Boone, 2006).

En Côte d'Ivoire, on applique un extrait d'écorce fraîche des racines de *Hunteria umbellata* sur les lésions causées par la lèpre (Boone, 2006).

Au Nigeria, les graines et l'écorce de *Hunteria umbellata* sont utilisées dans le traitement de l'hémorroïde, du diabète, des ulcères d'estomac, de la prévention de l'avortement fœtal, de l'arrêt des douleurs menstruelles aiguës et des infections helminthiques (Falodun et al., 2006) tandis que les feuilles de *hunteria zeylanica* sont consommées pour guérir les blessures (Gamble, 1972).

Au Cameroun, on absorbe une décoction d'écorce ou de fruits de *Hunteria umbellata* pour traiter les maux d'estomac, les troubles hépatiques et les hernies (Burkill 1985, Dalziel 1937).

L'écorce de *Hunteria ghanensis* est utilisée pour traiter les difficultés de miction au Ghana et en Côte d'Ivoire (Boone, 2006).

I.2.2.2 Usages commerciaux des plantes du genre *Hunteria*

Au Nigeria, les tiges fourchues de *Hunteria umbellata* sont utilisées comme piliers de cases et sont considérées comme très durables et insensibles aux termites (Boone, 2006).

En Côte d'Ivoire, le bois dur de couleur jaunâtre *Hunteria umbellata* est utilisé comme bois de feu (Boone, 2006). Il est aussi employé dans la fabrication des peignes, des bâtons de police, de robots de menuisiers (Oliver B, 1986).

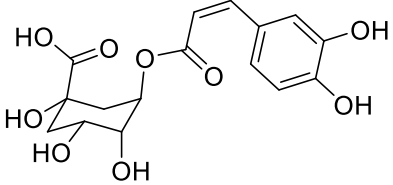
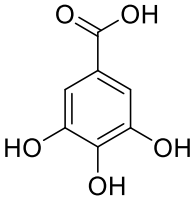
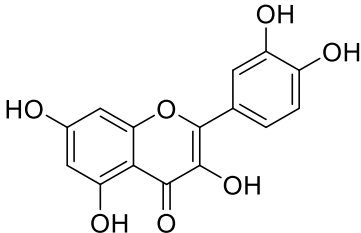
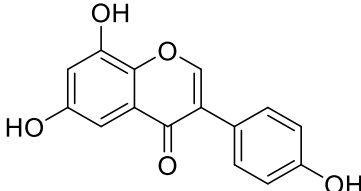
I.2.3 Travaux chimiques antérieurs sur le genre *Hunteria*

Les travaux chimiques sur les plantes du genre *Hunteria* ont conduit à l'isolement de plusieurs métabolites secondaires tels que les triterpénoides, les composés phénoliques, les alcaloïdes (Falodun et al., 2006).

a. Composés phénoliques

Certains composés phénoliques tels que l'acide chlorogénique (1), l'acide gallique (2), la quercétine (3), l'apigénine (4) ont été isolés des graines *Hunteria umbellata* (Obboh et al., 2017).

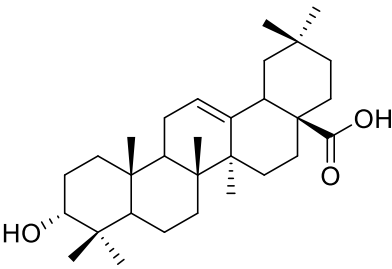
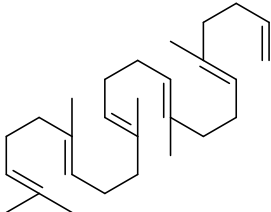
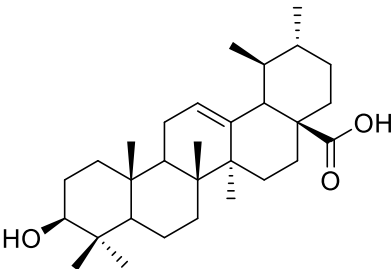
Tableau 1: Composés phénoliques isolés du genre *Hunteria*

Composés	Structures	Partie de la plante	Référence
Acide chlorogénique (1)		Graines de <i>Hunteria umbellata</i>	Oboh et al., 2017
Acide gallique (2)			
Quercétine (3)			
Apigénine (4)			

b. Triterpenoides isolés du genre *Hunteria*

Quelques triterpenoides ont été isolés de l'écorce du tronc de l'espèce *Hunteria umbellata* à l'instar de l'acide oléanolique (5), le squalène (6), l'acide ursolique (7) (Wangchuck et al., 2013).

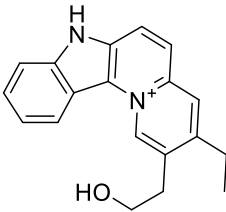
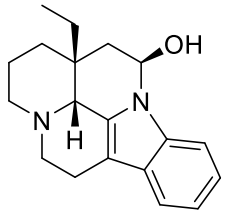
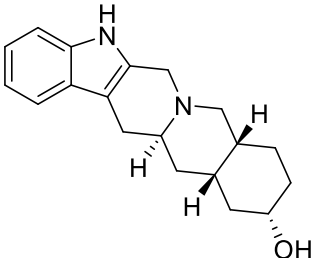
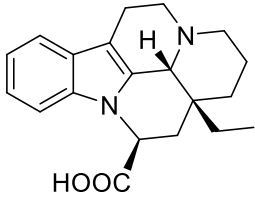
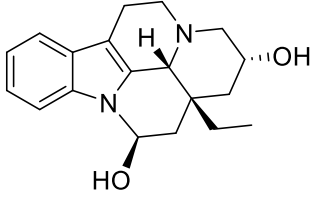
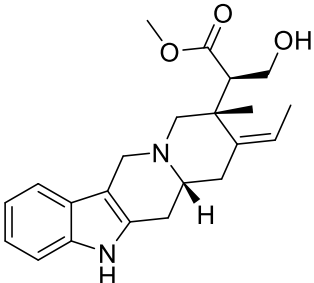
Tableau 2: Triterpenoides isolés du genre *Hunteria*

Composés	Structures	Partie de la plante	Reference
Acide oléanolique (5)		Ecorce du tronc <i>Hunteria umbellata</i>	Wangchuck et al., 2013
Squalène (6)			
Acide ursolique (7)			

c. Alcaloïdes isolés du genre *Hunteria*

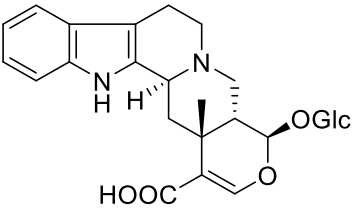
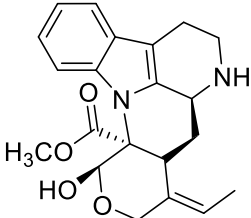
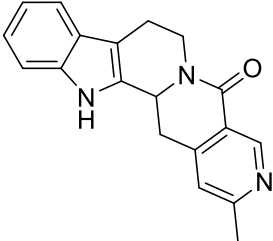
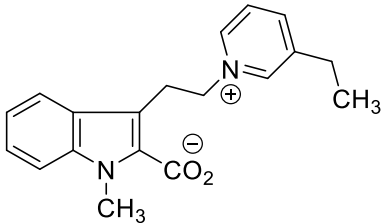
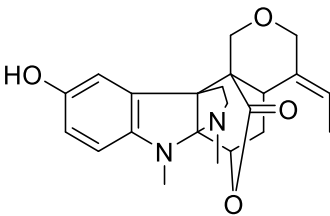
Les plantes du genre *Hunteria* sont spécialement riches en alcaloïdes indoliques. Ainsi plusieurs alcaloïdes ont été isolés des feuilles, du tronc de *Hunteria zeylanica* à savoir la nicalaterine (8), eburnamine (9), yohimbol (10), 14 β –hydroperoxy-eburnamine (11), 18 α –hydroxy-eburnamine (12) et isositsirikine (13) (Lavaud et al., 1982, Nugroho et al., 2011, Quan et al., 2015).

Tableau 3: Alcaloïdes isolés de *Hunteria zeylanica*

Composés	Structures	Partie de la plante	Références
Nicalaterine (8)		Tronc de <i>Hunteria zeylanica</i>	Nugroho et al., 2011
Eburnamine (9)		Feuilles de <i>Hunteria zeylanica</i>	Lavaud et al., 1982
Yohimbol (10)			
14 β –hydroperoxy-eburnamine (11)		Tronc de <i>Hunteria zeylanica</i>	Quan et al., 2015
18 α –hydroxy-eburnamine (12)		Feuilles de <i>Hunteria zeylanica</i>	
Isositsirikine (13)		Feuilles de <i>Hunteria zeylanica</i>	Lavaud et al., 1982

De plus, les investigations chimiques de l'écorce du tronc et des graines de *Hunteria umbellata* ont conduit à l'isolement des alcaloïdes tels que l'acide strictosidinique (14), la taboltine (15), l'angustidine (16), l'ikirydinium (17) et l'erinidine (18) (Olusegun et al., 2011, Hamzah et al., 1994, Adeyene et al., 2012, Pinar et al., 1971, Abreu et Pereira, 1998).

Tableau 4: Alcaloïdes isolés de *Hunteria umbellata*

Composés	Structures	Partie de la plante	Références
Acide strictosidinique (14)		Ecorce du tronc de <i>Hunteria umbellata</i>	Hamzah et al., 1994
Talboline (15)			Pinar et al., 1971
Angustidine (16)			Abreu et Pereira, 1998
Ikirydinium (17)		Graines de <i>Hunteria umbellata</i>	Olusegun et al., 2011
Erinidine (18)			Adeyene et al., 2012

I.2.4 Quelques propriétés pharmacologiques des plantes du genre *Hunteria*

Plusieurs activités pharmacologiques ont été entreprises sur le genre *Hunteria*. Des extraits aqueux et méthanoliques des feuilles, des graines et de l'écorce du tronc de *Hunteria umbellata* ont montré une action anthelminthique importante contre les lombriques (Oluwemino et al., 2001).

L'extrait éthanolique de *Hunteria eburnea* est utilisée comme antifongique sur le Trichophyton mentagrophytes avec une valeur de CI_{50} de $0,5\mu M$), (Kanga et al., 2018).

L'éburnamine (9) présent en abondance dans les graines de *Hunteria umbellata* est un stimulant du système nerveux central et semble avoir un effet positif sur la circulation sanguine générale (Boone, 2006).

La nicalaterine (8) isolée de l'écorce de *Hunteria zeylanica* montre une activité anti plasmodiale (Nugroho et al., 2011).

L'acide strictosidinique (14) isolée de *Hunteria umbellata* a une activité antiinflammatoire et antipyrétique avec une valeur de CI_{50} de $10\mu M$ (Teng et al., 2020).

L'ikirydinium (17) isolé de *Hunteria umbellata* possède une activité antimicrobiale d'une valeur de CI_{50} de $0,6\mu M$ contre le bacille subtilis (ATCC 6051) (Olusegun et al., 2011).

I.3 Espèce *Hunteria ballayi*

I.3 .1 Description botanique

C'est un très petit arbre, généralement moins de 3 m de hauteur. Les feuilles opposées et le latex blanc indique qu'il appartient à la famille des Apocynaceae, qui contient de nombreuses plantes médicinales. Les fruits mesurent environ 1cm de long, sont jaunes avec un bec court et une surface verruqueuse, les feuilles sont de taille assez variable, un tronc mince, une écorce interne jaunâtre (Beentje, 2010).



Figure 3: Feuilles de *Hunteria ballayi* photographiées par FOPA 2023.

I.3.2 Répartition géographique et usage

L'espèce *Hunteria ballayi* se rencontre en Afrique centrale plus précisément au Cameroun, Centrafrique, Gabon et Congo) (Boone, 2006).

Tableau 5: Répartition géographique de *Hunteria ballayi* en Afrique

Cameroun	-Sud : Ngongondje plus précisément à Akonetyé
Centrafrique	45 km de Lidjombo
Gabon	40 km de Koumameyong ; 10 km de Lastoursville
Congo	Ngoko

I.3.3 Usage de l'espèce *Hunteria ballayi*

Les femmes avalent les graines en même temps que le mésocarpe sucré comme remède contre la stérilité (Boone, 2006).

I.3.4 Travaux chimiques antérieures sur l'espèce *Hunteria ballayi*

A notre connaissance, aucun travail chimique n'a encore été recensé sur l'espèce *Hunteria ballayi*.

I.4 Alcaloïdes

I.4.1 Généralités sur les alcaloïdes

La classification des alcaloïdes la plus utilisée est celle se basant sur la structure chimique de ces composés et leurs précurseurs moléculaires, ainsi les alcaloïdes sont classés en trois grands types : les alcaloïdes vrais, les pseudo-alcaloïdes et les proto-alcaloïdes (**Aniszewski, 2007**).

I.4.1.1. Les alcaloïdes vrais

Les alcaloïdes vrais sont des composés qui dérivent des acides aminés et possédant un atome d'azote dans un système hétérocyclique. Ces alcaloïdes sont biologiquement très réactifs même à des petites doses. Ils peuvent se présenter dans les plantes à l'état libre ou sous forme de sels. Ils sont formés de la condensation d'un acide aminé décarboxylé avec une molécule dépourvue d'azote (**aniszewski, 2007**).

I.4.1.2. Les pseudo-alcaloïdes

Ce sont des composés alcaloïdiques qui ne dérivent pas d'acides aminés. Il s'agit généralement d'isoprenoïdes, et des dérivées de l'acétate (**Bruneton, 1999**).

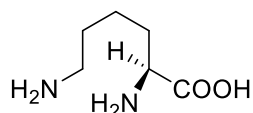
I.4.1.3. Les proto-alcaloïdes

Les proto-alcaloïdes sont des composés dont l'atome d'azote dérivé d'un acide aminé n'est pas inclus dans le système hétérocyclique. Ce sont des composés dérivés de la L-tyrosine, du L-tryptophane, et de la L-ornithine. Ils forment un groupe minoritaire d'alcaloïdes, l'hordenine, mescaline et yohimbine sont des exemples types de cette famille d'alcaloïdes (**aniszewski, 2007**).

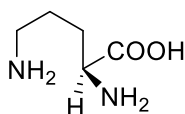
I.4.2 Biosynthèse des alcaloïdes

Les alcaloïdes dérivent des acides aminés (AA) parmi les 20 AA connus. Il s'agit de 2 AA aliphatiques et 5 AA aromatiques. La lysine engendre les alcaloïdes en C₅N et l'ornithine engendre les alcaloïdes en C₄N.

Les acides aminés aliphatiques



Lysine



Ornithine

Les acides aminés aromatiques

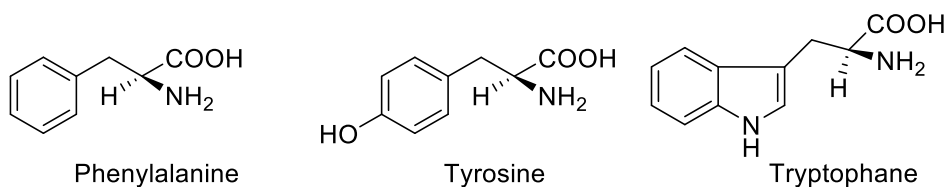


Schéma 1: les précurseurs des alcaloïdes (Gravel et al., 2010)

Les réactions élémentaires de biosynthèse des alcaloïdes sont la décarboxylation et la transamination d'après le schéma ci-dessous.

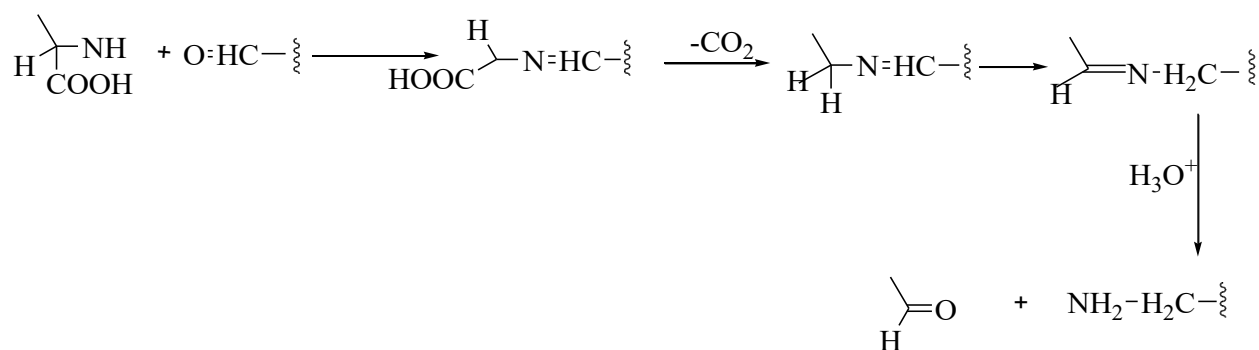


Schéma 2: La biosynthèse des alcaloïdes (Gravel et al., 2010)

Nous avons donc deux voies de biosynthèse celle des AA aliphatiques et celle des AA aromatiques.

I.4.2.1. Voie des acides aminés aliphatiques

- Biogenèse des alcaloïdes tropaniques

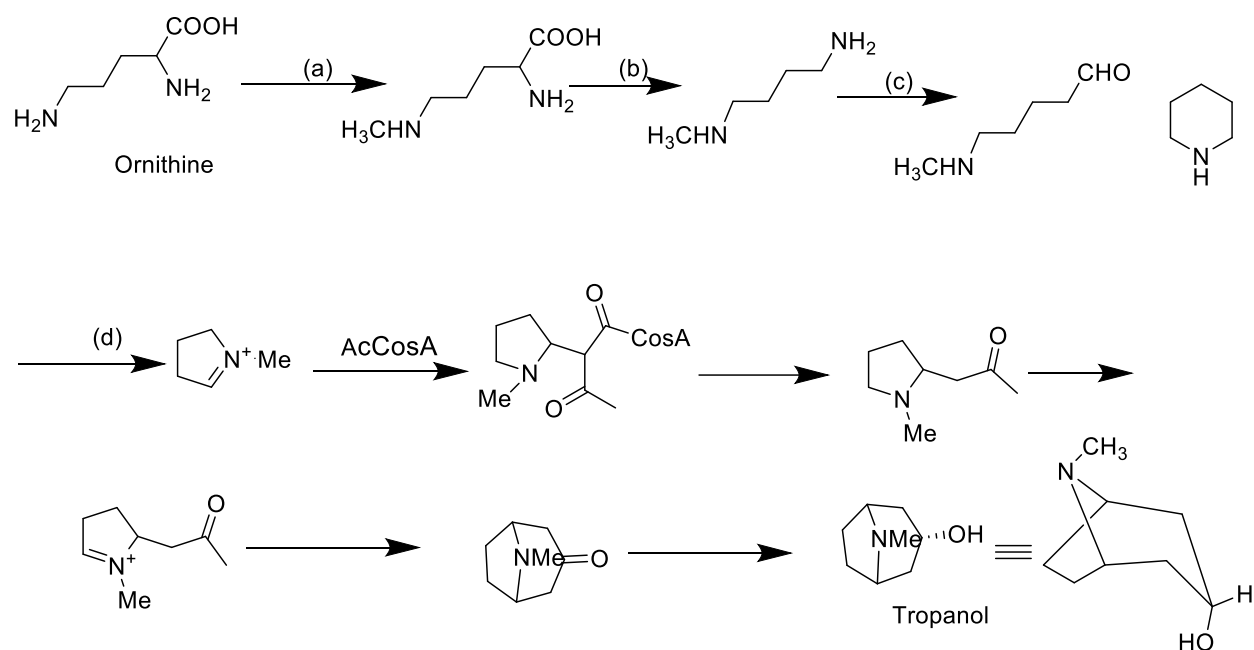


Schéma 3: Biosynthèse du tropanol (Herbert, 2003)

(a): méthylation, (b) : décarboxylation, (c) : transamination oxydative, (d) : cyclisation et les enzymes

Biosynthèse des alcaloïdes pyrrolizidines

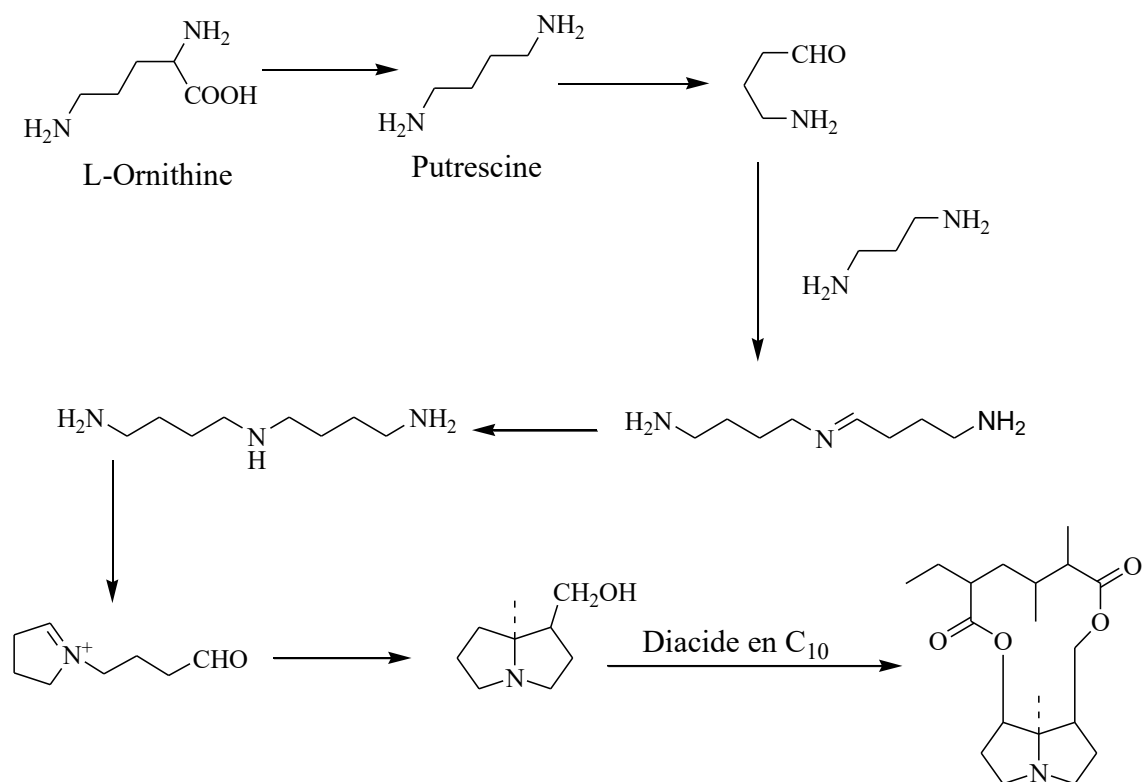


Schéma 4: La biosynthèse des pyrrolizidines (Gravel *et al.*, 2010)

I.4.2.2. Voie des acides aminés aromatiques.

- Biosynthèse des isoquinoléiques**

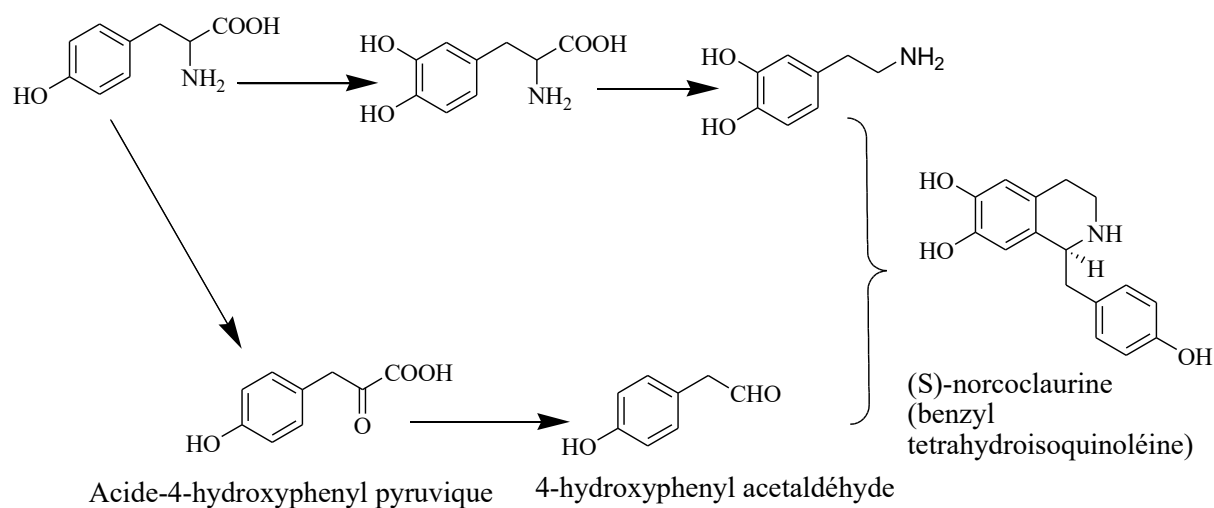


Schéma 5: Biosynthèse des isoquinoléiques (Gravel *et al.*, 2010).

• Biosynthèse des alcaloïdes indolomonoterpéniques

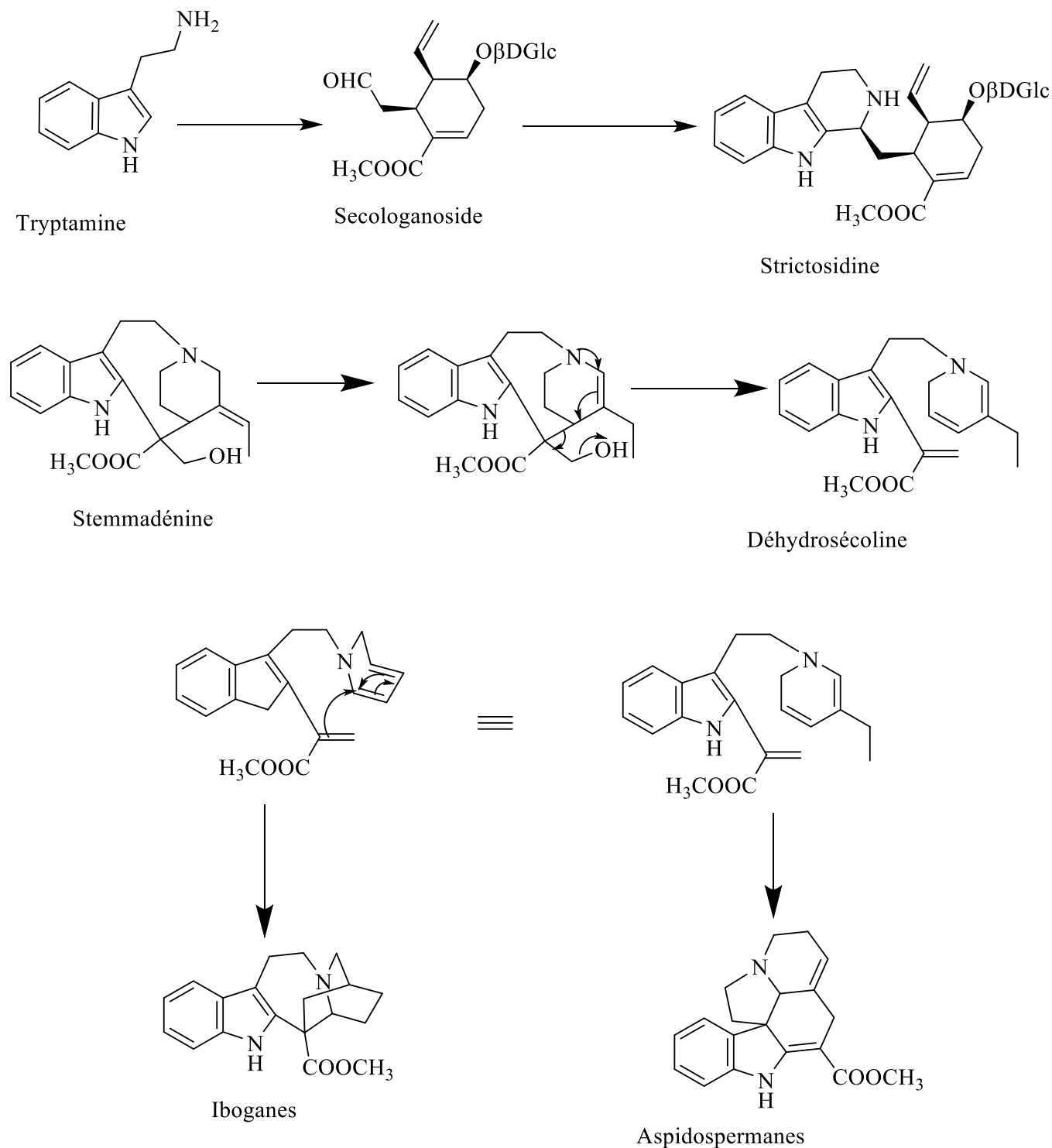


Schéma 6: Biogenèse des indolomonoterpéniques (Rodney et al., 2000)

CHAPITRE 2 : RESULTATS ET DISCUSSION

II-1 Extraction et isolement des composés de *Hunteria ballayi*

Le tronc de *Hunteria ballayi* a été récolté le 24 mai 2023 dans la localité de Ngongonjié plus précisément dans la région du Sud Cameroun et identifié par le botaniste Mr Nana Victor. Un échantillon de référence se trouve à l'Herbier National du Cameroun et porte le numéro 41487 HNC.

Après avoir découpé, séché et broyé le tronc de *Hunteria ballayi*, nous avons obtenu 1,7 kg de poudre maronne. Cette poudre a subi une macération au méthanol pur à la température ambiante pendant 72 heures et répété 3 fois à température ambiante, le filtrat obtenu après filtration a été concentré à l'aide d'un évaporateur rotatif pour conduire à 171,9 g d'extrait brut au MeOH. 2,0 g de l'extrait brut ont été réservés pour les tests biologiques tandis que 169,9 g restants ont été dissout dans un mélange MeOH/H₂O (20/80). Le mélange obtenu a été transféré dans une ampoule à décanter de 2 L et des extractions successives ont été faites à l'hexane, au dichlorométhane et à l'acétate d'éthyle. Les différentes phases obtenues ont été évaporées conduisant à des masses de 35,0 g, 6,0 g et 4,9 g issues des fractions respectives à l'hexane, au dichlorométhane et à l'acétate d'éthyle. Les fractions au dichlorométhane et à l'acétate d'éthyle présentant le même profil selon leurs plaques CCM, elles ont donc été mélangées pour obtenir 10,9 g. 0,9 g de ce mélange a été réservé pour les tests biologiques tandis que les 10,0 g restants ont subi une chromatographie sur colonne de gel de silice et élué avec un mélange de solvants CH₂Cl₂/MeOH (0–100%) de polarité croissante.

Les différentes fractions recueillies dans les flacons de 100 mL ont été évaporées puis regroupées en sept grandes fractions (A à G) sur la base de leur profil CCM. Au regard du profil chromatographique des différentes fractions obtenues, les fractions C et G se sont révélées être les plus riches de par leur composition chimique. Ces deux fractions ont donc été investiguées.

La fraction C (0,7 g) a donné un précipité blanc qui a été lavé au MeOH pur pour donner un composé pur indexé HB₁ (10,5 mg). Une chromatographie sur colonne de gel de silice de la fraction G en utilisant le système CH₂Cl₂/MeOH (5–10%) de polarité croissante a été effectuée donnant quatre sous fractions indexés G₁ (218,5 mg), G₂ (319,4 mg), G₃ (103,4 mg) et G₄ (185,5 mg). Les sous fractions G₁ et G₂ ont été purifiées par chromatographie sur colonne de gel de Sephadex LH-20 et avec pour éluant le méthanol pur. De G₁, un composé pur indexé HB₂ (6,1 mg) a été obtenu, tandis que deux composés purs indexés HB₃ (5,3 mg) et HB₄ (10,2 mg) ont été obtenus.

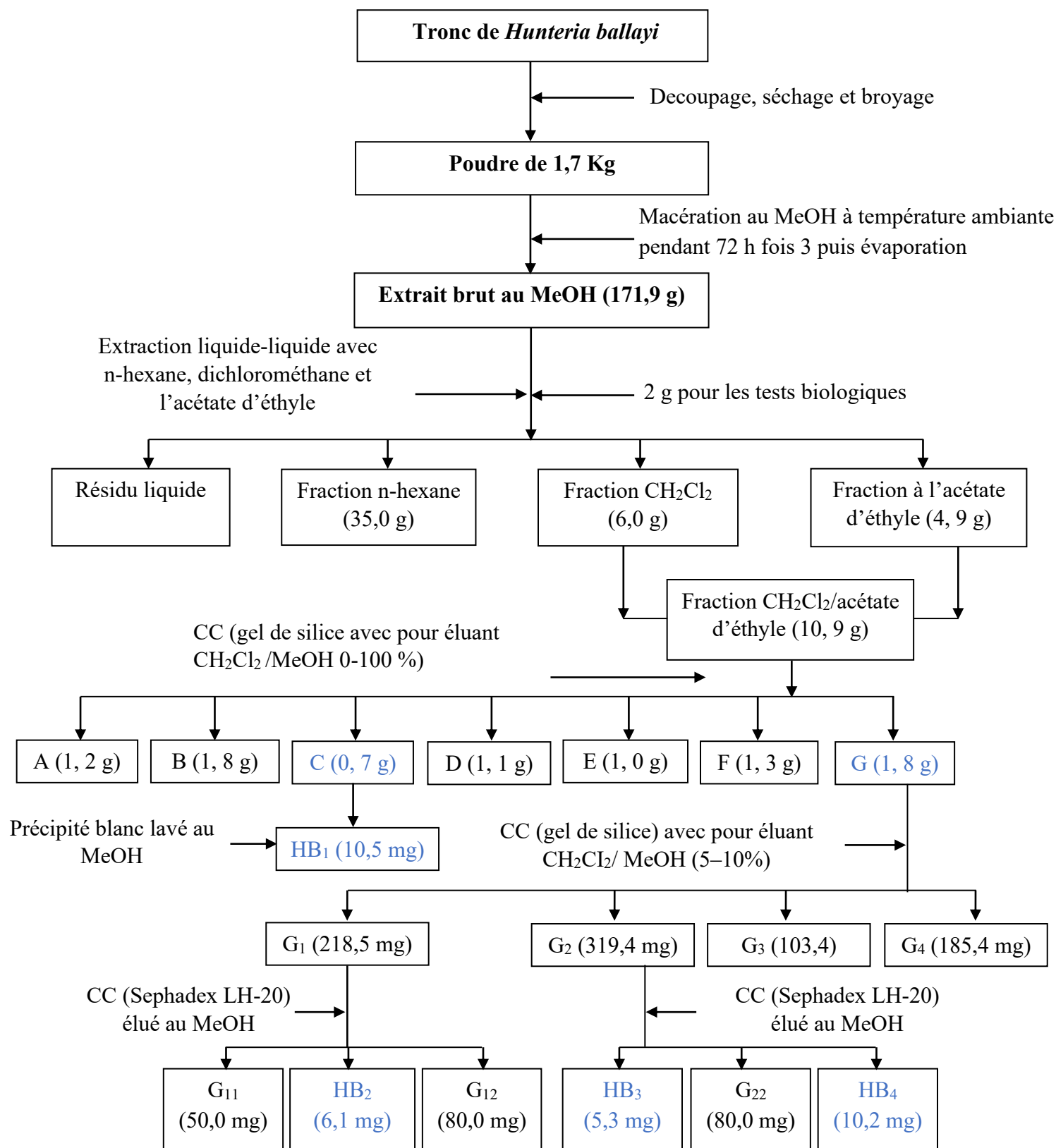


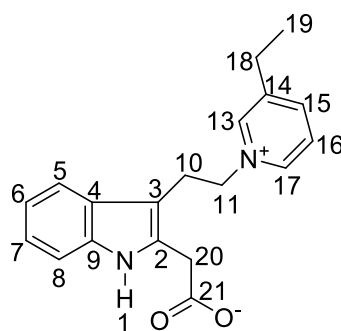
Schéma 7: Protocole d'extraction et d'isolement des composés de *Hunteria ballayi*

II.2 Caractérisation chimique des composés purs isolés

II.2.1 Identification du composé HB₁

Par comparaison des données spectrales avec celles de la littérature et un échantillon disponible au laboratoire, le composé HB₁ a été identifié à la **1-[2-[2-(carboxyméthyl)indole-3-yl]-3-éthylpyridinium hydroxyde**.

En effet, il se présente sous forme de solide brun amorphe, soluble dans le MeOH et répond positivement au test de Dragendorff caractéristique des alcaloïdes et particulièrement au test d'Ehrlich caractéristique des alcaloïdes indoliques. Sa formule moléculaire est C₁₉H₂₁N₂O₂ avec 11 degrés d'insaturations a été obtenu grâce à son spectre de masse ESI haute résolution en mode positif qui, présente le pic de l'ion moléculaire protoné [M+H]⁺ à m/z = 309,1932 (calculé pour C₁₉H₂₂N₂O₂ ; 309,1598).



(19)

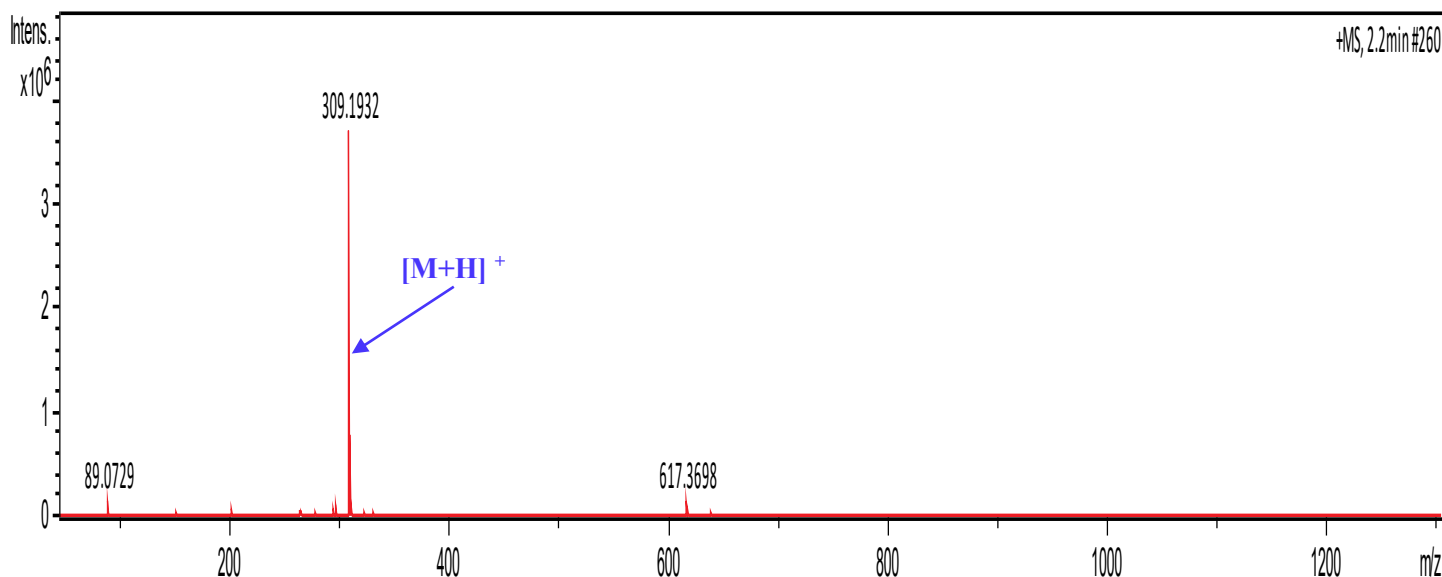
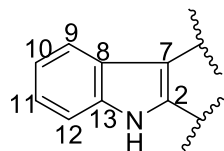


Figure 4: Spectre de masse ESI haute résolution en mode positif du composé HB₁

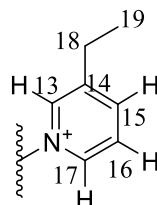
Le spectre de RMN ^1H (400 MHz, CD_3OD) du composé HB_1 (figure 5) présente 13 signaux correspondant à 13 familles de protons. Nous notons :

- Un benzène 1,2-disubstitué de l'indole avec des signaux à δ_{H} 7,21 (d , $J = 8,0$ Hz, 1H, H-8) ; 6,90 (dd , $J = 8,0$; 6,0 Hz, 1H, H-7) ; 6,66 (dd , $J = 8,0$; 6,0 Hz, 1H, H-6) ; 6,60 (d , $J = 8,0$ Hz, 1H, H-5) (**Olusegun et al., 2011**) ;



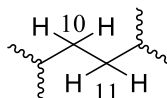
Fragment A

- La présence dans la zone des aromatiques des signaux à δ_{H} 8,66 (d , $J = 5,6$ Hz, 1H) ; 8,47 (s , 1H) ; 8,10 (d , $J = 8,0$ Hz, 1H) et 7,68 (dd , $J = 8,0$; 5,0 Hz, 1H) attribuables aux protons (H-17), (H-13), (H-15) et (H-16) respectivement caractéristiques du benzène du pyridinium substitué en position 3;
- Un éthyle aromatique avec des signaux à δ_{H} 2,46 (q , $J = 7,6$ Hz, 2H, H-18) et 0,87 (t , $J = 7,6$ Hz, 3H, H-19) (**Olusegun et al., 2011**) ;



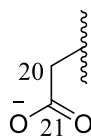
Fragment B

- Un éthane 1,2 disubstitué avec des signaux à δ_{H} 4,83 (t , $J = 5,0$ Hz, 2H, H-11) et 3,36 (t , $J = 5,0$ Hz, 2H, H-10) correspondant aux protons en position H-11 et H-10 ;



Fragment C

- Un singulet à δ_{H} 3,61 ppm attribuable à un méthylène lié au noyau aromatique et proche d'un carbonyle correspondant au proton H-20 ;



Fragment D

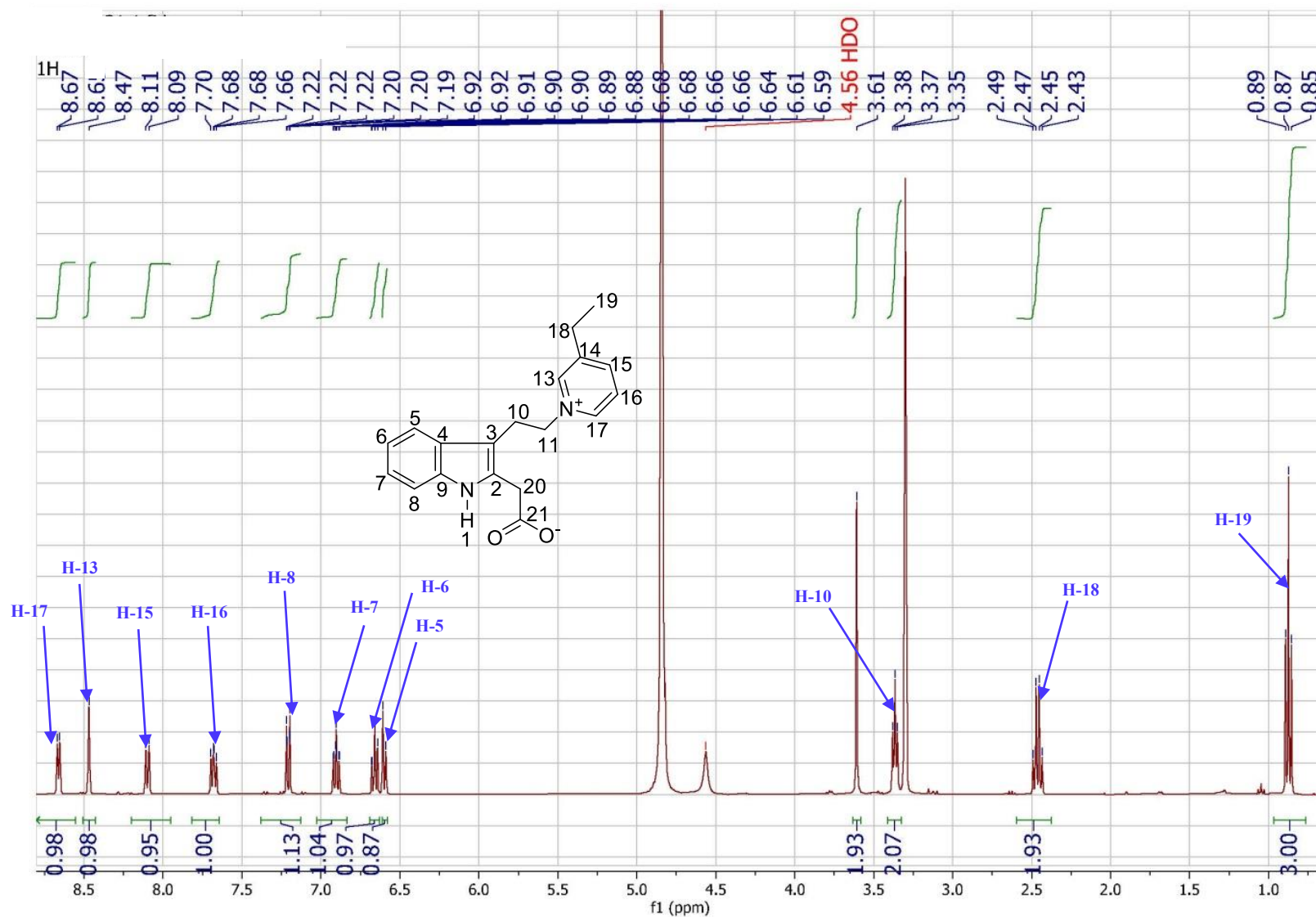


Figure 5: Spectre de RMN ¹H (400 MHz, CD₃OD) du composé HB₁

L'analyse du spectre RMN ^{13}C (100 MHz, CD_3OD) du composé HB_1 (figure 6) présente :

- Un carbone quaternaire à δ_{C} 177, 9 ppm correspondant aux carbonyles des carboxylates ;
- Les carbones à δ_{C} 136,6 ; 135,3 ; 130 ; 121,9 ; 119,8 ; 116,6 ; 111,8 et 105,8 ppm attribuables respectivement aux carbones (C-9), (C-2), (C-4), (C-7), (C-6), (C-5), (C-8) et (C-3) caractéristique du noyau indole ;
- Quatre signaux de méthylène à δ_{C} 63,2 ; 36,6 et 26,9 ppm attribuables respectivement aux carbones (C-11), (C-20) et (C-10).
- Les signaux à 145,9 ; 145,7 ; 145,3 ; 143,2 et 128,2 ppm correspondant aux carbones (C-13), (C-14), (C-15), (C-17) et (C-16) attribuable au pyridinium substitué ;
- Un éthyle lié au noyau aromatique avec des signaux à δ_{C} 26,5 et 14,3 ppm correspondant respectivement aux carbones (C-18) et (C-19) (**Olusegun et al., 2011**).

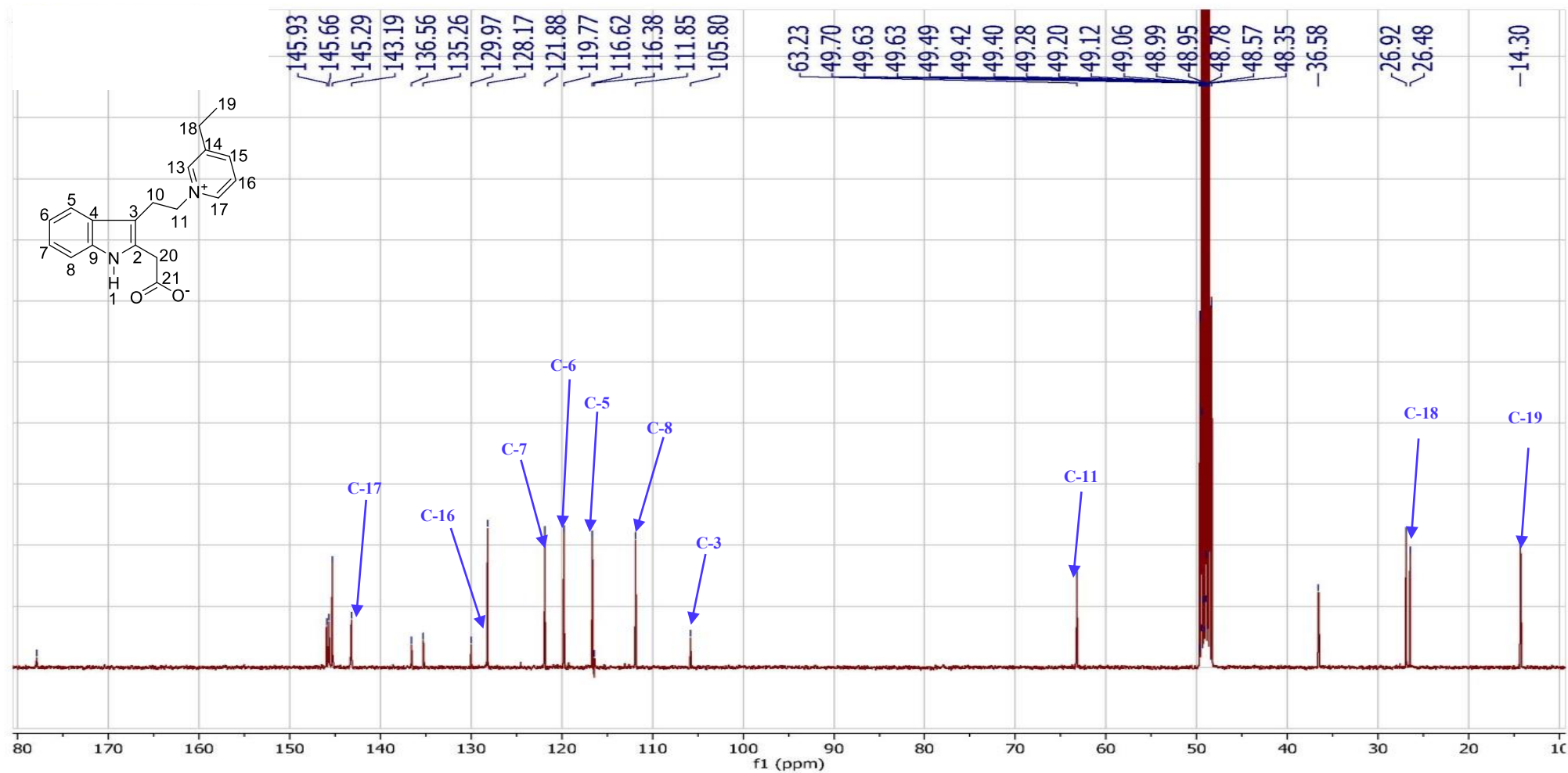


Figure 6: Spectre de RMN ¹³C (100 MHz, CD₃OD) du composé HB₁

L'analyse du spectre HSQC du composé HB₁ (figure 7) montre les corrélations entre carbones et protons directement liés. Ainsi les corrélations ¹J sont observées entre le proton les carbones notamment :

- Entre H-15 et C-15 ; H-17 et C-17 ; entre H-13 et C-13 ;
- Entre H-14 et C-14 ; entre H-7 et C-7 ; entre H-6 et C-6 ; entre H-5 et C-5 ;
- Entre H-8 et C-8 ; entre H-11 et C-11 ; entre H-20 et C-20 ; entre H-10 et C-10 ;
entre H-18 et C-18 ; entre H-19 et C-19.

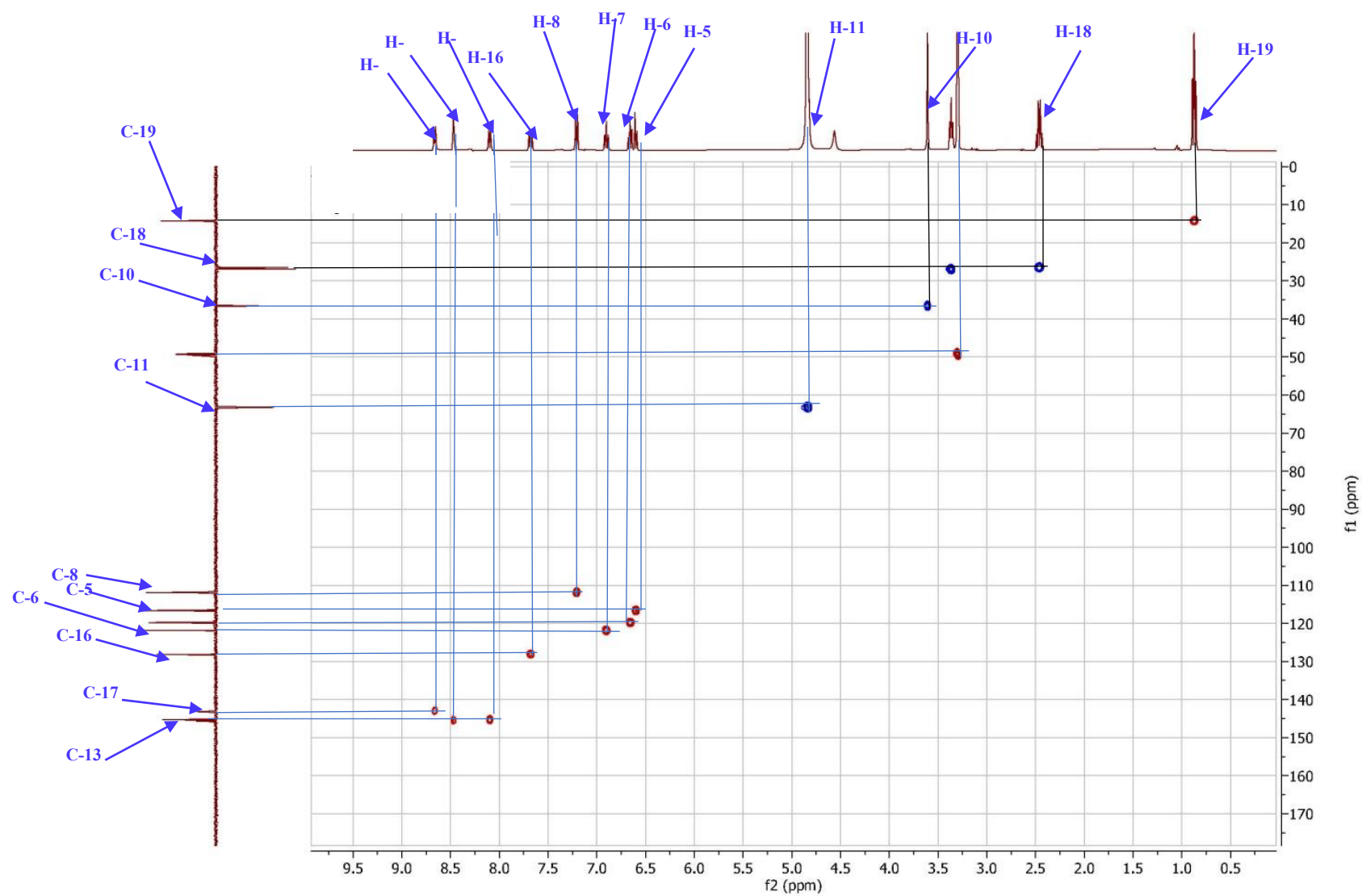


Figure 7: Spectre HSQC du composé HB₁

Le spectre COSY du composé HB₁ (figure 8) montre les corrélations entre les protons voisins notamment :

- Entre les protons H-5 (6,60) et H-6 (6,66) ; entre les protons H-5 (6,60) et H-7 (6, 90) et entre les protons H-8 (7, 21) et H-7 (6, 90) ;
- On observe également les corrélations entre les protons H-13 (8,47) et H-15 (8, 10) ; entre les protons H-10 (3,36) et H-11 (4,83) ; entre les protons H-18 (2,46) et H-19 (0,87).
- Des corrélations sont également observées entre H-13 (8,47) et H-16 (7,69) ; entre les protons H-16 (7, 69) et H-17 (8, 66). Ces corrélations justifient ainsi la proximité entre les différents protons.

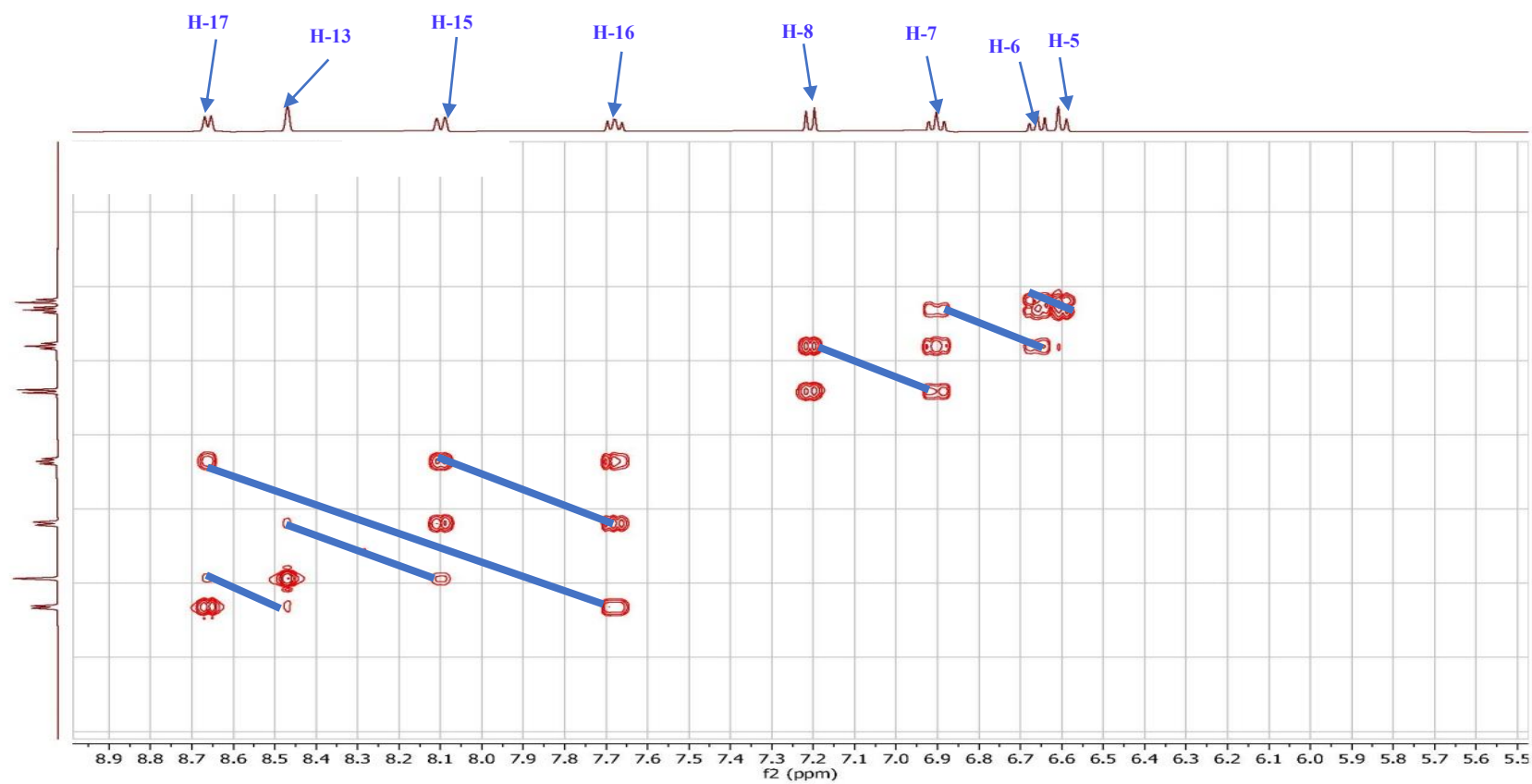


Figure 8: Spectre COSY du composé HB₁

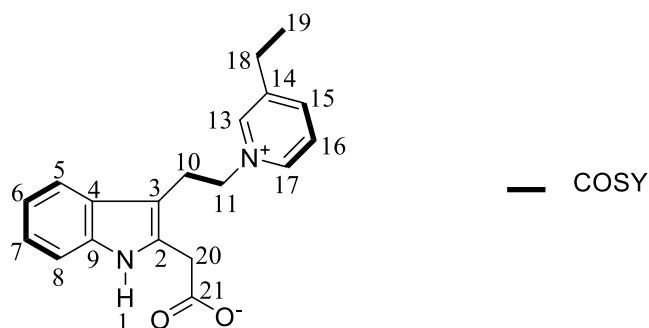


Figure 9: Quelques corrélations observées sur le spectre COSY du composé HB₁

Le spectre HMBC du composé HB₁ (figure 10) nous a permis de joindre les différents fragments de la molécule. Ainsi nous avons les corrélations importantes entre :

- δ_H 8,47 (H-13) et les carbones δ_C 26,5 (C-18), 63,2 (C-11), 145,3 (C-15), 143,2 (C-17), 145,7 (C-14).
- δ_H 3, 36 (H-10) et les carbones δ_C 63,2 (C-10), 105,8 (C-3), 135,3 (C-2) et 130 (C-4) permettant la jonction entre les fragments A et B.
- δ_H 4, 83 (H-11) et les carbones δ_C 63,2 (C-10), 105,8 (C-3), 145,3 (C-15) et 143,2 (C-17) permettant de relier les fragments B et C.
- δ_H 3,61 (H-20) et les carbones δ_C 105,8 (C-3), 135,3 (C-2) et 177,9 (C-21) permettant la jonction entre les fragments A et D.
- H-15 résonnant à δ_H 8,10 et C-18, C-17 et C-15 résonnant à δ_C 26,5, 143,2 et 145,3 respectivement.
- H-17 résonnant à δ_H 8,66 et C-11, C-16, C-15 résonnant à δ_C 63,2, 128,2 et 145,3 respectivement
- H-16 résonnant à δ_H 7, 68 et C-17, C-15 résonnant à δ_C 143,2 et 145,3 respectivement ;
- H-7 résonnant δ_H 6,90 et C-18, C-11, C-15, C-17 et C-14 résonnant à δ_C 26,5, 63,2, 145, 3, 143,2 et 145,7 ;
- H-6 résonnant δ_H 6,66 et C-8, C-7, C-4, C-2 résonnant à δ_C 111,8, 121,9, 130 et 135,3 respectivement.
- δ_H 6,60 (H-5) et les carbones δ_C 105,8 (C-3), 121,9 (C-7), 130 (C-4) et 135,3 (C-2).
- δ_H 2,46 (H-18) et les carbones δ_C 14,3 (C-19) et 145,3 (C-17).

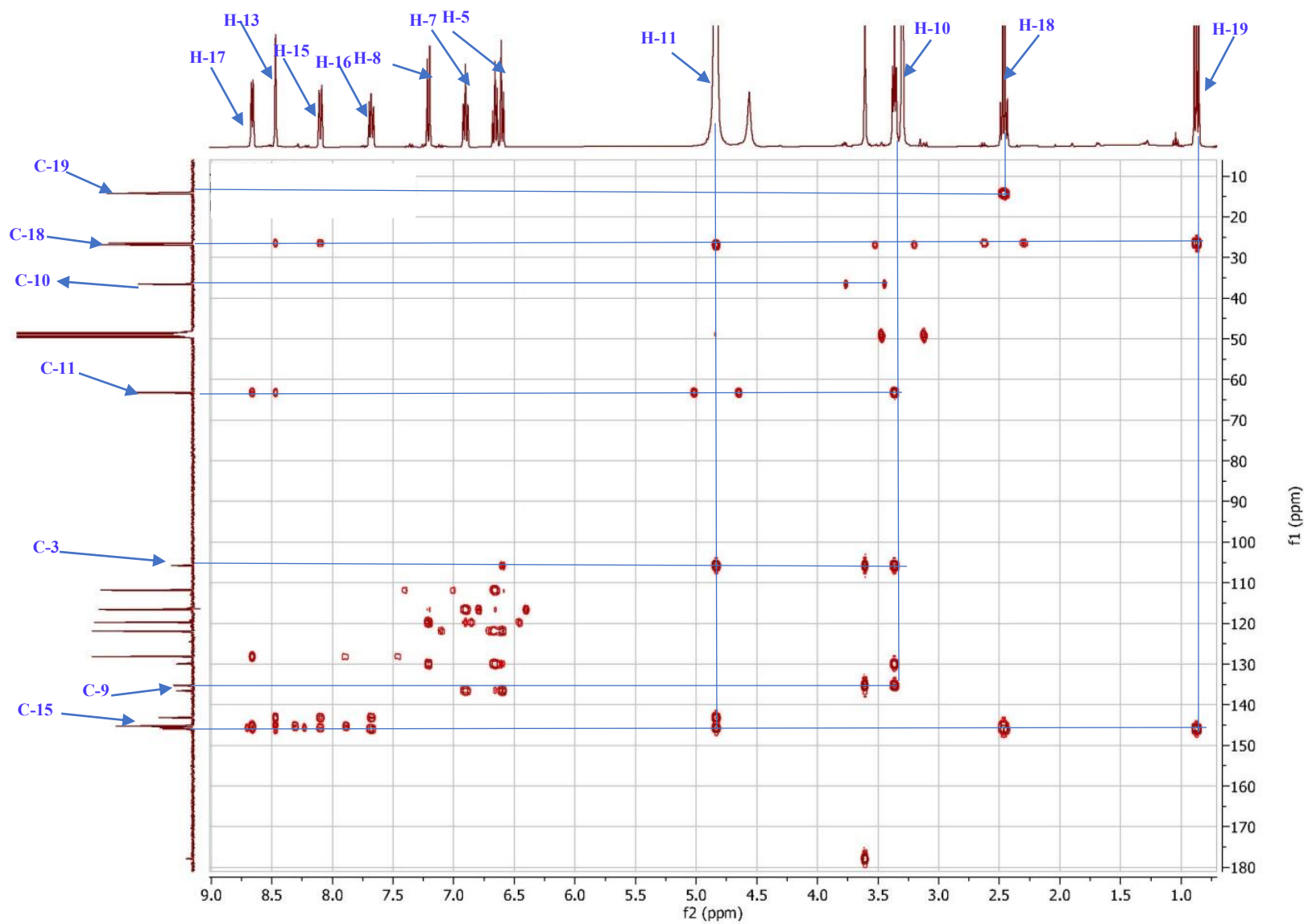


Figure 10: Spectre HMBC du composé HB₁

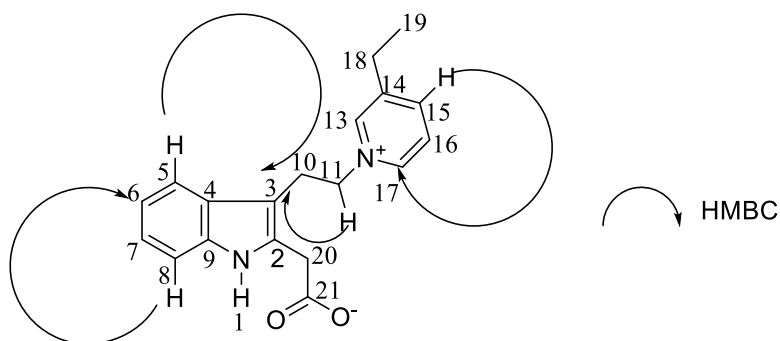


Figure 11: Quelques corrélations observées sur le spectre HMBC du composé HB₁

L'analyse de toutes ces données en comparaison avec celles de la littérature ont permis d'identifier le composé HB₁ à la 1-[2-[2-(carboxyméthyl)indole-3-yl]-3-éthylpyridinium hydroxyde sel inerte précédemment isolé des feuilles de *Hunteria umbellata* par (Olusegun et al., 2011).

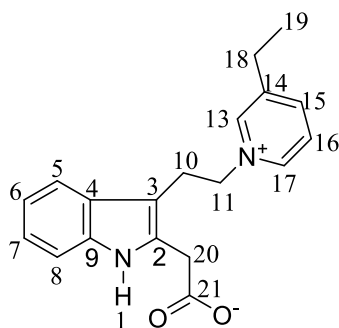


Figure 12: Structure du composé HB₁

Tableau 6: Données spectrales RMN ^1H (400 MHz, CD_3OD), RMN ^{13}C (100 MHz, CD_3OD) du composé HB₁ comparées à celles de la littérature (Olusegun et al.,2011).

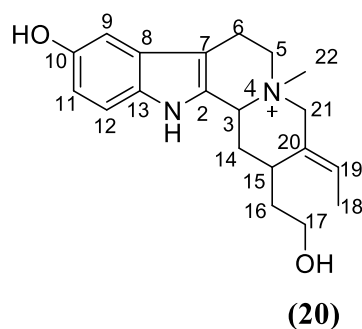
Positions	δ_{H} (nH, m, <i>J</i>) de HB ₁	δ_{H} (nH, m, <i>J</i>) J(Hz) littérature	δ_{C} de HB ₁	δ_{C} littérature	HMBC
2	-	-	135,3	135,3	-
3	-	-	105,8	105,9	-
4	-	-	130,0	130,0	-
5	6,60 (1H, <i>d</i> , 7,9)	6, 60 (1H, <i>d</i> , 7, 9)	116,6	116,7	C-2, C-3, C-4, C-7
6	6, 66 (1H, <i>dd</i> , 7, 8 ; 7, 9)	6, 67 (1H, <i>dd</i> , 7, 8 ; 7, 9)	119, 8	119,8	C-2, C-4, C-7, C-8
7	6, 90 (1H, <i>dd</i> , 8,0 ; 7,8)	6,91 (1H, <i>dd</i> , 8,0 ; 7,8)	121,9	121,9	C-5, C-7, C-9
8	7,21(1H, <i>d</i> , 8,0)	7,22 1H, <i>d</i> , 8,0)	111,8	111,9	C-6, C-4
9	-	-	136,6	136,6	-
10	3,36 (2H, <i>t</i> , 5,9)	3,81(1H, <i>t</i> , 5, 9)	26,9	26,9	C-2, C-3, C-4, C-11
11	4,83 (2H, <i>t</i> , 5,9)	4,92 (2H, <i>t</i> , 5, 9)	63,2	63,2	C-2, C-3, C-4, C-7
13	8,47 (1H, <i>s</i>)	8,47 (1H, <i>s</i>)	146,0	146,0	C-11, C-14, C-17
14	-	-	145,7	145,7	-
15	8,10 (1H, <i>d</i> , 7,9)	8,10 (1H, <i>d</i> , 7,9)	145,3	145,3	C-11, C-13, C-15, C-17
16	7,69 (1H, <i>dd</i> , 7,9 et 5,6)	7,68 (1H, <i>dd</i> , 7, 9 et 5, 6)	128,2	128,2	C-11, C-13, C-15, C-17
17	8 66 (1H, <i>d</i> , 5,6)	8,66 (1H, <i>d</i> , 5, 6)	143,2	143,2	C-13, C-17, C-18
18	2,46 (2H, <i>q</i> , 7,6)	2,66 (1H, <i>q</i> , 7,6)	26, 6	26,6	C-2, C-3, C-4, C-7
19	0,87 (3H, <i>t</i> , 7,6)	0,88 (3H, <i>t</i> , 7,6)	14,3	14,5	C-2, C-3, C-4, C-7
20	-	-	36,6	36,5	-
21	-	-	177,9	177,6	-

II.2.2 Identification du composé HB₂

Par comparaison de ses données spectrales avec celles de la littérature et un échantillon disponible au laboratoire, le composé HB₂ a été identifié à la ***N*⁴-méthyl-10-hydroxygeissoschizol**.

En effet, il se présente sous forme de solide brun amorphe, soluble dans le DMSO-*d*₆(diméthyl sulfoxyde-*d*₆). Ce composé répond positivement au test de Dragendorff donnant un précipité orange caractéristique des alcaloïdes et particulièrement au test d'Ehrlich caractéristique des alcaloïdes indoliques.

Sa formule moléculaire C₂₀H₂₇N₂O₂⁺ avec 9 degrés d'insaturations a été obtenu grâce à son spectre de masse ESI haute résolution en mode positif qui, présente le pic de l'ion moléculaire [M]⁺ à *m/z* =327,2066 correspondant à une masse moléculaire de 327,2066 g/mol (figure 13).



Mass Spectrum SmartFormula Report

Acquisition Parameter

Source Type	ESI	Ion Polarity	Positive	Set Nebulizer	0.3 Bar
Focus	Not active			Set Dry Heater	180 °C
Scan Begin	50 m/z	Set Capillary	4500 V	Set Dry Gas	4.0 l/min
Scan End	1600 m/z	Set End Plate Offset	-500 V	Set Divert Valve	Source

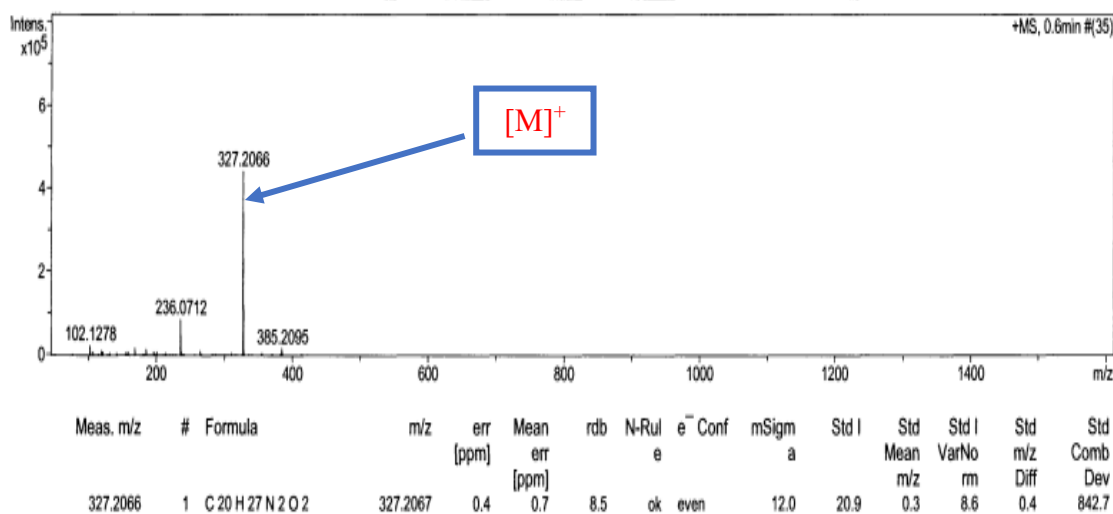
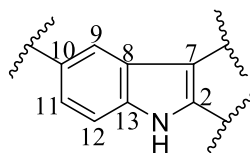


Figure 13: Spectre de masse ESI haute résolution en mode positif du composé HB₂

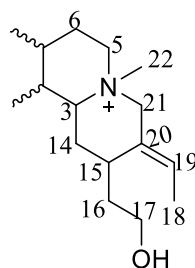
Son spectre de RMN ¹H (500 MHz, DMSO-*d*₆) (figure 14) présente 22 signaux correspondant à 22 familles de protons. Dans ce spectre nous notons la présence :

- Un proton singulet à δ_H 11, 00 (1H, *s*) correspondant au proton lié à un azote confirmant la présence squelette indole (Charturvedula et al., 2003) ;
- Des signaux des protons aromatiques à δ_H 6, 63 (*dd*, *J*= 8,6 ; 2,3 Hz, 1H, H-11) ; 7,13 (*d*, *J* = 8,6 Hz, 1H, H-12) et 6, 76 (*d*, *J*=2,3 Hz, 1H, H-9) attribuables du benzène monosubstitué des indoles (Charturvedula et al., 2003) ;



Fragment A

- Un signal du groupe hydroxyle à δ_H 8,90 ;
- Un signal d'un groupe méthyle à δ_H 1,67 (*d*, $J = 6,8$ Hz, 3H, H-18) ;
- Un groupe N^+ -méthyle à δ_H 3,12 (*s*, 3H).



Fragment B

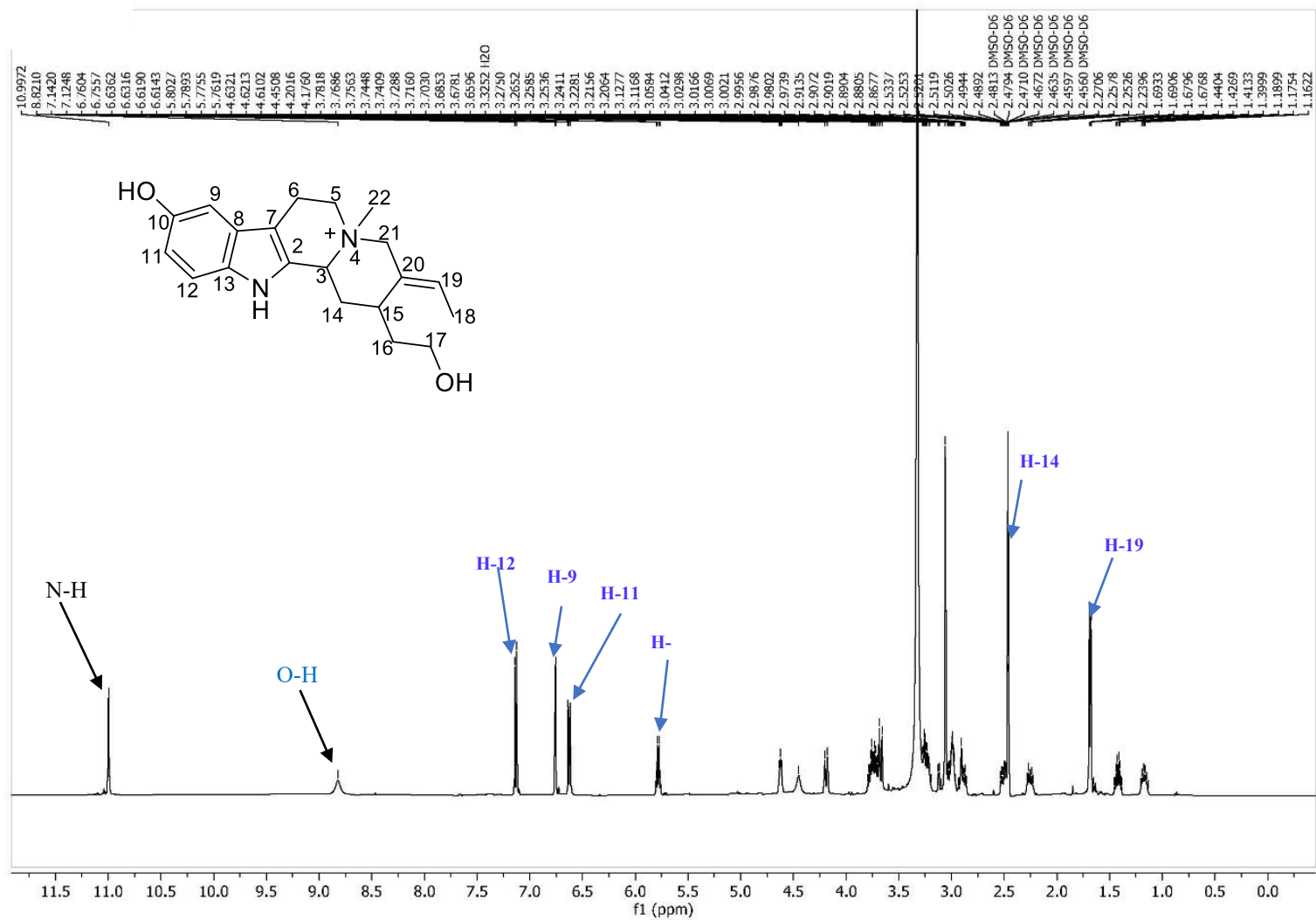


Figure 14: Spectre de RMN ^1H du composé HB₂ (500 MHz, DMSO- d_6)

Le spectre RMN ^{13}C (125 MHz, $\text{DMSO}-d_6$) du composé HB₂ (figure 15) présente vingt signaux correspondant à 20 carbones.

- Quatre carbones quaternaires à δ_{C} 151,5 (C-10) ; 131,4 (C-8) ; 102,8 (C-7) ; 130,1 (C-20) ;
- Deux carbones tertiaires correspondant à C-2 et C-13 liés à l'azote du squelette indole avec des signaux à δ_{C} 129,4 et 126,8 respectivement ;
- Six méthynes à δ_{C} 103,4 (C-9) ; 112,7 (C-11) ; 112,4 (C-12) ; 64,2 (C-3) ; 30,2 (C-15) et 130,7 (C-19) ;
- Six méthylènes à δ_{C} 58,5 (C-17) ; 17,3 (C-6) ; 29,6 (C-14) ; 62,0 (C-21) ; 48,6 (C-5) et 36,0 (C-16) ;
- Un méthyle à δ_{C} 13,8 (C-18) et un groupe $\text{N}^+\text{-Me}$ à δ_{C} 48,0.

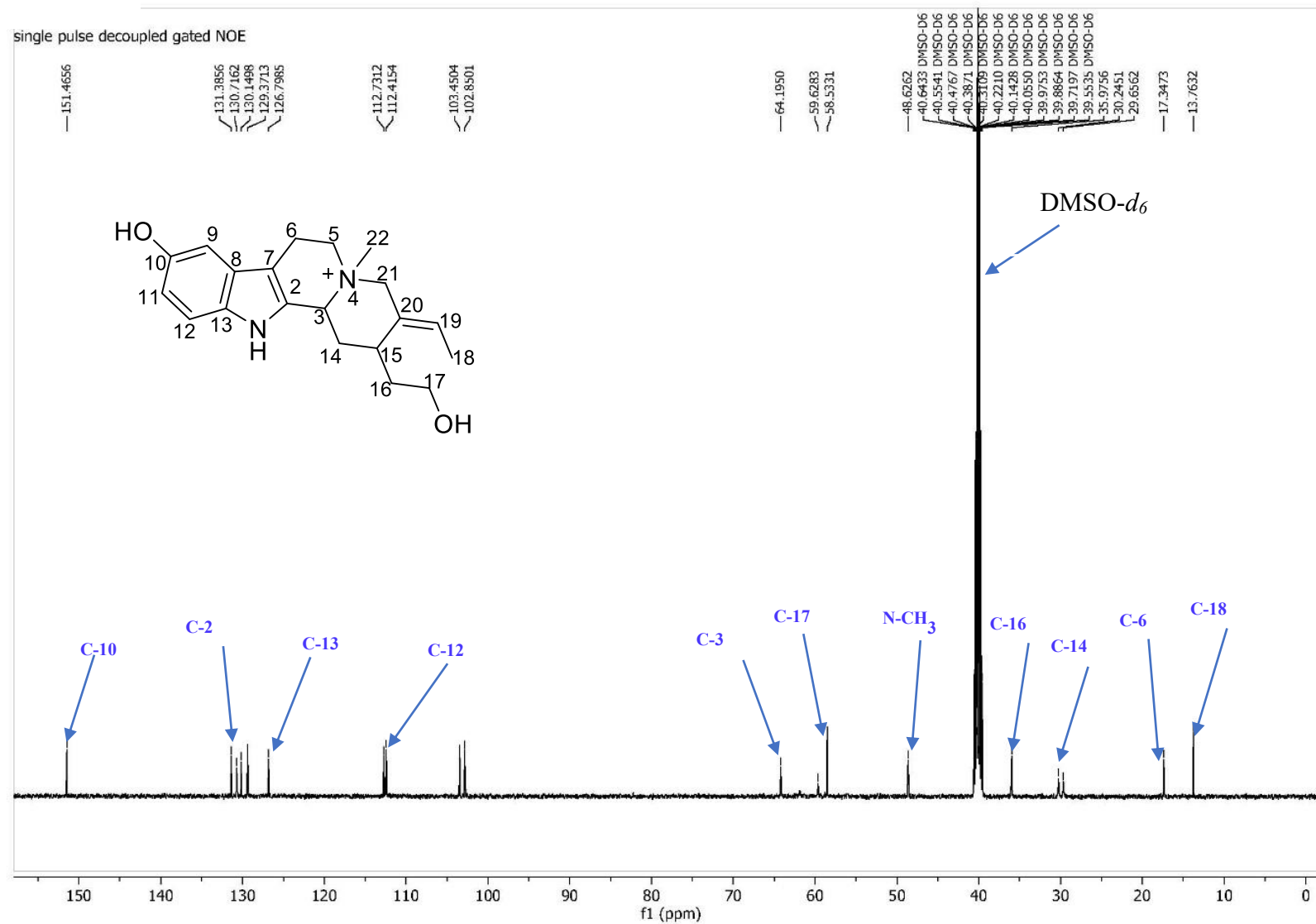


Figure 15: Spectre de RMN ¹³C (125 MHz, DMSO-*d*₆) du composé HB₂

Le spectre HSQC du composé HB₂ (figure 16) montre les corrélations entre protons et carbones directement liés. A cet effet, les corrélations ¹J sont observées entre les protons et les carbones notamment :

- H-20 et C-20 ; H-11 et C-11 ; H-12 et C-12 ; H-9 et C-9 ; H-3 et C-3 ; H-21 et C-21 ; H-17 et C-17 ; H-5 et C-5 ; H-16 et C-16 ; H-15 et C-15 ; H-14 et C-14 ; H-6 et C-6 ; H-18 et C-18 ;
- Le groupe N⁺-Me à δ_H 3, 12 et le carbone à δ_C 48,0.

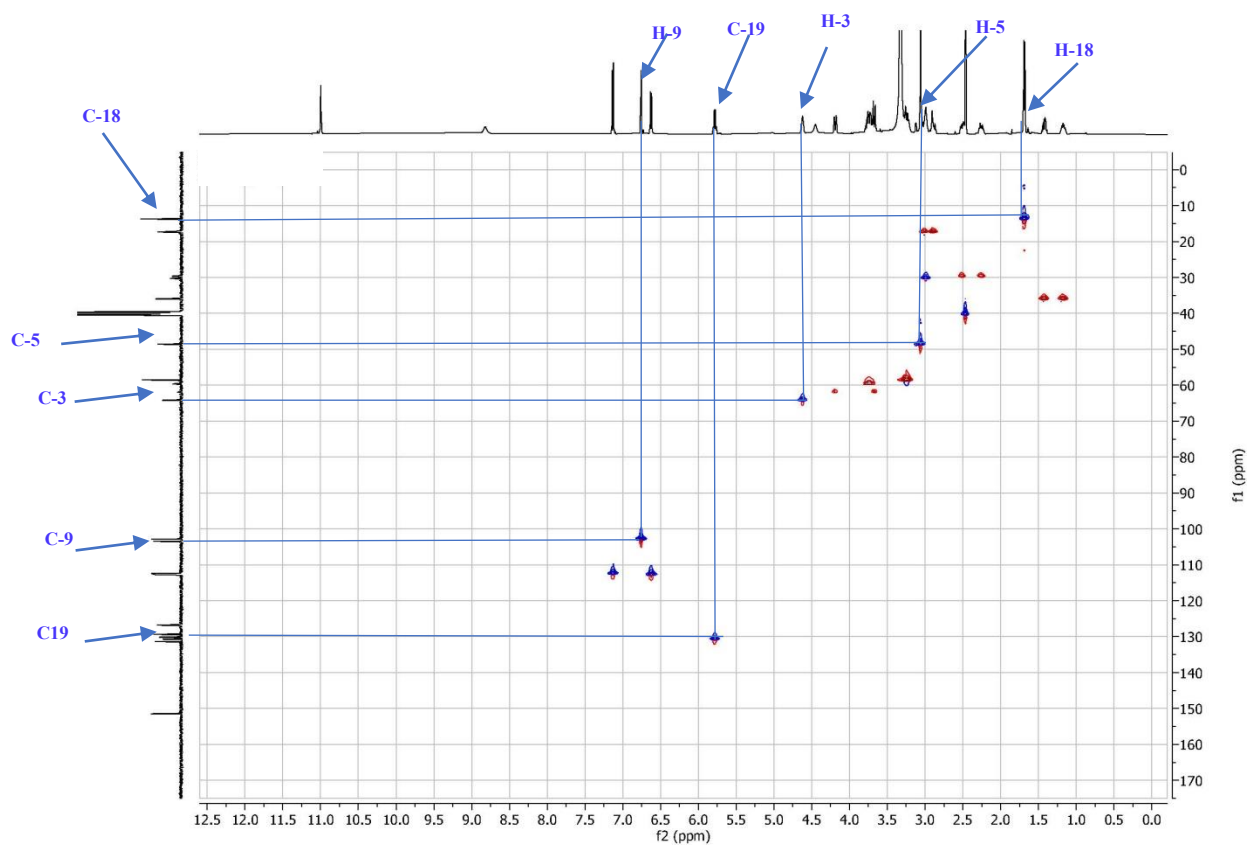


Figure 16: Spectre HSQC du composé HB₂

Le spectre COSY du composé HB₂ (figure 18) montre les corrélations homonucléaires entre les protons voisins, notamment entre :

- H-11 (6,63) et H-12 (7,13) ; H-9 (6,76) et H-11 (6,63) justifiant ainsi davantage le couplage ABX du noyau benzénique substitué.

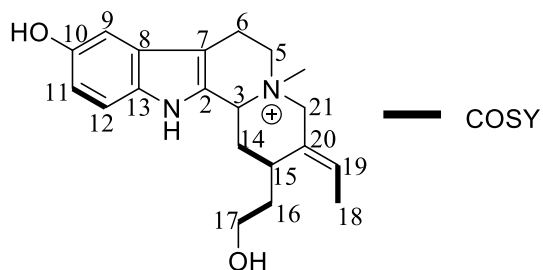


Figure 17: Quelques corrélations sur le spectre COSY du composé HB₂

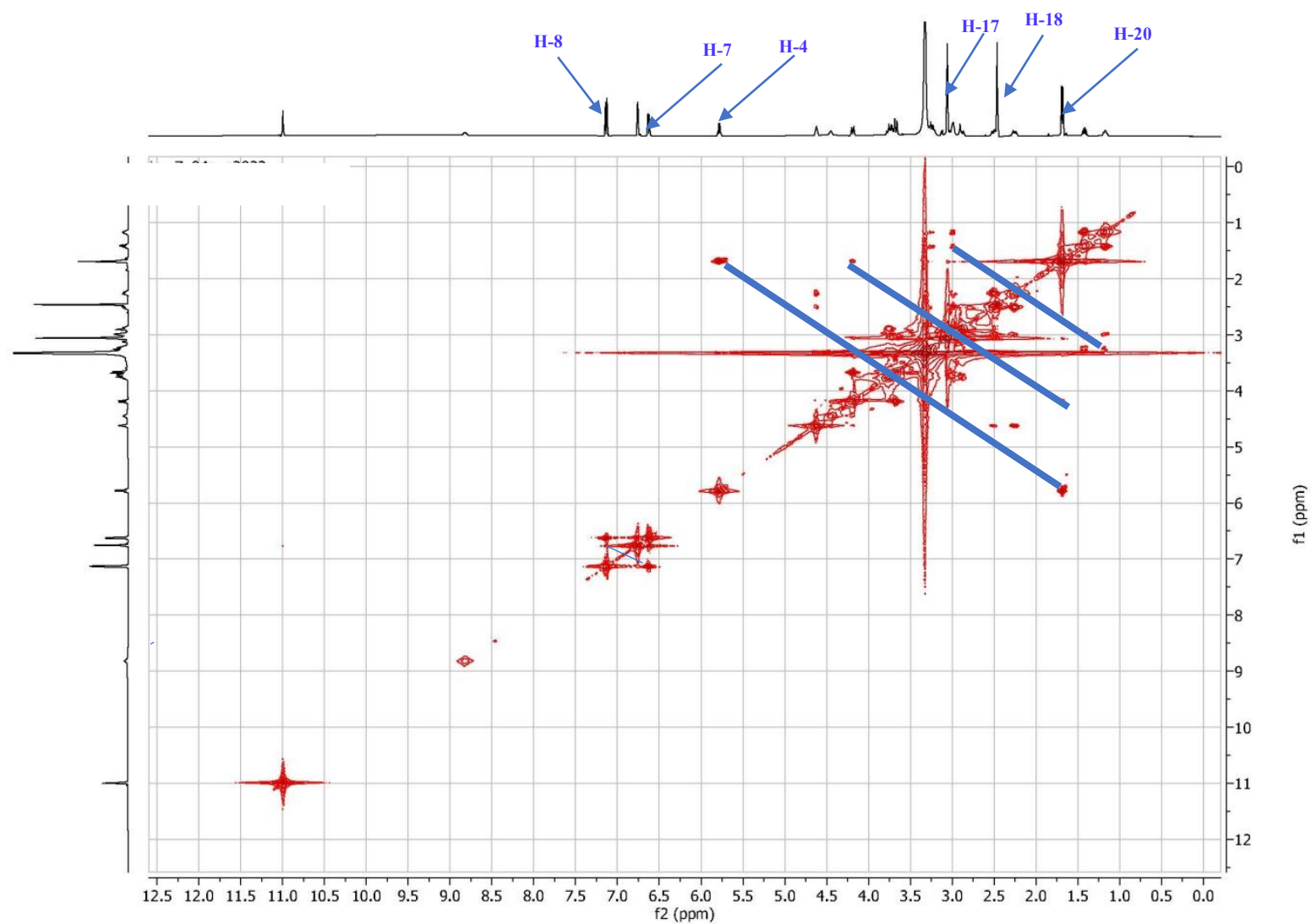


Figure 18: Spectre COSY du composé HB₂

Son spectre HMBC (figure 19) permet de voir les différents points de jonction entre les différents fragments de la molécule. Ainsi, on observe sur ce spectre les corrélations entre le proton :

- H-3 à δ_H 4,62 et C-2 à δ_C (129,4) ;
- H-6 à δ_H 2,90 et C-2 et C-7 résonant à δ_C 129,4 et 102,8 respectivement ;
- H-9 à δ_H 6,76 et les carbones C-10, C-8, C-11 résonant à δ_C 151,5, 131,4 et 112,7 ;
- δ_H 6,63 (H-11) et les carbones δ_C 151,5 (C-10), 131,4 (C-8) et 103,4 (C-9) ;
- δ_H 7,13 (H-12) et les carbones δ_C 151,5 (C-10), et 126,8 (C-13) ;
- δ_H 3,22 (H-17) et les carbones δ_C 48,6 (C-5), et 103,4 (C-9) ;
- δ_H 1,67 (H-18) et les carbones δ_C 130,1 (C-20), toutes ces corrélations permettant la jonction entre le fragment A et le fragment B.

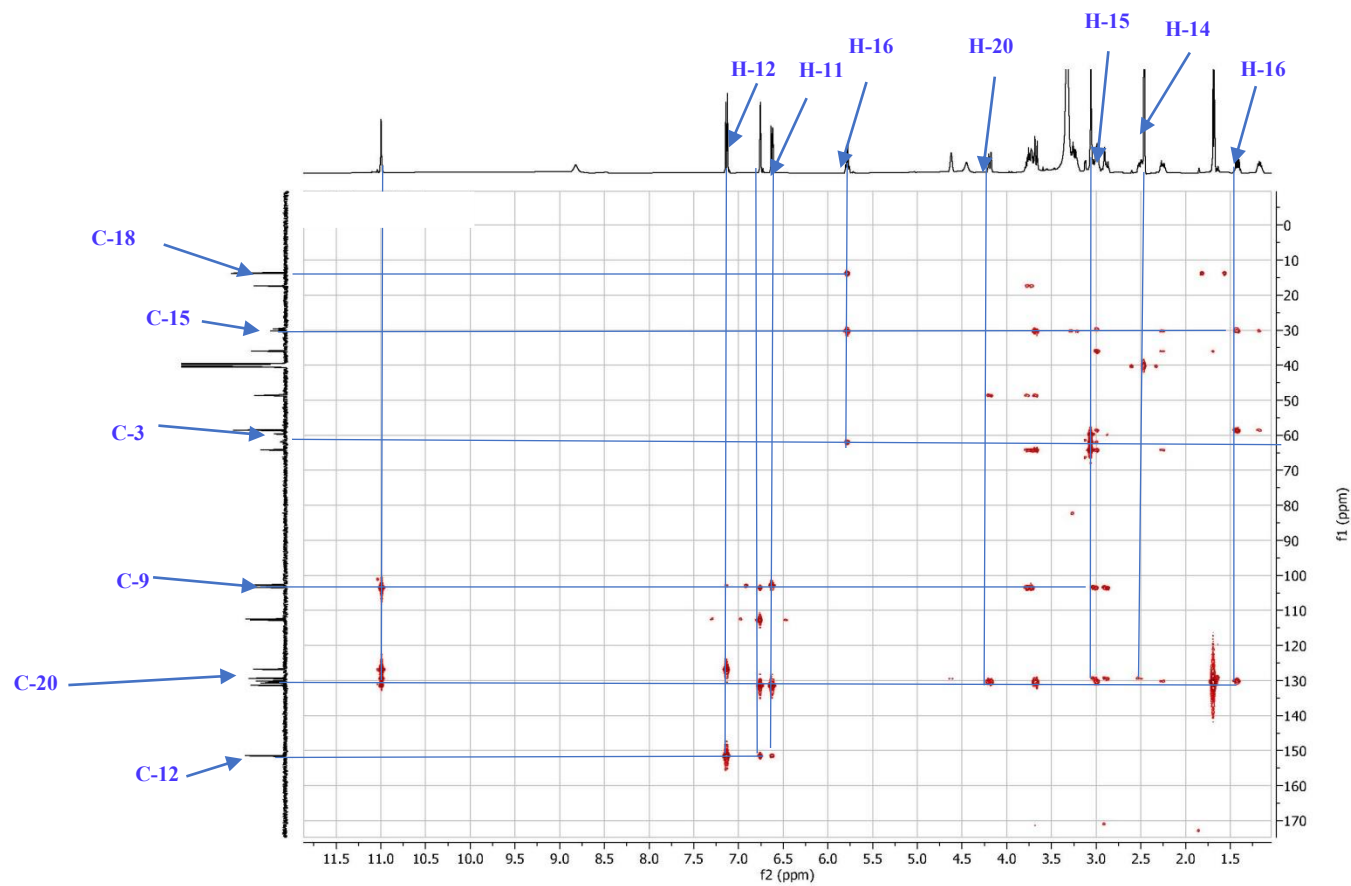


Figure 19: Spectre HMBC du composé HB₂

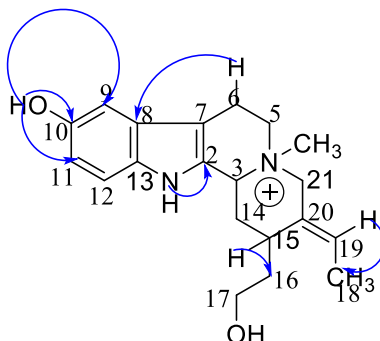


Figure 20: Quelques corrélations sur le spectre HMBC du composé HB₂

Sur la base de l'interprétations de ces données spectrales et par comparaison avec celle de la littérature, le composé HB₂ a été identifié au *N*⁴-méthyl-10-hydroxygeissochizol précédemment isolé de l'écorce du tronc de *Pleiocarpa pycnantha* (Ndongo *et al.*, 2018).

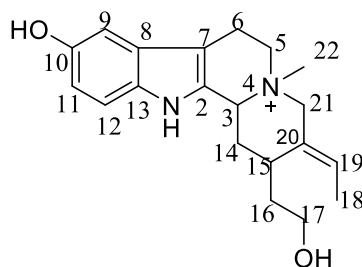


Figure 21: Structure du composé HB₂

Tableau 7: Données spectrales RMN ^{13}C (125 MHz, DMSO- d_6) du composé HB₂ comparées à celles (125 MHz, DMSO- d_6) de la littérature

Position	δ_{H} (ppm) (mult, J en Hz) (500 MHz; DMSO- d_6)	δ_{H} (ppm) (mult, J en Hz) (500 MHz CD ₃ OD) littérature	δ_{C} (ppm) (125 MHz; DMSO- d_6)	δ_{C} (ppm) (125 MHz; CD ₃ OD) littérature	HMBC
2	-	-	129,4	127,2	-
3	4,21 (1H, <i>m</i>)	4,86 (1H, <i>m</i>)	64,2	65,3	N-Me
5	3,27 (1H, <i>m</i>)	3,56 (1H, <i>m</i>)	48,6	49,2	N-Me
6	2,90 (1H, <i>m</i>)	3,04 (1H, <i>d</i> , 17,2)	17,3	18,0	C-7, C-21, C-8
7	-	-	102,8	104,6	-
8			131,4	132,7	
9	6,76 (1H, <i>s</i>)	6,90 (1H, <i>d</i> , 2,0)	103,4	103,6	C-7, C-11, C-10, C-8
10	-	-	151,5	150,7	-
11	6,63 (1H, <i>d</i> , $J=8,7$)	6,78 (1H, <i>dd</i> , 2,0 ; 8,7))	112,7	113,3	C-9, C-10, C-13
12	7,13 (1H, <i>d</i> , $J=8,7$)	7,24 (1H, <i>d</i> , 8,8))	112,4	113,4	C-9, C-10
13	-	-	126,8	128,8	-
14	2,38 (1H, <i>m</i>)	2,13 (1H, <i>m</i>)	29,6	30,8	C-16, C-17, C-15
15	3,04 (1H, <i>dd</i>)	3,12 (1H, <i>dd</i> , 2,0 ; 10,4)	30,2	31,0	C-3, C-21, C-16, C-17, C-14
16	1,22 (1H, <i>m</i>)	2,23 (1H, <i>m</i>)	36,0	36,1	C-15
17	4,63 (2H, <i>d</i> , $J=7,2$)	3,58 (2H, <i>d</i> , $J=7,6$)	58,5	60,8	-
18	1,70 (3H, <i>d</i> , $J=6,8$)	1,74 (3H, <i>d</i> , $J=6,8$)	13,8	13,8	C-15, C-20

19	5,82 (1H, <i>q</i> , <i>J</i> = 6,8)	5,68 (1H, <i>q</i> , <i>J</i> = 6,8)	130,0	133,7	C-15, C-21, C-18
20	-	-	130,1	129,4	-
21	3,79 (1H, <i>d</i> , <i>J</i> = 15,0)	4,23 (1H, <i>d</i> , <i>J</i> = 15,6)	62,0	63,5	C-6, N-Me, C-15, C-3
N-CH ₃	3,12 (3H, <i>s</i>)	3,15 (3H, <i>s</i>)	58,0	59,9	C-6, C-21, C-5, C-3
O-H	8,90 (1H, <i>s</i>)	-	-	-	C-9, C-11, C-10
N-H	11,20 (1H, <i>s</i>)	-	-	-	C-7, C-8, C-2, C-13

CONCLUSION ET PERSPECTIVES

Le présent travail portait sur l'étude chimique de l'extrait au MeOH du tronc de *Hunteria ballayi*. Ainsi, grâce aux techniques chromatographiques usuelles (chromatographie sur colonne et sur couche mince), quatre (04) composés indexés de HB₁ à HB₄ ont été isolés. HB₁ et HB₂ ont été entièrement caractérisés et identifiés comme au **1-[2-[2-(carboxyméthyl)indole-3-yl]-3-éthylpyridinium hydroxyde** et **N⁴-méthyl-10-hydroxygeissochizol**, respectivement.

L'élucidation structurale de ces composés a été rendu possible grâce à l'interprétation rigoureuse de leurs données spectroscopiques en particulier la RMN à une dimension (RMN ¹H, RMN ¹³C), la RMN à deux dimensions (COSY, HMBC, HSQC), ainsi que la spectrométrie de masse et également par comparaison de leurs données spectrales avec celles de la littérature et un échantillon disponible au laboratoire.

Pour poursuivre nos recherches, nous comptons :

- Caractériser et élucider les autres composés isolés,
- Réaliser les activités biologiques des composés isolés et étendre notre étude sur d'autres parties de la plante notamment les tiges, les racines et même d'autres espèces du même genre.

CHAPITRE III : MATERIELS ET METHODES

III-1 Matériel

III-1.1 Matériel végétal

- Récolte

Le tronc de *Hunteria ballayi* a été récolté dans la localité de Ngongonjié plus précisément dans la région du Sud le 24 Mai 2023 avec l'assistance du botaniste Monsieur Nana Victor de l'herbier national du Cameroun. Un échantillon de référence se trouve à l'Herbier National de Yaoundé -Cameroun avec pour numéro de référence 41487 HNC.

- Séchage

Notre tronc a été séché à température ambiante pendant deux semaines puis nous avons écrasé dans un moulin au marché Mokolo et nous avons obtenu une poudre de masse de 1, 7 Kg.

III-1.2 Autres matériels

- Les appareils

Les appareils utilisés pour le présent travail sont : une balance de marque KERN PKT servant à peser les produits ; un évaporateur rotatif de marque *Heidolph* permettant l'évaporation des solvants et la concentration des extraits organiques ; une lampe U.V (Ultra Violette) de marque VL-6LC pour révéler les plaques de la CCM ; une plaque chauffante.

- Verrerie

Les éprouvettes graduées de 10 mL, 50 mL, 250 mL et les béchers pour prélever les volumes.

Les colonnes chromatographiques pour le dégrossissement et les purifications.

Les flacons de 100 mL, 150 mL, 250 mL.

L'ampoule à décanter pour l'extraction liquide-liquide.

La cuve pour faire migrer les plaques CCM.

Les erlenmeyers de 250 mL, 500 mL pour préparer les solutions.

Les ballons de 250 mL, 500 mL, 1000 mL ,2000 mL pour concentrer les extraits organiques.

- La silice

La silice de granulométrie 32-63 micromètres a été utilisée pour réaliser les colonnes chromatographiques pour le dégrossissement et les purifications.

Nous avons aussi utilisé le Séphadex LH-20 pour les purifications.

- Les solvants

Le méthanol (CH_4O ; UN 1230, Arabie saoudite), le chlorure de méthylène (CH_2Cl_2 ; UN 1593, ID 2481979), l'eau distillée, l'acétate d'éthyle ($\text{C}_4\text{H}_8\text{O}_2$), le n-butanol, l'hexane ont été utilisés comme solvants

III .2. METHODES

III.2.1. Extraction par macération

Une poudre de 1.7 Kg après broyage du tronc de *Hunteria ballayi* préalablement séché a été obtenue. Cette poudre a subi une macération au méthanol pur pendant 72 heures. Le mélange obtenu à l'issue de chaque macération a été filtré et concentré à l'aide d'un évaporateur rotatif donnant une masse d'extrait brut séché de 171.9 g.



Figure 22: Concentration de l'extrait de *Hunteria ballayi* au MeOH (FOPA, 2023)

III.2.2. Extraction liquide -liquide

2 g ont été réservés aux tests biologiques tandis que 169, 9 g d'extrait brut restants ont été dissout dans un mélange MeOH / H_2O : (20/80). La solution obtenue a été transféré dans une ampoule à décanter de 2 L en ajoutant du n-hexane. Le mélange a été secoué et laissé au repos pendant 30 min. Deux phases ont été obtenues (phase organique et phase aqueuse), la phase organique a été récupérée et évaporée, le solvant récupéré après évaporation a été mis dans l'ampoule à décanter contenant toujours la phase aqueuse. Le même exercice a été répété deux fois et après avoir séché la phase organique ; nous avons obtenu une masse de 35, 0 g de la fraction n- hexane. Après la fraction n-hexane, le même processus a été répété avec le dichlorométhane pour obtenir une masse de 6, 0 g de la fraction au dichlorométhane. Dans la

phase aqueuse restante, l'acétate d'éthyle a été ajouté, après avoir agité et laisser au repos pendant 20 min, deux phases ont été obtenues : la phase aqueuse et la phase organique. Cette dernière a été séchée et une masse de 4,9 g de la fraction à l'acétate d'éthyle a été pesée.



Figure 23: Extraction liquide-liquide de *Hunteria ballayi*

III.2.3. Fractionnement et purifications

III.2.3.1. Fractionnement

Les fractions au dichlorométhane et à l'acétate d'éthyle présentant le même profil révélant ainsi les mêmes composés selon leur plaques CCM, ont été mélangés et nous avons obtenu 10,9 g dont 0,9 g ont été gardé pour les tests biologiques et les 10 g restant ont été dissous dans le méthanol et fixé avec du gel de silice. L'échantillon obtenu a subi un fractionnement par chromatographie sur colonne de gel de silice avec pour éluant le DCM / MeOH de polarité croissante (0-100%).

Les différentes fractions ont été recueillies dans les flacons de 100 mL puis concentrés. Grâce à la CCM et aux similitudes sur les plaques, nous avons fait un regroupement de sept fractions de A à G (voir tableau 7).

Tableau 8: Résumé du fractionnement

Système d'élution	Fractions obtenus et masses en g	Observation des plaques CCM à l'UV
DCM pur	A (1, 2 g)	3 taches dont 1 majoritaire
DCM/MeOH (5%)	B (1, 8 g)	12 taches avec 1 majoritaire
DCM/MeOH (10%)	C (0, 7 g)	5 taches
DCM/MeOH (20%)	D (1, 1 g)	5taches
DCM/MeOH (30%)	E (1, 0 g)	2 taches
DCM/MeOH (70%)	F (1, 3 g)	3 taches
DCM/MeOH (100 %)	G (1, 8 g)	2 taches

III.2 .3.2 Purifications

La fraction C (0, 7 g) a donné un précipité blanc qui a été lavé au méthanol pur pour donner un composé pur indexé HB₁ (10, 5 mg). La fraction G a été soumise à une chromatographie sur colonne de gel de silice en utilisant CH₂Cl₂/MeOH (5–10%) de polarité croissante. Sur la base de leur profil CCM, quatre sous fractions ont été obtenues indexés G₁ (218, 5 mg), G₂ (319, 4 mg), G₃ (103, 4 mg) et G₄ (185, 4 mg). La sous fraction G₁ a été purifié davantage en utilisant une chromatographie sur colonne sur Sephadex LH-20 et en éluant au méthanol pur : un composé pur indexé HB₂ (6, 1 mg) a été obtenu. La sous fraction G₂ a également été purifiée en utilisant une chromatographie sur Sephadex LH-20 en éluant avec du méthanol pur pour donner deux composés purs indexés HB₃ (5, 3 mg) et HB₄ (10, 2 mg).

III.2.4. Tests de détection des alcaloïdes

- **Test de DRAGENDORFF** : identification des alcaloïdes.

Le réactif est préparé en dissolvant dans un bécher vide 0, 5 g de nitrate de bismuth dans 10 mL, puis on ajoute 10 mL d'acide chlorhydrique. Dans un autre bécher vide on introduit 0,4 g d'iodure de potassium (KI) avec 3 mL d'eau, l'on mélange le tout et on agite légèrement.

1 mg de composé est dissout dans un tube à essai à l'aide de 5 mg de méthanol puis quelques mL de réactif de DRAGENDORFF. Nous observons un changement de coloration (marronne) du mélange qui vire à l'orange caractérisant les alcaloïdes.

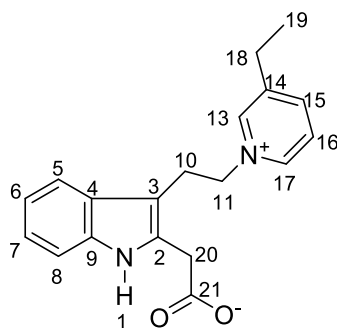
- **Test de EHRLICH** : identification des alcaloïdes indoliques.

Le réactif de EHRLICH est préparé en dissolvant 2 g de DMAB (Diméthyle amino benzaldéhyde), de 50 mg d'éthanol ($\text{CH}_3\text{CH}_2\text{OH}$) à 95 % et 50 mL d'acide chlorhydrique.

1 mg de composé est dissout dans un tube à essai à l'aide de 5 mL méthanol puis quelques gouttes du réactif de EHRLICH. Nous observons un changement de coloration (jaune) du mélange qui vire au vert caractérisant les indoles.

III.2.4. Caractéristiques physicochimiques des composés isolés

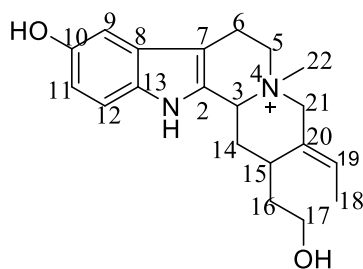
- Nom : **1-[2-[2-(carboxyméthyl)indole-3-yl]-3-éthylpyridinium hydroxyde**
- Apparence physique: **Solide brun amorphe**
- Solubilité: **Soluble dans le méthanol**
- Masse molaire moléculaire : **308,1525 g/mol**
- Formule brute : **$\text{C}_{19}\text{H}_{22}\text{N}_2\text{O}_2$**
- NI:11
- Spectre RMN proton (**400 MHz, CD_3OD**) voir **figure 5**
- Spectre RMN carbone (**100 MHz, CD_3OD**) voir **figure 6**



Composé HB₁

- Nom : **N⁴-méthyl-10-hydroxygeissoschizol**
- Apparence physique : **Solide brun amorphe**
- Solubilité: **Soluble dans le diméthylsulfoxyde**
- Masse molaire moléculaire : **327,2066 g/mol**
- Formule brute : **$\text{C}_{20}\text{H}_{27}\text{N}_2\text{O}_2^+$**
- NI:09
- Spectre RMN proton (**500 MHz, $\text{DMSO}-d_6$**) voir **figure 13**

➤ Spectre RMN carbone (125 MHz, DMSO-*d*₆) voir figure 14



Composé HB₂

REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

- Abreu, P., Pereira, A. (1998). A new indole alkaloid from *Sarcocephalus latifolius*. ***Heterocycles***, 48, 885–891.
- Adejuwon, A. A and Peter, A. C. (2015). Weight losing, antihyperlipidemic and cardioprotective effects of the alkaloid fraction of *Hunteria umbellata* seed extract on normal and triton-induced hyperlipidemic rats. ***Asian Pacific Journal of Tropical Biomedicine***, 5(5), 387–394.
- Adeneye, A., A, Peter, C., A, Anne-Frances, M., Jack, G., Olufunmilayo, O., A., Esther A., O. (2012). Isolation and Structure Elucidation of a New Indole Alkaloid, Erinidine, from *Hunteria umbellata* Seed. ***Pharmacologia***, 3, 204–214.
- Aniszewski T. (1994). The biological basis of quinolizidine alkaloids. ***Science of Legumes***, 1, 1–24.
- APG III (2009). An update of the Angiosperm Phylogeny Group classification for the orders and families of flowering plants. ***Botanical Journal of the Linnean Society***, 141, 399–436.
- Beentje, H., (2010). The kew plant glossary. Royal Botanic. ***Garden, Kew***. Editor Sharon Whitehead.
- Bello, I. S., Oduola, T., Adeosun, O. G., Omisore, N. O. A., Raheem, G. O., and Ademosun, A. A. (2009). Evaluation of antimalarial activity of various fractions of *Morinda lucida* leaf extract and *Alstonia boonei* trunk bark. ***Global Journal of Pharmacology***, 3(3), 163–165
- Boone, M. J., (2006). *Hunteria umbellata* (K.Schum.) Hallier f In: Schmelzer GH, Gurib Fakim, A., editors *Prota 11: Medicinal plants Wageningen ,Netherlands*.
- Bray, F., Ferlay, J., Soerjomataram, I., Siegel, R., Torre, L., Jemal, A. (2018). Statistiques mondiales sur le cancer : estimations GLOBOCAN de l'incidence et de la mortalité dans le monde pour 36 cancers dans 185 pays. ***Clinique***, 68, 394–424.
- Bruneton J., (1999). Pharmacognosie, Phytochimie et plantes médicinales. ***Edition Technique et Documentation***, pp. 1120.
- Burkill, H.M., (1985). The useful plants of west tropical Africa. 2nd edition. Volume 1, families A-D. ***Royal botanic gardens, kew, Richmond, United Kingdom***. p 960.

- Chaturvedula, V., S., P., Shannon, S., Schilling, J. K., Kingston, D., G., I. (2003). New Cytotoxic Indole Alkaloid from *Tabernaemontana calcarea* from the Madagascar Rainforest. *Natural Product Research*, 66, 528-531.
- Diazel, J.M., (1937). The usefulplants of West Africa. *Crown Agents for Overseas Governments and Administration, London, United Kingdom*.612pp.
- Dupont F. and Guignard. J. Abrégés (2012). Abrégés de pharmacie, *botanique les familles de plantes (15è Ed) Elsevier Masson : Paris*.
- Edwards, P. N, Smith, G. F. (1961). Akuamma alkaloids. Part IV. The decomposition of akuammicine in methanol. *Journal of the Chemical Society*. 1, 1458–1462.
- Endress, M., Liede-Schumann, S., and Meve, U. (2014). An updated classification for Apocynaceae. *Phytotaxa*, 159, 175-194.
- Falodun, A., Nworgu, Z. A., Ikponmwonsa, M. O. (2006). Phytochemical components of *Hunteria umbellate* (K. Schum) and its effect on isolated non pregnant rat uterus in oestrus. *Pakistan Journal of Pharmaceutical Sciences*,19(3), 256-258.
- Gamble, J. S., (1972). A Manual of Indian Timbers an account of the growth, distribution, and uses of the trees and shrubs of India and Ceylon, with descriptions of their wood-structure. 2d ed. Publishers Bischen Sing Mahendrapal Singh.
- Gezici, S., and Şekeroğlu, N. (2019). Current perspectives in the application of medicinal plants against cancer: novel therapeutic agents. *Anti-Cancer Agents in Medicinal Chemistry (Formerly Current Medicinal Chemistry-Anti-Cancer Agents)*, 19(1), 101-111.
- Gravel, E., And Poupon, E., (2010). Biosynthesis and biomimetic synthesis of Alkaloids isolated from plants of the *Nitraria myrioneuron* genera, and unusual lysine base metabolism, *Natural products report*, 27,32-56.
- Hamzah, A.S., Arbain, D., Mahyudin, Sargent, M.V., Lajis, N.H., (1994). The alkaloids of *Ophiorrhiza communis* and *tomentosa*. *Pertanika Journal. Science. Technology*, 2, 33–38.
- Herbert, R. B., (2003). The biosynthesis of plant alkaloids and nitrogenous microbial metabolites, *Natural Product Report*, 20, 494–508.
- Islam, M. S, Lucky, R. A. (2019). A study on different plants of Apocynaceae family and their medicinal uses. *Universal Journal of Pharmaceutical Research*; 4(1): 40-44

- Javed, I., Banzeer, A., TariqM., Sobia, K., Barkat, A., Ali, T. (2017). Plant-derived anticancer agents: A green anticancer approach. *Asian Pacific Journal of Tropical Biomedecine*, 1–23.
- Kanga, Y., Camara, D., Coulibaly, K., Bene, K., Zirihi, G.N. (2018). Phytochemical Study and *In vitro* Evaluation of the antifungal Activity of *Hunteria eburnea* pichon (Apocynaceae) on Trichophyton Mentagrophytes, *Indo American Journal of Pharmaceutical Sciences*, 5(7), 6268-6274.
- Kaur, M and Singh, R. (2016). Genus *Hunteria*-A ethnopharmacological, chemical and pharmacological perspectives. *International Journal of Pharmaceutical Sciences and Research*, 7(11), 4367–4373.
- Kirtikar, K. R and Basu, B. D. (1998). Data on medicinal plants and chemical constituents. *Indian medicinal plants. Publishers, Bangalore, India*, 2532-2541.
- Kuo, Y. H and King, M. L. (2001). Antitumor drugs from the secondary metabolites of higher plants. *Bioactive compounds from natural sources: isolation, characterization, and biological properties* (C. Tringali, ed, New York, NY: Taylor & Francis Inc: 2001, 190-281.
- Lavaud, C., Massieu, G., Vercauterin, J., Le, Men-olivier, L. (1982). Alkaloids of *Hunteria zeylanica*, *Phytochemistry*, 21(2), 445–447.
- Ndong, J., Ngo, M., Monteiller, A., Tala, M., Rütten, M., Mombers, D., Cuendet, M., Pegnyemb, D., Dittrich, B., Laatsch H. (2018). Carbazole-, Aspidofractinin and Aspidocarpamine-Type Alkaloids from *Pleiocarpa pycnantha*. *Journal of Natural Product*, 81, 1192–1202.
- Nugroho, A. E., Sugai, M., Hirasawa, Y., Hosoya, T., Awang, K., Hadi, A. H., A., Ekasari, W., Widyawaruyanti, A., Morita, H. (2011). New antiplasmodial indole alkaloids from *Hunteria zeylanica*. *Bioorganic & Medicinal Chemistry Letters*, 21(11), 3417–3419.
- Oboh, G., Adebayo, A. A., Ademosun, A. O. (2017). Erection-stimulating, anti-diabetic and antioxidant properties of *H. umbellata* and *Cylicodiscus gabunensis* water extractable phytochemicals. *Journal Medecine*, 15, 1–11.
- Oliver-Bever, B. (1986). Medicinal plants in tropical West Africa. *Cambridge University Press, Cambridge United Kingdom*. p 375.

- Olusegun, S. A., Andrew, M. P., Fabien, P., Zeinab, K., Xiao-cong, H., Sunday, A., A., Herbert, A. B., C., Robert, J. C.,, (2011). Ikirydinium A: A new indole alkaloid from the seeds of *Hunteria umbellata* (K. Schum) ***Tetrahedron Letter***, 52, 7125–7127. Oluwemino, A., Usifoh, C. O. (2001). The antihelminthic activity of *Hunteria umbellata* K.Shum. (Fam. Apocynaceae) extract. ***Pakistan Journal Pharmacology Sciences***, 44, 286–290.
- Omar, F., Tareq, A. M., Alqahtani, A. M., Dhama, K., Sayeed, M. A., Emran, T.B., Simal-Gandara, J. (2021). Plant-Based Indole Alkaloids: A Comprehensive Overview from a Pharmacological Perspective. ***Molecules***, 26, 2297.
- Omino, E. A., (1996). A contribution to the leaf anatomy and taxonomy of Apocynaceae in Africa. ***Wageningen Agricultural University, Wageningen, Netherlands***. 178pp.
- Pinar, M., Hanaoka, M., Hesse, M., Schmid, H. (1971). Über die struktur eines neuartigen indolalkaloids, des talbotins. 141. Mitteilung über alkaloid. ***Helvetica Chimica Acta***, 54, 15–43.
- Quan, L., Chao-Jun, C., Li, Z., Kun, G. (2015): Two indole alkaloids from *Hunteria zeylanica*. ***Journal of Asian Natural Products research***. 2015, 1-5.
- Rodney, C., Tony, K. M. Norman, L. G. (2000). Natural products secondary metabolites in biochemistry and molecular biology of plants by Buchanan B., ***Gruissem W., Jones R.*** pp 1250-1318.
- Teng, J., Mei, Q., Zhou, X., Tang, Y., Xiong, R., Qiu, W., Pan, R., Law, B.Y., Wong, V.K., Yu, C., Long, H., Xiao, X., Zhang, F., Wu, J., Qin, D., Wu, A., (2020). Polyphyllin VI induces caspase-1-mediated pyroptosis via the induction of ROS/NF-κB/NLRP3/GSDMD signal axis in non-small cell lung cancer. ***Cancers***, 12, 193.
- Vernon H., et Francoise B., (1996). Asteridae in : Plantes à fleurs : 306 familles de la flore Mondiale, Paris : ***Nathan***, PP 222–227.
- Wangchuk P., Keller PA., Pyne SG., Lie W., Willis AC., Rattanajak R., (2013). A new protoberberine alkaloid from *Meconopsis simplicifolia* (D.Don) Walpers. With potent antimalarial activity against a multidrug resistant Plasmodium falciparum strain. ***Journal Ethnopharmacology***, 150(3), 953–9.
- Warriar, P. K., & Nambiar, V. P. K. (1993). Indian medicinal plants: A compendium of 500 species Vol. 5, ***Orient Blackswan***.