LIÈGE université Library

https://lib.uliege.be

https://matheo.uliege.be

Travail de fin d'études en chimie et bio-industries : Identification des principes actifs antipaludiques dérivés des racines de Croton aubrevillei J. Leonard (Euphorbiacea

Auteur : Adam, Arthur
Promoteur(s) : Genva, Manon; Taguimjeu Tafokeu K, Pierre Leonel
Faculté : Gembloux Agro-Bio Tech (GxABT)
Diplôme : Master en bioingénieur : chimie et bioindustries, à finalité spécialisée
Année académique : 2025-2026
URI/URL : http://hdl.handle.net/2268.2/26977

Avertissement à l'attention des usagers :

Tous les documents placés en accès ouvert sur le site le site MatheO sont protégés par le droit d'auteur. Conformément aux principes énoncés par la "Budapest Open Access Initiative"(BOAI, 2002), l'utilisateur du site peut lire, télécharger, copier, transmettre, imprimer, chercher ou faire un lien vers le texte intégral de ces documents, les disséquer pour les indexer, s'en servir de données pour un logiciel, ou s'en servir à toute autre fin légale (ou prévue par la réglementation relative au droit d'auteur). Toute utilisation du document à des fins commerciales est strictement interdite.

Par ailleurs, l'utilisateur s'engage à respecter les droits moraux de l'auteur, principalement le droit à l'intégrité de l'oeuvre et le droit de paternité et ce dans toute utilisation que l'utilisateur entreprend. Ainsi, à titre d'exemple, lorsqu'il reproduira un document par extrait ou dans son intégralité, l'utilisateur citera de manière complète les sources telles que mentionnées ci-dessus. Toute utilisation non explicitement autorisée ci-avant (telle que par exemple, la modification du document ou son résumé) nécessite l'autorisation préalable et expresse des auteurs ou de leurs ayants droit.

LIÈGE université
Gembloux
Agro-Bio Tech

IDENTIFICATION DES PRINCIPES ACTIFS ANTIPALUDIQUES DÉRIVÉS DES RACINES DE *CROTON AUBREVILLEI* J. LEONARD (EUPHORBIACEAE)

ARTHUR ADAM

TRAVAIL DE FIN D'ÉTUDES PRÉSENTÉ EN VUE DE L'OBTENTION DU DIPLÔME DE MASTER BIOINGÉNIEUR EN CHIMIE ET BIOINDUSTRIES

ANNÉE ACADÉMIQUE 2025-2026

(CO)-PROMOTEUR(S): DR. MANON GENVA & DR. PIERRE LEONEL TAGUIMJEU TAFOKEU K

Toute reproduction du présent document, par quelque *procédé que ce soit, ne peut être réalisée qu'avec l'autorisation de l'auteur et de l'autorité académique2 de Gembloux Agro-Bio Tech.* Le présent document n'engage que son auteur.

LIÈGE université
Gembloux
Agro-Bio Tech

IDENTIFICATION DES PRINCIPES ACTIFS ANTIPALUDIQUES DÉRIVÉS DES RACINES DE *CROTON AUBREVILLEI* J. LEONARD (EUPHORBIACEAE)

ARTHUR ADAM

TRAVAIL DE FIN D'ÉTUDES PRÉSENTÉ EN VUE DE L'OBTENTION DU DIPLÔME DE MASTER BIOINGÉNIEUR EN CHIMIE ET BIOINDUSTRIES

ANNÉE ACADÉMIQUE 2025-2026

(CO)-PROMOTEUR(S): DR. MANON GENVA & DR. PIERRE LEONEL TAGUIMJEU TAFOKEU K

REMERCIEMENTS

Ce mémoire est le fruit de plusieurs mois de travail, d'investissement et de persévérance. Sa réalisation n'aurait toutefois pas été possible sans les nombreuses rencontres, les précieux conseils et le soutien de celles et ceux qui m'ont accompagné tout au long de ce parcours. Je souhaite ainsi exprimer ma sincère gratitude à l'égard des personnes suivantes :

La professeure **Marie-Laure Fauconnier**, Doyenne de la Faculté Gembloux Agro-Bio Tech et Directrice du Laboratoire de Chimie des Molécules Naturelles (LCMN), pour m'avoir offert l'opportunité de réaliser mon travail de fin d'études au sein de son laboratoire ;

Ma promotrice, la Docteure **Manon Genva**, pour sa disponibilité, sa bienveillance et la qualité de son encadrement qui m'ont accompagné tout au long de ce travail ;

Mon co-promoteur, le Docteur **Pierre Leonel K. Takofeu Taguimjeu**, pour son exigence de rigueur et de qualité, ainsi que pour l'attention bienveillante dont il a fait preuve à mon égard. Je le remercie tout particulièrement pour ses très nombreux conseils, la qualité de son encadrement et la richesse de nos échanges ;

Les professeurs **Christian Damblon** et **Michel Frederich**, respectivement directeurs du *Centre de Résonance Magnétique Nucléaire* (CREMAN) et du *Centre Interdisciplinaire de la Recherche sur le Médicament* (CIRM) de l'ULiège, membres de mon jury, pour l'accueil chaleureux au sein de leurs laboratoires respectifs et leur précieuse collaboration, indispensables à la réalisation de ce mémoire ;

Les Professeurs **Giogia Purcaro**, **Patrick Fickers**, **Sabine Danthine**, **Marc Ongena** et **Nicolas Jacquet**, membres de mon jury, pour avoir accepté d'examiner et d'évaluer ce travail malgré leurs nombreuses obligations ;

L'ensemble de l'équipe technique du LCMN, **Franck Michels**, **Thomas Bertrand**, **Adrien Francis** et **Maxime Grégoire**, pour leur précieuse assistance et leur soutien durant ce travail ;

L'ensemble des doctorants du LCMN, **Louise Vilain**, **Gaëlle Race**, **Victoria Beaudoux**, **Aubin Lequeux**, **Florian Martini** et **Jérémy Berdy**, pour leur aide, la richesse de nos discussions et la bonne ambiance qu'ils ont contribué à instaurer au sein du laboratoire durant ce travail ;

L'ensemble des étudiants de master ayant réalisé leur mémoire au sein du LCMN, pour l'ambiance de travail conviviale qu'ils ont contribué à y instaurer ;

Mon frère, ma mère ainsi que mes meilleurs amis, **Amélie Goret** et **Thibaut Disière**, pour leur soutien indéfectible dans toutes les épreuves de ma vie.

ABSTRACT

Malaria remains a major parasitic disease, and its management is increasingly challenged by the emergence and spread of resistance to antimalarial drugs. In this context, the present study contributes to the search for new antimalarial agents from natural sources, particularly medicinal plants traditionally used in malaria treatment. This work followed an integrated ethnopharmacological approach combining the collection and taxonomic identification of plant species used for antimalarial purposes with the extraction, purification, and chemical characterization of their bioactive constituents. The aim of this study was to investigate the antiplasmodial potential of the roots of *Croton aubrevillei*, a plant traditionally used in Cameroon to treat malaria, through a bioassay-guided fractionation approach designed to isolate and characterize secondary metabolites potentially responsible for the observed activity. The roots were extracted by maceration in a dichloromethane/methanol mixture (1:1, *v/v*). The crude extract was subsequently fractionated by liquid-liquid partitioning and open-column chromatography. The crude extract, fractions, subfractions, and isolated compounds were evaluated *in vitro* against the chloroquine-sensitive *Plasmodium falciparum* strain Pf3D7 and the artemisinin-resistant strain PfIPC-49. The crude extract showed moderate antiplasmodial activity against Pf3D7 and weak activity against PfIPC-49. Fractionation resulted in an enrichment of activity in certain fractions, particularly the dichloromethane fraction. Among the subfractions obtained from this fraction, subfraction 6 exhibited the highest activity, with IC_{50} values of 4.85 ± 0.38 µg/mL against Pf3D7 and 8.49 ± 1.15 µg/mL against the artemisinin-resistant PfIPC-49 strain. Phytochemical investigations led to the isolation and characterization of ten compounds belonging mainly to the diterpene, triterpene, and sterol classes. Among the compounds tested, *ent*-Pimara-8(14),15-diene-3α,11β-diol (C.A.R.17) displayed moderate activity against the chloroquine-sensitive Pf3D7 strain, with an IC_{50} value of 31.03 ± 1.63 µM. However, none of the isolated compounds reproduced the high activity observed for subfraction 6, suggesting that compounds not yet isolated and/or additive or synergistic interactions between several metabolites may contribute to the activity of the most active subfractions. Overall, this study provides a first contribution to the phytochemical and pharmacological knowledge of *C. aubrevillei* and highlights the antiplasmodial potential of its roots. Further investigation of the most active fractions is warranted to identify the constituents responsible for this activity and to assess their potential as leads for the development of new antiplasmodial agents.

Keywords: *Croton aubrevillei*; malaria; *Plasmodium falciparum*; antiplasmodial activity; bioassay-guided fractionation; natural products; diterpenes.

RÉSUMÉ

Le paludisme demeure une maladie parasitaire majeure, dont la prise en charge est notamment confrontée à l'émergence et à la propagation de résistances aux traitements antipaludiques. Face à cette problématique, ce travail de fin d'études s'inscrit dans une perspective de découverte de nouveaux agents antipaludiques issus de sources naturelles, en particulier des plantes médicinales utilisées en médecine traditionnelle. Cette étude repose sur une démarche ethnopharmacologique intégrée, combinant la collecte et l'identification taxonomique des espèces végétales à usage antipaludique, suivies de l'extraction, de la purification et de la caractérisation chimique des composés. Le présent travail avait pour objectif d'évaluer le potentiel antiplasmodial des racines de *Croton aubrevillei*, une espèce utilisée en médecine traditionnelle camerounaise contre le paludisme, à travers une approche de fractionnement bio-guidé visant à isoler et caractériser les métabolites secondaires susceptibles de contribuer à l'activité observée. Les racines ont été extraites par macération dans un mélange dichlorométhane/méthanol (1:1, *v/v*), puis l'extrait brut a été fractionné par extraction liquide-liquide et chromatographie sur colonne ouverte. Les extraits, fractions, sous-fractions et composés isolés ont été évalués *in vitro* contre la souche *Pf*3D7, sensible à la chloroquine, et celle résistante à l'artémisinine, *Pf*IPC-49, de *P. falciparum*. L'extrait brut a présenté une activité antiplasmodiale modérée contre *Pf*3D7 et une faible activité contre *Pf*IPC-49. Le fractionnement a permis de concentrer l'activité dans certaines fractions, particulièrement dans la fraction au dichlorométhane. Parmi les sous-fractions issues de la fraction au dichlorométhane, la sous-fraction 6 s'est révélée la plus active, avec des CI_{50} de 4,85 ± 0,38 *µ*g/mL contre *Pf*3D7 et de 8,49 ± 1,15 *µ*g/mL contre la souche résistante à l'artémisinine *Pf*IPC-49. Les travaux phytochimiques ont conduit à l'isolement et à la caractérisation de dix composés appartenant notamment aux classes des diterpènes, des triterpènes et des stérols. Parmi les composés évalués, l'*ent*-Pimara-8(14),15-diene-3*α*-11*β*-diol (C.A.R.17) s'est distingué par une activité modérée contre la souche sensible à la chloroquine (*Pf*3D7), avec une CI_{50} de 31,03 ± 1,63 *µ*M. Toutefois, aucun des composés isolés n'a reproduit l'activité élevée observée pour la sous-fraction six, suggérant l'implication de composés encore non isolés et/ou d'interactions additives ou synergiques entre plusieurs métabolites au sein des sous-fractions les plus actives. Cette étude constitue de cette manière, une première contribution à la connaissance phytochimique et pharmacologique de *C. aubrevillei* et met en évidence le potentiel antiplasmodial de ses racines. La poursuite de l'étude des fractions les plus actives permettra de mieux identifier les constituants responsables de cette activité et d'évaluer leur intérêt potentiel dans la recherche de nouveaux agents antiplasmodiaux.

Mots-clés : *Croton aubrevillei* ; paludisme ; *Plasmodium falciparum* ; activité antiplasmodiale ; fractionnement bioguidé ; produits naturels ; diterpènes.

TABLE DES MATIÈRES

REMERCIEMENTS 1
ABSTRACT 2
RÉSUMÉ 3
LISTE DES ABRÉVIATIONS, ACRONYMES ET SYMBOLES 5
CHAPITRE I : INTRODUCTION GÉNÉRALE 1
1.1. Contexte général et problématiques de l'étude 1
1.2. Le rôle des plantes médicinales 2
1.3. Structure générale du mémoire 3
CHAPITRE II : ÉTAT DE L'ART 4
1. Le paludisme 4
1.1. Définition et épidémiologie 4
1.2. Transmission et cycle de vie de l'agent pathogène 4
1.3. Aspects cliniques et pathogenèse de la maladie 7
1.4. Prévention et chimioprophylaxie 8
1.5. Traitements actuels et résistances thérapeutiques 9
1.6. Les plantes médicinales, un levier stratégique contre le paludisme 11
2. Étude botanique du genre *Croton* 13
2.1. Aperçu sur le genre 13
2.2. Aperçu botanique et caractères morphologiques 13
2.3. Taxonomie et classification systématique du genre *Croton* 14
2.4. Aspect botanique de *Croton aubrevillei* J. Leonard 14
2.5. Intérêts et utilisations thérapeutiques des plantes du genre *Croton* 16
2.6. Études antérieures sur le genre *Croton* 17
3. Les diterpènes 23
3.1. Structure et biosynthèse des principales classes de diterpènes 23
3.2. Activités biologiques des diterpènes 26
4. Objectifs de recherche 28
CHAPITRE III : MATÉRIELS ET MÉTHODE 28
1. Matériel végétal : Identification et récolte 28
2. Extraction, fractionnement et purification des métabolites secondaires 28
3. Procédure générale et élucidation structurale 29
4. Inhibition *in vitro* des stades intraérythocytaires de *P. falciparum* 30
4.1. Culture parasitaire et maintenance 30
4.2. Évaluation des activités antiplasmodiales 30
4.3. Test Plasmodium lactate déshydrogénase (*p*LDH) : Test de Malstat 31
CHAPITRE IV : RÉSULTATS 32
1. Isolement et caractérisation des composés obtenus 32

2. Élucidation structurale du composé C.A.R.17 36
2.1. RMN 1D : Spectre RMN ^{1}H (méthanol-d_4, 700 MHz) 36
2.2. RMN 1D : Spectre RMN ^{13}C (méthanol-d_4, 176 MHz) 37
2.3. RMN 2D : Spectre HSQC ^{13}C-^{1}H 38
2.4. RMN 2D : Spectre COSY ^{1}H-^{1}H 38
2.5. RMN 2D : Spectre HMBC ^{13}C-^{1}H 39
3. Activité antiplasmodiale 41
CHAPITRE V : DISCUSSION 45
1. Extraction et caractérisation de l'extrait racinaire de *C. aubrevillei* 46
2. Activité antiplasmodiale 47
3. Les extraits végétaux, un levier contre les résistances thérapeutiques 51
4. Durabilité de l'extrait racinaire de *C. aubrevillei* 52
CHAPITRES VI : CONCLUSION & PERSPECTIVES 53
CHAPITRES VII : CONTRIBUTION PERSONELLE 55
BIBLIOGRAPHIE 56
ANNEXES 68

LISTE DES ABRÉVIATIONS, ACRONYMES ET SYMBOLES

OMS : Organisation Mondiale de la Santé

R.D.C. : République Démocratique du Congo

U.E. : Union Européenne

TCA : thérapies combinées à base d'artémisinine

GR : globules rouges

CDI : cycle de développement intra-érythrocytaire

CDA : cycle de développement asexuée

ADN : acide désoxyribonucléique

GC : Gamétocyte-compétent

GRi : globules rouges infectés

TNF-α : facteur de nécrose tumorale alpha

IL-1β : interleucine 1béta

IL-6 : interleucine 6

*Pf*EMP-1 : protéine membranaire 1 de *Plasmodium falciparum*

IPTp : traitement préventif intermittent chez la femme enceinte

IPTi : chez les nourrissons et

SMC : la chimioprévention saisonnière du paludisme

THF : tétrahydrofolate

DHFR : dihydrofolate réductase

DHPS : dihydroptéroate synthase

PABA : acide 4-aminobenzoïque

ROS : espèces réactives de l'oxygène

*Pf*Kelch13 : protéine Kelch 13 de *Plasmodium falciparum*

PM : Plantes médicinales

CI_{50} : concentration inhibitrice à 50 %

HNC : Herbarium National du Cameroun

EtOH : éthanol

MeOH : méthanol

EtOAc : acétate d'éthyle

RMN : Résonance Magnétique Nucléaire

HSQC : *Heteronuclear Single Quantum Coherence*

HMBC : *Heteronuclear Multiple Bond Correlation*

COSY : *COrrelation SpectroscopY*

δ : déplacement chimique en ppm

J : constante de couplage en Hertz

FTIR : spectrophotomètre Infrarouge à Transformée de Fourier

CC : colonnes chromatographiques

CCM : chromatographie sur couche mince

UV : rayonnements ultraviolets

MCC : milieu de culture complet

DMSO : diméthylsulfoxide

*p*LDH : lactate déshydrogénase de *Plasmodium*

APADH : Acétylpyridine adénine dinucléotide

NBT : tétrazolium nitrobleu

PES : éthosulfate de phénazine

I.R. : indice de résistance

Fr.X : fraction X

Ss.-Fr. X : sous-fraction X

Table des figures

Figure 1 : Quelques médicaments antipaludiques efficaces dérivés de la quinine (haut) et de l'artémisinine)(bas)5. Figure adaptée de la référence 5. Créée avec ChemSketch. 2
Figure 2 : Cycle de vie de Plasmodium, adapté de Chahine et Le Roch (2022)17. Créé avec BioRender.com 5
Figure 3 : Écorces du tronc, feuilles, et racines de C. aubrevillei (Taguimjeu, 2020). 15
Figure 4 : Quelques classes majoritaires de diterpènes retrouvées chez les espèces du genre *Croton*[69–80] 23
Figure 5 : Relations biosynthétiques entre quelques les principales classes de diterpènes identifiées chez les espèces du genre *Croton*[56], adapté de la référence 53. Créé avec ChemSketch. 26
Figure 6 :Test de Malstat. La *p*LDH oxyde le lactate (substrat) en pyruvate en réduisant l'APAD$^+$ sous sa forme réduite APADH. Celle-ci est ensuite de nouveau oxydée en APAD$^+$ en réduisant le tétrazolium nitrobleu (NBT) en diformazane nitrobleu en présence d'éthosulfate de phénazine (PES). Cette réaction s'accompagne d'un changement de couleur passant du jaune au bleu[88]. Figure inspirée de la référence 86. Crée avec ChemSketch. 31
Figure 7 : Structure des composés caractérisés à partir des racines de *C. aubrevillei.* 33
Figure 8 :Spectre RMN ^{1}H (méthanol-d_4, 700 MHz) de C.A.R.17 37
Figure 9 : Spectre RMN ^{13}C (méthanol-d_4, 176 MHz) de C.A.R.17 37
Figure 10 : Spectre HSQC ^{13}C-^{1}H de C.A.R.17 38
Figure 11 : Spectre COSY ^{1}H-^{1}H de C.A.R.17 39
Figure 12 : Spectre HMBC ^{13}C-^{1}H de C.A.R.17 40
Figure 13 : Quelques corrélations COSY ^{1}H-^{1}H et HMBC ^{13}C-^{1}H de C.A.R.17 41
Figure 14 : Protocole d'extraction et fractionnement liquide-liquide des racines de *C. aubrevillei* 43
Figure 15 : Protocole de fractionnement et purification des composés isolés de la fraction au CH_2Cl_2 des racines de *C. aubrevillei* 44
Figure 16 :Protocole de fractionnement et purification des composés isolés de la fraction à l'*n*-hexane des racines de *C. aubrevillei* 45
Figure 17 : Les 3 stéréoisomères connus potentiels de l'*ent*-Pimara-8(14),15-diene-3*α*-11*β*-diol 50

Table des schémas

Schéma 1 : Classification systématique du genre Croton selon la classification APG III (2009) 52. 14

Table des tableaux

Tableau 1 :Quelques espèces du genre Croton utilisées en médecine traditionnelle pour lutter contre le paludisme. 16
Tableau 2 : Liste non-exhaustive des activités antiplasmodiales d'extraits de quelques espèces du genre Croton. 18
Tableau 3 : Quelques composés aux activités antiplasmodiales isolés d'espèces du genre *Croton.* 19
Tableau 4 : Quelques composés isolés d'espèces du genre *Croton*. 21
Tableau 5 : Les activités biologiques de quelques diterpènes 27
Tableau 6 : Activité antiplasmodiale et indice de résistance de l'extrait brut, des fractions et sous-fractions racinaires de *C. aubrevillei* contre les souches chloroquine-sensible (*Pf*3D7) et artémisinine-résistante (*Pf*IPC-49) de *P. falciparum* 42
Tableau 7 :Activité antiplasmodiale et indice de résistance des composés isolés depuis les racines de *C. aubrevillei* contre les souches chloroquine-sensible (*Pf*3D7) et artémisinine-résistante (*Pf*IPC-49) de *P. falciparum.* 44

Table des équations

Equation 1 :Formule de l'inhibition de la croissance parasitaire. A : absorbance à 630 nm, e : échantillon, C^+ : contrôle positif, C^- : contrôle négatif. 31
Equation 2 : Formule de l'indice de résistance. $CI_{50Pf\text{IPC-49}}$: CI_{50} pour la souche *Pf*IPC-49 artémisinine-résistante, $CI_{50Pf3D7}$: CI_{50} pour la souche *Pf*3D7 chloroquine-sensible. 31

CHAPITRE I : INTRODUCTION GÉNÉRALE

1.1. Contexte général et problématiques de l'étude

Le paludisme, encore appelé malaria, est une parasitose vectorielle causée par les protozoaires du genre *Plasmodium* et transmise à l'homme par les piqûres de moustiques femelles infectées du genre *Anopheles*[1]. Avec environ 282 millions de cas et 610 000 décès dans le monde en 2024, le paludisme demeure l'une des parasitoses les plus meurtrières à l'échelle mondiale[2]. Cette pathologie reste endémique dans près de 80 pays, répartis dans une vaste zone géographique s'étendant de l'Amérique du Sud à l'Asie du Sud-Est, en passant par l'Afrique subsaharienne et le Moyen-Orient[2]. Le continent africain demeure historiquement la région la plus touchée par cette maladie, concentrant à lui seul, respectivement, plus de 75 % des cas et 93 % des décès recensés dans le monde entre 2000 et 2024[2]. L'OMS y estime environ 265 millions de cas et 579 000 décès, soit respectivement 94 % et 95 % de la charge mondiale de la maladie[2]. Parmi les pays d'Afrique subsaharienne les plus touchés figurent le Nigéria, la R.D.C., l'Ouganda, l'Éthiopie et le Mozambique, qui concentrent à eux seuls plus de la moitié des cas recensés dans la région[2]. Dans ce contexte de forte endémicité en Afrique subsaharienne, les dynamiques de mobilités internationales contribuent à l'exportation du paludisme vers des régions non endémiques.

À titre d'exemple, l' OMS a rapporté plus de 6900 cas de paludisme et 39 décès au sein des 27 pays de l'Union Européenne (UE) en 2024[2].

Malgré les progrès réalisés dans la lutte contre le paludisme, plusieurs facteurs continuent d'entraver les efforts de contrôle et d'élimination de la maladie. Parmi ces défis, l'émergence et la propagation de la résistance de l'agent pathogène *Plasmodium falciparum* aux antipaludiques existants constituent une préoccupation majeure. En particulier, une résistance partielle à l'artémisinine, initialement identifiée en Asie du Sud-Est, a été rapportée dans plusieurs pays africains, faisant craindre une réduction de l'efficacité des thérapies combinées à base d'artémisinine (TCA), qui demeurent le traitement de référence du paludisme[2]. Cette évolution représente une menace importante pour les stratégies actuelles de prise en charge du paludisme et met en évidence la nécessité d'élargir le portefeuille thérapeutique disponible par l'identification de nouveaux principes actifs plus efficaces, dotés de mécanismes d'action innovants, afin de lutter contre les phénomènes de résistance et de réduire significativement le fardeau du paludisme. Dans cette perspective, les plantes médicinales traditionnellement utilisées contre le paludisme constituent une source privilégiée de nouvelles molécules à potentiel antipaludique. Cette approche s'inscrit dans la continuité des découvertes de la quinine et de l'artémisinine, deux molécules phares de la lutte antipaludique.

1.2. Le rôle des plantes médicinales

Les plantes médicinales occupent une place centrale dans la lutte contre le paludisme, tant en médecine traditionnelle qu'en recherche pharmacologique. Leur intérêt repose sur leur richesse en métabolites secondaires, des composés organiques impliqués dans les mécanismes de défense et d'adaptation de la plante à son environnement[4]. Depuis l'Antiquité, ces espèces végétales sont utilisées dans les pharmacopées de nombreuses civilisations et constituent aujourd'hui encore une source majeure de molécules bioactives pour le développement de nouveaux agents thérapeutiques, notamment antipaludiques[3,4].

Parmi ces molécules, l'artémisinine et la quinine, isolées respectivement d'*Artemisia annua* et de *Cinchona officinalis*, ainsi que leurs dérivés hémisynthétiques ou synthétiques (**Figure 1**)[5,6], constituent des exemples emblématiques de molécules d'origine naturelle dont la découverte a marqué une étape décisive dans l'histoire de la chimiothérapie antipaludique. Au-delà de la quinine et de l'artémisinine, les recherches en pharmacognosie ont conduit à l'identification de nombreuses autres molécules antipaludiques, ainsi qu'au développement de dérivés destinés à améliorer leurs propriétés pharmacologiques[7]. Parmi ces avancées figure l'atovaquone, un dérivé synthétique du lapachol, une naphtoquinone isolée de l'écorce de *Handroanthus impetiginosus*. Associée au proguanil, elle constitue le principe actif du Malarone®, un médicament largement utilisé en chimioprophylaxie et dans le traitement du paludisme[8,9].

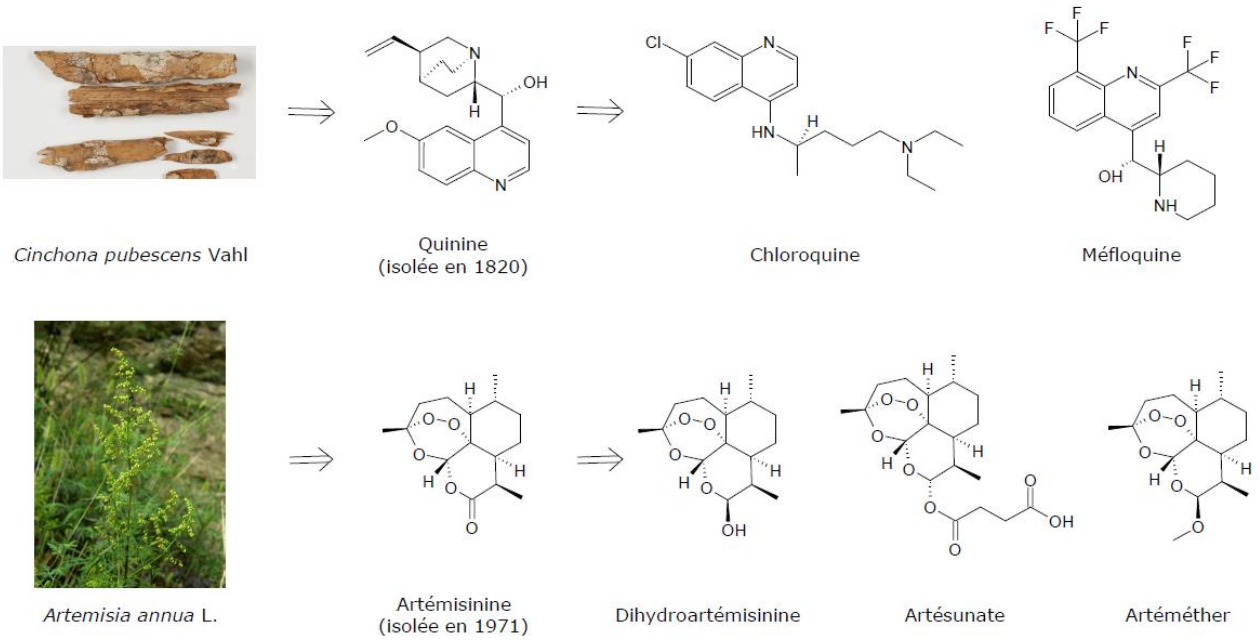


Figure 1 : Quelques médicaments antipaludiques efficaces dérivés de la quinine (haut) et de l'artémisinine)(bas)[5]. Figure adaptée de la référence **5**. Créée avec ChemSketch.

C'est dans cette optique que, dans le cadre de ce mémoire de master, nous avons entrepris une étude portant sur les racines de *Croton aubrevillei*, une plante médicinale camerounaise

traditionnellement employée dans la région du Centre-Cameroun par les populations locales dans le traitement du paludisme et le soulagement des symptômes qui y sont associés. En médecine traditionnelle, la macération des racines et des feuilles de *C. aubrevillei* est administrée par voie orale pour le traitement du paludisme. De même, la décoction ou l'infusion des feuilles, des racines et de l'écorce du tronc est également utilisée à des fins antipaludiques. Le choix de cette espèce repose sur trois arguments principaux. D'une part, les usages traditionnels, corroborés par des études scientifiques récentes, ont mis en évidence chez les espèces du genre *Croton,* la présence de métabolites secondaires dotés d'activités antiplasmodiales[10]. D'autre part, une enquête ethnobotanique de terrain réalisée, en amont de ce travail, dans les régions du Centre et de l'Ouest du Cameroun, et couplée à une étude bibliographique approfondie, a révélé que les racines de *Croton aubrevillei*, macérées dans un alcool traditionnel, le vin de palme, sont utilisées en médecine traditionnelle pour le traitement du paludisme. Enfin, et surtout, à notre connaissance, aucune étude chimique et/ou biologique n'a encore été réalisée sur cette espèce. Au regard de ces éléments, l'hypothèse selon laquelle l'espèce *C. aubrevillei* pourraient constituer une source prometteuse de métabolites secondaires à fort potentiel antiplasmodial a été formulée dans le cadre de ce mémoire de master.

1.3. Structure générale du mémoire

Le présent mémoire est structuré en plusieurs parties. La première est consacrée à un état de l'art portant sur le paludisme ainsi que sur l'espèce étudiée, *Croton aubrevillei*. Elle présente également une synthèse des travaux de recherche antérieurs consacrés aux espèces du genre *Croton* et les objectifs de recherche pour ce travail.

La deuxième partie décrit la méthodologie mise en œuvre pour l'obtention de l'extrait brut racinaire et des fractions, ainsi que les procédures d'isolement et de caractérisation des molécules, sans oublier l'évaluation de leurs propriétés antiplasmodiales.

La troisième partie présente les résultats de notre investigation phytochimique et biologique menée sur l'extrait brut des racines de *C. aubrevillei*. Ces résultats sont ensuite discutés à la lumière des données de la littérature. Enfin, le mémoire s'achève par une conclusion générale et des perspectives de recherche. L'ensemble est complété par une bibliographie détaillée des sources consultées.

CHAPITRE II : ÉTAT DE L'ART

1. Le paludisme

1.1. Définition et épidémiologie

Parmi les quelques 200 espèces de *Plasmodium* connues à ce jour, seules 5 d'entre elles (*P. falciparum*, *P. vivax*, *P. malariae*, *P. ovale* et *P. knowlesi*), réparties en 2 sous-genres, sont actuellement identifiées comme les pathogènes responsables du paludisme chez l'homme[1,11]. Ces 5 espèces se distinguent par des morphologies, certains stades de leurs cycles de vie, des pathogenèses et des zones endémiques propres à chacune d'elles[11]. Néanmoins, parmi toutes ces espèces, *P. falciparum* demeure de loin l'espèce responsable des complications les plus sévères et de la majorité des cas et décès associés au paludisme à travers le monde[1,12].

Dans chacune de ses zones endémiques, *Plasmodium* infecte l'homme par l'intermédiaire d'espèces locales de moustiques appartenant au genre *Anopheles*[1]. Parmi cette trentaine d'espèces, les moustiques femelles du complexe *Anopheles gambiae*, un clade comportant 9 espèces étroitement apparentées, représentent les principaux vecteurs du paludisme en Afrique subsaharienne[13]. Néanmoins, sa répartition sur l'entièreté de l'Afrique subsaharienne, son anthropophilie et son endophilie particulièrement développés, font d'*Anopheles gambiae* l'un des principaux vecteurs primaires du paludisme[13].

Ainsi, malgré la grande diversité des genres *Plasmodium* et *Anopheles*, et au vu de ce qui précède, ce mémoire se concentre en priorité sur les espèces *P. falciparum* et *An. gambiae* s'inscrivant dans la continuité des principales études scientifiques antérieures sur le sujet.

1.2. Transmission et cycle de vie de l'agent pathogène

En dépit des différences observées entre les espèces de *Plasmodium* pathogènes pour l'homme, toutes partagent des cycles de vie globalement similaires[14]. Le cycle de vie de *Plasmodium* se révèle particulièrement complexe. En effet, *Plasmodium* est un parasite hétéroxène autrement dit parasitant plusieurs organismes hôtes successif au cours de son cycle, ciblant divers types cellulaires[15]. Tout au long du cycle de vie, les processus de développement et de différenciation cellulaire sont régis par des facteurs de transcription (**Figure supplémentaire 1**) et des facteurs environnementaux agissant directement ou indirectement sur l'expression d'un ensemble de gènes identifiés chez différents modèles de *Plasmodium*[16].

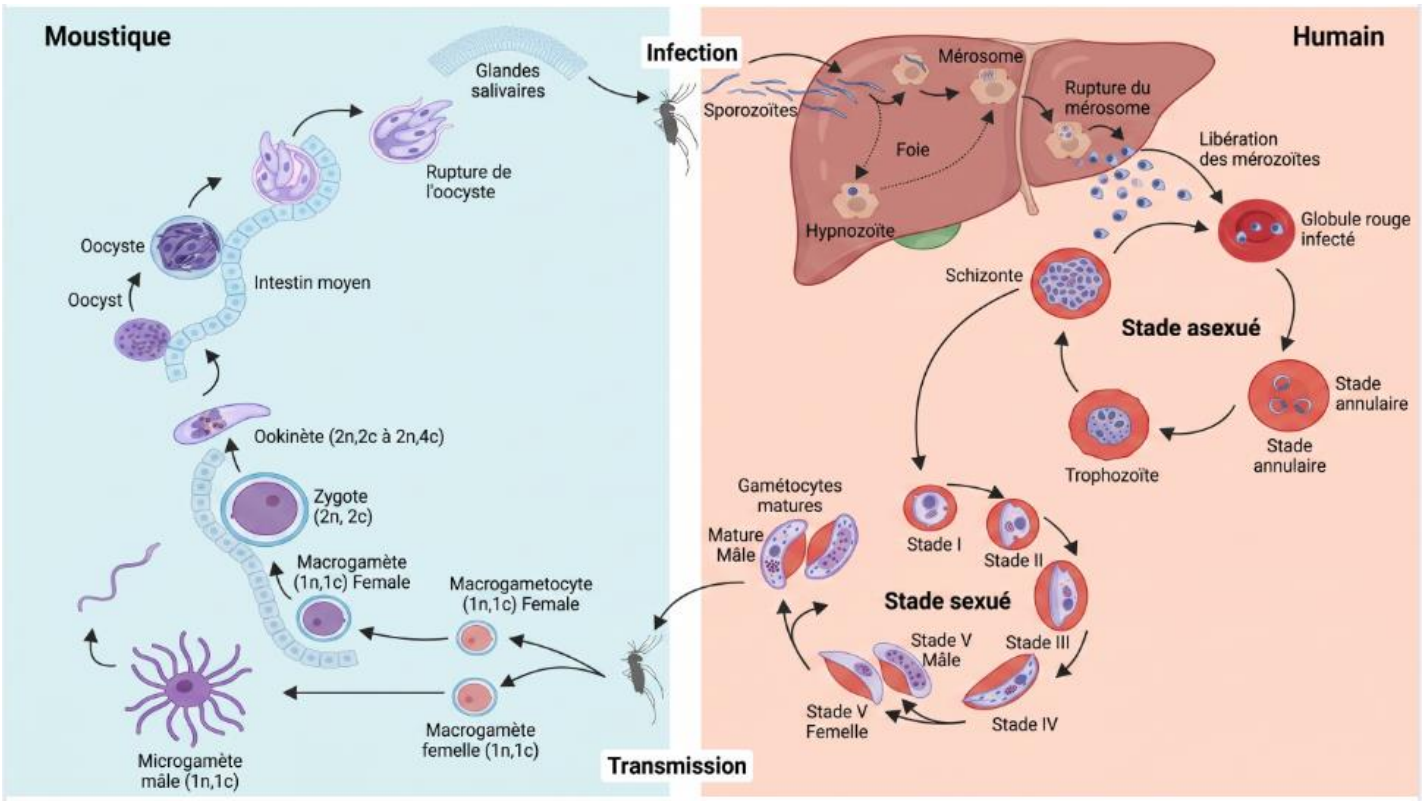


Figure 2 : Cycle de vie de *Plasmodium*, adapté de Chahine et Le Roch (2022)[17]. Créé avec BioRender.com

Le cycle de vie de *P. falciparum* chez *Homo sapiens* débute avec la piqûre d'un individu sain par une femelle *Anopheles* infectée. Le repas sanguin du moustique marque l'infection du parasite chez l'homme en l'inoculant, via la salive du moustique, sous la forme de sporozoïtes mobiles introduits directement à l'intérieur du derme de l'individu[18]. Les sporozoïtes pénètrent ensuite dans la circulation sanguine et migrent vers le foie[18]. Une fois à l'intérieur d'un hépatocyte, le parasite initie une série de différentiation et de réplication cellulaires afin de générer des milliers de mérozoïtes[19]. Par la suite, des mérosomes, contenant des centaines de mérozoïtes, bourgeonnent à partir de de la membrane plasmique de la cellule infectée et pénètrent directement dans les sinusoïdes hépatiques[19]. Les mérosomes restent intacts dans la circulation sanguine jusqu'à ce qu'ils atteignent les poumons, où ils se rompent et libèrent les mérozoïtes[19].

Une fois libérés dans le sang, les mérozoïtes envahissent les érythrocytes (ou globules rouges, GR) et déclenchent le cycle de développement intra-érythrocytaire (CDI)[17]. Il débute par le cycle de développement asexuée (CDA) de *P. falciparum* aboutissant à la multiplication de la parasitémie par prolifération des mérozoïtes[16,17]. L'invasion des GR par les mérozoïtes consiste en un processus complexe en plusieurs étapes, impliquant de nombreuses protéines parasitaires et récepteurs membranaires érythrocytaires (**Figure supplémentaire 2**) [16]. Après avoir envahi un GR, les mérozoïtes se différencient en suivant successivement 3 stades cellulaires ; le stade annulaire en relative dormance ; le stade de trophozoïte au cours duquel la chromatine se décondense afin de permettre une transcription et une activité cellulaire intense; le stade

schizonte où le parasite subit des réplications d'ADN répétées pour former un cellule multinucléé, puis se segmente pour former de nouveaux mérozoïtes[16,17]. La libération des mérozoïtes nouvellement formés dans le plasma marque la fin du cycle et en induit un second par l'invasion de nouveaux GR. Chez *P. falciparum*, le CDA dure en moyenne 48h et est répété de très nombreuses fois jusqu'à atteindre une biomasse de 10^{13} à 10^{14} parasites par hôte[14,20].

L'atteinte de cette parasitémie entraine une compétition féroce entre parasites pour les derniers GR non-infectés. Le stress ainsi induit par cette compétition déclenche l'activation de certains gènes régulant positivement l'expression de facteurs de transcription impliqués dans la gamétocytogenèse[21,22]. La production de ces facteurs de transcription initie alors la différentiation en gamétocytes d'une sous-population de schizontes devenus gamétocytes-compétents (GC)[21,22]. Ces-derniers produisent des mérozoïtes qui envahissent les GR pour ensuite se différencier en gamétocytes matures en suivant 5 stades de développement successifs (I à V)[21,22]. *In vivo*, cette maturation en gamétocytes a lieu au niveau de la moelle osseuse[21,22]. Les stades immatures (I à IV) y sont séquestrés quand seuls les gamétocytes de stade V quittent cette-dernière pour entrer dans la circulation sanguine, avant de migrer en direction des capillaires dermiques et de s'y accumuler circulant dans le sang du malade[21,22]. Les gamétocytes y acquièrent leur pleine maturité en devenant infectieux pour les espèces vectrices d'*Anopheles* avant de finalement y demeurés pour une durée de vie moyenne comprise entre 3 à 6 jours[22]. Cette exceptionnelle longévité des gamétocytes matures offre au parasite une brève période au cours de laquelle il lui est alors possible d'infecter une femelle moustique durant l'un de ses repas sanguins[21]. En aboutissant à la formation de femelles *Anopheles* porteuses du parasite, la formation de gamétocytes marque la fin du cycle vertébré de *P. falciparum* tout en étant directement impliqué dans la transmission de ce-dernier entre l'homme et le moustique[17].

Au cours de la maturation des gamétocytes, les schizontes GC se différencient en 2 sous-populations de gamétocytes dimorphiques : les microgamétocytes (gamétocytes mâles) et les macrogamétocytes (gamétocytes femelles)[22]. Une fois entrés dans le système digestif du moustique femelle et être arrivés au niveau de son intestin, les gamétocytes quittent leur GR et subissent une série de différenciation cellulaire afin de former des gamètes[20]. Les microgamètes mâles fécondent les macrogamètes femelles, chaque couple formant un zygote, seul stade diploïde dans le cycle de vie de *P. falciparum*[20,22]. Suite à différentes recombinaisons et ségrégations chromosomiques, les zygotes se développent en ookinètes mobiles[15,22]. Ces-derniers pénètrent la paroi épithéliale de l'intestin pour finalement s'y enkyster et se développer en oocystes[17]. En quelques jours, les oocystes produisent plusieurs milliers de sporozoïtes par sporogonie qui gagnent par la suite les glandes salivaires du moustique[21,22]. De là les sporozoïtes pourront initier un nouveau cycle de vie en étant injectés, avec la salive du moustique infecté, directement au niveau du derme d'un nouvel individu, l'infectant à son tour[17].

Ainsi, le cycle biologique de P. falciparum repose sur une alternance entre une multiplication asexuée chez l'Homme et une reproduction sexuée chez le moustique. Parmi ces différentes étapes, le cycle intraérythrocytaire joue un rôle central puisqu'il est responsable des manifestations cliniques de la maladie et constitue la principale cible des traitements antipaludiques.

1.3. Aspects cliniques et pathogenèse de la maladie

L'infection d'un individu par *Plasmodium* déclenche chez lui la contraction du paludisme et le développement d'une série de symptômes associés à la maladie. Dans sa forme bénigne, le paludisme se manifeste généralement par un ensemble de symptômes non spécifiques tels que fièvre, frissons, sueurs, céphalées, nausées, vomissements, myalgies et malaise général[16].

Parmi ceux-ci, les fièvres intermittentes constituent un signe clinique typique de la maladie. En effet, les fièvres paludiques se caractérisent par un schéma de développement dit de « frissons-fièvre-transpiration »[16]. Chaque crise débutant par des frissons et des tremblements, suivis d'une forte fièvre, d'une transpiration abondante, avant de finalement retourner à une température normale[16]. Une autre caractéristique importante de ces épisodes fiévreux est leur périodicité variable suivant l'espèce de *Plasmodium* responsable de l'infection[1]. Chez *P. falciparum*, les crises fébriles occasionnées interviennent généralement toutes les 48h suivant un cycle dit tertiaire[23]. La rupture synchronisée des globules rouges infectés (GRi) à la fin des 48h de chaque CDA explique le caractère périodique de la fièvre[16,23]. En effet, lors de celle-ci, les mérozoïtes et les métabolites pro-inflammatoires dérivés de l'hémoglobine, formés au cours du CDA, sont libérés dans le sang avant d'être phagocytés par les macrophages et cellules dendritiques de l'hôte[24,25]. Une fois phagocytés, ils induisent chez les phagocytes la biosynthèse et la sécrétion de cytokines pyrogènes (TNF-α, IL-1β et IL-6) conduisant à l'élévation de la température responsable des épisodes fébriles[16,24,25].

En plus des cycles de fièvres, l'infection, peut, suite à un diagnostic tardif ou à un traitement inadéquat, conduire à des complications menant aux formes sévères du paludisme[16]. Ces complications impliquent généralement une anémie sévère (hémoglobine < 7 g/dL) et une série de pathologies touchant différents organes (splénomégalie, dysfonctionnement hépatique, œdème pulmonaire, etc.)[16,24]. De surcroît à la rupture des GRi, l'hémolyse intravasculaire des GR sains, la diminution de leur durée de vie en circulation ainsi qu'une érythropoïèse déréglée sont autant de mécanismes pathogénétiques impliqués dans le développement des anémies sévères associés au paludisme[24,26]. En outre, les formes cérébrale et placentaire figurent parmi les plus sévères de la maladie[16]. Elles sont respectivement associées à de lourdes séquelles neurologiques et à des complications obstétricales telles que la prématurité ou un faible poids de naissance[16]. Les enfants de moins de cinq ans et les femmes enceintes, qui sont les populations les plus touchées par ces formes, constituent ainsi les populations à risque de de la maladie[16].

Les complications liées à ces formes sévères résultent de divers mécanismes pathogénétiques mis en œuvre par *P. falciparum* au cours de son CDA[24,27]. Parmi ceux-ci, la séquestration des GRi aux niveaux des endothéliums vasculaires de l'hôte constitue un facteur clé de ces complications[1,24]. En temps normal, les érythrocytes sénescents ou défectueux sont principalement éliminés de la circulation sanguine par les macrophages présents dans la rate[25,27]. En adhérant à l'endothélium vasculaire, les GRi retardent cette élimination splénique et favorisent le maintien de l'infection au stade sanguin[25,27]. Les phénomènes de cytoadhérence responsables de cette séquestration résultent principalement de l'interaction d'une classe spécifique de protéines membranaires présentes à la surface des GRi, appelées *Pf*EMP-1 pour *P. falciparum* erythrocyte membrane protein 1, qui se lient aux récepteurs membranaires des cellules endothéliales[16]. Les *Pf*EMP-1 comportent un grand nombre de variants qui interagissent avec différents types de récepteurs (**Figure supplémentaire 3**) suivant l'organe vascularisé par le vaisseau sanguin dans lequel se trouvent les GRi[16,25]. Malgré cette variabilité, chaque érythrocyte infecté n'exprime qu'une seule variante de *Pf*EMP1 à sa surface[27]. De cette manière, la variation antigénique des *Pf*EMP-1 contribue à l'évasion du parasite face à la réponse immunitaire de l'hôte[27]. En plus de leur rôle majeur dans la séquestration vasculaire des GRi, les *Pf*EMP-1 sont également impliqués dans des phénomènes de cytoadhérence entre GRi et non-infectés par l'intermédiaire de liaisons avec des récepteurs et des antigènes membranaires présents à la surface des GR sains[1,16]. Ces phénomènes de cytoadhérence conduisent à la formation de structure cellulaire appelées rosettes au sein desquelles un GRi est entièrement recouvert à sa surface par plusieurs érythrocytes sains[27]. Pour le parasite, les rosettes constituent un formidable mécanisme d'évasion immunitaire[27]. En effet, les érythrocytes sains portés en surface par le GRi agissent à la manière d'une barrière physique empêchant l'opsonisation d'anticorps dirigés contre les protéines membranaires des GRi impliquées dans la formation des rosettes[27].

Ces-dernières ainsi que les GRi séquestrés sur l'endothélium vasculaire sont responsables de la formation d'agrégats cellulaires entre GR et GRi à l'intérieur des vaisseaux sanguins, les obstruant progressivement et pouvant les conduire à l'occlusion[1,16]. En cas de paludisme cérébral, l'occlusion des capillaires cérébraux mène à des hypoxies cérébrales et à la formation d'œdème cérébraux responsables des complications neurologiques associées à cette forme sévère de la maladie[16,24]. Il en est de même en cas de paludisme placentaire ; l'occlusion vasculaire empêchant l'apport des nutriments et de l'oxygène en suffisance pour le fœtus depuis le sang de la mère ce qui conduit aux retards de développement observés chez le fœtus[24].

1.4. Prévention et chimioprophylaxie

Afin de prévenir la contraction du paludisme et son développement en formes sévères chez les publics les plus à risques, plusieurs mesures de prévention sont actuellement mises en place par les organismes de santé dans de nombreux pays endémiques de la maladie[2]. Elles s'y

organisent en une approche intégrée combinant lutte antivectorielle, vaccination et chimioprophylaxie[2]. Parmi celles-ci, la chimioprophylaxie constitue, en l'absence de vaccin offrant une protection complète, la principale mesure de protection des voyageurs en direction ou provenance de ces pays mais également des femmes enceintes et des enfants de moins de 5 ans qui y résident[28]. Les principales stratégies de chimioprophylaxie actuellement recommandées par l'OMS comprennent le traitement préventif intermittent chez la femme enceinte (IPTp), chez les nourrissons (IPTi) et la chimioprévention saisonnière du paludisme (SMC)[2,29]. Toutes reposent sur l'administration régulière d'antipaludiques selon des intervalles et des durées spécifiques à chacune d'entre elles[29,30].

Pour constituer de bons candidats en chimioprophylaxie et prévenir l'infection par le parasite, les antipaludiques sélectionnés doivent être efficaces y comprit contre ses stades infectieux exoérythocytaires et présenter une longue couverture de protection après administration[12,28]. En présentant ces propriétés ciblées, les antifolates et les 8-aminoquinoléines occupent une place centrale dans la chimioprophylaxie antipaludique[12,31].

La famille des antifolates rassemble des composés chimiques aux structures très différentes sans relations structurelles apparente. La cohérence de cette classe repose sur l'inhibition commune par ses composés de la voie métabolique des folates, essentielle dans la synthèse d'ADN chez le parasite[12]. En effet, cette voie métabolique aboutit à la formation de tétrahydrofolate (THF), une coenzyme dérivée de l'acide folique (Vit B9) indispensable à la biosynthèse de certains acides aminés et des purines[32]. Plus concrètement, la pyriméthamine et le proguanil (**Annexe, Figure 4**) inhibent la dihydrofolate réductase (DHFR) l'enzyme responsable de la réduction du dihydrofolate en THF[12]. La sulfadoxine (**Figure supplémentaire 4**), un antibiotique de la famille des sulfamides, inhibe quant à elle la dihydroptéroate synthase (DHPS), l'enzyme catalysant la formation de dihydroptéroate à partir de l'acide 4-aminobenzoïque (PABA)[12].

Les 8-aminoquinoléines constituent une famille de molécules caractérisées par la présence d'un cycle quinoléique substitué en position 8 par un groupe amine d'où elles tirent leur nom[12]. Leurs mécanismes d'actions sont encore mal comprit mais il semblerait que ces composés perturbent la chaine de transport d'électron des mitochondries, conduisant à la production d'espèces réactives de l'oxygène (ROS) responsables de stress oxydatif chez *Plasmodium*[12]. Les 2 principaux antipaludiques de cette famille actuellement utilisés en chimioprophylaxie sont la primaquine et la tafenoquine (**Figure supplémentaire 4**)[12,28].

1.5. Traitements actuels et résistances thérapeutiques

Conjointement aux stratégies de chimioprophylaxie, de nombreuses thérapies médicamenteuses curatives ont été développées afin d'atteindre un double objectif. D'une part, éliminer le parasite au stade intraérythrocytaire responsable des symptômes et complications

associées à la maladie. D'autre part, répondre à la demande de nouveaux traitements efficaces face aux résistances naissantes contre les thérapies déjà existantes[12].

Dans cette optique, les thérapies combinées de l'artémisinine (TCA) constituent actuellement les traitements officiels recommandés par l'OMS en particulier dans les zones de résistance du parasite[2]. Concrètement, ces thérapies combinées consistent en l'administration d'une formulation couplant des antipaludiques aux mécanismes d'action distincts ce qui complique le développement d'une résistance au traitement par le parasite. De cette manière, les TCA associent à un dérivé de l'artémisinine à l'action rapide, un second composé dérivé de la quinine à la durée de vie plus longue[12]. Cette combinaison thérapeutique permet d'éliminer rapidement le parasite de l'organisme tout en limitant la recrudescence de l'infection dans les moments suivant la prise du traitement[12]. Parmi les différentes TCA existantes, on peut citer à titre d'exemple l'artéméther-luméfantrine, l'artésunate-amodiaquine, la dihydroartémisinine-piperaquine ainsi que l'artésunate-méfloquine qui figurent parmi les combinaisons les plus utilisées dans la lutte antipaludique[2,12].

En rentrant dans la composition des TCA, les dérivés de la quinine et de l'artémisinine demeurent les principaux antipaludiques employés dans la lutte contre cette maladie. D'un point de vue chimique, la quinine et la majorité de ses dérivés, excepté la luméfantrine et la halofantrine, sont caractérisés par la présence d'un hétérocycle quinoléinique (**Figure supplémentaire 5**)[12]. D'un point de vue biologique, ces composés quinoléiniques interfèrent dans les processus de détoxification des hèmes libres produits au cours du CDI de *Plasmodium*[12]. En effet, au cours de celui-ci, le parasite utilise l'hémoglobine présente à l'intérieur des GRi comme source d'acides aminés essentiels à son développement[33]. Lors de sa dégradation à l'intérieur de la vacuole digestive du parasite, l'hémoglobine libère ses hèmes sous forme libre et en concentration élevée. Dans ces conditions, ces-derniers constituent un déchet toxique pour le parasite pouvant être à l'origine, de déstabilisation membranaire, d'inhibition enzymatique et de stress oxydatif induits par la production de ROS[34]. *Plasmodium* neutralise cette menace en convertissant les hèmes libres en un polymère inerte pour la cellule ; l'hémozoïne (**Figure supplémentaire 6**)[12,33]. La plupart des dérivés de la quinine inhibe la formation de l'hémozoïne, soit en inhibant les enzymes responsables de cette polymérisation, soit en s'adsorbant par complexation au cristal de β-hématine en formation[35]. Cette inhibition provoque l'accumulation d'hèmes libres toxiques et la formation de complexes hème-inhibiteur responsables de la mort du parasite[35].

Chimiquement, l'artémisinine et ses dérivés sont des sesquiterpènoïdes tricycliques caractérisés par la présence d'une liaison endoperoxyde entre le carbone 2 et 9 de leur cycle oxépanique[36]. Chaque dérivé est caractérisé par un groupement fonctionnel spécifique lié au carbone 13 de son cycle tétrahydropyrane se substituant à l'oxygène doublement lié de la fonction lactone initialement présente chez l'artémisinine[37]. La liaison endoperoxyde est le groupement

fonctionnel clé de l'action antipaludique de ces composés[36]. En effet, lors du CDI, les hèmes toxiques produits initie le clivage de la liaison endoperoxyde par une réaction analogue à celle de Fenton, transformant les dérivés de l'artémisinine en radicaux libres alkyles (**Figure supplémentaire 7**)[37]. Ces radicaux alkyles sont alors responsables de l'alkylation des hèmes restants et de plusieurs protéines aux fonctions biologiques diverses et essentielles au bon développement du parasite[36,37]. Les adduits hème-artémisinine qui en résulte bloquent la formation de β-hématine par encombrement stérique, préservant l'activité oxydante de l'hème lié, responsable de sa cytotoxicité parasitaire [37]. Conjointement à ces mécanismes, les ROS issus du clivage de la liaison endoperoxyde causent l'oxydation de certains lipides membranaires et des dégradations de l'ADN du parasite[36]. La diversité des modes d'actions de l'artémisinine et de ses dérivés explique leur efficacité foudroyante et rend difficile le développement de résistance même si malheureusement certaines résistances partielles tendent à apparaitre dans les zones endémiques de la maladie[12].

Il a été démontré par plusieurs études récentes que ces résistances étant essentiellement due à des mutations sur les gènes de protéines intervenant dans l'endocytose de l'hémoglobine depuis le cytosol du GRi vers la vacuole digestive du parasite[36,38] (**Figure supplémentaire 8**). Parmi elles, les mutations de la protéine *Pf*Kelch13 semblent aujourd'hui être la plus répandue. Ces mutations sont responsables d'une diminution du transport de l'hémoglobine vers la vacuole digestive. Cette réduction entraîne une moindre libération d'hème libre et, par conséquent, une activation moins efficace des artémisinines. La baisse de l'absorption et de la dégradation de l'hémoglobine ralentit le développement des parasites à ce stade, favorisant leur survie après une exposition brève à l'artémisinine et retardant leur élimination au cours du traitement[38]. De plus, des avancées récentes semblent suggérer que les protéines K13 mutantes favoriseraient certains mécanismes de réparations des lésions dans l'ADN et favoriseraient l'expression de certains gènes impliqués dans la réponse face au stress oxydatif[36].

Face à l'émergence de ces résistances aux TCA, l'OMS appelle à réagir en veillant à ce que des traitements efficaces restent disponibles. Cela passe notamment par la mise en place d'interventions alternatives dans le traitement du paludisme et le développement des nouveaux principes thérapeutiques. Dans cette optique, l'utilisation et l'étude des plantes médicinales employées en médecine traditionnelle par les populations des zones endémiques suscitent un intérêt grandissant de la part de la communauté scientifique et des instituts de santé.

1.6. Les plantes médicinales, un levier stratégique contre le paludisme

Les sociétés humaines peuplant les régions endémiques du paludisme n'ont pas attendus le développement de l'industrie pharmaceutique et les connaissances de la médecine moderne pour traiter les symptômes associés à cette maladie. Historiquement, la lutte contre le paludisme s'y inscrivait dans une médecine traditionnelle basée en grande de partie sur une pharmacopée de plantes médicinales indigènes. Concrètement, la médecine traditionnelle reposait sur la

reconnaissance des symptômes courants associés aux maladies endémiques et surtout sur la connaissance, l'identification et la préparation des plantes médicinales appropriées à leur traitements[39,40].En Afrique, foyer principal de la maladie, la grande majorité de la population continue à dépendre de la médecine traditionnelle dans le traitement de nombreuses maladies dont le paludisme[41]. La place centrale qu'y occupe la médecine traditionnelle, est particulièrement visible au sein des zones rurales, où les difficultés de disponibilité et d'accès aux infrastructures de santé modernes, couplés à grande disponibilité des plantes médicinales locales et à l'ancrage culturel fort des remèdes traditionnels ont fait d'elle une alternative de premier choix pour ces populations[41].

Dans le cas de la lutte antipaludique, de nombreuses espèces de plantes médicinales (PM), appartenant à une grande diversité de familles et de genres réparties sur plusieurs pays d'Afrique, sont aujourd'hui massivement utilisées en médecine traditionnelle[39–41]. Malgré une certaine disparité observée entre pays sur les espèces utilisées, plusieurs généralités peuvent être tirées quant aux PMs utilisées contre le paludisme. Tout d'abord, parmi les familles les plus employées en médecine traditionelle, on peut citer les *Euphorbiaceae* qui, selon une revue couvrant 722 études entre 1989 et 2020, constituent la seconde famille la plus étudiées derrière les *Fabaceae*[42]. Toujours selon cette même revue, plus de 43% des études évaluant l'activité antiplasmodiale des PMs issue de cette famille ont rapportées une très bonne activité antipaludique de ces espèces (CI_{50} < 5 µg/mL ou un taux de suppression ≥ 50% à 100 mg/kg de poids corporel/jour)[42]. Autant d'éléments qui soulignent l'importance de cette famille dans les remèdes traditionnels antipaludiques. Concernant les parties végétales employées et leurs préparations, les racines reviennent régulièrement comme le second organe le plus utilisé juste derrière les feuilles, rappelant leur richesse en molécules bioactives[41,42]. Les décoctions, infusions et macérations constituent quant à elles parmi les techniques de préparations les plus employées, ces-dernières étant dans leur grande majorité administrés oralement[40,41]. Enfin, le méthanol et le dichlorométhane représentent les 2 solvants d'extraction les plus utilisés dans les études d'évaluation des activités antipaludiques des PMs utilisées pour lutter localement contre le paludisme en Afrique[42].

Néanmoins, malgré les nombreuses activités antipaludiques aujourd'hui bien établies scientifiquement de plusieurs centaines de ces espèces de PMs, l'absence de standardisation dans les remèdes traditionnels demeure un obstacle majeur à leur reconnaissance et à leur diffusion par les organismes de santé. En conséquence, consciente de la source inextinguible de nouvelles thérapies et de composés thérapeutiques novateurs que représente la médecine traditionnelle, l'OMS créa en 2022 le Centre mondial de la médecine traditionnelle afin d'y rassembler les connaissances, les données scientifiques, les réglementations, les innovations et les ressources liées à ces pratiques. Dans la continuité, l'OMS rappelle dans sa stratégie mondiale sur la médecine

traditionnelle 2025-2034, la nécessité d'assurer la protection de la propriété intellectuelle et la valorisation des savoirs autochtones en accord avec le protocole de Nagoya[43].

2. Étude botanique du genre *Croton*

2.1. Aperçu sur le genre

Le genre *Croton* constitue l'un des genres les plus diversifiés de la famille des *Euphorbiaceae*, avec près de 1 300 espèces décrites réparties dans les régions tropicales et subtropicales du monde[44]. Sa distribution est principalement concentrée en Afrique subsaharienne, en Amérique du Sud et en Asie du Sud-Est, où se trouve la majorité des espèces. Toutefois, certaines espèces s'étendent jusqu'aux régions tempérées chaudes, notamment dans le sud des États-Unis[44]. Selon Baccelli *et al.* (2007), la distribution naturelle des *Crotons* est limitée à la Malaisie et aux îles du Pacifique. En raison de leur feuillage brillant et de leur grande diversité de couleurs, ces plantes sont largement cultivées comme espèces ornementales et sont utilisées pour embellir les jardins.

En Afrique, et plus particulièrement au Cameroun, où plusieurs espèces jouent un rôle important en médecine traditionnelle, le genre *Croton* est représenté notamment par *C. oligandrus*, *C. macrostachyus*, *C. zambesicus*, *C. sylvaticus* et *C. aubrevillei*[45–47].

2.2. Aperçu botanique et caractères morphologiques

Les espèces du genre *Croton* regroupent principalement des arbres et des arbustes, mais comprend également, plus rarement, des plantes herbacées et des lianes. Les espèces sont généralement monoïques et se caractérisent par la présence d'un indument composé de poils étoilés ou d'écailles peltées, ainsi que par un latex dont la couleur varie de transparent à coloré et par une odeur souvent âcre[48,49]. Les feuilles (2,5-7,5 cm de long et 1-5 cm de large), simples et le plus souvent alternes, peuvent être entières, dentées ou plus rarement lobées. Elles présentent généralement des glandes discoïdes à la base du limbe et prennent fréquemment une coloration jaunâtre, orangée ou rougeâtre au cours de leur vieillissement[50].

Concernant les inflorescences, elles sont terminales ou parfois axillaires, et se présentent sous forme de racèmes ou d'épis, plus rarement paniculées. Elles sont généralement androgynes, les fleurs femelles étant disposées à la base de l'inflorescence et les fleurs mâles vers son extrémité[48]. Les fleurs mâles possèdent les plus souvent cinq sépales, cinq pétales, ainsi qu'un nombre variable d'étamines insérées sur un réceptacle généralement velu. Les fleurs femelles, quant à elles, présentent des pétales réduits ou absents et un ovaire généralement triloculaire, renfermant un ovule par loge et surmonté de styles bifides ou divisés à plusieurs reprises[49].

Les fruits sont majoritairement des capsules déhiscentes s'ouvrant en trois coques, bien que certaines espèces produisent des drupes ou des baies. Enfin, les graines ont une morphologie similaire à celle d'une tique, à l'origine du nom du genre, dérivé du mot grec « kroton » qui signifie « tique »[44]. L'ensemble de ces caractères morphologiques, notamment les trichomes étoilés, les glandes foliaires et la structure des inflorescences, constitue des critères diagnostiques majeurs et caractéristiques du genre *Croton*[51].

2.3. Taxonomie et classification systématique du genre *Croton*

La classification taxonomique du genre Croton repose sur une hiérarchie de catégories qui permet de regrouper les différentes espèces en fonctions de leurs caractéristiques communes. Le **Schéma 1** ci-dessous illustre cette hiérarchie sur base des données phylogénétiques les plus récentes.

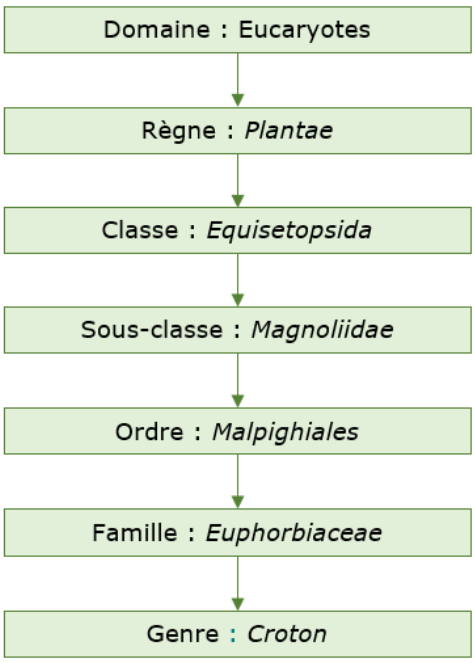


Schéma 1 : Classification systématique du genre Croton selon la classification APG III (2009) [52].

2.4. Aspect botanique de *Croton aubrevillei* J. Leonard

2.4.1. Caractères morphologiques

Croton aubrevillei est un petit arbre monoïque pouvant atteindre 15 m de hauteur, caractérisé par un indument composé de poils étoilés et d'écailles. Ses feuilles, simples, alternes à verticillées, présentent un limbe elliptique à ovale-elliptique, à base arrondie à cordée munie de deux glandes et à sommet aigu à acuminé[53]. La face supérieure est couverte de poils bruns plus

ou moins denses, tandis que la face inférieure est revêtue d'écailles blanc argenté. Les inflorescences sont des grappes terminales, portant de nombreuses fleurs mâles à l'extrémité et une à deux fleurs femelles à la base. Ses fleurs, unisexuées, régulières et pentamères, sont de couleur blanche et son fruit est une capsule globuleuse, légèrement trilobée, renfermant trois graines ellipsoïdes de couleur brune[53]. Cette espèce est fréquemment rencontrée dans les forêts et les zones boisées denses.



Figure 3 : Écorces du tronc, feuilles, et racines de C. aubrevillei (Taguimjeu, 2020).

2.4.2. Habitat et répartition géographique

Croton aubrevillei est une espèce des forêts tropicales d'Afrique occidentale et centrale. Sa répartition géographique s'étend principalement de la Guinée à la Côte d'Ivoire, avec des occurrences également signalées au Libéria, au Ghana, au Gabon, en République centrafricaine et au Cameroun[53]. Au Cameroun, les données consultées à l'Herbier National du Cameroun indiquent que l'espèce est actuellement présente uniquement dans la région du Centre, plus précisément dans la ville de Nanga-Eboko.

L'espèce est inféodée aux forêts tropicales humides de basse altitude, où elle se développe aussi bien dans les forêts sempervirentes que dans les forêts semi-décidues. Elle est principalement observée dans les formations forestières primaires et secondaires, sur des sols bien drainés, sous un climat caractérisé par une pluviométrie élevée et une courte saison sèche. Bien qu'elle présente une certaine amplitude écologique lui permettant de s'adapter à des conditions environnementales variées, sa répartition est aujourd'hui menacée par la dégradation et la fragmentation de son habitat, principalement imputables à la déforestation et à l'expansion des activités agricoles.

Selon les principales références taxonomiques internationales, *Croton aubrevillei* J.Léonard est un taxon accepté et ne présente aucun synonyme nomenclatural ou taxonomique reconnu.

2.5. Intérêts et utilisations thérapeutiques des plantes du genre *Croton*

Au sein de leur aire de répartition naturelle, de nombreuses espèces du genre *Croton* occupent une place importante en médecine traditionnelle pour le traitement d'une grande diversité de pathologies. Les différentes parties de la plante (feuilles, racines, écorces, graines et bois) sont utilisées, seules ou en association, sous diverses formes galéniques selon les pratiques locales. Plusieurs de ces espèces sont également employées dans la prise en charge du paludisme (**Tableau 1**). À titre d'exemple, *C. sylvaticus* et *C. dichogamus* figurent parmi les espèces les plus fréquemment citées dans les études ethnobotaniques récentes[10]. À celles-ci s'ajoute *C. aubrevillei*, dont l'utilisation traditionnelle contre le paludisme a été mise en évidence par notre enquête ethnobotanique.

Tableau 1 : Quelques espèces du genre Croton utilisées en médecine traditionnelle pour lutter contre le paludisme.

Espèces	Organes	Usages	Préparations	Références
C. aubrevillei	Racines, feuilles, écorces du tronc	Paludisme	Macération, décoction, infusion	-
C. sylvaticus Hochst.	Feuilles	Purgatif	Infusion	44
	Racines et écorce	Tuberculose, fièvre, troubles digestifs	Décoction	
	Écorces	Paludisme	-	
C. megalobotrys Müll. Arg.	Graines	Paludisme	-	54
	Racines, feuilles, fruits et graines	Purgatif, fièvres, douleurs	Infusions, décoctions, macérations	
C. gratissimus Burch	Écorces	Paludisme, troubles gastriques et intestinaux	Infusion	55
	Feuilles	Paludisme, dysenterie, diabète	Décoction	
C. mubango Müll. Arg.	Écorces	Paludisme, fièvres, gonorrhée, splénomégalie	Décoction	56
C. dichogamus Pax.	Feuilles	Paludisme	Infusion, décoctions	57

Les usages traditionnels des espèces du genre *Croton* en médecine traditionnelle laissent supposer la présence de composés bioactifs. L'étude de leurs compositions chimiques et de leurs propriétés biologiques permet ainsi de mieux comprendre et, dans certains cas de justifier scientifiquement leurs applications empiriques.

2.6. Études antérieures sur le genre *Croton*

2.6.1. Études pharmacologiques

Plusieurs études pharmacologiques consacrées aux espèces du genre *Croton* ont mis en évidence un large éventail d'activités biologiques, corroborant ainsi leurs utilisations thérapeutiques traditionnelles. Une revue récente consacrée à la phytochimie et aux propriétés pharmacologiques du genre a montré que la cytotoxicité constitue l'activité biologique la plus fréquemment rapportée pour les métabolites secondaires isolés des espèces de *Croton* (52 %), suivie des activités anti-inflammatoires (13,4 %) et antiplasmodiales (9 %)[10]. Ces résultats soulignent le potentiel du genre *Croton* comme source de composés bioactifs d'intérêt thérapeutique.

Dans ce contexte, de nombreuses études ont mis en évidence les activités antipaludiques des extraits de plusieurs espèces appartenant au genre (**Tableau 2**).

Plusieurs de ces extraits ont notamment montré une activité antiplasmodiale *in vitro* contre différentes souches de *P. falciparum*, qu'elles soient sensibles ou résistantes aux antipaludiques de référence, notamment la souche *Pf*CAM06, isolée au Ghana chez des patients infectés. Les activités observées, allant de bonnes à très élevées selon les critères de classification retenus, suggèrent que les métabolites secondaires responsables de ces effets pourraient agir par des mécanismes d'action différents de ceux des antipaludiques actuellement disponibles. Par ailleurs, les activités antiplasmodiales observées *in vitro* se sont, dans plusieurs études, traduites par une efficacité prometteuse *in vivo* dans des modèles murins infectés par *P. berghei*. En effet, plusieurs extraits ont induit une réduction significative de la parasitémie aux doses évaluées, sans provoquer de signes apparents de toxicité chez les animaux.

Tableau 2 : Liste non-exhaustive des activités antiplasmodiales d'extraits de quelques espèces du genre Croton.

Espèces	Organes	Échantillons	Souches	Résultats[a]	Références
In vitro Plasmodium falciparum					
C. sylvaticus Hochst.	Écorces du tronc	Extrait, dichlorométhane:méthanol (1:1, v/v)	*Pf*3D7 (chloroquine-sensible)	CI_{50} = 18,47 ± 4,08 µg/mL (Activité modérée)	45
			*Pf*Dd2 (multi-résistante)	CI_{50} = 10,57 ± 0,05 µg/mL (Bonne activité)	
C. penduliflorus Hutch	Feuilles et tiges	Extrait, eau:éthanol (70:30, v/v)	*Pf*FCB (chloroquine-sensible)	CI_{50} = 5,37 ± 0,18 µg/mL (Bonne activité)	58
			*Pf*W2 (chloroquine-résistante)	CI_{50} = 14,03 ± 17,04 µg/mL (Bonne activité)	
			*Pf*CAM06	CI_{50} = 14,66 ± 2,02 µg/mL (Bonne activité)	
C. pseudopulchellus Pax.	Écorces du tronc	Extrait, chloroforme	*Pf*UP1 (chloroquine-résistante)	CI_{50} = 3,45 µg/mL, IC_{95} = 2,91-3,99 µg/mL[b] (Hautement actif)	44,59
C. gratissimus Burch	Feuilles	Extrait, dichlorométhane	*PfD10* (chloroquine-sensible)	CI_{50} = 3,5 µg/mL (Hautement actif)	44,60
C. menyhartii Pax	Feuilles	Extrait, dichlorométhane:méthanol (1:1, v/v)		CI_{50} = 1,7 µg/mL (Hautement actif)	
C. zambesicus Müll. Arg.	Écorces du tronc	Extrait, méthanol	*Pf*W2	CI_{50} = 5,69 ± 0,06 µg/mL (Hautement actif)	44,61
In vivo (Mus musculus* L.) *Plasmodium berghei					
C. macrostachyus Hochst.	Écorces du tronc	Extrait, acétate d'éthyle	*Pb*ANKA (chloroquine-sensible)	SP_{100} = 62%, SP_{250} = 58%, SP_{500} = 82% (Très bonne activité)[c,d]	62
C. dichogamus Pax.	Feuilles	Extrait, eau:méthanol (20:80, v/v)	*Pb*ANKA	SP_{100} = 24,64%, SP_{200} = 27,7%, SP_{400} = 45,29% (Activité modérée)[c,d]	57

[a.] Les activités in vitro des extraits ont été classées comme suit : hautement actif ($CI_{50} \leq 5$µg/mL), bonne activité (5 µg/mL < $CI_{50} \leq 15$ µg/mL), activité modérée (15 µg/mL < $CI_{50} \leq 30$ µg/mL), faible activité (30 µg/mL < $CI_{50} < 50$ µg/mL), inactif ($CI_{50} \geq 50$ µg/mL)[63], CI_{50} = concentration inhibitrice à 50 %; [b.] IC_{95} :Intervalle de confiance (α = 0,05) ; [c.] Test suppressif de 4 jours de Peter ; [d.] SP_{100} , SP_{200} , SP_{250} , SP_{400} , SP_{500} : respectivement les pourcentages de suppression de parasitémie à 100 mg/kg, 200 mg/kg, 250 mg/kg, 400 mg/kg, 500 mg/kg.

Tableau 3 : Quelques composés aux activités antiplasmodiales isolés d'espèces du genre *Croton.*

Espèces	Organes	Composés	Souches	Résultats	Activités[d]	Références
C. kilwae Radcl.-Sm.	Feuilles	Crotokilwaepoxide A	*Pf*Dd2 (multi-résistante)	%In.$_{50}$ = 80-100%[b]	Activité prometteuse	64
		9-Hydroxycrotokilwaepoxide A				
		9-Méthoxycrotokilwaepoxide A				
C. macrostachyus Hochst.	Écorces du tronc	Lupéol ($C_{30}H_{50}O$, M = 426,387 g/mol[a])	*Pf*3D7 (chloroquine-sensible)	CI_{50} = 33,21 ± 0,8 µg/mL ou 77,89 ± 1,88 µM[c]	Activité modérée	65
			*Pf*Dd2	CI_{50} = 21,12 ± 0,13 µg/mL ou 49,53 ± 0,3 µM	Activité modérée	
		Bétuline ($C_{30}H_{50}O_2$, M = 442,381 g/mol)	*Pf*3D7	CI_{50} = 9,2 ± 0,12 µg/mL ou 20,80 ± 0,27 µM	Activité modérée	
			*Pf*Dd2	CI_{50} = 12,70 ± 0,35 µg/mL ou 28,71 ± 0,79 µM	Activité modérée	
C. linearis Jacq.	Feuilles	Laudanidine	*Pf*K1 (chloroquine-résistante)	CI_{50} = 17,70 ± 0,60 µM	Bonne activité	66
		8,14-Dihydrosalutaridine		CI_{50} = 16,70 ± 0,35 µM	Bonne activité	
C. syvaticus Hochst.	Écorces du tronc	6β-Hydroxynorambreinolide (Sylvacrotonine B, $C_{16}H_{26}O_3$, M = 266,188 g/mol)	*Pf*3D7	CI_{50} = 38,93 ± 1,74 µg/mL ou 146,25 ± 6,54 µM	Faible activité	45
			*Pf*Dd2	CI_{50} = 18,44 ± 2,97 µg/mL ou 69,27 ± 11,16 µM	Activité modérée	
		6β-Hydroxynidorellol (Sylvacrotonine F, $C_{20}H_{34}O_3$, M = 322,251 g/mol)	*Pf*3D7	CI_{50} = 21,80 ± 3,25 µg/mL ou 67,65 ± 10,08 µM	Activité modérée	
			*Pf*Dd2	CI_{50} = 11,26 ± 0,028 µg/mL ou 34,94 ± 0,087 µM	Activité modérée	

a. Les masses molaires des composés ont été calculées sur base des masses exactes des isotopes les plus abondants ; b. %In.$_{50}$: pourcentage d'inhibition à 50 µM ; c. CI_{50} calculés à partir des valeurs massiques issues des articles ; d. Les activités *in vitro* des composés ont été classées comme suit : excellente activité ($CI_{50} \leq 1$ µM), bonne activité (1 µM < $CI_{50} \leq 20$ µM), activité modérée (20 µM < $CI_{50} \leq 100$ µM), faible activité (100 µM < CI_{50} < 200 µM), inactif ($CI_{50} \geq 200$ µM)[67], CI_{50} = concentration inhibitrice à 50 %.

Dans la continuité de ces études, plusieurs travaux ont été menés afin d'identifier les molécules responsables des activités antiplasmodiales observées chez de nombreuses espèces du genre *Croton* (**Tableau 3**). Parmi les composés isolés, les alcaloïdes, les triterpènes et les diterpènes figurent parmi les classes chimiques plus actives et sont retrouvés de manière récurrente chez plusieurs espèces. Néanmoins, les activités antiplasmodiales de ces composés atteignent rarement les seuils correspondant à une forte activité selon les critères de classification généralement admis. Ces observations suggèrent que les activités des extraits résulteraient davantage l'action combinée de molécules bioactives agissant en synergie plutôt que de l'action isolée d'un composé hautement actif. Paradoxalement, malgré le nombre important d'études consacrées à l'évaluation des extraits, les investigations portant spécifiquement sur les activités antiplasmodiales des métabolites isolés demeurent relativement peu nombreuses.

Fort heureusement, la grande diversité des métabolites secondaires et de leurs propriétés biologiques associées, ont conduit à ce que des études phytochimiques soient réalisées chez de nombreuses espèces du genre. Elles ont permis d'aboutir à la caractérisation de nombreux composés appartenant à des classes chimiques (diterpènes, triterpènes et alcaloïdes) aux propriétés antipaludiques reconnues[68].

2.6.2. Études chimiques

Divers travaux de criblage phytochimique réalisés sur plusieurs espèces du genre *Croton* ont mis en évidence la présence d'une panoplie de molécules appartenant à diverses classes de métabolites secondaires (**Tableau 4).**

Parmi elles, les diterpènes (67,2%), sont considérés comme des marqueurs chimiotaxonomiques du genre[56]. Ils sont suivis par les alcaloïdes (11,1%) et les autres terpènes (9,1%)[10].

Au sein des diterpènes identifiés chez les espèces du genre *Croton*, trois classes prédominent : les clérodanes (35,6 % ; **1** et **2**), les kauranes (13,4 % ; **5** et **6**) et les labdanes (10,4 % ; **3** et **4**)[10].

Tableau 4 : Quelques composés isolés d'espèces du genre *Croton*.

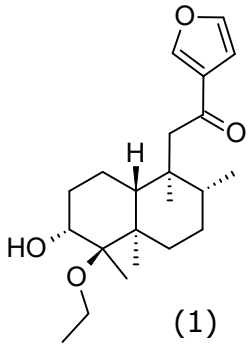
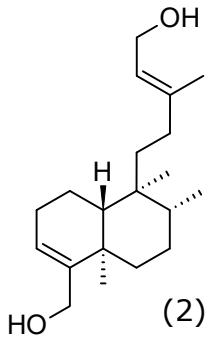
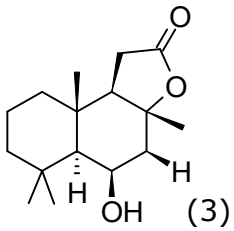
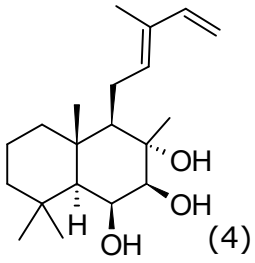
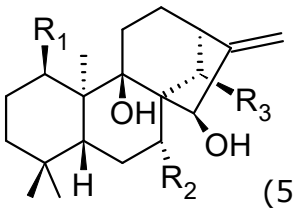
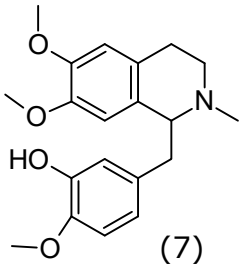
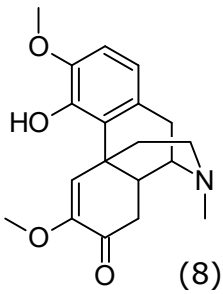
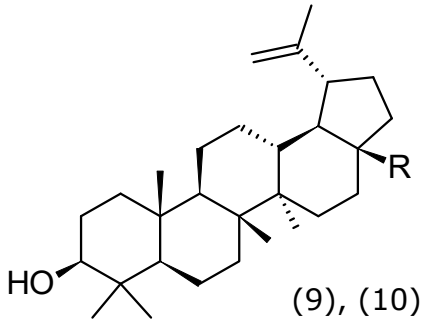
Origines	Composés	Références
	Diterpènes	
Racines de *C. laevigatus* Vahl.	 (1)  (2) **1. 4-Ethoxy-3*a*,4*β*-dihydroxy-15,16-epoxy-12-oxo-cleroda-13-(16),14diène** **2. (13E)-Neocleroda-3,13-diène-15,18-diol**	69
Écorce du tronc de *C. sylvaticus* Hochst.	 (3)  (4) **3. 6*β*-Hydroxynorambreinolide (Sylvacrotonine B)** **4. 6*β*-Hydroxynidorellol (Sylvacrotonine F)**	45
Feuilles et tiges de *C. kongensis* Gagnep.	 (5), (6) **5. R_1 = H, R_2 = R_3 = OH : Crokokaugénoïde B** **6. R_1 = R_2 = R_3 = OAc : Crokokaugénoïde C**	70
	Alcaloïdes	
Feuilles de *C. linearis* Jacq.	 (7)  (8) **7. Laudanidine** **8. 8,14-Dihydrosalutaridine**	66

Tableau 4 : (Suite et fin).

Triterpènes		
Écorce du tronc de *C. macrostachyus* Hochst.	 (9), (10), (11) **9. R = CH_3 : Lupéol** **10. R = CH_2OH : Bétuline** **11. R = COOH : Acide bétulinique**	65

L'étude des plantes médicinales ne se limite pas à leur caractérisation botanique ni au recensement de leurs usages thérapeutiques traditionnels. Elle implique également une investigation approfondie de leur composition chimique, en particulier l'identification et la caractérisation des métabolites secondaires à l'origine de leurs activités pharmacologiques. Dans le cadre de ce travail, les diterpènes ont retenu une attention particulière en raison de leur contribution potentielle à l'activité antiplasmodiale de *Croton aubrevillei*. Il nous a donc semblé pertinent de faire un rappel sur la chimie des diterpènes.

3. Les diterpènes

3.1. Structure et biosynthèse des principales classes de diterpènes

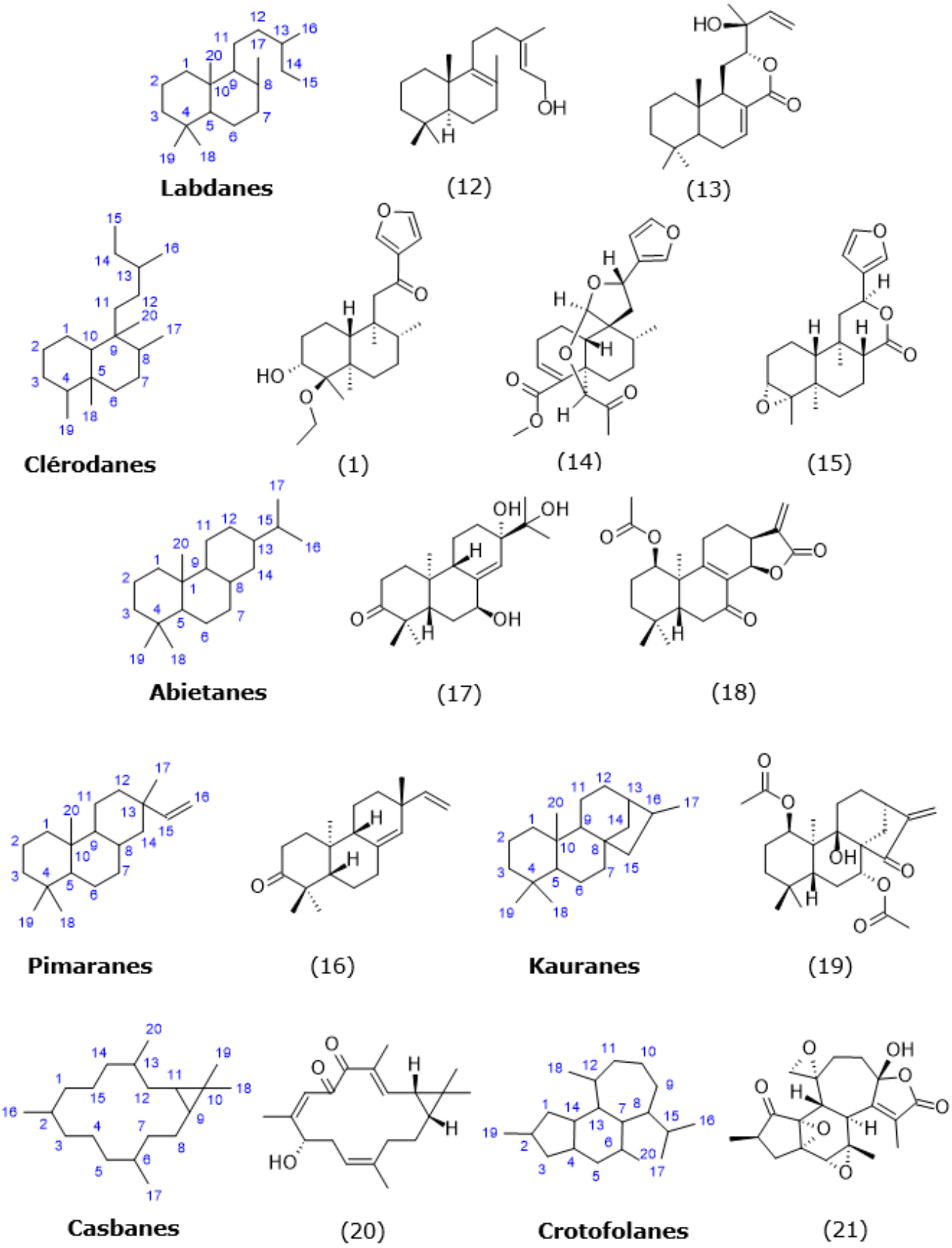


Figure 4 : Quelques classes majoritaires de diterpènes retrouvées chez les espèces du genre *Croton*[69–80].

Les diterpènes sont une classe particulière de terpènes caractérisés par un squelette carboné de 20 atomes de carbones résultant de l'union linéaire (tête-à-queue) de 4 unités d'isoprènes C_5. On distingue généralement les diterpènes sur base du nombre croissant de cycle présent dans leur squelette carboné, englobant des formes acycliques, mono-, bi-, tri, tétra- et macrocycliques. Au sein des espèces du genre *Croton*, on retrouve essentiellement des diterpènes bi-, tri- et tétracycliques avec des sous-classes comme les labdanes et les clérodanes (bicycliques), les pimaranes et les abietanes (tricycliques) et les kauranes (tétracycliques)[56,81]. Biosynthétiquement, ces diterpènes, dit hauts diterpènes, dérivent du pyrophosphate de géranylgéranyle (PPGG) par des cyclisations catalysées par des cyclases terpéniques de types II (**Figure 5**)[56].

Les labdanes (**Figure 4** ;**12**, **13**) sont caractérisés par un bicycle décalinique (C_1-C_{10}) et une chaine hydrocarbonée à 6 carbones (C_{11}-C_{16}) portée en C_9 de celui-ci. Cette dernière portant un groupement méthyle (C_{16}) en C_{13}. Le squelette des labdanes est également caractérisé par 4 groupements méthyles (C_{17}-C_{20}) portés en C_8, C_4 et C_{10}. En plus des *ent*-labdanes issues de l'inversion de conformation des groupes fonctionnels en C_5, C_9 et C_{10}, la chaine hydrocarbonée C_{11}-C_{16} est responsable de l'apparition de différentes sous-structures chez les labdanes. Les lacto-labdanes (**13**) en sont un bon exemple, avec leur cycle lactone entre les carbones C_8-C_9, C_{11}-C_{12} et C_{17}[56,81]. D'un point de vue biosynthétique, des cyclases végétales convertissent respectivement les 2 conformations du PPGG, « chaise-chaise-normale » et « chaise-chaise-antipodale » en labdanes normaux et leur énantiomère *ent*-labdanes par cyclisation (**Figure 5**)[56,81].

Le squelette des clérodanes (**Figure 4** ; **1**, **14**, **15**) ne diffère de celui des labdanes que de par la position des 4 groupements méthyles en C_4, C_5, C_8 et C_9. Tout comme chez les labdanes, on retrouve plusieurs sous-structures de clérodanes. Chez le genre *Croton*, les clérodanes peuvent être classé en 3 grandes sous-structures ; les clérodanes furaniques, les spiro-clérodanes et les lacto-clérodanes. Les furano-clérodanes (**1**) sont caractérisées par un groupement 2-éthyle-furane en C_9. En plus de leur cycle furanique entre C_{15} et C_{16}, les spiro-clérodanes (**14**) ont un groupement spiro-*γ*-lactone en C_9 alors qu'un cycle *δ*-lactone identique à celui des lacto-labdanes est présent chez les lacto-clérodanes (**15**)[56,81]. Chez les plantes, les clérodanes dérivent des labdanes. Un réarrangement impliquant la migration d'hydrure et du groupement méthyle C_{20} chez les labdanes précurseurs les transforment en intermédiaire halimanes avec un carbocation en C_5. Ces intermédiaires sont ensuite convertis en clérodanes via la migration du méthyle C_{18} en C_5 (**Figure 5**)[56,81].

Les pimaranes (**Figure 4** ; **16**) sont caractérisés par un tricycle tétradécahydrophénantrène (C_1-C_{10}, C_{11}-C_{14}) sur lequel est lié 4 groupements méthyles (C_{17}-C_{20}) en C_4 (*gem*-diméthyle C_{18} et C_{19}), C_{10} et C_{13} ainsi qu'un groupement vinylique (C_{15}-C_{16}) en C_{13}[56,81]. Biosynthétiquement, les pimaranes dérivent également des labdanes par cyclisation C13-C17. La double liaison C8-C17 du CPP attaque C13 par une addition *si*-face ou *re*-face, conduisant au 2 configurations de la paire

géminale méthyle/vinyle en C_{13}. Les 2 configurations aboutissent respectivement aux pimaranes (*α*méthyle/*β*vinyle) et aux isopimaranes (*β*méthyle/*α*vinyle) (**Figure 5**)[56,81].

Les abietanes (**Figure 4** ; **17**, **18**) comportent la même structure tricyclique à l'exception de, non plus 4, mais 3 groupements méthyles (C_{18}-C_{20}) en C_4 (*gem*-diméthyle C_{18} et C_{19}) et C10, ainsi qu'un groupement isopropyle (C_{15}-C_{17}) en C_{13} lieu et place du groupement vinylique des pimaranes[81]. On distingue 3 grandes sous-structures chez les abietanes isolées depuis des espèces du genre *Croton* ; les abietanes aromatiques avec leur cycle benzénique entre C_8-C_9 et C_{11}-C_{14}, les lacto-abietanes avec leur cycle lactone C_{14}-C_{16} (**18**) et les céto-abietanes avec leur fonction cétone en C_2 ou C_3 (**17**)[56]. Chez les plantes, les abietanes sont dérivées des pimaranes par différents réarrangements méthyliques (**Figure 5**)[52].

Les kauranes (**Figure 4** ; **19**) comportent la même structure tricyclique de tétradécahydrophénantrène mais présentent un quatrième cycle à 5 carbones (C_8, C_{16}, C_{15}, C_{13}, C_{14}) avec 3 atomes communs (C_8, C_{13} et $_{C14)}$ entre les atomes tête de pont C_8 et C_{13}. Le squelettes des kauranes comportant 4 groupement méthyles (C_{17}-C_{20}) en C_4 (*gem*-diméthyle C_{18} et C_{19}), C_{10} et C_{16}[56,81]. Les voies de biosynthèse des kauranes proposées, suggèrent la cyclisation des C_{15} de précurseurs pimaranes avec leur carbocation en C_8 formant un intermédiaire carbocation en C_{16} avant que le méthyle C_{17} ne migre en C_{16} (**Figure 5**)[56].

Plus rarement, des diterpènes macrocycliques présentant au moins un cycle d'au minimum 7 carbones ont été isolés depuis des espèces du genre *Croton*. Chez ces-dernières, ces diterpènes, dit bas diterpènes, dérivent du PPGG par une cyclisation « tête à queue » catalysée par des cyclases terpéniques de type I (**Figure 5**)[56].

Parmi eux, les casbanes (**Figure 4** ; **20**) sont caractérisés par un cœur bicyclique formé d'un grand cycle de 15 carbones (C_1-C_{15}) dans lequel est inscrit un second cycle de 3C (C_9-C_{11}). Le squelette des casbanes porte 5 groupements méthyles en position C_2, C_6, C_{10} (*gem*-diméthyle C_{18} et C_{19}) et C_{20}[56,81]. D'un point de vue biosynthétique, les casbanes sont considérées comme les produits de cyclisation C_9-C_{11} de précurseurs cembranes (**Figure 5**)[56].

Les crotofolanes (**Figure 4** ; **21**) sont caractérisés par 3 cycles à 5 (C_1-C_4, C_{14}), 6 (C_4-C_7, C_{13}-C_{14}) et 7 carbones (C_7-C_{13}), 3 groupements méthyles (C_{18}-C_{20}) portés en C_2, C_6 et C_{12} ainsi qu'un groupement isopropyle (C_{15}-C_{17}) porté en C_8[56,81]. Les crotofolanes dérivent de précurseurs de la cyclisation transcyclique C_7-C_{13} et le clivage de la liaison C_{10}-C_{11} des certains lathyranes précurseurs. Les lathyranes étant obtenues par cyclisation des casbanes (**Figure 5**)[56].

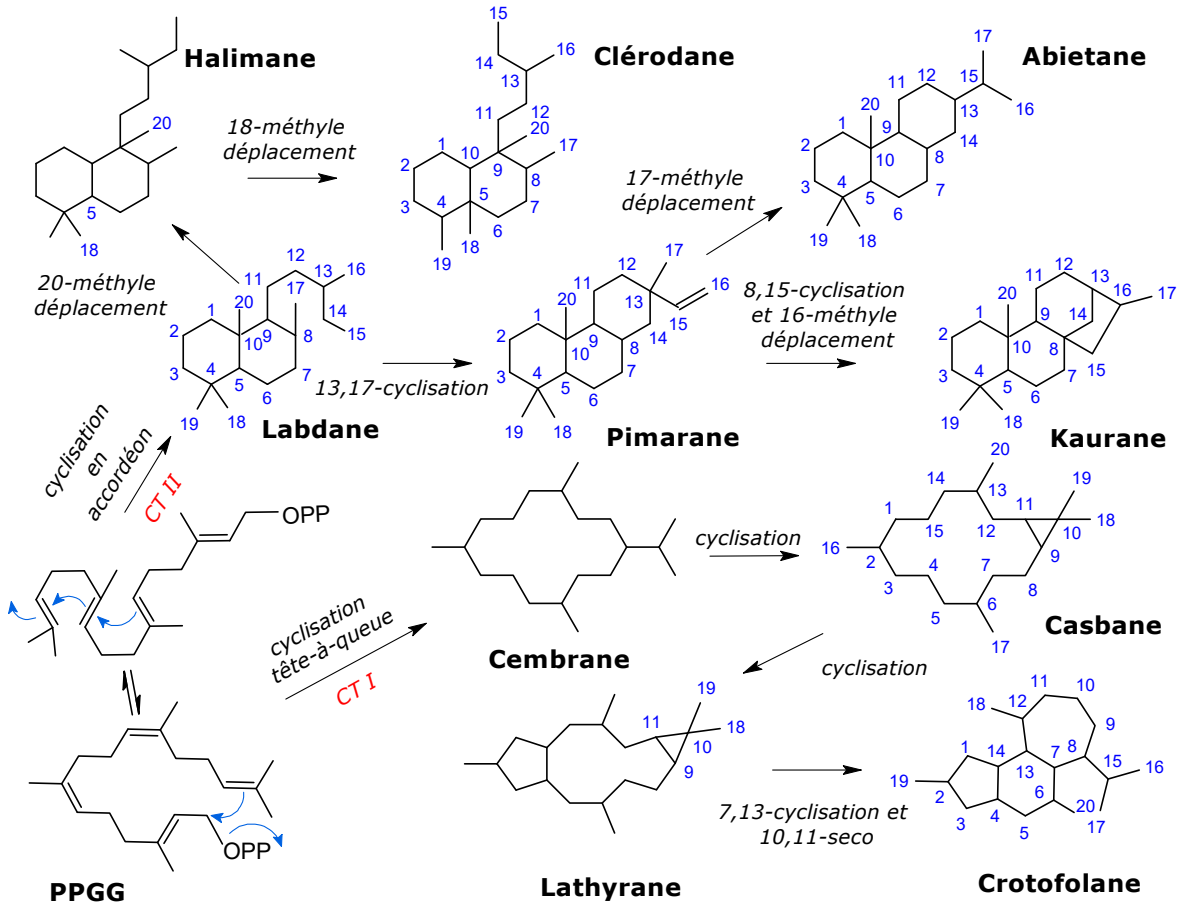


Figure 5 : Relations biosynthétiques entre quelques les principales classes de diterpènes identifiées chez les espèces du genre *Croton*[56], adapté de la référence 53. Créé avec ChemSketch.

3.2. Activités biologiques des diterpènes

La remarquable diversité structurale et la complexité moléculaire des diterpènes en font l'une des classes de métabolites naturels les plus prometteuses en matière de découverte de nouvelles molécules bioactives. À ce titre, ils suscitent un intérêt croissant en pharmacologie en raison de leur potentiel thérapeutique dans de nombreuses pathologies telles que le cancer et le diabète[82,83]. De plus, les activités antitumorales et anti-inflammatoires de nombreux diterpènes isolés chez les espèces du genre *Croton* sont aujourd'hui bien établies. À contrario, l'évaluation de leur activité antiplasmodiale demeure encore limitée, malgré l'identification de nombreux diterpènes actifs contre *Plasmodium* chez des espèces appartenant à d'autres genres (**Tableau 5**). Cette situation met en évidence le potentiel encore largement inexploité des diterpènes du genre *Croton* dans la recherche de nouveaux agents antipaludiques.

Par conséquent, la caractérisation de nouveaux diterpènes à activité antiplasmodiale issus d'espèces du genre *Croton* encore peu explorées, telle que *C. aubrevillei*, s'inscrit dans la continuité des études pharmacologiques et phytochimiques précédemment citées. Elle répond également au besoin urgent d'identifier de nouveaux candidats thérapeutiques capables de contribuer à la lutte contre le paludisme, notamment face à l'émergence de résistances aux traitements actuels.

Tableau 5 : Les activités biologiques de quelques diterpènes

N°	Origines	Composés	Résultats	Activités	Références
Diterpènes isolés d'espèces du genre *Croton*					
21	Feuilles de *Croton kilwae* Radcl.-Sm.	9-hydroxycrotokilwaepoxide A	%In.$_{50}$ = 80-100% (*Pf*Dd2)[e]	Antipaludique	[64]
15	Tiges de *Croton laevigatus* Vahl.	3,4,15,16-diepoxy-cleroda-13(16),14-diene-12,17-olide	CI_{50} = 6,0 ± 1,0 µM (production induite par LPs de NO chez les macrophages RAW 264.7)*	Anti-inflammatoire	[72]
12	Écorce de *Croton laui* Merr. & F.P. Metcalf	labda-8,13E-dien-15-ol	CI_{50} = 5,82 ± 0,28 µM (production induite par LPs de NO chez les macrophages RAW 264.7)*	Anti-inflammatoire	[74]
13	Feuilles et tiges de *Croton sublyratus* Kurz	Crotolaevin N	CI_{50} = 2,6 µM ± 0,0 µM (HL-60)[a]	Antitumorale	[73]
17	Feuilles de *Croton lachnocarpus* Benth.	7*β*,3*α*,15-trihydroxy-ent-abieta-8(14)-en-3-one	CI_{50} = 24,9 µM (W480)[b], IC_{50} = 25,3 µM (HepG2)[c], IC_{50} = 26,6 µM (BGC-823)[d]	Antitumorale	[77]
Diterpènes antipaludiques isolés d'espèces extérieures au genre *Croton*					
/	Racines de *Suregada zanzibariensis* Baill.	mangiolide ($C_{22}H_{28}O_5$, M = 372,1934 g/mol)	CI_{50}= 0,79 µg/mL **ou 2,12 µM**[f] (*Pf*D6, chloroquine-sensible)	Bonne activité[g]	[84]
			CI_{50} = 0,89 µg/mL **ou 2,39 µM**[f] (*Pf*W2, chloroquine-résistante)	Bonne activité[g]	
/	Feuilles et tiges de *Perovskia abrotanoides*	ferruginol	CI_{50} = 2,9 µM (*Pf*NF54, chloroquine-sensible)	Bonne activité[g]	[85]
/	Feuilles et tiges de *Phlogacanthus curviflorus*	abientaphlogatone D	CI_{50} = 14,21 ± 2,35 µM (inhibition de la formation de *β*-hématine)	Activité prononcée	[86]

a. HL-60 ; b. W480 : lignée cellulaire du cancer du côlon ; c. HepG2 : lignée cellulaire du carcinome hépatocellulaire ; d. BGC-823 : lignée cellulaire du carcinome gastrique ; e. %In.$_{50}$: pourcentage d'inhibition à 50 µM ; h. CI_{50} calculés à partir des valeurs massiques issues des articles ; g. Les activités antipaludiques *in vitro* des composés ont été classé comme suit : excellente activité ($CI_{50} \leq 1$ µM), bonne activité (1 µM < $CI_{50} \leq 20$ µM), activité modérée (20 µM < $CI_{50} \leq 100$ µM), faible activité (100 µM < CI_{50} < 200 µM), inactif ($CI_{50} \geq 200$ µM)[67].

4. Objectifs de recherche

L'objectif principal de ce travail de fin d'études est d'obtenir, à partir des racines de *Croton aubrevillei,* et par le biais d'un fractionnement bio-guidé, des matériaux bioactifs (extraits, fractions, et molécules) pouvant servir de précurseurs dans la conception d'un nouvel agent antipaludique.

Pour y parvenir, nous avons :

- Sélectionné l'espèce à étudier au moyen d'une enquête ethnobotanique de terrain couplée à une étude bibliographique ;

- Préparé l'extrait brut racinaire, dont l'activité antiplasmodiale a ensuite été évaluée ;

- Fractionné l'extrait brut racinaire et évalué l'activité antiplasmodiale des fractions obtenues ; puis, isolé, purifié et caractérisé les métabolites secondaires présents dans ces fractions, avant d'évaluer leur activité antiplasmodiale.

CHAPITRE III : MATÉRIELS ET MÉTHODE

1. Matériel végétal : Identification et récolte

Les racines de *Croton aubrevillei* J. Leonard, ont été récoltées à Nanga-Eboko dans la région du Centre du Cameroun en décembre 2023. L'identification taxonomique de la plante a été confirmée par M. Victor Nana, un botaniste expérimenté de l'Herbarium National du Cameroun (HNC), et comparée avec un spécimen existant enregistré sous le numéro voucher 50848HNC. Le nom spécifique de la plante a été vérifié sur The WFO Plant List | World Flora Online et https://powo.science.kew.org/ le 08 Juillet 2026.

2. Extraction, fractionnement et purification des métabolites secondaires

Les extraits, les fractions et les composés qui ont été isolés au cours de ce travail sont les fruits d'une démarche bioguidée où les activités antiplasmodiales ont permis d'identifier et de diriger les manipulations de fractionnement et de purification par lesquels ils ont été obtenus.

Pour ce faire dans un premier temps, les racines ont été lavées, découpées, séchées à l'ombre et broyées afin de récolter 2,8 kg de poudre racinaire. Afin de déterminer le meilleur solvant d'extraction, différentes micro-extraction ont été réalisées en macérant 20 g de poudre dans 100 mL des solvants de polarités croissantes. Les solvants testés ont été : l'eau, un mélange

éthanol:eau (70:30, v/v), éthanol (EtOH), méthanol (MeOH) et enfin CH_2Cl_2 : MeOH (1 :1, v/v). Les activités antiplasmodiales des extraits ont ensuite été testée *in vitro*. Sur base de ces résultats, l'extraction a été réalisé en macérant les 2,8 kg de poudre racinaire dans 20L de CH_2Cl_2 : MeOH (1 :1, v/v) pendant 72h à température ambiante, 3 fois de suite. Les filtrats ont été séparés de leur solvant par évaporation sous vide partiel à 40°C afin de récolter 256,7 g d'extrait brut. L'activité antiplasmodiale de ce-dernier fut par la suite testée.

Par la suite, un premier fractionnement de l'extrait brut par extraction liquide-liquide a été réalisé avec les solvants de polarités croissantes suivant : *n*-hexane, dichlorométhane (CH_2Cl_2), acétate d'éthyle (EtOAc) et le *n*-butanol. Les 4 fractions obtenues furent séparées de leur solvant et respectivement référencées **RF1** (30,6 g), **RF2** (20,88 g), **RF3** (6,51g) et **RF4** (124,1 g). Sur bases des activités antiplasmodiales des fractions obtenues, seules les fractions RF1 et RF2 ont été fractionnées par plusieurs techniques chromatographiques successives.

À partir de la fraction à l'hexane (**RF1**), 7 composés ont été isolés. Les composés **C.A.R.6**, **11**, **12**, **14** ont été isolés par fractionnement de RF1 via colonne chromatographique (CC) sur gel de silice éluée avec un système *n*-hexane:EtOAc (1:0 → 6:4). À l'issue de ce premier fractionnement, la sous-fraction 1 (**Ss.-Fr.1**) a été obtenue du rassemblement, sur base de leurs profils CCM, des sous-fractions 74 à 86. Un dernier composé, **C.A.R.17** a été isolé de Ss.-Fr. 1 par purification via CC sur gel de silice éluée avec un système CH_2Cl_2:*n*-hexane (1:1 → 2:8).

À partir de la fraction au dichlorométhane (**RF2**), 3 sous-fractions prometteuses et 3 composés ont été isolés. Tout d'abord, RF2 a été fractionnée une première fois par CC sur gel de silice éluée avec le système EtOAc:*n*-hexane (0:1) → MeOH:EtOAc (3:7). Sur base de leurs profils CCM, 19 sous-fractions ont été obtenues après regroupement. Parmi celles-ci, **Ss.-Fr.4**, **5** et **6** ont été testées pour les activités antipaludiques avant d'être purifier par diverses techniques chromatographiques (CC, Sephadex LH20 et CCM préparatives). En parallèle, les purifications des **Ss.-Fr.1**, **2** et **3** ont été réalisées par CC sur gel de silice respectivement éluée avec les systèmes EtOAc:*n*-hexane (2:8 → 1:1) pour **1** et **3** et acétone:CH_2Cl_2 (0:1 → 6:4) pour **2**. Les composés **C.A.R.8**, **9** et **10** sont respectivement issus de ces purifications.

3. Procédure générale et élucidation structurale

Les différentes analyses spectrales RMN (^1H, ^{13}C, HSQC ^1H-^{13}C, HMBC ^1H-^{13}C, COSY ^1H-^1H) ont été réalisée sur un spectromètre Brucker Avance AV-500® à respectivement 700 et 150 MHz pour les analyses ^1H et ^{13}C. Les déplacement chimique (δ) ont été reportés en ppm, alors que les constantes de couplages (J) ont été reportées en hertz (Hz). Les spectres infrarouges ont été obtenus à partir d'un spectrophotomètre Infrarouge à Transformée de Fourier (FTIR) Shimadzu IRAffinity-1S®. Une série de séparations sur colonnes chromatographiques (CC) ont été réalisées sur gel de silice (230-400 mesh, 60 Å) et Sephadex LH20. Les fractions et sous-fractions collectées

ont été contrôlées par chromatographie sur couche mince (CCM). Les CCM ont été réalisées sur des plaques aluminium pré-induite de gel de silice 60 F_{254} (Merck). Les profils CCM ont été visualisé au moyen de lampe UV à 254 et 366 nm, par sublimation de cristaux d'iode moléculaire (I_2) et pulvérisation des plaques avec une solution aqueuse d'acide sulfurique 10% et ensuite chauffée à 80°C pendant quelques minutes.

4. Inhibition *in vitro* des stades intraérythocytaires de *P. falciparum*

4.1. Culture parasitaire et maintenance

Les stades asexués intraérythrocytaires des souches chloroquine-sensible 3D7 (*Pf*3D7) et artémisinine-résistante IPC-49 (*Pf*IPC-49) de *P. falciparum*, ont été maintenus en continu *in vitro* à l'aide du milieu de culture RPMI1640 et utilisés pour les expériences antiplasmodiales. Les souches *Pf*3D7 (MRA151) et *Pf*IPC-49 ont été obtenue auprès du Malaria Research and Reference Reagent Resource Center (MR4) des NIH (États-Unis). Brièvement, les parasites ont été maintenus à un taux d'hématocrite de 3 % (v/v) (GR humains de groupe A^+ ou O^+) dans un milieu de culture complet (MCC) préparé en enrichissant le milieu RPMI 1640 (Gibco, Fisher Scientific, Merelbeke, Belgique) contenant du $NaHCO_3$ (32 mM), de l'HEPES (25 mM), et de L-glutamine avec 10 % de plasma humain inactivé à chaud, 1,76 g/L de glucose (Sigma-Aldrich, Overijse, Belgique), 44 mg/mL d'hypoxanthine (Sigma-Aldrich, Overijse, Belgique) et 100 mg/L de gentamycine (Gibco, Fisher Scientific, Merelbeke, Belgique). Toutes les cultures ont été placées dans un incubateur humidifié à 37 °C avec un mélange gazeux standard composé de 5 % d'O_2, 5 % de CO_2 et 90 % de N_2. La parasitémie a été vérifiée par microscopie à l'aide de frottis sanguins colorés au Giemsa.

4.2. Évaluation des activités antiplasmodiales

Afin d'évaluer l'activité antiplasmodiale de nos échantillons (extrait brut, fractions, sous-fractions et composés), des solutions mères ont été réalisé en dissolvant ces-derniers dans 200 µL d'une solution de DMSO (10%) et de milieu RPMI. Vingt-cinq microlitres de chacune d'entre elles ont ensuite été dilués en série 7 fois à raison d'un facteur 2 dans du milieu de culture afin de pouvoir évaluer l'évolution de l'inhibition antiplasmodiale en fonction de la concentration de l'échantillon. Chaque échantillon a été testé en tripliquas avec le parasite à un volume final de 250 µL, une parasitémie ≈ 2%, un taux hématocrite ≈ 1 % et une concentration en DMSO inférieure à 1%. Concernant les contrôles employés, un contrôle positif composé uniquement de suspension parasitaire et un contrôle négatif constitué seulement de milieu furent réalisés. Une solution mère d'artémisinine à 1µg/mL a été diluée en série et employée comme référence. L'ensemble des solutions testées furent réalisées dans une microplaque 96 puits qui fut ensuite mise à incuber pendant 48h dans des conditions optimales de culture. L'ensemble de ces

manipulations furent réalisées en conditions stériles sous flux laminaire et reconduites de façon indépendantes 3 fois.

4.3. Test Plasmodium lactate déshydrogénase (*p*LDH) : Test de Malstat

Afin de visualiser la croissance de la parasitémie, l'activité parasitaire à été observée par mesure de l'activité enzymatique de la lactate déshydrogénase du parasite (*p*LDH). L'activité enzymatique a été révélée par le test colorimétrique de Malstat (**Figure 6**) comme décrit par Kenmogne et ses collaborateurs[87].

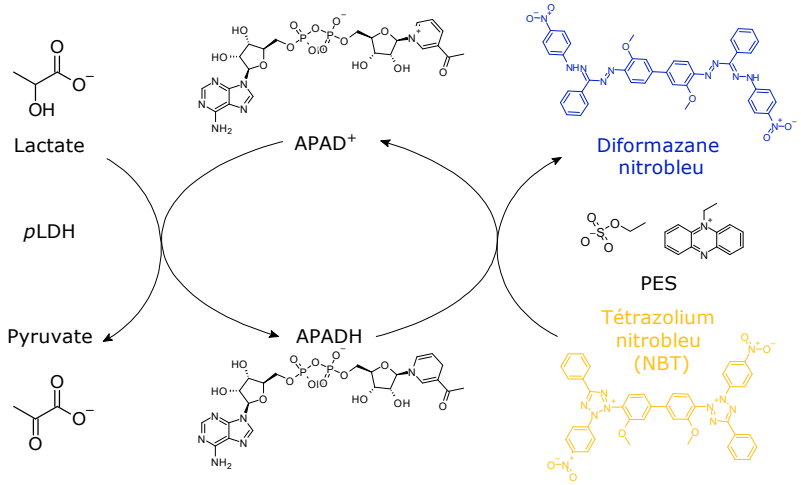


Figure 6 : Test de Malstat. La *p*LDH oxyde le lactate (substrat) en pyruvate en réduisant l'APAD$^+$ sous sa forme réduite APADH. Celle-ci est ensuite de nouveau oxydée en APAD$^+$ en réduisant le tétrazolium nitrobleu (NBT) en diformazane nitrobleu en présence d'éthosulfate de phénazine (PES). Cette réaction s'accompagne d'un changement de couleur passant du jaune au bleu[88]. Figure inspirée de la référence 86. Crée avec ChemSketch.

Pour chaque concentration d'échantillon testée, le taux d'inhibition, noté **%Inh**, a été calculé comme suit (**Équation 1**) :

$$\%Inh = \left(1 - \frac{A_e - A_{C^-}}{A_{C^+} - A_{C^-}}\right) \times 100$$

Equation 1 : Formule de l'inhibition de la croissance parasitaire. A : absorbance à 630 nm, e : échantillon, C$^+$: contrôle positif, C$^-$: contrôle négatif.

Les valeurs de concentration inhibitrices à 50% (CI_{50}) ont ensuite été calculées par régression linéaire.

Afin d'évaluer l'efficacité des échantillons contre les formes résistantes de *P. falciparum*, un indice de résistance, noté **IR**, a été calculé comme suit (**Équation 2**) :

$$IR = \frac{CI_{50Pf\text{IPC}-49}}{CI_{50Pf3D7}}$$

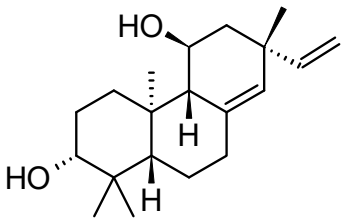
Equation 2 : Formule de l'indice de résistance. $CI_{50Pf\text{IPC-49}}$: CI_{50} pour la souche *Pf*IPC-49 artémisinine-résistante, $CI_{50Pf3D7}$: CI_{50} pour la souche *Pf*3D7 chloroquine-sensible.

CHAPITRE IV : RÉSULTATS

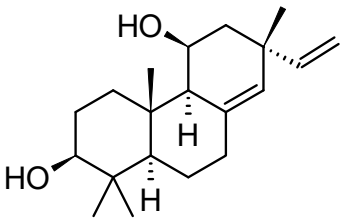
1. Isolement et caractérisation des composés obtenus

Afin de valider le choix du solvant d'extraction à grande échelle, plusieurs micro-extractions ont été réalisées à l'aide de différents systèmes de solvants (méthanol, dichlorométhane–méthanol (1:1), éthanol–eau (7:3), éthanol-eau (1:1) et acétone). Les micro-extraits obtenus ont été soumis individuellement à un test d'activité antiplasmodiale afin d'identifier le solvant d'extraction le plus approprié pour une extraction à grande échelle, sur la base de l'activité antiplasmodiale observée. Sur la base de ces résultats, le système de solvants dichlorométhane–méthanol (1:1, *v*/*v*) a été sélectionné pour l'extraction des racines. L'extrait brut racinaire obtenu a été soumis à une partition liquide-liquide à l'aide de solvants de polarité croissante, à savoir le *n*-hexane, le dichlorométhane, l'acétate d'éthyle et le *n*-butanol, afin d'obtenir les fractions correspondantes. Après traitement habituel, cette opération a permis d'obtenir 30,60 g de fraction au *n*-hexane, 20,88 g de fraction au dichlorométhane, 6,51 g de fraction à l'acétate d'éthyle et 124,10 g de fraction au *n*-butanol.

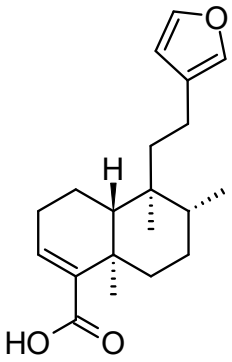
En raison de sa bonne activité antiplasmodiale, la fraction au dichlorométhane a été soumise à des chromatographies successives sur colonnes de gel de silice (0,063-0,200 mm) et de Sephadex LH-20. La fraction au *n*-hexane a également été soumise à ces différentes étapes de purification. Ces fractionnements chromatographiques ont conduit à l'isolement de 10 composés, codifiés **C.A.R.6**, **C.A.R.8**, **C.A.R.9**, **C.A.R.10**, **C.A.R.11a**, **C.A.R.11b**, **C.A.R.12**, **C.A.R.14a** **C.A.R.14b**, et **C.A.R.17**, qui ont été entièrement caractérisés. Les structures de ces composés ont été élucidées soit par l'analyse de leurs données spectroscopiques et leur comparaison avec celles rapportées dans la littérature, soit par comparaison avec des échantillons authentiques disponibles au laboratoire, par chromatographie analytique sur couche mince (CCM). Les structures chimiques de ces composés isolés et caractérisés sont présentées à la **Figure 7**.



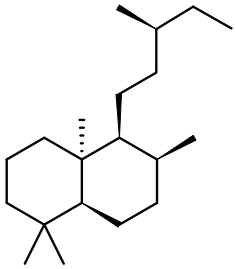
C.A.R.17



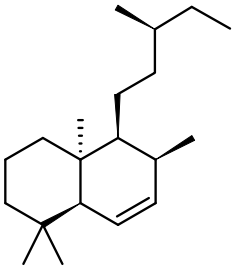
C.A.R.8



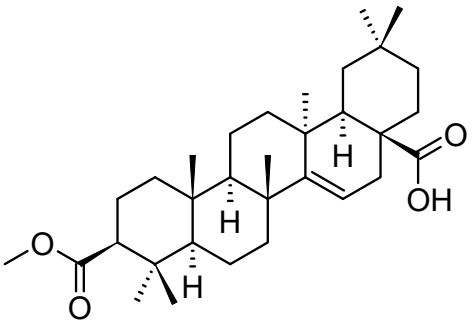
C.A.R.10



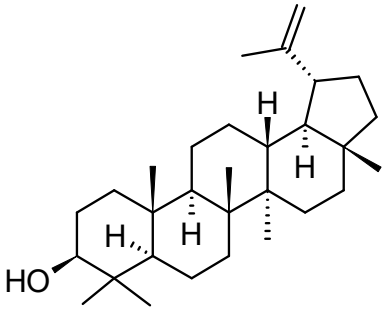
C.A.R.14a



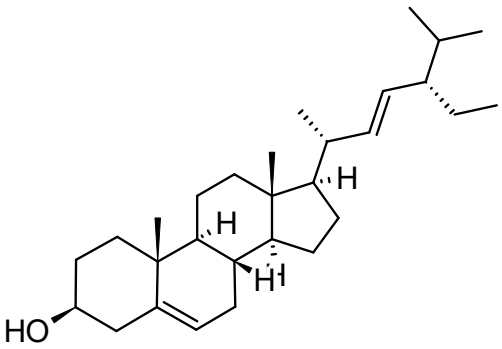
C.A.R.14b



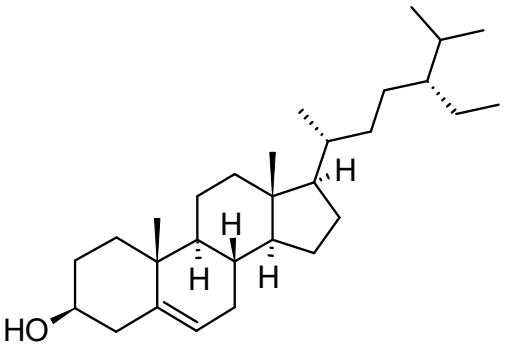
C.A.R.9



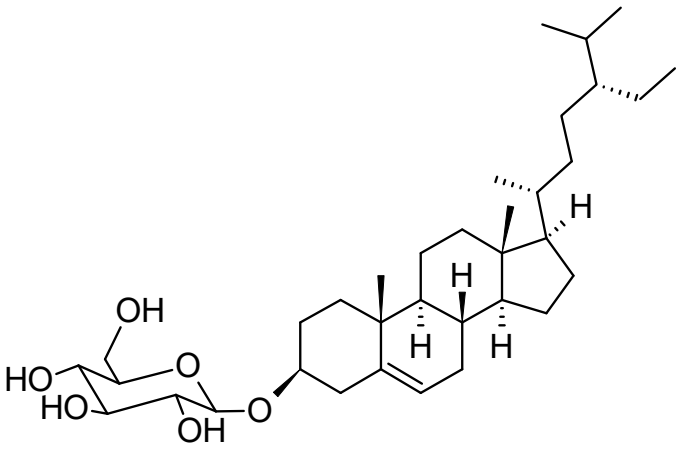
C.A.R.12



C.A.R.11a



C.A.R.11b



C.A.R.6

Figure 7 : Structure des composés caractérisés à partir des racines de *C. aubrevillei.*

Les structures des composés caractérisés ont été identifiées comme suit : 2 stéréoisomères, l'*ent*-Pimara-8(14),15-diene-3*α*-11*β*-diol (**C.A.R.17**) et l'isopimara-8(14),15-diene-3*β*,11*α*-diol (C.**A.R.8**) ; l'acide Hardwickiique (**C.A.R.10**), un mélange de deux isomères de fonctions co-isolés, 2-butan-2-yl-1,3,7,7-tétraméthylbicyclodécane et 2-butan-2-yl-1,3,7,7-tétraméthylbicyclodéc-4-ène (respectivement **C.A.R.14a** et **C.A.R.14b**), l'acide 3-acétylaleuritolique (**C.A.R.9**), le lupéol (**C.A.R.12**), un mélange de stigmastérol et de *β*-sitostérol (respectivement **C.A.R.11a** et **C.A.R.11b**) et le 3-O-*β*-D-glucopyranoside de *β*-sitostérol (**C.A.R.6**).

Les structures des composés caractérisés ont été identifiées sur base de l'analyse croisées des données spectrales recueillies en spectrométrie RMN, spectroscopie infrarouge et spectrométrie de masse avec celles présentes dans la littérature. Quelques-unes de leurs données spectrales sur base desquelles les structures ont été déterminées sont reprises ci-suit.

L' Isopimara-8(14),15-diene-3*β*,11*α*-diol (**C.A.R.8**) : poudre amorphe blanche ; $C_{20}H_{32}O_2$; M = 304,24023 Da ; IR v (cm^{-1}) : 3500-3250 (large et moyen) caractéristique d'un groupement hydroxyle, 3000-2750 (moyen), 1625 (faible), 1500-1375 (moyen), 1050-1000 (étroit et intense) caractéristiques d'un groupement vinylique ; δ ^{1}H RMN (dichlorométhane-d_2, 700 MHz) : 3,24 (1H, *dd*, *J* = 11,4; 4,3 Hz, H_{3a}), 3,83 (1H, *ddd*, *J* = 11,8; 7,2; 4,6 Hz, H_{11}), 5,21 (1H, *d*, *J* = 2,0 Hz, H_{14}), 5,76 (1H, *dd*, *J* = 17,2; 10,6 Hz, H_{15}), 4,93 (1H, *m*, H_{16a}), 4,91 (1H, *dd*, *J* = 11,5; 1,0 Hz, H_{16b}), 1,01 (3H, *s*, H_{17}), 0,98 (3H, *s*, H_{18}), 0,76 (3H, *s*, H_{19}), 0,78 (3H, *s*, H_{20}) ; δ ^{13}C RMN (dichlorométhane-d_2, 176 MHz) : 146,7 (C_{15}), 138,1 (C_8), 128,7 (C_{14}), 112,7 (C_{16}), 79,0 (C_3), 37,5 (C_{13}), 29,7 (C_{17}), 28,6 (C_{18}), 15,8 (C_{19}), 16,0 (C_{20}). La comparaison des données RMN recueillies avec celles collectées par Wu X. et ses collaborateurs permet de corroborer notre interprétation et confirme l'identité moléculaire proposée de C.A.R.8[89].

Le Lupéol (**C.A.R.12**) : poudre amorphe blanche ; $C_{30}H_{50}O$; M = 426,386165 Da ; IR v (cm^{-1}) : 3500-3250 (large et moyen) caractéristique d'un groupement hydroxyle, 3000-2750 (moyen), 1750 (moyen) et 875 (étroit et intense) caractéristiques d'un groupement vinylidène ; δ ^{1}H RMN (chloroforme-*d*, 700 MHz) : 3,18 (1H, *dd, J* = 6,1; 2,0 Hz, H_3), 4,56 (1H, *s*, H_{29a}), 4,68 (1H, *s*, H_{29b}) ; δ ^{13}C RMN (chloroforme-*d*, 176 MHz) : 38,2 (C_1), 27,6 (C_2), 79,1 (C_3), 38,8 (C_4), 55,4 (C_5), 18,5 (C_6), 34,4 (C_7), 41,0 (C_8), 50,6 (C_9), 37,3 (C_{10}), 21,1 (C_{11}), 25,3 (C_{12}), 39,0 (C_{13}), 43,0 (C_{14}), 27,6 (C_{15}), 35,7 (C_{16}), 43,1 (C_{17}), 48,4 (C_{18}), 48,1 (C_{19}), 151,1 (C_{20}), 30,0 (C_{21}), 40,1 (C_{22}), 28,1 (C_{23}), 15,5 (C_{24}), 16,3 (C_{25}), 16,1 (C_{26}), 14,7 (C_{27}), 18,1 (C_{28}), 109,5 (C_{29}), 19,4 (C_{30}). La comparaison des données RMN recueillies avec celles collectées par Taguimjeu P.L. et ses collaborateurs permet de corroborer notre interprétation et confirme l'identité moléculaire proposée de C.A.R.12[90].

L'Acide acétylaleuritolique (**C.A.R.9**) : poudre amorphe blanche ; $C_{32}H_{50}O_4$; M = 498,370910 Da ; δ ^{13}C RMN (chloroforme-*d*, 176 MHz) : 37,3 (C_1), 23,3 (C_2), 81,4 (C_3), 37,6 (C_4), 55,6 (C_5), 18,5 (C_6), 40,9 (C_7), 38,8 (C_8), 49,0 (C_9), 37,8 (C_{10}), 17,3 (C_{11}), 33,3 (C_{12}), 37,3 (C_{13}), 160,1 (C_{14}), 116,7 (C_{15}), 31,9 (C_{16}), 51,1 (C_{17}), 41,7 (C_{18}), 35,6 (C_{19}), 29,1 (C_{20}), 33,8 (C_{21}), 31,2 (C_{22}), 27,8 (C_{23}), 16,4 (C_{24}), 15,7 (C_{25}), 25,6 (C_{26}), 22,0 (C_{27}), 181,8 (C_{28}), 32,0 (C_{29}), 28,7 (C_{30}), 171,8 (C_{31}), 21,0 (C_{32}). La comparaison des données RMN recueillies avec celles collectées par Da Silva San Gil R.A. et ses collaborateurs permet de corroborer notre interprétation et confirme l'identité moléculaire proposée de C.A.R.13[91].

L'Acide hardwickiique (**C.A.R.10**) : poudre amorphe blanche ; $C_{20}H_{28}O_3$; M = 316,203845 Da ; δ ^{1}H RMN (chloroforme-*d*, 700 MHz) : 1,79 (1H, *d*, *J* = 7,0 H_{1a}), 1,52 (1H, *m*, H_{1b}), 2,34 (1H, *dd*, *J* = 6,3 ; 2,9, H_{2a}), 2,21 (1H, *m*, H_{2b}), 6,72 (1H, *m*, H_3), 2,47 (1H, *dt*, *J* = 13,0 ; 3,3, H_{6a}), 1,15 (1H, *td*, *J* = 13,2 ; 3,8, H_{6b}), 1,55 (1H, *ddd*, *J* = 10,4; 5,2; 2,6, H_{7a}), 1,42 (1H, *dd*, *J* = 3,7, H_{7b}), 1,65 (1H, *m*, H_8), 1,44 (1H, *d*, *J* = 5,4, H_{10}), 1,73 (1H, *m*, H_{11a}), 1,59 (1H, *dd*, *J* = 4,4 ; 2,0, H_{11b}), 2,39 (1H, *dd*, *J* = 13,9 ; 4,3, H_{12a}), 2,26 (1H, *ddd*, *J* = 13,1 ; 6,2 ; 2,8, H_{12b}), 6,36 (1H, *d*, *J* = 1,4, H_{14}), 7,45 (1H, *d*, *J* = 1,4, H_{15}), 7,37 (1H, *s*, H_{16}), 0,87(3H, *d*, *J* = 6,7, H_{17}), 1,29 (3H, *s*, H_{19}), 0 ,78 (3H, *s*, H_{20}) ; δ ^{13}C RMN (chloroforme-*d*, 176 MHz) : 18,3 (C_1), 27,9 (C_2), 138,2 (C_3), 143,0 (C_4), 38,5 (C_5), 36,8 (C_6), 28,2 (C_7), 37,1 (C_8), 39,7 (C_9), 47,7 (C_{10}), 39,9 (C_{11}), 18,8 (C_{12}), 126,7 (C_{13}), 112,1 (C_{14}), 139,6 (C_{15}), 143,8 (C_{16}), 16,4 (C_{17}), 168,4 (C_{18}), 21,1 (C_{19}), 18,8 (C_{20}). La comparaison des données RMN recueillies avec celles collectées par Crentsil J.A. et ses collaborateurs permet de corroborer notre interprétation et confirme l'identité moléculaire proposée de C.A.R.10[92].

Le 2-Butan-2-yl-1,3,7,7-tétraméthylbicyclodécane (**C.A.R.14a**) : poudre amorphe blanche ; $C_{20}H_{38}$; M = 278,297350 Da ; ; IR ν (cm^{-1}) : 3000-2750 (moyen) liaisons C-H ; δ ^{13}C RMN (chloroforme-*d*, 176 MHz) : 42,3 (C_1), 56,0 (C_5), 33,8 (C_7), 36,1 (C_8), 56,0 (C_9), 39,0 (C_{10}), 18,8 (C_{17}).

Le 2-Butan-2-yl-1,3,7,7-tétraméthylbicyclodéc-4-ène (**C.A.R.14b**) : poudre amorphe blanche ; $C_{20}H_{36}$; M = **276**,281700 Da ; IR ν (cm^{-1}) : 3000-2750 (moyen), 1500 (moyen) double liaison cyclique C=C ; δ ^{13}C RMN (chloroforme-*d*, 176 MHz) : 51,2 (C_5), 129,3 (C_6), 138,3 (C_7), 40 (C_8), 56,0 (C_9), 21,0 (C_{17}).

Le stigmastérol (**C.A.R.11a**), le *β*-sitostérol (**C.A.R.11b**) et le 3-O-*β*-D-glucopyranoside de *β*-sitostérol (**C.A.R.6**) ont été respectivement identifiés par comparaison avec des échantillons authentiques disponibles au laboratoire, par chromatographie analytique sur couche mince (CCM).

2. Élucidation structurale du composé C.A.R.17

L'*ent*-Pimara-8(14),15-diène-3*β*,11*α*-diol (**CAR17**) étant le composé ayant présenté la meilleure activité antiplasmodiale (**Tableau 7**), il nous a semblé pertinent de procéder à une description détaillée de sa structure à partir de l'analyse de ses données spectroscopiques (RMN et IR), afin d'explorer les relations potentielles entre ses caractéristiques structurales et son activité antiplasmodiale.

2.1. RMN 1D : Spectre RMN ^{1}H (méthanol-d_4, 700 MHz)

Le spectre RMN ^{1}H de C.A.R.17 (**Figure 8**) présente des signaux à δH 5,77 (1H, *ddd*, *J* = 17,3 ; 10,6 ; 1,7 Hz, H_{15}), 4,91 (1H, *td*, *J* = 11,8 ; 1,8 Hz, H_{16a}) et 4,93 (1H, *m*, H_{16b}) attribuables à des protons vinyliques. Le proton H_{15} présente une constante de couplage à 17,3 Hz indiquant un couplage en *trans* et un autre à 10,60 Hz indiquant un couplage en *cis* ; c'est un doublet de doublets dédoublés et est couplé à deux protons non équivalents portés par le carbone adjacent de la double liaison, H_{16a} et H_{16b}. H_{16a} présente une constante à 11,8 Hz indiquant un couplage en *cis* et à 1,8 Hz un couplage geminal. Il s'agit donc ici d'une double liaison exocyclique. Le proton résonnant à δH 5,22 (1H, *q*, *J* = 1,8 Hz, H_{14}) est lui aussi un proton insaturé. Il présente un signal aux couplages mal définis pouvant résulter de couplage à longue distance. Sa constante de couplage à 1,8 Hz indiquerait son couplage ^{4}J en *trans* avec un H porté par un C adjacent à la double liaison.

On observe également des signaux à δH 3,80 (1H, *ddd*, *J* = 13,4 ; 7,4 ; 4,6 Hz, H_{11}) et δH 3,20 (1H, *m*, H_3) attribuables à des protons portés par des carbones alcooliques. Le spectre présente aussi des multiplets assignés à des protons méthiniques et méthyléniques situés en position α ou β d'une double liaison C=C comprenant respectivement ceux à δH 2,04 (1H, *m*, H_{7a}) et à δH 2,39 (1H, *ddt*, *J* = 13,8 ; 4,5 ; 2,0 Hz, H_{7b}) en α, ceux à 1,43 (1H, *qd*, *J* = 13,0 ; 4,6 Hz, H_{6b}) et à 1,35 (1H, *td*, *J* = 12,0 ; 1,7 Hz, H_{12b}) en β.

De plus, des multiplets assignés à des protons méthiniques et méthyléniques d'un squelette aliphatique polycyclique donc celui à δH 1,49 (1H, *ddd*, *J* = 13,7 ; 10,0 ; 7,5 Hz, H_{1a}), 1,91 (1H, *dt*, *J* = 13,8 ; 3,4 Hz, H_{1b}), 1,59 (2H, *ddt*, *J* = 9,9 ; 7,0 ; 2,6 Hz, H_2), 1,11 (1H, *dd*, *J* = 12,5 ; 2,6 Hz, H_5), 1,68 (1H, *ddd*, *J* = 10,3 ; 5,2 ; 2,6 Hz, H_{6a}), 1,65 (1H, *m*, H_9) et à 1,79 (1H, *ddd*, *J* = 12,2 ; 4,5 ; 1,6 Hz, H_{12a}). Les constantes de couplage élevées ($J \approx 12–14$ Hz) sont caractéristiques de protons trans-diaxiaux, tandis que les constantes faibles ($J \approx 1–5$ Hz) indiquent des protons axiaux-équatoriaux ou équatoriaux-équatoriaux.

Enfin, quatres singulets intégrant chacun pour trois protons à δH 1,01 (3H, *s*, H_{17}), 1,00 (3H, *s*, H_{18}), 0,80 (3H, *s*, H_{19}) et 0,79 (3H, *s*, H_{20}) représentent des protons méthyliques. L'absence de couplage pour ces signaux indique que ces groupements sont portés par des carbones quaternaires.

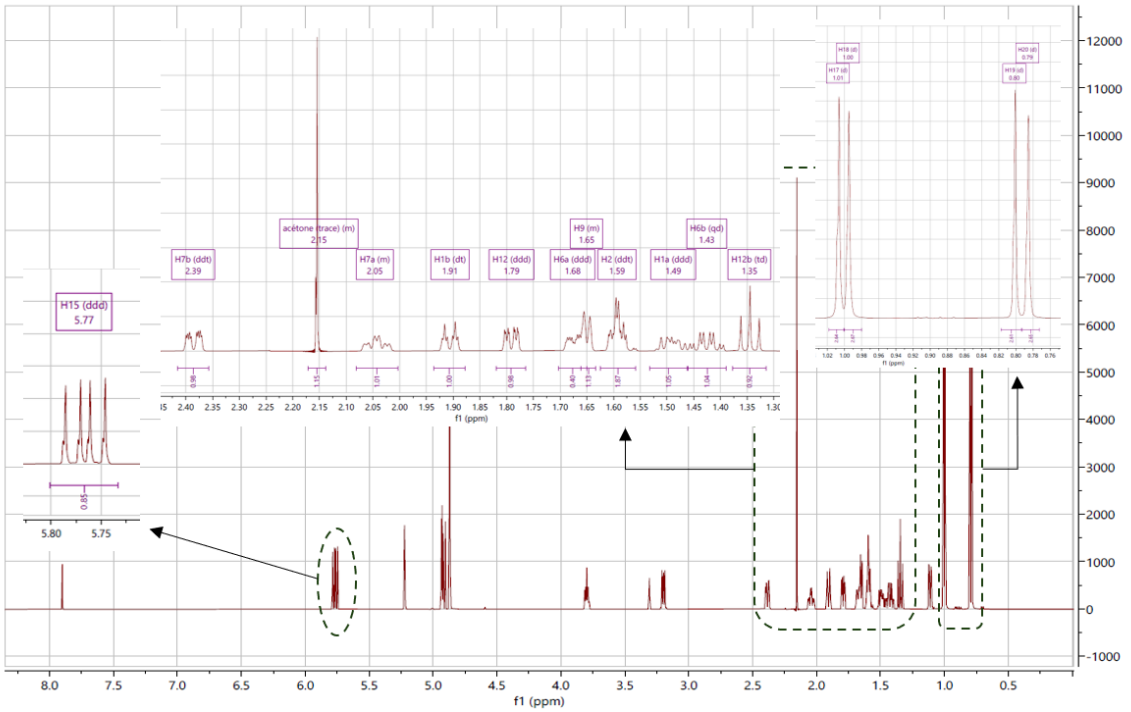


Figure 8 : Spectre RMN ^{1}H (méthanol-d_4, 700 MHz) de C.A.R.17

2.2. RMN 1D : Spectre RMN ^{13}C (méthanol-d_4, 176 MHz)

Le spectre RMN ^{13}C de C.A.R.17 (**Figure 9**) présente 20 signaux dont ceux à δC 79,6 (C_3) et 66,5 (C_{11}) attribuables à des carbones méthiniques alcooliques ; ceux à δC 128,7 (C_{14}), 147,6 (C_{15}), 113,1 (C_{16}) et 139,2 (C_8) attribuables à des carbones vinyliques et insaturés ; des carbones aliphatiques méthiniques et méthyléniques entre δC 23,8 et 60,4 (C_1, C_2, C_5, C_6, C_7, C_9, C_{12}) ; des singulets à δC 30,2 (C_{17}), 29,1 (C_{18}), 16,3 (C_{19}) et 16,4 (C_{20}) correspondant à des méthyles et des carbones quaternaires à δC 40,7 (C_4), 40,1 (C_{10}) et 39,7 (C_{13}).

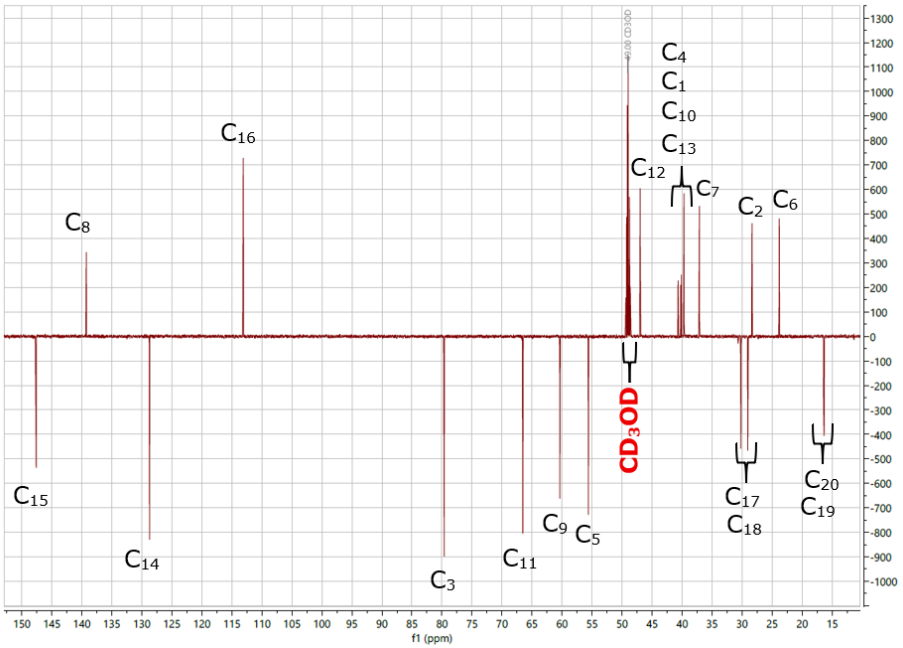


Figure 9 : Spectre RMN ^{13}C (méthanol-d_4, 176 MHz) de C.A.R.17

2.3. RMN 2D : Spectre HSQC ^{13}C-^{1}H

Le spectre HSQC ^{13}C-^{1}H de C.A.R.17 (**Figure 10**) a permis de relier les protons à δH 3,20 (H_3) et 3,80 (H_{11}) aux carbones à δC 79,6 (C_3) et 66,5 (C_{11}) respectivement, les protons vinyliques à δH 5,22 (H_{14}), 5,77 (H_{15}) et 4,91/4,93 (H_{16a}/H_{16b}) aux carbones à δC 128,7 (C_{14}), 147,6 (C_{15}) et 113,1 (C_{16}), les protons méthiniques et méthyléniques cycliques à δH 1,49/1,91 (H_{1a}/H_{1b}), 1,59 (H_2), 1,11 (H_5), 1,68/1,43 (H_{6a}/H_{6b}), 2,04/2,39 (H_{7a}/H_{7b}), 1,65 (H_9) et 1,79/1,35 (H_{12a}/H_{12b}) aux carbones correspondants ainsi que les protons méthyliques à δH 1,01 (H_{17}), 1,00 (H_{18}), 0,80 (H_{19}) et 0,79 (H_{20}) aux carbones à δC 30,2 (C_{17}), 29,1 (C_{18}), 16,3 (C_{19}) et 16,4 (C_{20}).

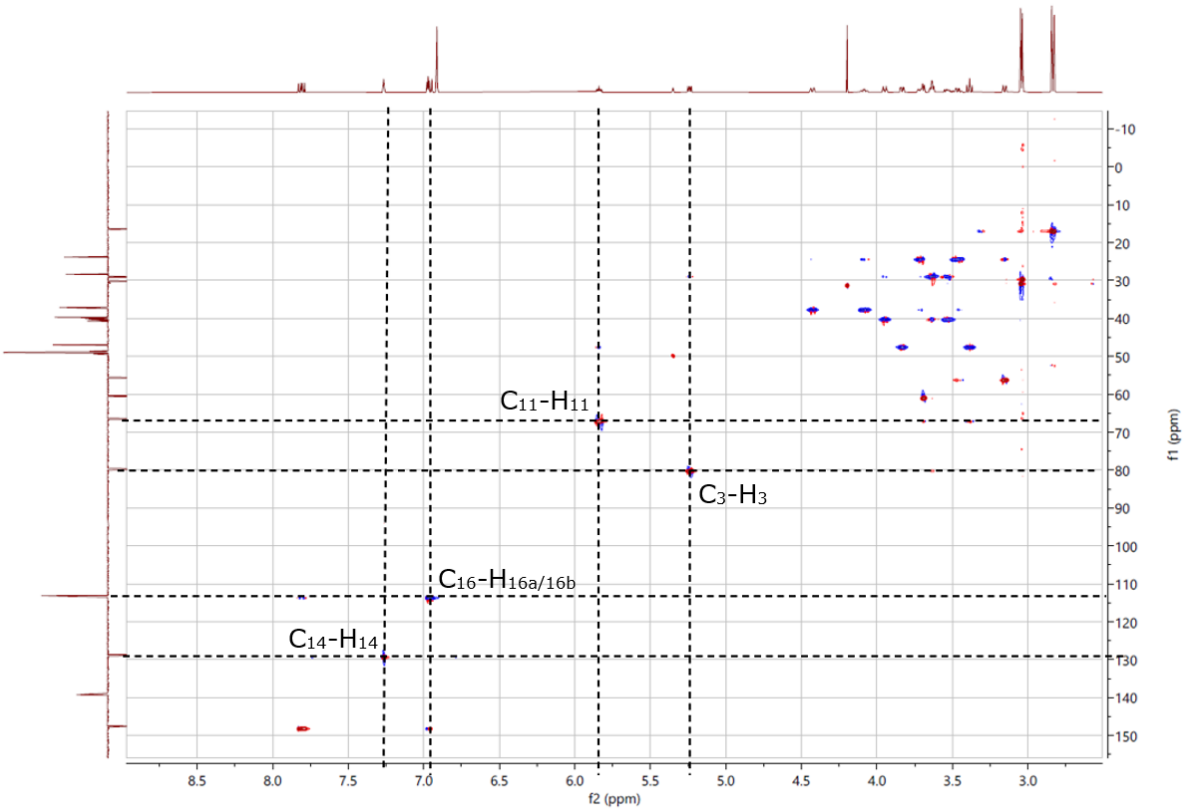


Figure 10 : Spectre HSQC ^{13}C-^{1}H de C.A.R.17

2.4. RMN 2D : Spectre COSY ^{1}H-^{1}H

Le spectre COSY ^{1}H-^{1}H de C.A.R.17 (**Figure 11**) a permis d'établir les proximités entre les différents protons de la molécule à travers les carrés de corrélation observés. Sur cette base il a été identifié des corrélations entre les protons résonnant à δH 1,49/1,91 (H_{1a}/H_{1b}), 1,59 (H_2) et à δH 3,20 (H_3), entre ceux résonnant à δH 1,11 (H_5), 1,68/1,43 (H_{6a}/H_{6b}) et à δH 2,04/2,39 (H_{7a}/H_{7b}), entre ceux résonnant à δH 1,65 (H_9), 3,80 (H_{11}) et à δH 1,79/1,35 (H_{12a}/H_{12b}). Ces corrélations illustrent les interactions vicinales (^{3}J) présentes au sein du squelette polycyclique. D'autres corrélations ont également été observées entre les protons résonnant à δH 5,77 (H_{15}) et ceux à δH 4,91/4,93 (H_{16}a/H_{16b}). Elles illustrent les interactions vicinales (^{3}J) au sein du

groupement vinylique exocyclique. Enfin, les corrélations entre les protons méthyliques résonnant à δH 1,00 (H_{18}) et à δH 0,80 (H_{19}), permette d'établir que ces protons appartiennent à 2 groupements méthyles portés par le même carbone quaternaire. L'ensemble de ces corrélations a permis de reconstituer les enchaînements protoniques le long du squelette cyclique (**Figure 13**).

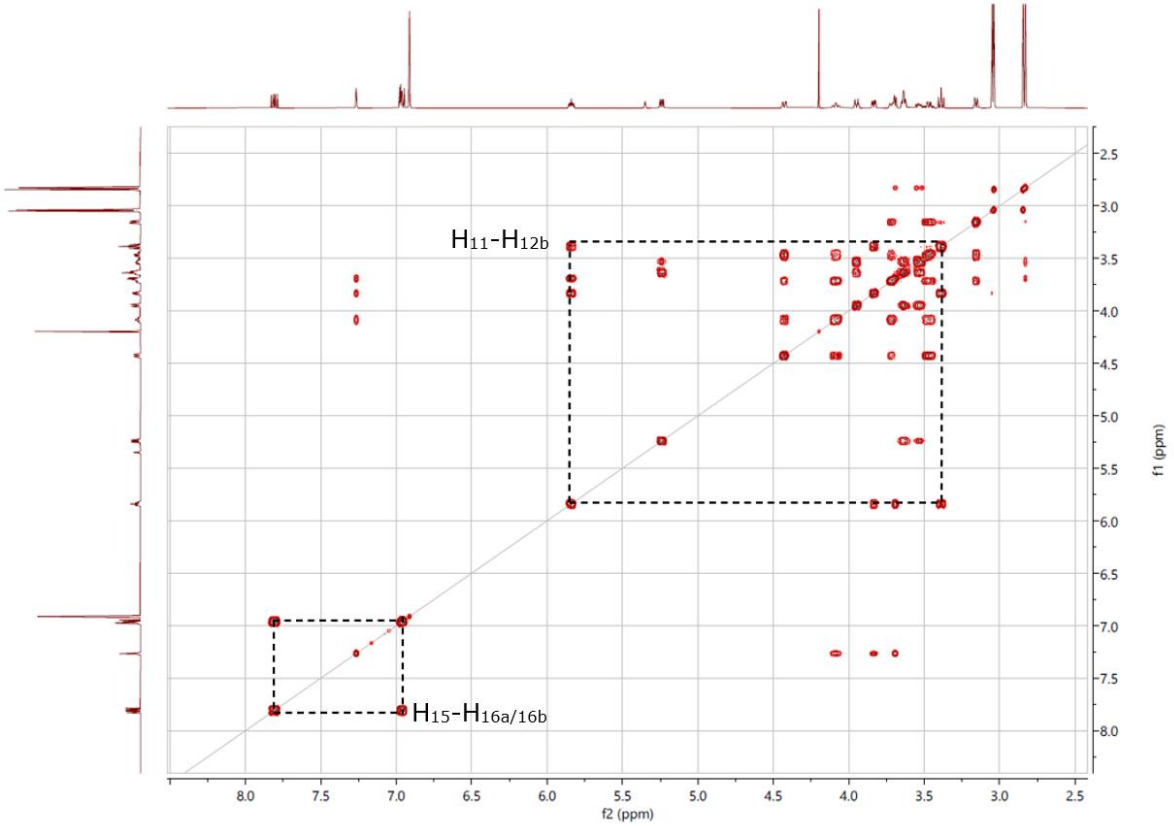


Figure 11 : Spectre COSY ^{1}H-^{1}H de C.A.R.17

2.5. RMN 2D : Spectre HMBC ^{13}C-^{1}H

Le spectre HMBC ^{13}C-^{1}H de C.A.R.17 (**Figure 12**) a permis de relier les différentes unités de la molécule. Les corrélations entre les protons insaturés et vinyliques, H_{14} (δH 5,22), H_{15} (δH 5,77), H_{16a}/ H_{16b} (δH 4,91/4,93) et les carbones C_{13} (δC 39,7), C_{15} (δC 147,6) et C_{12} (δC 47,0) ont été primordiales pour déterminer la position exacte de la double liaison exocyclique, montrant son rattachement au carbone quaternaire C_{13}.

Les corrélations du proton insaturé H_{14} (δH 5,22), des protons H_{6a} (δH 1,68), H_{7a}/ H_{7b} (δH 2,04/2,39) et H_9 (δH 1,65) avec les carbones C_7 (δC 37,1), C_9 (δC 60,4), C_{12} (δC 47,0), C_{13} (δC 39,7) et C_8 (δC 139,2) ont été particulièrement importantes pour déterminer la position exacte de la double liaison cyclique entre C_8 et C_{14}.

Les corrélations du proton méthylique H_{17} (δH 1,01), des protons insaturés et vinyliques H_{14} (δH 5,22), H_{15} (δH 5,77), H_{16a}/ H_{16b} (δH 4,91/4,93) avec les carbones C_{11} (δC 66,5), C_{12} (δC

47,0), C_{14} (δC 128,7), C_{15} (δC 147,6) et C_{17} (δC 30,2) ont été indispensables afin de déterminer la position exacte du groupement méthyle C_{17} rattaché en C_{13}.

Les corrélations du proton méthylique H_{20} (δH 0,79), des protons H_{1a}/ H_{1b} (δH 1,49/1,91), H_5 (δH 1,11), H_9 (δH 1,65) avec les carbones C_5 (δC 55,6), C_9 (δC 60,4) et C_1 (δC 40,2) ont été hautement importantes pour déterminer la position exacte du groupement méthyle C_{20} rattaché au carbone quaternaire C_{10}.

Celles observées entre les protons méthyliques H_{18} (δH 1,00), H_{19} (δH 0,80), des protons H_3 (δH 3,20), H_5 (δH 1,11) et les carbones C_2 (δC 28,4), C_3 (δC 79,6), C_4 (δC 40,7), C_5 (δC 55,6), C_{18} (δC 29,1) et C_{19} (δC 16,3), ont permis de confirmer la position exacte des groupements méthyles C_{18} et C_{19} rattaché au carbone quaternaire C_4. Certaines des corrélations HMBC résultent de couplages à longue distance (^4J), chose courante au sein de structures cycliques et polycycliques. Quelques-unes de ces corrélations sont visibles en **Figure 13**.

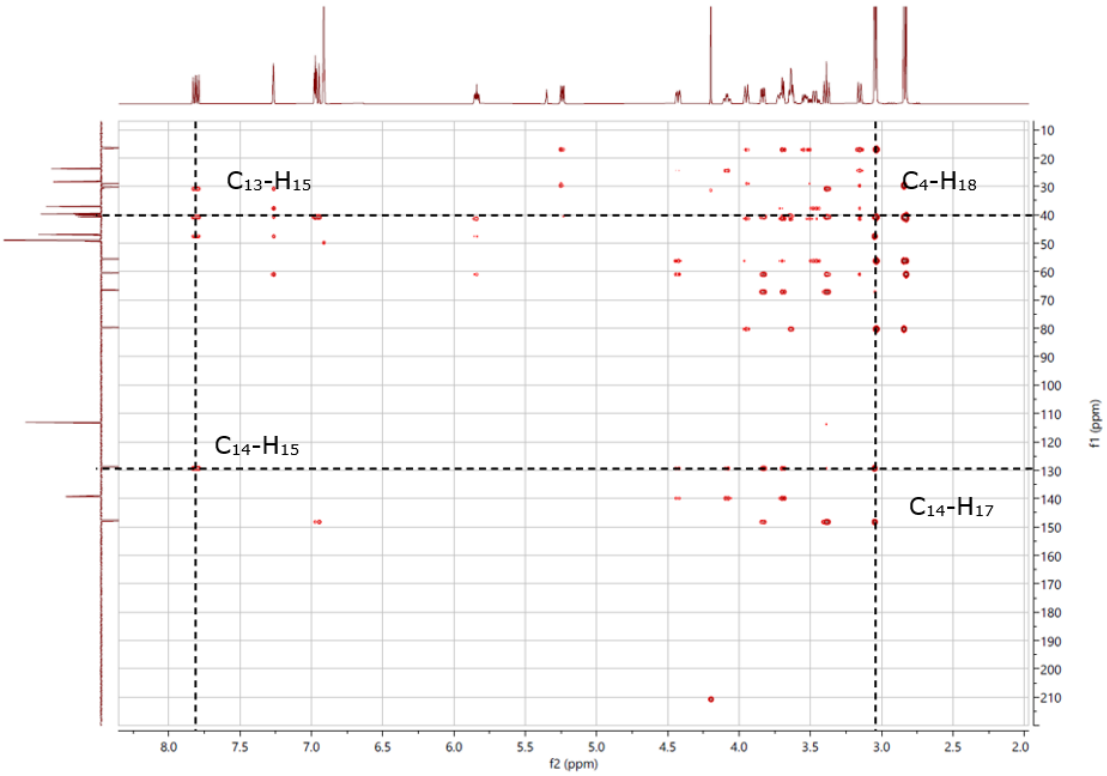


Figure 12 : Spectre HMBC ^{13}C-^{1}H de C.A.R.17

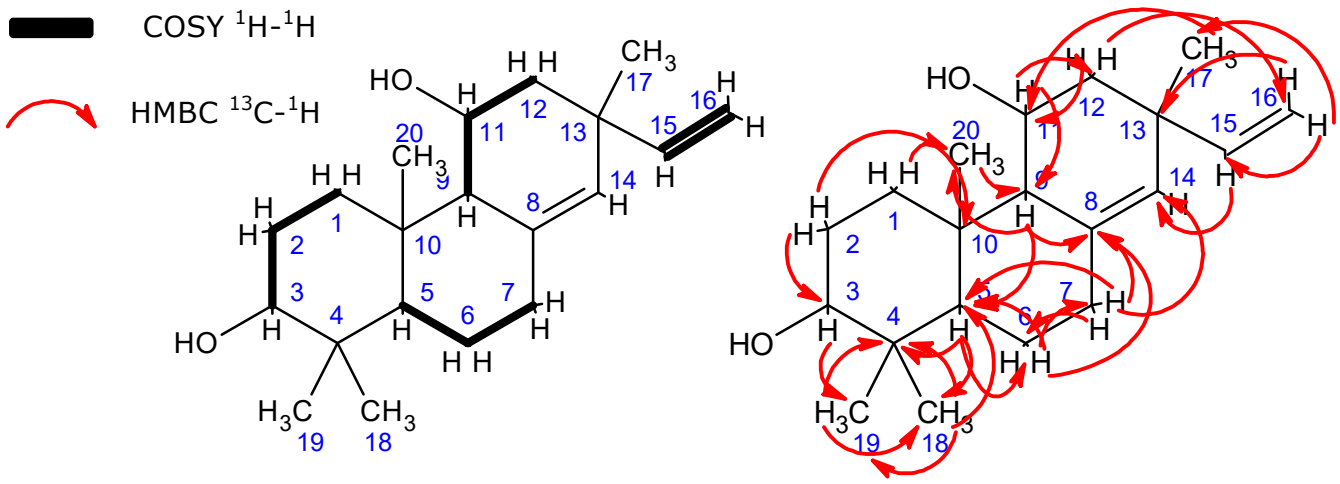


Figure 13 : Quelques corrélations COSY ^{1}H-^{1}H et HMBC ^{13}C-^{1}H de C.A.R.17

Sur base des données spectrales collectées et de l'interprétation croisée des différentes analyses RMN, le composé isolé sous l'identifiant C.A.R.17 pourrait présenter une structure de type *ent*-Pimara-8(14),15-diene-3*β*,11*α*-diol ($C_{20}H_{32}O_2$; M = 304,24023 Da). La comparaison des données RMN recueillies avec celles collectées par Fongang Y.S.F. et ses collaborateurs[93] semblerait appuyer notre interprétation et suggérer l'identité moléculaire proposée de C.A.R.17 comme étant potentiellement l'*ent*-Pimara-8(14),15-diene-3*β*,11*α*-diol ou l'un de ses stéreoisomères. Une hypothèse renforcée par la proximité phylogénétique entre *C. oligandrus* chez qui ce composé a été isolé et *C. aubrevillei*, l'espèce sur laquelle porte ce travail. L'ensemble des données spectrales RMN de C.A.R.17 sont compilées dans le **tableau supplémentaire 1**.

Néanmoins, il convient de spécifier que les analyses spectrales réalisées au cours de ce travail ne suffisent seules à déterminer avec certitude la structure stéréoisomérique exacte des composés isolés. Afin de pallier à cette limitation, des analyses structurales complémentaires doivent être envisagées (NOESY, ROESY, cristallographie rayons X) afin de confirmer les positions exactes des groupements liés aux carbones asymétriques de C.A.R.17 par rapport au squelette polycyclique de la molécule.

3. Activité antiplasmodiale

L'extrait brut, les fractions, les sous-fractions et cinq des huit composés isolés à partir des racines de *C. aubrevillei* ont été testés *in vitro* afin d'évaluer leur activité antiplasmodiale contre les souches de *P. falciparum* sensible à la chloroquine (*Pf*3D7) et résistantes à l'artémisinine (*Pf*IPC-49).

L'activité antiplasmodiale de l'extrait brut, des fractions et des sous-fractions a été classée selon les critères suivants: hautement actif ($CI_{50} \leq 5\mu g/mL$), bonne activité ($5\ \mu g/mL < CI_{50} \leq 15\ \mu g/mL$), activité modérée ($15\ \mu g/mL < CI_{50} \leq 30\ \mu g/mL$), faible activité ($30\ \mu g/mL < CI_{50} < 50$

μg/mL), inactif (CI_{50} ≥ 50 μg/mL)[63]. En revanche, celle des composés isolés a été classée selon les critères définis par Batista *et al.*[65], selon lesquels un composé était considéré comme présentant une excellente activité (CI_{50} ≤ 1 μM), une bonne activité (1 μM < CI_{50} ≤ 20 μM), une activité modérée (20 μM < CI_{50} ≤ 100 μM), une faible activité (100 μM < CI_{50} < 200 μM) et inactif (CI_{50} ≥ 200 μM).

Tableau 6 : Activité antiplasmodiale et indice de résistance de l'extrait brut, des fractions et sous-fractions racinaires de *C. aubrevillei* contre les souches chloroquine-sensible (*Pf*3D7) et artémisinine-résistante (*Pf*IPC-49) de *P. falciparum*

Organes	Extrait et fractions	Activité antiplasmodiale CI_{50} ± SD (**µg/mL**)		Indice de résistance (IR) (/) : $CI_{50Pf\text{IPC-49}}/CI_{50Pf3D7}$
		***Pf*3D$_7$**	***Pf*IPC-49**	
		Extrait brut		
	Extrait brut	28,65 ± 4,25	33,03 ± 3,65	1,15
		Fractions		
Racines	Fr.1 (*n*-hexane)	35,16 ± 6,93	43,37 ± 4,89	1,23
	Fr.2 (CH_2Cl_2)	8,52 ± 1,69	18,12 ± 1,19	2,13
	Fr.3 (EtAOc)	29,28 ± 5,37	57,99 ± 3,86	1,98
	Fr.4 (*n*-butanol)	81,17 ± 10,67	> 100	> 1,23
		Sous-fractions de la fraction au dichlorométhane		
	Ss-fr. 4	15,99 ± 3,34	NE*	NE
	Ss-fr. 5	22,37 ± 1,44	NE	NE
	Ss-fr. 6	4,85 ± 0,38	8,49 ± 1,15	1,75

*NE : Non-évalué

Les résultats ont montré que l'extrait brut présente une activité antiplasmodiale modérée vis-à-vis de la souche sensible à la chloroquine (*Pf*3D7), avec une CI_{50} de 28,65 µg/mL, et une faible activité vis-à-vis de la souche résistante à l'artémisinine (*Pf*IPC-49), avec une CI_{50} de 33,03 µg/mL. L'indice de résistance correspondant est de 1,15 (**Tableau 6**, **Figure 14**). Les fractions obtenues à partir de l'extrait brut racinaire ont présenté des activités antiplasmodiales variables vis-à-vis des deux souches de *P. falciparum*, avec des valeurs de CI_{50} comprises entre 8,52 et > 100 μg/mL (**Tableau 6**, **Figure 14**). Parmi celles-ci, la fraction au dichlorométhane (**Fr.2**) a été la plus active, avec des valeurs de CI_{50} de 8,52 et 18,12 μg/mL vis-à-vis de la souche sensible *Pf*3D7 et de la souche résistante *Pf*IPC-49, respectivement. La fraction à l'acétate d'éthyle, quant à elle, a présenté une activité modérée vis-à-vis de *Pf*3D7, mais s'est révélée inactive vis-à-vis de *Pf*IPC-49 tandis que la fraction à l'*n*-hexane s'est illustrée par une faible activité contre les deux souches. Enfin, la fraction au *n*-butanol s'est révélée inactive vis-à-vis des deux souches (**Tableau 6**, **Figure 14**).

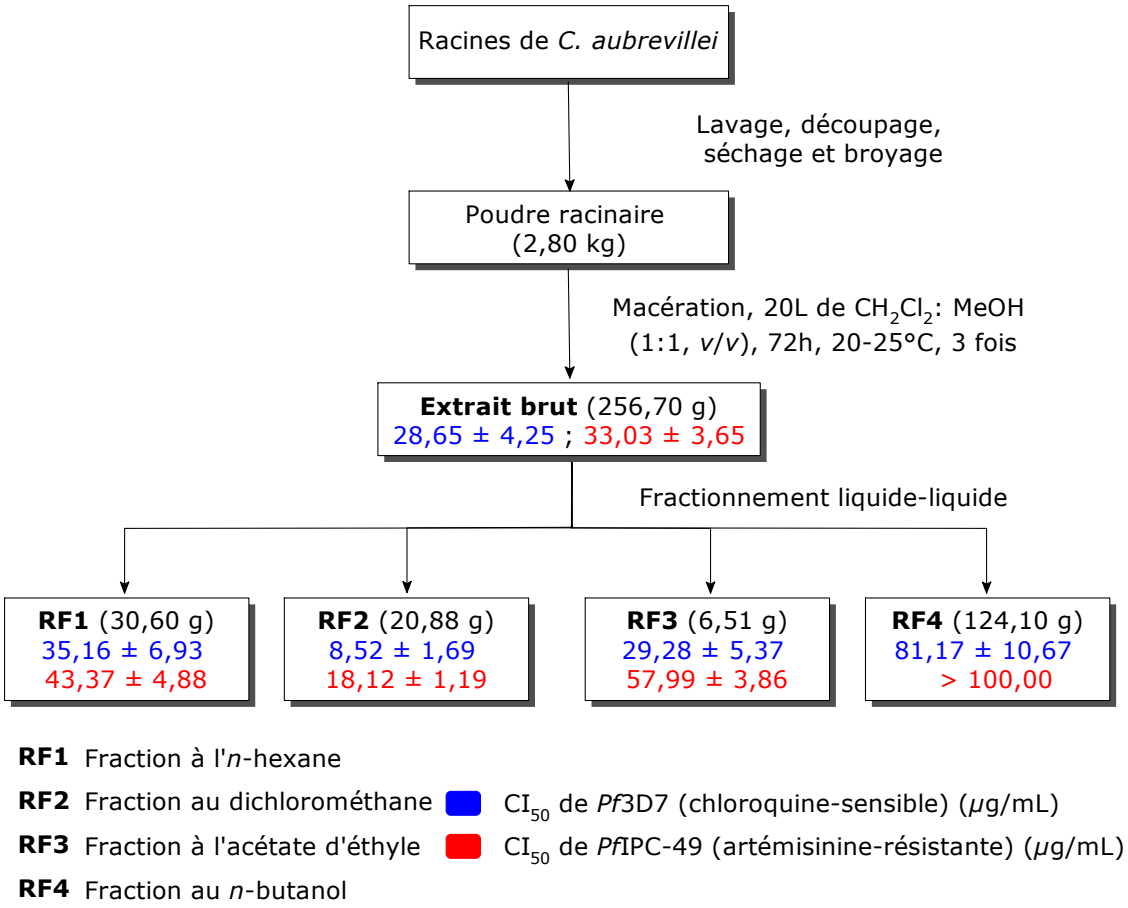


Figure 14 : Protocole d'extraction et fractionnement liquide-liquide des racines de *C. aubrevillei*

En raison de sa bonne activité antiplasmodiale, la fraction au dichlorométhane (**Fr.2**) a été soumise à un fractionnement par chromatographie sur colonne de gel de silice. Les sous-fractions obtenues ont ensuite été purifiées afin d'isoler et d'identifier les composés susceptibles d'être responsables de l'activité antiplasmodiale observée. Ainsi, des fractions de 100 mL ont été recueillies puis regroupées sur la base de leurs profils chromatographiques obtenus par CCM analytique. Ce regroupement a conduit à l'obtention de 213 fractions, ultérieurement réunies en six sous-fractions majeures, désignées **Ss.-Fr. 1 à Ss.-Fr. 6**. Parmi celles-ci, les sous-fractions **Ss.-Fr. 4, Ss.-Fr. 5 et Ss.-Fr. 6** ont été évaluées *in vitro* afin de déterminer leur activité antiplasmodiale vis-à-vis des deux souches étudiées. Les résultats ont mis en évidence une activité antiplasmodiale modérée des sous-fractions **Ss.-Fr. 4** et **Ss.-Fr. 5** vis-à-vis de la souche sensible *Pf*3D7 (**Tableau 6**, **Figure 15**). Un résultat particulièrement remarquable de notre étude concerne la sous-fraction six (**Ss.-Fr. 6**), qui s'est distinguée par l'activité antiplasmodiale la plus élevée parmi les sous-fractions évaluées. Cette sous-fraction a montré une inhibition notable de la croissance parasitaire, se traduisant par une bonne activité vis-à-vis de la souche résistante *Pf*IPC-49 (CI_{50} = 8,49 µg/mL) et une activité plus prononcée vis-à-vis de la souche sensible *Pf*3D7 (CI_{50} = 4,85 µg/mL).

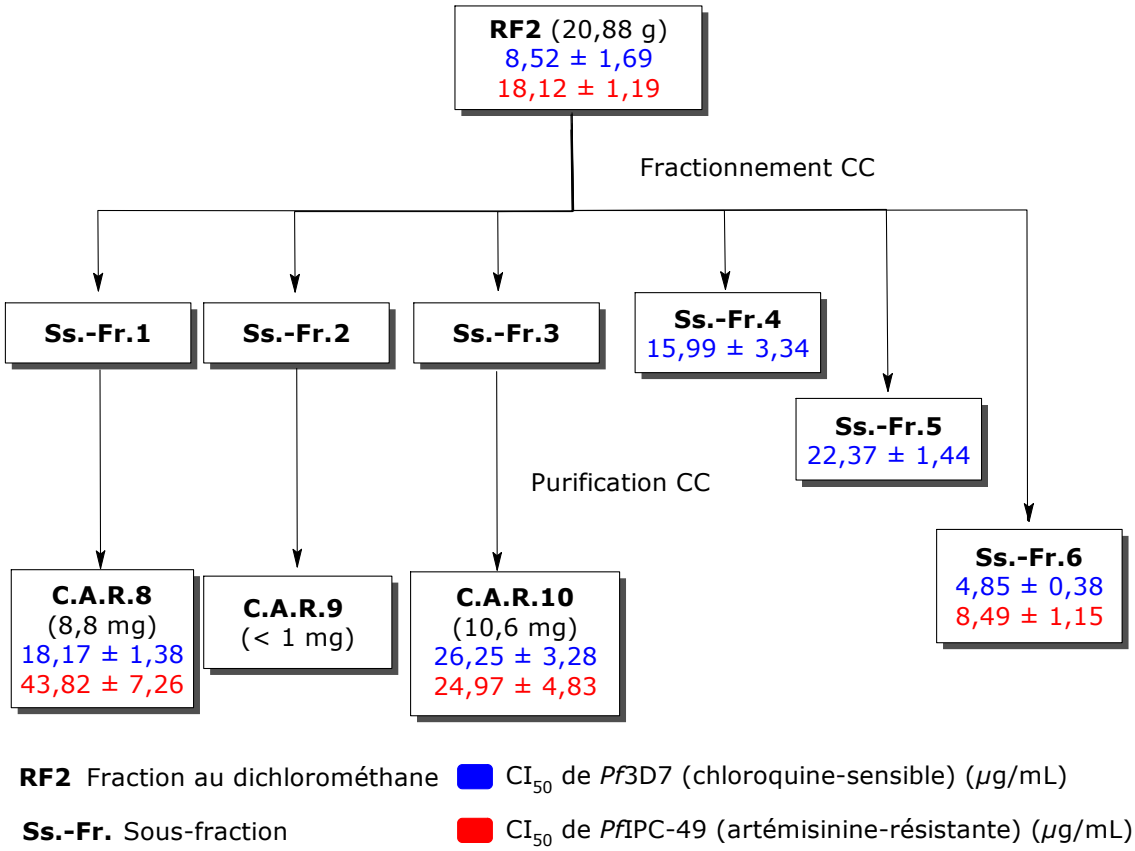


Figure 15 : Protocole de fractionnement et purification des composés isolés de la fraction au CH_2Cl_2 des racines de *C. aubrevillei*

Des huits composés caractérisés (**Figures 15** et **16**), seuls cinq (**C.A.R.8**, **C.A.R.10**, **C.A.R.12**, **C.A.R.14** et **C.A.R.17**) obtenus en quantité suffisante, ont été évalués *in vitro* pour déterminer leur efficacité antiplasmodiale, et les résultats ont été résumés dans le **tableau 7** ci-dessous. Une activité différenciée a été observée parmi ces composés, avec des valeurs d'IC_{50} s'échelonnant de 31,03 à 102,7 μM vis-à-vis de la souche *Pf*3D7, et de 78.96 à 144,03 μM contre la souche *Pf*IPC49 (**Tableau 7**). Parmi ces composés, **C.A.R.17**, un diterpène de la classe des pimaranes, s'est révélé modérément actif à l'égard de la souche sensible *Pf*3D7, avec une IC_{50} de 31,03 μM. Les quatre autres composés à l'exception de **C.A.R.12** (faible activité) ont également présenté une activité modérée vis-à-vis de la souche sensible *Pf*3D7.

Les activités antiplasmodiales des composés **C.A.R.9** n'a pas été évaluée faute d'avoir pu être isolé en quantité suffisantes pour la réalisation des tests *in vitro* (< 1 mg).

Tableau 7 : Activité antiplasmodiale et indice de résistance des composés isolés depuis les racines de *C. aubrevillei* contre les souches chloroquine-sensible (*Pf*3D7) et artémisinine-résistante (*Pf*IPC-49) de *P. falciparum.*

Composés	Activité antiplasmodiale IC_{50} ± SD (**µM**)		Indice de résistance (IR) (/) : $IC_{50PfIPC\text{-}49}/IC_{50Pf3D7}$
	***Pf*3D$_7$**	***Pf*IPC-49**	
C.A.R.6	NE*	NE	NE
C.A.R.11	NE	NE	NE
C.A.R.9	NE	NE	NE

*NE : Non-évalué

Tableau 7. (Suite et fin)

Composés	Activité antiplasmodiale IC_{50} ± SD (**µM**)		Indice de résistance (IR) (/) : $IC_{50PfIPC-49}/IC_{50Pf3D7}$
	***Pf*3D$_7$**	***Pf*IPC-49**	
C.A.R.10	83,02 ± 10,37	78,97 ± 9,61	0,95
C.A.R.8	59,72 ± 4,54	144,03 ± 23,86	2,41
C.A.R.12	102,7 ± 4,36	NE	NE
C.A.R.14	> 180	NE	NE
C.A.R.17	31,03 ± 1,63	NE	NE
Artémisinine	0,03	0,05 ± 0,01	1,67

*NE : Non-évalué

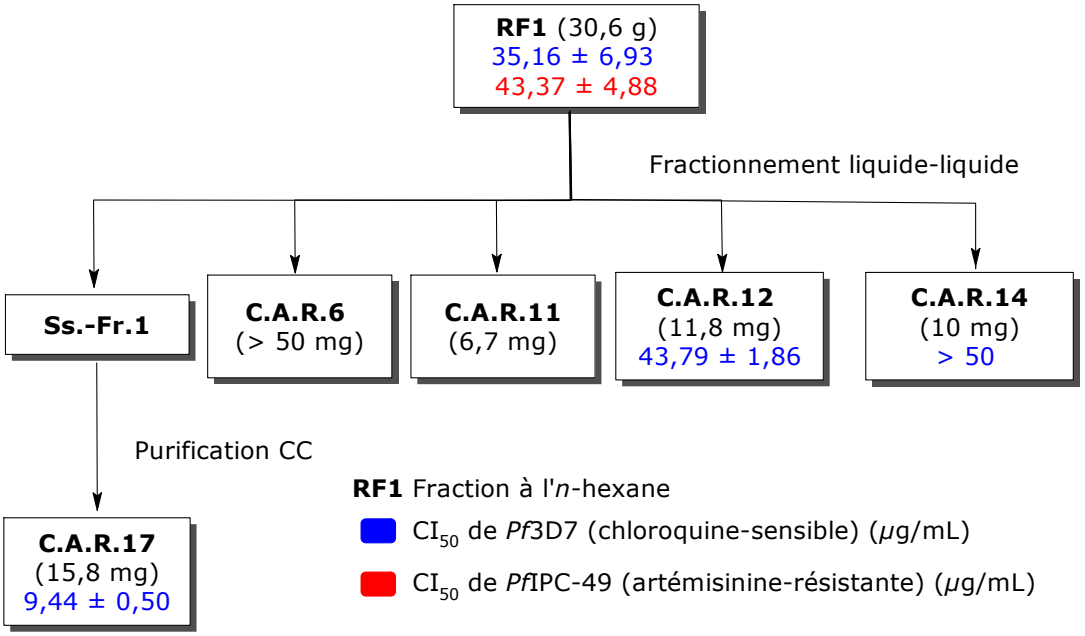


Figure 16 : Protocole de fractionnement et purification des composés isolés de la fraction à l'*n*-hexane des racines de *C. aubrevillei*

CHAPITRE V : DISCUSSION

Les substances naturelles, métabolites secondaires issus de divers organismes vivants[94], constituent une source importante de molécules d'intérêt thérapeutique. Leur identification repose notamment sur le fractionnement bio-guidé ou l'exploration phytochimique directe[5]. Dans un contexte marqué par la persistance du paludisme et l'émergence de résistances aux traitements existants, l'exploration des substances naturelles, notamment des plantes médicinales, constitue une stratégie pertinente pour la recherche de nouveaux agents antipaludiques. À ce titre, une enquête ethnobotanique de terrain réalisée dans la région du Centre-Cameroun et complétée par des études bibliographiques approfondies a révélé que l'espèce *Croton aubrevillei* (*Euphorbiaceae*) est utilisée traditionnellement par les populations locales pour soigner le paludisme et soulager

plusieurs symptômes associés. L'objectif de ce travail était donc d'explorer le potentiel antiplasmodial des racines de *Croton aubrevillei* au moyen d'une approche de fractionnement bio-guidé. Cette démarche a consisté à évaluer l'activité antiplasmodiale de l'extrait brut et des différentes fractions obtenues, puis à isoler et caractériser les métabolites secondaires présents dans ces fractions, avant d'évaluer leur potentiel antiplasmodial. La présente discussion vise à interpréter les résultats de cette étude au regard des données de la littérature et à apprécier le potentiel de cette espèce comme source de nouveaux candidats antipaludiques.

1. Extraction et caractérisation de l'extrait racinaire de *C. aubrevillei*

Les Euphorbiaceae figurent parmi les taxons les plus largement utilisés en médecine traditionnelle dans les régions tropicales[95,96]. Cette utilisation pourrait notamment s'expliquer par leur richesse en métabolites bioactifs, auxquels sont attribuées diverses propriétés pharmacologiques et thérapeutiques[97,98].La présente étude s'est focalisée sur l'analyse des racines de *C. aubrevillei*, en raison de l'utilisation fréquente de cet organe en médecine traditionnelle camerounaise. Le choix de cette partie de la plante s'explique par son accessibilité et sa facilité de prélèvement, des critères couramment rapportés dans les études ethnobotaniques[99]. Ces considérations ont ainsi orienté cette étude vers l'analyse des racines de *C. aubrevillei*, organe le plus couramment utilisé en médecine traditionnelle. Cette démarche repose à la fois sur la pertinence ethnobotanique de cet usage, la faisabilité de la collecte sur le terrain et l'intérêt de valoriser les ressources végétales à potentiel médicinal. Concernant la méthode d'extraction, les racines ont été soumises à une macération dans un mélange dichlorométhane–méthanol (1:1, *v/v*), sélectionné sur la base de la meilleure activité antiplasmodiale observée lors des micro-extractions préliminaires. Il convient de noter que la macération, figure parmi les techniques d'extraction couramment employées en médecine traditionnelle en raison de sa simplicité de mise en œuvre et de sa capacité à extraire différents composés bioactifs.

Ainsi donc, les chromatographies répétées sur colonnes de gel de silice et de Sephadex LH-20 des différentes fractions issues de l'extrait au dichlorométhane–méthanol (1:1, *v*/*v*) des racines de *C. aubrevillei* ont conduit à l'isolement de dix composés, dont cinq diterpènes, deux triterpènes et trois stérols. Ces résultats suggèrent l'importance des terpènes et plus particulièrement des diterpènes, dans la composition chimique de l'extrait racinaire de *C. aubrevillei*. Des résultats avec lesquels, l'ensemble des études récentes sur la caractérisation phytochimique des espèces du genre *Croton* semblent converger. En effet, les diterpènes (67,2%), y sont considérés comme des marqueurs chimiotaxonomiques du genre *Croton*[56], suivis des alcaloïdes (11,1%) et des autres terpènes (9,1%)[10]. Ces différentes classes de composés sont par ailleurs reconnues pour leur potentiel antiplasmodial[68]. A titre d'exemple, l'*ent*-Pimara-8(14),15-diene-3*α*-11*β*-diol (**C.A.R.17**), l'acide hardwiickique (**C.A.R.10**), l'acide acétylaleuritolique (**C.A.R.9**) et le lupéol (**C.A.R.12**), isolés et caractérisés à partir des racines de

C. aubrevillei dans la présente étude, sont autant de composés qui ont déjà été rapportés chez d'autres espèces du genre *Croton*[92,93,100,101].

Des facteurs génétiques (différentes espèces), environnementaux (saison et zone géographique de récolte) et techniques (solvant d'extraction) peuvent influencer la composition chimique des extraits issus d'espèces du genre *Croton*. À ce titre une étude récente a comparé les profils métaboliques des extraits obtenus des feuilles de 3 espèces du genre *Croton*, *C. floribundus*, *C. echinocarpus* et *C. zehntneri*, et de montrer des différences phytochimiques entre ceux-cis[102]. Une autre étude portant sur plusieurs extraits de feuilles de *C. grewioides* a permis de mettre en évidence des différences notables de profil phytochimique pour des extraits méthanoliques obtenus de feuilles récoltées à des saisons distinctes[103]. Enfin, une troisième étude a mis en évidence des différences phytochimiques et pharmacologiques entre les extraits hydroliques, méthanoliques, au dichlométhane et à l'acétate d'éthyle de parties aériennes de *C. hirtus*[104]. L'origine de ces différences s'explique par des métabolites secondaires dont les biosynthèses sont fortement influencées par la génétique de la plante qui les produit et les stress que celle-ci a pu rencontrer au cours de son développement.

2. Activité antiplasmodiale

L'extrait au dichlorométhane–méthanol (1:1, *v*/*v*) des racines de *C. aubrevillei* a présenté une activité antiplasmodiale modérée vis-à-vis de la souche sensible à la chloroquine (*Pf*3D7), (CI_{50} 28,65 µg/mL) et une faible activité vis-à-vis de la souche résistante à l'artémisinine (*Pf*IPC-49) (CI_{50} de 33,03 µg/mL). Ces résultats s'inscrivent dans la tendance globale des activités antiplasmodiales dégagée par les études pharmacologiques antérieures sur d'autres espèces du genre *Croton.* À titre d'exemple, une étude récente a montré que l'extrait issus des écorces du tronc de *C. sylvaticus* présentait une activité antiplasmodiale modérée vis-à-vis de la souche sensible à la chloroquine (*Pf*3D7), (CI_{50} de 18,47 ± 4,08 *µ*g/mL) et une bonne activité vis-à-vis de la souche multi-résistante (*Pf*Dd2) (CI_{50} de 10,57 ± 0,05 *µ*g/mL)[45]. Les différences d'activités antiplasmodiales observées entre notre extrait et ceux issus d'autres espèces du genre *Croton* pourraient être attribuables à des facteurs similaires à ceux évoqués pour expliquer les différences observées dans la composition chimique des extraits.

L'activité antiplasmodiale de l'extrait racinaire pourrait être attribuée, au moins en partie, à sa richesse en di- et triterpènes, comme le suggère la nature des composés isolés au cours du fractionnement. Cette hypothèse est étayée par les nombreux diterpènes et triterpènes isolés d'espèces du genre *Croton,* dont plusieurs ont montré de bonne activités antiplasmodiales[45,64,65]. On peut notamment citer l'acide acétylaleuritolique isolée depuis les feuilles de *C. crassifolius* qui a présenté de bonnes activités antiplasmodiales avec une CI_{50} de 15,01 *µ*M à la fois contre la souche sensible *Pf*3D7 et la souche multi-résistante *Pf*K1[100,105].

Toutefois, l'activité modérée de notre extrait ne peut pas être expliquée par la présence d'un ou de quelques composés majoritaires aux bonnes ou très bonnes activités antiplasmodiales individuelles. En revanche, l'activité modérée de notre extrait pourrait s'expliquer par des effets antagonistes entre des composés aux activités antiplasmodiales élevées et d'autres composés aux activités antiplasmodiales faibles. En effet, plusieurs études ont montré des effets antagonistes entres plusieurs classes de terpènes. Parmi elles, une étude a mise en évidence les effets antagonistes du lupénone, un triterpène sans activité trypanocidale, et de l'oxyde de *β*-caryophyllène, un sesquiterpène à l'activité trypanocidale modérée, contre *Trypanosoma cruzi*, un protozoaire pathogène à la biologie proche de celle de *P. falciparum*[106].

Néanmoins, les activités antiplasmodiales des composés isolés atteignent rarement les seuils correspondant à une forte activité selon les critères de classification généralement admis. Ces observations suggèrent que les activités des extraits résulteraient davantage l'action combinée de molécules bioactives agissant en synergie plutôt que de l'action isolée d'un composé hautement actif. Dans le cas des actions combinées, les composés peuvent agir sur des cibles ou des voies métaboliques distinctes, ou encore cibler une même voie par des mécanismes d'action différents, conduisant ainsi à des effets additifs ou synergiques. Plusieurs études ont d'ailleurs rapporté des interactions synergiques entre des métabolites secondaires présents dans des extraits ou isolés d'espèces du genre *Croton*. À titre d'exemple, Owusu K. et collaborateurs ont mis en évidence une activité anthelminthique synergique résultant de l'action combinée de constituants présents dans l'extrait éthanolique d'écorce du tronc de *C. penduliflorus* et dans certaines de ses fractions contre *Eudrilus eugeniae*[107]. Les auteurs concluent en attribuant l'action antihelminthique de leurs fractions à un ensemble de composés bioactifs responsables d'un mode d'action multifactoriel ne ciblant pas exclusivement la même cible moléculaire[107]. En outre, des actions synergiques entre plusieurs terpènes ont déjà pu être mise en évidence par diverses études. Parmi elles, l'étude conduite par Izumi E. et collaborateurs, a démontré l'action trypanocidale synergique de plusieurs diterpènes et sesquiterpènes isolés de la résine de *Copaifera* contre *Trypanosoma cruzi*, un parasite au cycle de vie proche de *P. falciparum*[108]. Parmi les différentes combinaisons testées, celle entre l'acide copalique (diterpène) et le *β*-caryophylène (sesquiterpène) présente la plus forte relation synergique contre le parasite[108].

Bien que l'extrait brut des racines de *C. aubrevillei* n'ait pas satisfait aux critères d'une activité antiplasmodiale « prononcée » selon la classification de Shinyuy et al., 2025, l'activité observée dans notre étude a néanmoins justifié la mise en œuvre d'une approche de fractionnement bio-guidé. Cette stratégie, fondée sur un fractionnement progressif guidé par l'activité biologique, a permis d'identifier des fractions et sous-fractions présentant une activité antiplasmodiale plus importante que celle de l'extrait brut. Les fractions les plus actives ont ensuite été soumises à des étapes successives de purification, conduisant à l'isolement et à la

caractérisation structurale de composés purs, dont le potentiel antiplasmodial a également été évalué.

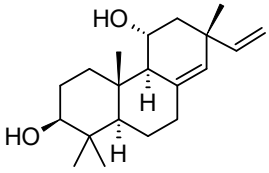
Des fractions obtenues à partir de l'extrait brut racinaire, celle au dichlorométhane (**Fr.2**) s'est particulièrement distinguée ; en effet, elle a été la plus active, avec des valeurs de CI_{50} de 8,52 et 18,12 *µ*g/mL vis-à-vis de la souche sensible *Pf*3D7 et de la souche résistante *Pf*IPC-49, respectivement. Tandis que les autres fractions présentaient quant à elles des activités antiplasmodiales variables vis-à-vis des deux souches de *P. falciparum*, allant d'inactive à modérée (**Tableau 6**). Les différences d'activités observées entre les fractions pourraient s'expliquer par la concentration des composés antipaludiques les plus actifs et aux structures moléculaires proches, au sein d'une fraction commune lors du partitionnement de l'extrait. En effet, plusieurs études ont montré que les fractions au dichlorométhane issues d'extraits d'espèces du genre *Croton* sont particulièrement riches en diterpènes, triterpènes et les alcaloïdes, parmi lesquels des composés à activité antiplasmodiale ont été identifiés[45,109]. Globalement, ces résultats suggèrent que les composés bioactifs de *C. aubrevillei* sont majoritairement apolaires, les fractions polaires, enrichies en métabolites hydrophiles, n'ayant montré qu'une faible activité antiplasmodiale (**Tableau 6**). Cette hypothèse est étayée par une étude antérieure de Mianda *et al*. (2022), qui rapporte une faible activité antiplasmodiale au sein des fractions polaires issues de l'extrait brut de racines d'*Aloe marlothii*, obtenu à l'aide du système dichlorométhane-méthanol (1:1), un mélange de solvants à polarité élevée[110].

Le fractionnement via une chromatographie sur colonne de gel de silice de la fraction au dichlorométhane a conduit à l'obtention de six sous-fractions, dont trois ont présenté des activités antiplasmodiales variables, allant de modérées à élevées (Tableau 6). Parmi celles-ci, la sous-fraction 6 (Ss.-Fr. 6) s'est distinguée par l'activité antiplasmodiale la plus importante, constituant ainsi l'un des résultats majeurs de cette étude. Cette sous-fraction a montré une inhibition notable de la croissance parasitaire, se traduisant par une bonne activité vis-à-vis de la souche résistante *Pf*IPC-49 (CI_{50} = 8,49 *µ*g/mL) et une activité plus prononcée vis-à-vis de la souche sensible *Pf*3D7 (CI_{50} = 4,85 *µ*g/mL). La forte activité antiplasmodiale de cette sous-fraction suggère qu'elle pourrait constituer une source intéressante de molécules têtes de série pour le développement de nouveaux agents antipaludiques. Par ailleurs, son activité contre la souche résistante à l'artémisinine pourrait indiquer la présence de composés capables de contourner, au moins en partie, les mécanismes de résistance associés à cet antipaludique. Toutefois, des études mécanistiques complémentaires seraient nécessaires pour déterminer si ces composés agissent effectivement sur des cibles ou par des mécanismes d'action distincts de ceux de l'artémisinine. Enfin, l'activité observée pourrait résulter de l'action individuelle d'un ou de plusieurs métabolites antiplasmodiaux, ou d'interactions additives ou synergiques entre plusieurs constituants de la sous-fraction. Actuellement, il existe peu d'études sur les mécanismes d'actions de composés isolés depuis des espèces du genre *Croton* contre *P. falciparum*. La plupart des se contente

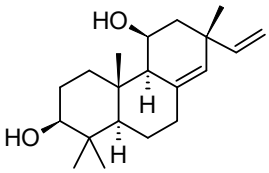
d'émettre des hypothèses sur les mécanismes impliqués et les cibles moléculaires demeurent encore mal identifiées. De plus, la composition chimique de la sous-fraction six n'ayant pas été déterminée, la nature des métabolites responsables de sa forte activité antiplasmodiale reste à déterminer et nécessiterait des investigations phytochimiques complémentaires.

À partir de ces différentes fractions, dix (10) composés ont été isolés et caractérisés, incluant cinq diterpènes, deux triterpènes et trois stéroïdes. Parmi les composés isolés, l'*ent*-Pimara-8(14),15-diene-3*α*-11*β*-diol (**C.A.R.17**) et l'isopimara-8(14),15-diene-3*β*,11*α*-diol (**C.A.R.8**) présentent les plus fortes activités antiplasmodiales. La différence d'activité observée entre ces composés pourrait être attribuée à leur stéréochimie respective et constitue un argument supplémentaire en faveur de leur potentielle différence stéréochimique.

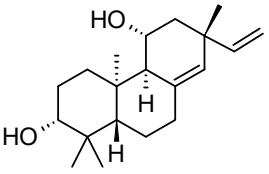
Tout d'abord, la présence de 6 carbones asymétriques au sein de la structure de l'*ent*-Pimara-8(14),15-diene-3*α*-11*β*-diol (C_3, C_5, C_9, C_{10}, C_{11} et C_{13}) permet théoriquement d'envisager 64 stéréoisomères potentiels pour ce composé. Ensuite, les connaissances actuelles sur la biosynthèse des pimaranes, ont mis en évidence, chez le genre *Croton* notamment, plusieurs voies biosynthétiques aboutissant à la formation de 4 sous-classes de stéréoisomères ; les pimaranes, les isopimaranes et leurs énantiomères respectifs[56]. De plus, les avancées actuelles en phytochimie sont telles, qu'à notre connaissance, 3 stéréoisomères de l'*ent*-Pimara-8(14),15-diene-3*α*-11*β*-diol ont été isolés et caractérisés (**Figure 17**).



***ent*-Pimara-8(14),15-diene-3*α*-11*β*-diol**
(Fongang Y.S.F. et al., 2021)



Isopimara-8(14),15-diene-3*β*,11*α*-diol
(Wu X.-D. et al., 2013)



(2R,4aR,4bR,5R,7R,10aS)-7-Ethenyl-1,2,3,4,4a,4b,5,6,7,9,10,10a-dodecahydro-1,1,4a,7-tetramethyl-2,5-phenanthrenediol
(Ambrosio S.R. et al., 2004)

Figure 17 : Les 3 stéréoisomères connus potentiels de l'*ent*-Pimara-8(14),15-diene-3*α*-11*β*-diol

Enfin, cette hypothèse pourrait expliquer les différences d'activités antipaludiques observées entre les composés C.A.R.8 et C.A.R.17. En effet, les activités biologiques de composés reposent généralement sur des interactions stéréochimiques entre le ligand (notre composé) et sa cible cellulaire (site catalytique ou allostérique d'enzyme, transporteur membranaire etc.) et un stéréoisomère d'un composé peut interagir de façon préférentielle avec elle. Les stéréoisomères des pimaranes ne semblent pas échapper à cette règle. À titre d'illustration, on peut citer le travail de Wei W.-J et collaborateurs qui ont testés les activités phytotoxiques de l'isopimara-8(14),15-diene-3*β*,11*α*-diol et 8 autres *ent*-isopimaranes isolés des racines

d'*Euphorbia hylonoma*[111]. Les auteurs ont démontré que le simple changement de conformation de l'hydroxyle en C_{12} entre les 4 paires d'épimères isolées, pouvait être responsable d'une division par 3 à 14 du taux d'inhibition de croissance[111]. Comme autre exemple, on peut citer le travail de Li X.-D. et collaborateurs qui ont isolé à partir d'*Aspergillus wentii* SD-310 4 nouveaux épimères de 20-nor-isopimaranes et ont évalués leurs activités antibactériennes contre 5 espèces de bactéries pathogènes[112]. Ils ont démontré que l'activité antimicrobienne contre une même espèce pouvait être multipliée de 2 à 4 fois entre les épimères d'une même molécule[112].

3. Les extraits végétaux, un levier contre les résistances thérapeutiques

Ce mémoire sur *C. aubrevillei*, plante médicinale traditionnelle camerounaise, s'inscrivait dans la continuité des études phytochimiques sur le genre *Croton* en mobilisant à la fois l'ethnobotanique, l'isolement de composés et l'évaluation d'extraits complexes. L'investigation phytochimique menée sur cette espèce encore peu étudiée jusqu'à lors, a permis d'isoler plusieurs molécules présentant une activité antiplasmodiale intéressante. L'efficacité de ces molécules, y souligne le potentiel pharmacologique des composés issus de cette plante.

Néanmoins, les activités antiplasmodiales de l'extrait racinaires de *C. aubrevillei*, de sa fraction au dichlorométhane et surtout de certaines des sous-fractions de cette dernière, ont montrés des activités particulièrement intéressantes y compris contre la souche résistante à l'artémisinine. De plus, les activités antiplasmodiales des composés isolés ont montrés des activités individuelles plus faibles que l'extrait, les fractions et les sous-fractions obtenues. Ces résultats s'inscrivant dans la tendance générale dégagée des activités antiplasmodiales des extraits et composés isolés d'autres espèces du genre Croton (**Tableau 2** et **3**)[45]. Ces observations suggèrent que les activités des extraits résulteraient davantage l'action combinée de molécules bioactives agissant en synergie plutôt que de l'action isolée d'un composé hautement actif.

De plus en plus, des études soulignent l'importance des synergies naturelles et invite à dépasser le paradigme du « principe actif unique ». Elles rappellent qu'il est plus difficile pour *P. falciparum* de développer une résistance contre l'action combinée d'un ensemble de composés agissant de concert sur plusieurs voies métaboliques et exerçant de ce fait une pression sélective moins ciblée. Ainsi, l'exemple récent d'*Artemisia annua*, dont les feuilles entières demeurent efficaces contre des souches résistantes à l'artémisinine pure[113], illustre l'importance des synergies naturelles des extraits de plantes médicinales. L'efficacité des extraits de feuilles d'*Artemisia annua* y comprit contre les souches résistantes à l'artémisinine et l'absence de développement de résistance à l'artémisinine, dans un modèle murin de paludisme, résulterait de la présence d'une dizaine de composés antiparasitaires agissant en synergie sur le parasite[113].

Ainsi, l'extrait racinaires de *C. aubrevillei*, sa fraction au dichlorométhane et les sous-fractions aux bonnes et très bonnes activités antiplasmodiales issues de celle-ci, pourrait jouer un rôle important dans la lutte contre les résistances actuelles et à venir.

4. Durabilité de l'extrait racinaire de *C. aubrevillei*

L'exploitation de *C. aubrevillei*, une espèce dont l'extrait des racines a démontré un potentiel antiplasmodial, soulève d'importantes préoccupations écologiques et économiques. L'un des principaux défis réside dans le fait que la récolte des racines, bien qu'elle permette d'obtenir des composés actifs tels que l'*ent*-Pimara-8(14),15-diene-3*α*-11*β*-diol et l'acide acétylaleuritolique, ainsi que des fractions et sous-fractions actives, elle risque d'entraîner la mort de l'arbre en endommageant son système racinaire, essentiel à sa nutrition.

Les composés et fractions, qui ont montré des propriétés bioactives intéressantes, pourraient être utilisés pour développer des traitements contre le paludisme, augmentant ainsi leur valeur pharmaceutique et l'intérêt porté à leur exploitation durable. Afin d'assurer la pérennité de l'espèce, une culture contrôlée en agroforesterie et/ou le reboisement de terres dégradées pourrait, d'une part, maintenir des populations d'arbres viables et, d'autre part, générer des revenus pour les communautés locales grâce au partage des bénéfices issus de la vente de racines ou extrait de la plante.

C. aubrevillei pourrait également présenter une forte capacité de régénération naturelle, comme cela a été observé chez des espèces similaires après d'importantes perturbations[114].

Parallèlement, des méthodes d'extraction alternatives à la macération au dichlorométhane/méthanol, moins coûteuses et plus respectueuses de l'environnement, doivent être explorées, notamment concernant l'utilisation de solvants, en particulier l'éthanol, qui a déjà permis d'obtenir des extraits avec de bonnes activités antiplasmodiales chez d'autres espèces du genre Croton[58]. De plus, la recherche scientifique pourrait diversifier les sources d'extraction en utilisant d'autres parties de l'arbre, telles que les feuilles, les graines et/ou les fruits dont la récolte serait moins dommageable à la survie de l'arbre.

En repensant les pratiques agricoles et les méthodes d'extraction, il serait possible de protéger cette espèce d'une façon durable et respectueuse de l'environnement. Enfin, les études écologiques et les programmes de suivi fournissent des données essentielles pour guider les stratégies de conservation, assurant ainsi que cette espèce continue d'être une ressource durable pour les générations futures[115].

CHAPITRES VI : CONCLUSION & PERSPECTIVES

Le présent travail avait pour objectif d'étudier le potentiel antiplasmodial des racines de *Croton aubrevillei* J. Léonard par une approche fondée sur le fractionnement bioguidé, afin d'isoler et de caractériser des métabolites secondaires susceptibles de contribuer à l'activité biologique observée. Dans un contexte marqué par la persistance du paludisme et par l'émergence ou la propagation de résistances chez *P. falciparum* contre les traitements antipaludiques actuels, l'exploration de nouvelles sources naturelles de molécules actives demeure une voie de recherche indispensable. Le choix de *C. aubrevillei*, espèce dont la macération des racines dans un alcool traditionnel local est employée pour lutter contre le paludisme, mais encore peu étudiée sur les plans phytochimique et pharmacologique, s'inscrivait parfaitement dans cette démarche.

Les résultats obtenus ont permis de mettre en évidence l'activité antiplasmodiale de l'extrait brut des racines de *C. aubrevillei* contre la souche sensible à la chloroquine (*Pf*3D7) et celle résistante à l'artémisinine (*Pf*IPC-49) de *Plasmodium falciparum*. Le fractionnement de cet extrait a ensuite permis de concentrer cette activité dans certaines fractions, notamment dans la fraction obtenue au dichlorométhane. La poursuite du fractionnement de cette dernière a conduit à l'obtention de sous-fractions présentant une activité plus marquée, en particulier la sous-fraction **Ss.-Fr.6**, qui a montré des CI_{50} contre les souches *Pf*3D7 et *Pf*IPC-49 de respectivement 4,85 ± 0,38 μg/mL et 8,49 ± 1,15 μg/mL. Ces résultats indiquent que les constituants responsables, en tout ou en partie, de l'activité observée ont été concentrés au cours du processus de fractionnement.

Ces résultats constituent l'un des principaux apports de cette étude et confirment l'intérêt de poursuivre l'exploration de cette espèce végétale.

Les travaux de fractionnement et de purification ont également permis l'isolement de dix composés qui ont été entièrement caractérisés. Parmi les métabolites identifiés figurent notamment des diterpènes, des triterpènes et des stérols. L'évaluation antiplasmodiale des composés obtenus a révélé des activités variables. C.A.R.17 s'est notamment distingué comme le composé le plus actif parmi ceux testés contre la souche sensible *Pf*3D7, avec une CI_{50} de 31,03 ± 1,63 μM, correspondant à une activité modérée.

L'un des résultats les plus importants de ce travail réside toutefois dans l'écart observé entre l'activité de Ss.-Fr.6 et celle des composés isolés individuellement. En effet, aucun des composés testés n'a permis de reproduire l'activité élevée de cette sous-fraction. Cette observation ne permet donc pas, à ce stade, d'identifier avec certitude le ou les constituants responsables de l'activité observée. Elle pourrait s'expliquer par la présence, dans Ss.-Fr.6, de composés encore non isolés, mais également par des interactions additives ou synergiques entre plusieurs métabolites. Ainsi, les résultats obtenus soulignent l'importance de considérer les

extraits et fractions végétales comme des systèmes chimiques complexes, dont l'activité biologique peut résulter de l'action combinée de plusieurs constituants. Au regard de ces résultats, la première perspective consisterait donc à poursuivre l'étude phytochimique de Ss.-Fr.6, qui constitue la principale fraction d'intérêt identifiée au cours de ce travail, mais aussi celles des sous-fractions Ss.-Fr.4 et Ss.-Fr.5, qui ont également présenté de bonnes activités antiplasmodiales. L'optimisation des étapes de séparation, notamment par l'utilisation de techniques chromatographiques à plus haute résolution telles que l'HPLC analytique et préparative, pourrait permettre d'isoler les composés les plus polaires présents au sien des sous-fraction et d'en déterminer les structures.

La caractérisation structurale de C.A.R.17, réalisée principalement à partir des données de RMN 1D et 2D et de leur comparaison avec les données de la littérature, a permis de proposer une structure compatible avec celle de l'*ent*-Pimara-8(14),15-diene-3β,11α-diol. Néanmoins, certaines incertitudes demeurent quant à l'établissement définitif de sa stéréochimie. Des analyses complémentaires (NOESY, ROESY et cristallographie rayons X) seront donc nécessaires pour confirmer avec précision la structure et la configuration absolue du composé.

Sur le plan biologique, il serait intéressant d'étendre l'évaluation des composés et sous-fractions les plus prometteurs à la souche PfIPC-49, notamment pour C.A.R.17 ainsi que pour Ss.-Fr.4 et Ss.-Fr.5. Ces investigations permettraient de mieux caractériser leur profil d'activité vis-à-vis des parasites présentant une résistance à l'artémisinine. Il conviendrait également d'approfondir l'étude des interactions entre les constituants des fractions actives. La combinaison de composés isolés depuis les sous-fractions les plus actives et l'évaluation de leur activités antiplasmodiales pourrait notamment permettre de déterminer si l'activité élevée de Ss.-Fr.6 résulte d'un effet additif ou synergique entre plusieurs métabolites par l'intermédiaire d'isobolgrammes. Il serait également intéressant de réaliser des études de cytotoxicité sur différentes lignées cellulaires humaines des extraits, fractions, sous-fractions et composés isolés afin d'établir la sélectivité de leur activité contre le parasite.

Enfin, la poursuite des recherches sur *C. aubrevillei* pourrait intégrer la dimension environnementale et la durabilité de son exploitation. L'utilisation des racines comme matière première peut en effet compromettre la survie de l'arbre et limiter la pérennité de cette ressource. Il serait donc pertinent d'explorer des parties végétales dont la récolte est moins dommageable, notamment les feuilles, les graines ou les fruits, et d'évaluer leur composition chimique et leur potentiel antiplasmodial. Des méthodes d'extraction alternatives à la macération au dichlorométhane/méthanol, notamment l'utilisation de solvants plus accessibles et moins préoccupants sur le plan environnemental tels que l'éthanol, pourraient également être étudiées.

Dans son ensemble, cette étude constitue ainsi une première contribution à la connaissance phytochimique et biologique de *C. aubrevillei*. Elle met en évidence le potentiel antiplasmodial de ses racines et identifie plusieurs fractions présentant une activité intéressante, tout en apportant

de nouvelles données sur les métabolites secondaires présents dans cette espèce. Toutefois, les résultats obtenus ne permettent pas encore de considérer les composés isolés comme des candidats antipaludiques établis ni d'attribuer l'activité élevée de Ss.-Fr.6 à une molécule particulière.

Les résultats de ce travail ouvrent plusieurs voies de recherche autour de *C. aubrevillei*, à la fois sur les plans phytochimique et pharmacologique. La caractérisation des constituants encore présents dans Ss.-Fr.6, l'étude de leurs éventuelles interactions, la confirmation structurale des molécules isolées et l'évaluation de leur activité et de leur sélectivité permettront de mieux comprendre l'origine du potentiel antiplasmodial observé. À plus long terme, ces investigations pourraient contribuer à déterminer si certains métabolites de *C. aubrevillei*, seuls ou en association, présentent un intérêt réel comme sources de nouveaux agents antiplasmodiaux. Ce travail constitue ainsi une étape initiale dans l'exploration scientifique de cette espèce et fournit des résultats qui justifient pleinement la poursuite de son investigation.

CHAPITRES VII : CONTRIBUTION PERSONELLE

Ce mémoire est le résultat d'un important travail personnel tant sur le plan rédactionnel qu'expérimental. Tout d'abord, l'ensemble de la recherche bibliographique approfondie portant sur le paludisme, la phytochimie et les propriétés pharmacologiques des espèces du genre *Croton* et que l'on retrouve tout au long de ce travail a été réalisé directement par l'auteur lui-même. Sur le plan expérimental, l'extraction, le fractionnement de l'extrait par plusieurs techniques chromatographiques, la purification des composés ainsi que leur analyse spectrométrique infrarouge a également ont directement été réalisé par l'auteur au sein du Laboratoire de Chimie des Molécules Naturelles (LCMN) de la faculté de Gembloux Agro-Bio Tech. Les analyses spectrales RMN (^{1}H, ^{13}C, HSQC ^{13}C-^{1}H, HMBC ^{13}C-^{1}H et COSY ^{1}H-^{1}H) et les études de l'activité antiplasmodiale de l'extrait brut, des fractions, sous-fractions et composés isolés, ont respectivement été conduite par l'équipe du Pr. Christian Damblon au sein du *Centre de Résonance Magnétique Nucléaire* (CREMAN) et par l'équipe du Pr. Michel Frederich au sein du *Centre Interdisciplinaire de la Recherche sur le Médicament* (CIRM) de l'ULiège. Le traitement des résultats et leur interprétation a été entièrement réalisé par l'auteur sous la supervision et les conseils de la promotrice la Dr. Manon Genva et du co-promoteur le Dr. Pierre Leonel K. Takofeu Taguimjeu. La rédaction du dit mémoire a entièrement été réalisée par l'auteur. En termes d'IA, BioRender a été utilisée afin de générer les figures scientifiquement cohérentes à celles retrouvées dans la littérature afin d'illustrer ce travail.

BIBLIOGRAPHIE

(1) Fikadu, M.; Ashenafi, E. Malaria: An Overview. *Infect. Drug Resist.* **2023**, *Volume 16*, 3339–3347. https://doi.org/10.2147/IDR.S405668.

(2) World Malaria Report 2025: Addressing the Threat of Antimalarial Drug Resistance.

(3) Chaachouay, N.; Zidane, L. Plant-Derived Natural Products: A Source for Drug Discovery and Development. *Drugs Drug Candidates* **2024**, *3* (1), 184–207. https://doi.org/10.3390/ddc3010011.

(4) Najmi, A.; Javed, S. A.; Al Bratty, M.; Alhazmi, H. A. Modern Approaches in the Discovery and Development of Plant-Based Natural Products and Their Analogues as Potential Therapeutic Agents. *Molecules* **2022**, *27* (2), 349. https://doi.org/10.3390/molecules27020349.

(5) Shang, X.; Dai, L.; Cao, X.; Ma, Y.; Gulnaz, I.; Miao, X.; Li, X.; Yang, X. Natural Products in Antiparasitic Drug Discovery: Advances, Opportunities and Challenges. *Nat. Prod. Rep.* **2025**, *42* (9), 1419–1458. https://doi.org/10.1039/D5NP00007F.

(6) Boualam, M. A.; Pradines, B.; Drancourt, M.; Barbieri, R. Malaria in Europe: A Historical Perspective. *Front. Med.* **2021**, *8*, 691095. https://doi.org/10.3389/fmed.2021.691095.

(7) Mohammadi, S.; Jafari, B.; Asgharian, P.; Martorell, M.; Sharifi-Rad, J. Medicinal Plants Used in the Treatment of Malaria: A Key Emphasis to *Artemisia* , *Cinchona* , *Cryptolepis* , and *Tabebuia* Genera. *Phytother. Res.* **2020**, *34* (7), 1556–1569. https://doi.org/10.1002/ptr.6628.

(8) Board on Population Health and Public Health Practice; Health and Medicine Division; National Academies of Sciences, Engineering, and Medicine. *Assessment of Long-Term Health Effects of Antimalarial Drugs When Used for Prophylaxis*; Savitz, D. A., Styka, A. N., Eds.; National Academies Press: Washington, D.C., 2020; p 25688. https://doi.org/10.17226/25688.

(9) Zhang, J.; Hunto, S. T.; Yang, Y.; Lee, J.; Cho, J. Y. Tabebuia Impetiginosa: A Comprehensive Review on Traditional Uses, Phytochemistry, and Immunopharmacological Properties. *Molecules* **2020**, *25* (18), 4294. https://doi.org/10.3390/molecules25184294.

(10) Obende, S. O.; Ochieng, C. O.; Shikanga, E. A.; Cruz, J. N.; Santos, C. B. R.; Kimani, N. M. Croton's Therapeutic Promise: A Review of Its Phytochemistry and Critical Computational ADME/Tox Analysis. *South Afr. J. Bot.* **2024**, *171*, 648–672. https://doi.org/10.1016/j.sajb.2024.06.031.

(11) Escalante, A. A.; Cepeda, A. S.; Pacheco, M. A. Why Plasmodium Vivax and Plasmodium Falciparum Are so Different? A Tale of Two Clades and Their Species Diversities. *Malar. J.* **2022**, *21* (1), 139. https://doi.org/10.1186/s12936-022-04130-9.

(12) Alghamdi, J. M.; Al-Qahtani, A. A.; Alhamlan, F. S.; Al-Qahtani, A. A. Recent Advances in the Treatment of Malaria. *Pharmaceutics* **2024**, *16* (11), 1416. https://doi.org/10.3390/pharmaceutics16111416.

(13) Takken, W.; Charlwood, D.; Lindsay, S. W. The Behaviour of Adult Anopheles Gambiae, Sub-Saharan Africa's Principal Malaria Vector, and Its Relevance to Malaria Control: A Review. *Malar. J.* **2024**, *23* (1), 161. https://doi.org/10.1186/s12936-024-04982-3.

(14) Sato, S. Plasmodium—a Brief Introduction to the Parasites Causing Human Malaria and Their Basic Biology. *J. Physiol. Anthropol.* **2021**, *40* (1), 1. https://doi.org/10.1186/s40101-020-00251-9.

(15) Ouologuem, D. T.; Dara, A.; Kone, A.; Ouattara, A.; Djimde, A. A. Plasmodium Falciparum Development from Gametocyte to Oocyst: Insight from Functional Studies. *Microorganisms* **2023**, *11* (8), 1966. https://doi.org/10.3390/microorganisms11081966.

(16) Li, Q.; Liu, T.; Lv, K.; Liao, F.; Wang, J.; Tu, Y.; Chen, Q. Malaria: Past, Present, and Future. *Signal Transduct. Target. Ther.* **2025**, *10* (1), 188. https://doi.org/10.1038/s41392-025-02246-3.

(17) Chahine, Z.; Le Roch, K. G. Decrypting the Complexity of the Human Malaria Parasite Biology through Systems Biology Approaches. *Front. Syst. Biol.* **2022**, *2*, 940321. https://doi.org/10.3389/fsysb.2022.940321.

(18) Loubens, M.; Vincensini, L.; Fernandes, P.; Briquet, S.; Marinach, C.; Silvie, O. *Plasmodium* Sporozoites on the Move: Switching from Cell Traversal to Productive Invasion of Hepatocytes. *Mol. Microbiol.* **2021**, *115* (5), 870–881. https://doi.org/10.1111/mmi.14645.

(19) Scheiner, M.; Burda, P.; Ingmundson, A. Moving on: How Malaria Parasites Exit the Liver. *Mol. Microbiol.* **2024**, *121* (3), 328–340. https://doi.org/10.1111/mmi.15141.

(20) Duffy, P. E.; Gorres, J. P.; Healy, S. A.; Fried, M. Malaria Vaccines: A New Era of Prevention and Control. *Nat. Rev. Microbiol.* **2024**, *22* (12), 756–772. https://doi.org/10.1038/s41579-024-01065-7.

(21) Usui, M.; Williamson, K. C. Stressed Out About Plasmodium Falciparum Gametocytogenesis. *Front. Cell. Infect. Microbiol.* **2021**, *11*, 790067. https://doi.org/10.3389/fcimb.2021.790067.

(22) Chawla, J.; Oberstaller, J.; Adams, J. H. Targeting Gametocytes of the Malaria Parasite Plasmodium Falciparum in a Functional Genomics Era: Next Steps. *Pathogens* **2021**, *10* (3), 346. https://doi.org/10.3390/pathogens10030346.

(23) Smith, L. M.; Motta, F. C.; Chopra, G.; Moch, J. K.; Nerem, R. R.; Cummins, B.; Roche, K. E.; Kelliher, C. M.; Leman, A. R.; Harer, J.; Gedeon, T.; Waters, N. C.; Haase, S. B. An Intrinsic

Oscillator Drives the Blood Stage Cycle of the Malaria Parasite *Plasmodium Falciparum*. *Science* **2020**, *368* (6492), 754–759. https://doi.org/10.1126/science.aba4357.

(24) Balaji, S.; Deshmukh, R.; Trivedi, V. Severe Malaria: Biology, Clinical Manifestation, Pathogenesis and Consequences. *J. Vector Borne Dis.* **2020**, *57* (1), 1. https://doi.org/10.4103/0972-9062.308793.

(25) Moxon, C. A.; Gibbins, M. P.; McGuinness, D.; Milner, D. A.; Marti, M. New Insights into Malaria Pathogenesis. *Annu. Rev. Pathol. Mech. Dis.* **2020**, *15* (1), 315–343. https://doi.org/10.1146/annurev-pathmechdis-012419-032640.

(26) Liu, F.-F.; Li, K. Malaria and Dyserythropoiesis: A Mini Review. *Front. Cell. Infect. Microbiol.* **2025**, *15*, 1679337. https://doi.org/10.3389/fcimb.2025.1679337.

(27) Hadjilaou, A.; Brandi, J.; Riehn, M.; Friese, M. A.; Jacobs, T. Pathogenetic Mechanisms and Treatment Targets in Cerebral Malaria. *Nat. Rev. Neurol.* **2023**, *19* (11), 688–709. https://doi.org/10.1038/s41582-023-00881-4.

(28) Siqueira-Neto, J. L.; Wicht, K. J.; Chibale, K.; Burrows, J. N.; Fidock, D. A.; Winzeler, E. A. Antimalarial Drug Discovery: Progress and Approaches. *Nat. Rev. Drug Discov.* **2023**, *22* (10), 807–826. https://doi.org/10.1038/s41573-023-00772-9.

(29) Plowe, C. V. Malaria Chemoprevention and Drug Resistance: A Review of the Literature and Policy Implications. *Malar. J.* **2022**, *21* (1), 104. https://doi.org/10.1186/s12936-022-04115-8.

(30) By-Nc-Sa, C. WHO Malaria Terminology. *World Health* **2025**.

(31) Pethrak, C.; Posayapisit, N.; Pengon, J.; Suwanakitti, N.; Saeung, A.; Shorum, M.; Aupalee, K.; Taai, K.; Yuthavong, Y.; Kamchonwongpaisan, S.; Jupatanakul, N. New Insights into Antimalarial Chemopreventive Activity of Antifolates. *Antimicrob. Agents Chemother.* **2022**, *66* (2), e01538-21. https://doi.org/10.1128/aac.01538-21.

(32) Pratt, C.; Cornely, K. *Biochimie*; De Boeck Superieur, 2019.

(33) Dalapati, T.; Moore, J. M. Hemozoin: A Complex Molecule with Complex Activities. *Curr. Clin. Microbiol. Rep.* **2021**, *8* (2), 87–102. https://doi.org/10.1007/s40588-021-00166-8.

(34) Sigala, P. A.; Goldberg, D. E. The Peculiarities and Paradoxes of *Plasmodium* Heme Metabolism. *Annu. Rev. Microbiol.* **2014**, *68* (1), 259–278. https://doi.org/10.1146/annurev-micro-091313-103537.

(35) De Villiers, K. A.; Egan, T. J. Heme Detoxification in the Malaria Parasite: A Target for Antimalarial Drug Development. *Acc. Chem. Res.* **2021**, *54* (11), 2649–2659. https://doi.org/10.1021/acs.accounts.1c00154.

(36) Zheng, D.; Liu, T.; Yu, S.; Liu, Z.; Wang, J.; Wang, Y. Antimalarial Mechanisms and Resistance Status of Artemisinin and Its Derivatives. *Trop. Med. Infect. Dis.* **2024**, *9* (9), 223. https://doi.org/10.3390/tropicalmed9090223.

(37) Rosenthal, M. R.; Ng, C. L. *Plasmodium Falciparum* Artemisinin Resistance: The Effect of Heme, Protein Damage, and Parasite Cell Stress Response. *ACS Infect. Dis.* **2020**, *6* (7), 1599–1614. https://doi.org/10.1021/acsinfecdis.9b00527.

(38) Rosenthal, P. J.; Asua, V.; Conrad, M. D. Emergence, Transmission Dynamics and Mechanisms of Artemisinin Partial Resistance in Malaria Parasites in Africa. *Nat. Rev. Microbiol.* **2024**, *22* (6), 373–384. https://doi.org/10.1038/s41579-024-01008-2.

(39) Oladeji, O. S.; Oluyori, A. P.; Bankole, D. T.; Afolabi, T. Y. Natural Products as Sources of Antimalarial Drugs: Ethnobotanical and Ethnopharmacological Studies. *Scientifica* **2020**, *2020*, 1–22. https://doi.org/10.1155/2020/7076139.

(40) Gumisiriza, H.; Olet, E. A.; Mukasa, P.; Lejju, J. B.; Omara, T. Ethnomedicinal Plants Used for Malaria Treatment in Rukungiri District, Western Uganda. *Trop. Med. Health* **2023**, *51* (1), 49. https://doi.org/10.1186/s41182-023-00541-9.

(41) Kacholi, D. S. A Comprehensive Review of Antimalarial Medicinal Plants Used by Tanzanians. *Pharm. Biol.* **2024**, *62* (1), 133–152. https://doi.org/10.1080/13880209.2024.2305453.

(42) Tajbakhsh, E.; Kwenti, T. E.; Kheyri, P.; Nezaratizade, S.; Lindsay, D. S.; Khamesipour, F. Antiplasmodial, Antimalarial Activities and Toxicity of African Medicinal Plants: A Systematic Review of Literature. *Malar. J.* **2021**, *20* (1), 349. https://doi.org/10.1186/s12936-021-03866-0.

(43) Global Traditional Medicine Strategy 2025–2034.

(44) Moremi, M. P.; Makolo, F.; Viljoen, A. M.; Kamatou, G. P. A Review of Biological Activities and Phytochemistry of Six Ethnomedicinally Important South African Croton Species. *J. Ethnopharmacol.* **2021**, *280*, 114416. https://doi.org/10.1016/j.jep.2021.114416.

(45) Gouni, C. D.; Fongang, Y. S. F.; Dize, D.; Tabekoueng, G. B.; Kagho, D. U. K.; Bitchagno, G. T. M.; Bankeu, J. J. K.; Lenta, B. N.; Fekam, F. B.; Sewald, N.; Ngouela, S. A. Bioguided Antiplasmodial Isolation of Six New Labdane-Type Diterpenoids from the Stem Bark of Croton Sylvaticus Hochst. Ex. Krauss. *Phytochem. Lett.* **2024**, *59*, 92–100. https://doi.org/10.1016/j.phytol.2024.01.002.

(46) Zingue, S.; Fongang, Y. S. F.; Ossomba, E. R.; Tatsinda, V.; Silihe, K. K.; Mbou, W. D.; Fogang, B.; Essomba, R.; Chouna, J. R.; Njamen, D.; Ayong, L. Oligandrin from Croton Oligandrus (Euphorbiaceae) Exhibits Anti-Breast Cancer Activity through Immune-Boosting Mechanisms: In Vitro and in Vivo Study. *Heliyon* **2024**, *10* (15). https://doi.org/10.1016/j.heliyon.2024.e35000.

(47) Coy-Barrera, C. A.; Galvis, L.; Rueda, M. J.; Torres-Cortés, S. A. The *Croton* Genera (Euphorbiaceae) and Its Richness in Chemical Constituents with Potential Range of Applications. *Phytomedicine Plus* **2025**, *5* (1), 100746. https://doi.org/10.1016/j.phyplu.2025.100746.

(48) Smith, A. R.; Polhill, R. M. *Flora of Tropical East Africa: Prepared at the Royal Botanic Gardens, Kew with the Assistance from the East African Herbarium*; A. A. Balkema: Rotterdam Brookfield, 1987.

(49) Smith, A. R.; Carter, S.; Polhill, R. M. *Flora of Tropical East Africa: Prepared at the Royal Botanic Gardens, Kew with the Assistance from the East African Herbarium*; A. A. Balkema: Rotterdam Brookfield, 1988.

(50) Van Ee, B. W.; Riina, R.; Berry, P. E. A Revised Infrageneric Classification and Molecular Phylogeny of New World *Croton* (Euphorbiaceae). *TAXON* **2011**, *60* (3), 791–823. https://doi.org/10.1002/tax.603013.

(51) Berry, P. E.; Hipp, A. L.; Wurdack, K. J.; Van Ee, B.; Riina, R. Molecular Phylogenetics of the Giant Genus *Croton* and Tribe Crotoneae (Euphorbiaceae Sensu Stricto) Using ITS and TRNL-TRNF DNA Sequence Data. *Am. J. Bot.* **2005**, *92* (9), 1520–1534. https://doi.org/10.3732/ajb.92.9.1520.

(52) Baker, W. J.; Bailey, P.; Barber, V.; Barker, A.; Bellot, S.; Bishop, D.; Botigué, L. R.; Brewer, G.; Carruthers, T.; Clarkson, J. J.; Cook, J.; Cowan, R. S.; Dodsworth, S.; Epitawalage, N.; Françoso, E.; Gallego, B.; Johnson, M. G.; Kim, J. T.; Leempoel, K.; Maurin, O.; Mcginnie, C.; Pokorny, L.; Roy, S.; Stone, M.; Toledo, E.; Wickett, N. J.; Zuntini, A. R.; Eiserhardt, W. L.; Kersey, P. J.; Leitch, I. J.; Forest, F. A Comprehensive Phylogenomic Platform for Exploring the Angiosperm Tree of Life. *Syst. Biol.* **2022**, *71* (2), 301–319. https://doi.org/10.1093/sysbio/syab035.

(53) Schmelzer, G. H.; Gurib-Fakim, A. *Medicinal Plant*; Plant resources of tropical Africa; Fondation PROTA: Wageningen, 2008.

(54) Langat, M. K.; Djuidje, E. F. K.; Ndunda, B. M.; Isyaka, S. M.; Dolan, N. S.; Ettridge, G. D.; Whitmore, H.; Lopez, I.; Alqahtani, A. M.; Atiku, I.; Lobe, J. S.; Mas-Claret, E.; Crouch, N. R.; Midiwo, J. O.; Mulholland, D. A.; Kamdem, A. F. W. The Phytochemical Investigation of Five African Croton Species: Croton Oligandrus, Croton Megalocarpus, Croton Menyharthii, Croton Rivularis and Croton Megalobotrys. *Phytochem. Lett.* **2020**, *40*, 148–155. https://doi.org/10.1016/j.phytol.2020.09.020.

(55) Magwilu, K. D.; Nguta, J. M.; Mapenay, I.; Matara, D. Phylogeny, Phytomedicines, Phytochemistry, Pharmacological Properties, and Toxicity of Croton Gratissimus Burch (Euphorbiaceae). *Adv. Pharmacol. Pharm. Sci.* **2022**, *2022*, 1–13. https://doi.org/10.1155/2022/1238270.

(56) Zhao, Y.; Zhu, X.-X.; Li, X.; Xu, J.-B.; Gao, F. Diterpenoids from the Genus Croton and Their Biological Activities. *Arch. Pharm. Res.* **2025**, *48* (11–12), 1023–1093. https://doi.org/10.1007/s12272-025-01588-4.

(57) Hashim, D.; Umer, S.; Hymete, A.; Mekonnen, Y. In-Vivo Anti-Malarial Activity of 80% Methanol Leaf Extract of Croton Dichogamus Pax and Ehretia Cymosa Thonn in Plasmodium Berghei Infected Mice. *J. Exp. Pharmacol.* **2024**, *Volume 16*, 221–229. https://doi.org/10.2147/JEP.S457659.

(58) Laryea, M. K.; Borquaye, L. S. Antimalarial Efficacy and Toxicological Assessment of Extracts of Some Ghanaian Medicinal Plants. *J. Parasitol. Res.* **2019**, *2019*, 1–9. https://doi.org/10.1155/2019/1630405.

(59) Prozesky, E. A.; Meyer, J. J. M.; Louw, A. I. In Vitro Antiplasmodial Activity and Cytotoxicity of Ethnobotanically Selected South African Plants. *J. Ethnopharmacol.* **2001**, *76* (3), 239–245. https://doi.org/10.1016/S0378-8741(01)00245-8.

(60) Clarkson, C.; Maharaj, V. J.; Crouch, N. R.; Grace, O. M.; Pillay, P.; Matsabisa, M. G.; Bhagwandin, N.; Smith, P. J.; Folb, P. I. In Vitro Antiplasmodial Activity of Medicinal Plants Native to or Naturalised in South Africa. *J. Ethnopharmacol.* **2004**, *92* (2–3), 177–191. https://doi.org/10.1016/j.jep.2004.02.011.

(61) Boyom, F. F.; Kemgne, E. M.; Tepongning, R.; Ngouana, V.; Mbacham, W. F.; Tsamo, E.; Zollo, P. H. A.; Gut, J.; Rosenthal, P. J. Antiplasmodial Activity of Extracts from Seven Medicinal Plants Used in Malaria Treatment in Cameroon. *J. Ethnopharmacol.* **2009**, *123* (3), 483–488. https://doi.org/10.1016/j.jep.2009.03.008.

(62) Obey, J. K.; Ngeiywa, M. M.; Kiprono, P.; Omar, S.; Von Wright, A.; Kauhanen, J.; Tikkanen-Kaukanen, C. Antimalarial Activity of *Croton Macrostachyus* Stem Bark Extracts against *Plasmodium Berghei In Vivo*. *J. Pathog.* **2018**, *2018*, 1–6. https://doi.org/10.1155/2018/2393854.

(63) Shinyuy, L. M.; Loe, G. E.; Jansen, O.; Ledoux, A.; Palmaerts, B.; Mamede, L.; Boussif, N.; Bonnet, O.; Enone, B. S.; Noukimi, S. F.; Nchang, A. S.; Demeyer, K.; Robert, A.; Ghogomu, S. M.; Souopgui, J.; Hallot, E.; Frederich, M. Exploring the Phytochemical Diversity and Anti-Plasmodial Potential of Artemisia Annua and Artemisia Afra from Different Geographical Locations in Cameroon. *Molecules* **2025**, *30* (3), 596. https://doi.org/10.3390/molecules30030596.

(64) Mahambo, E. T.; Uwamariya, C.; Miah, M.; Clementino, L. D. C.; Alvarez, L. C. S.; Di Santo Meztler, G. P.; Trybala, E.; Said, J.; Wieske, L. H. E.; Ward, J. S.; Rissanen, K.; Munissi, J. J. E.; Costa, F. T. M.; Sunnerhagen, P.; Bergström, T.; Nyandoro, S. S.; Erdelyi, M. Crotofolane Diterpenoids and Other Constituents Isolated from *Croton Kilwae*. *J. Nat. Prod.* **2023**, *86* (2), 380–389. https://doi.org/10.1021/acs.jnatprod.2c01007.

(65) Possi, F. L. D.; Garba, J. K.; Dongmo, K. J. J.; Tchegnitegni, B. T.; Dongmo, A. K.; Fongang, Y. S. F.; Efange, N. M.; Bankeu, J. J. K.; Chouna, J. R.; Ayong, L.; Nkeng-Efouet-Alango, P.; Sewald, N.; Lenta, B. N. Two New Neo-Clerodane Furanoditerpenoids and Other Bioactive Constituents from the Stem Bark of the Cameroonian Croton Macrostachyus (Euphorbiaceae). *Phytochem. Lett.* **2025**, *68*, 103004. https://doi.org/10.1016/j.phytol.2025.103004.

(66) García Díaz, J.; Tuenter, E.; Escalona Arranz, J. C.; Llauradó Maury, G.; Cos, P.; Pieters, L. Antiplasmodial Activity of Alkaloids from Croton Linearis Leaves. *Exp. Parasitol.* **2022**, *236–237*, 108254. https://doi.org/10.1016/j.exppara.2022.108254.

(67) Batista, R.; De Jesus Silva Júnior, A.; De Oliveira, A. B. Plant-Derived Antimalarial Agents: New Leads and Efficient Phytomedicines. Part II. Non-Alkaloidal Natural Products. *Molecules* **2009**, *14* (8), 3037–3072. https://doi.org/10.3390/molecules14083037.

(68) Guchait, A.; Kumar, A.; Singh, R.; Joshi, G.; Dwivedi, A. R. A Review on Reported Phytochemicals as Druggable Leads with Antimalarial Potential. *Med. Chem. Res.* **2023**, *32* (8), 1633–1657. https://doi.org/10.1007/s00044-023-03113-y.

(69) Wang, C.-L.; Dai, Y.; Zhu, Q.; Peng, X.; Liu, Q.-F.; Ai, J.; Zhou, B.; Yue, J.-M. Laeviganoids A–T, *Ent* -Clerodane-Type Diterpenoids from *Croton Laevigatus*. *J. Nat. Prod.* **2023**, *86* (5), 1345–1359. https://doi.org/10.1021/acs.jnatprod.3c00173.

(70) Zhu, Q.; Li, Y.; Wang, C.; Yu, J.; Yue, J.; Zhou, B. Cytotoxic Diterpenoids from Croton Kongensis Inhibiting Tumor Proliferation and Migration. *Bioorganic Chem.* **2024**, *152*, 107739. https://doi.org/10.1016/j.bioorg.2024.107739.

(71) Wang, D.; Mei, F.; Nie, J.; Li, Z.; Zhang, D.; Guo, D.; Li, W. Highly Oxygenated Clerodane Furanoditerpenoids from the Leaves and Twigs of Croton Yunnanensis. *Chin. J. Nat. Med.* **2024**, *22* (10), 945–954. https://doi.org/10.1016/S1875-5364(24)60722-3.

(72) Zhang, J.-S.; Tang, Y.-Q.; Huang, J.-L.; Li, W.; Zou, Y.-H.; Tang, G.-H.; Liu, B.; Yin, S. Bioactive Diterpenoids from Croton Laevigatus. *Phytochemistry* **2017**, *144*, 151–158. https://doi.org/10.1016/j.phytochem.2017.09.003.

(73) Qi, J.-J.; Zhou, J.-S.; Zhang, Y.; Fan, Y.-Y.; Zhou, B.; Liu, H.-C.; Zhao, J.-X.; Yue, J.-M. Sublyratins A–O, Labdane-Type Diterpenoids from *Croton Sublyratus*. *J. Nat. Prod.* **2021**, *84* (11), 2971–2980. https://doi.org/10.1021/acs.jnatprod.1c00804.

(74) Zhang, Z.-Y.; Li, Y.; Yu, J.-H.; Zhao, J.-X.; Yue, J.-M. Lauinoids A–X: Labdane-Type Diterpenoids with Anti-Inflammatory Activity from Croton Laui. *Phytochemistry* **2024**, *223*, 114138. https://doi.org/10.1016/j.phytochem.2024.114138.

(75) Jiang, Z.-Y.; Liu, C.-J.; Niu, Q.; Yan, X.-Y.; Xiao, D.; Zhang, H.-L.; Huang, C.-Q.; Shi, S.-L.; Zuo, A.-X.; He, H.-P. In Vitro Hypoglycemic Diterpenoids from the Roots of Croton Yunnanensis. *J Nat Prod* **2023**.

(76) Isyaka, S. M. Ent-Abietane and Ent-Pimarane Diterpenoids from Croton Mubango (Euphorbiaceae). **2020**.

(77) Wang, W.; Zhang, X.-J. Cytotoxic Ent-Abietane Diterpenoids from the Leaves of *Croton Lachnocarpus* Benth. *J. Asian Nat. Prod. Res.* **2023**, *25* (4), 309–315. https://doi.org/10.1080/10286020.2022.2090346.

(78) Wang, M.-J.; Wang, M.; Zhan, X.-Q.; Liu, L.; Wu, Q.; An, F.-L.; Lu, Y.-B.; Guo, L.-L.; Zhang, Z.-X.; Fei, D.-Q. Antimicrobial Diterpenoids from the Leaves and Twigs of Croton Kongensis Gagnepain. *Fitoterapia* **2023**, *164*, 105350. https://doi.org/10.1016/j.fitote.2022.105350.

(79) Jiang, Z.-Y.; Feng, J.-E.; Duan, L.-K.; Liu, C.-J.; Li, X.-F.; Huang, C.-Q.; Shi, S.-L.; Wang, R.-R.; Zuo, A.-X.; He, H.-P. Tigliane Diterpenoids with Larvicidal, Antifungal, and α-Glucosidase Inhibitory Activities from *Croton Damayeshu*. *J. Nat. Prod.* **2022**, *85* (2), 405–414. https://doi.org/10.1021/acs.jnatprod.1c00977.

(80) Maslovskaya, L. A.; Savchenko, A. I.; Pierce, C. J.; Boyle, G. M.; Gordon, V. A.; Reddell, P. W.; Parsons, P. G.; Williams, C. M. New Casbanes and the First *Trans* -Cyclopropane *Seco* -Casbane from the Australian Rainforest Plant *Croton Insularis*. *Chem. – Eur. J.* **2019**, *25* (6), 1525–1534. https://doi.org/10.1002/chem.201804904.

(81) Zou, X.; Cheng, Y.; Chen, X. Diterpenoids in Medicinal Plants: Structure, Distribution, Biological Activities, Biosynthesis, and Bioengineering Prospects. *Front. Plant Sci.* **2026**, *17*, 1833614. https://doi.org/10.3389/fpls.2026.1833614.

(82) Roy, S.; Ghosh, A.; Majie, A.; Karmakar, V.; Das, S.; Dinda, S. C.; Bose, A.; Gorain, B. Terpenoids as Potential Phytoconstituent in the Treatment of Diabetes: From Preclinical to Clinical Advancement. *Phytomedicine* **2024**, *129*, 155638. https://doi.org/10.1016/j.phymed.2024.155638.

(83) Bangay, G.; Brauning, F. Z.; Rosatella, A.; Díaz-Lanza, A. M.; Domínguez-Martín, E. M.; Goncalves, B.; Hussein, A. A.; Efferth, T.; Rijo, P. Anticancer Diterpenes of African Natural Products: Mechanistic Pathways and Preclinical Developments. *Phytomedicine* **2024**, *129*, 155634. https://doi.org/10.1016/j.phymed.2024.155634.

(84) Obegi Matundura, J.; Midiwo, J. O.; Yenesew, A.; Omosa, L. K.; Kumarihamy, M.; Zhao, J.; Wang, M.; Tripathi, S.; Khan, S.; Masila, V. M.; Nchiozem-Ngnitedem, V.-A.; Muhammad, I. Antiplasmodial and Antimicrobial Activities of e *Nt* -Abietane Diterpenoids from the Roots of *Suregada Zanzibariensis*. *Nat. Prod. Res.* **2023**, *37* (23), 4008–4012. https://doi.org/10.1080/14786419.2022.2158463.

(85) Tabefam, M.; Farimani, M.; Danton, O.; Ramseyer, J.; Kaiser, M.; Ebrahimi, S.; Salehi, P.; Batooli, H.; Potterat, O.; Hamburger, M. Antiprotozoal Diterpenes from Perovskia Abrotanoides. *Planta Med.* **2018**, *84* (12/13), 913–919. https://doi.org/10.1055/a-0608-4946.

(86) Li, J.; Meng, X.; Yin, C.; Zhang, L.; Lin, B.; Liu, P.; Zhu, L.; Wang, H.; Liu, H.; Zhang, X.; Yao, X. Antimalarial and Neuroprotective Ent-Abietane Diterpenoids from the Aerial Parts of Phlogacanthus Curviflorus. *Chin. J. Nat. Med.* **2023**, *21* (8), 619–630. https://doi.org/10.1016/S1875-5364(23)60464-9.

(87) Kenmogne, M.; Prost, E.; Harakat, D.; Jacquier, M.; Frederich, M.; Sondengam, L.; Zeches, M.; Waffoteguo, P. Five Labdane Diterpenoids from the Seeds of Aframomum Zambesiacum. *Phytochemistry* **2006**, *67* (5), 433–438. https://doi.org/10.1016/j.phytochem.2005.10.015.

(88) Markwalter, C. F.; Davis, K. M.; Wright, D. W. Immunomagnetic Capture and Colorimetric Detection of Malarial Biomarker Plasmodium Falciparum Lactate Dehydrogenase. *Anal. Biochem.* **2016**, *493*, 30–34. https://doi.org/10.1016/j.ab.2015.10.003.

(89) Wu, X.-D.; He, J.; Li, X.-Y.; Dong, L.-B.; Gong, X.; Song, L.-D.; Li, Y.; Peng, L.-Y.; Zhao, Q.-S. Diterpenoids from the Twigs and Leaves of *Fokienia Hodginsii*. *J. Nat. Prod.* **2013**, *76* (6), 1032–1038. https://doi.org/10.1021/np400010c.

(90) Taguimjeu, P. L. K. T.; Tali, M. B. T.; Dongmo, K. J. J.; Yannick Stephane, F. F.; Fauconnier, M. L.; Lenta, B. N.; Boyom, F.; Sewald, N.; Ngouela, S. A. Chemical Constituents of the Leaves and Roots of Lantana Camara Linn (Verbenaceae) Display Good in Vitro Antiplasmodial Potency and Admet Properties. 2024. https://doi.org/10.2139/ssrn.5023231.

(91) Da Silva San Gil, R. A.; Albuquerque, M. G.; De Alencastro, R. B.; Da Cunha Pinto, A.; Do Espírito Santo Gomes, F.; De Castro Dantas, T. N.; Maciel, M. A. M. Solid-State 13C NMR and Molecular Modeling Studies of Acetyl Aleuritolic Acid Obtained from Croton Cajucara Benth. *J. Mol. Struct.* **2008**, *885* (1–3), 82–88. https://doi.org/10.1016/j.molstruc.2007.10.018.

(92) Crentsil, J. A.; Yamthe, L. R. T.; Anibea, B. Z.; Broni, E.; Kwofie, S. K.; Tetteh, J. K. A.; Osei-Safo, D. Leishmanicidal Potential of Hardwickiic Acid Isolated From Croton Sylvaticus. *Front. Pharmacol.* **2020**, *11*, 753. https://doi.org/10.3389/fphar.2020.00753.

(93) Fongang, Y. S. F.; Awantu, A. F.; Bankeu, J. J. K.; Lateef, M.; Lenta, B. N.; Ali, M. S.; Ngouela, S. A. Oligandrin, a New Ent-Pimarane Type Diterpenoid and Other Bioactive Constituents from the Leaves of Croton Oligandrus†. *Chem. Nat. Compd.* **2021**, *57* (1), 94–100. https://doi.org/10.1007/s10600-021-03291-4.

(94) Wang, Y.; Wang, Y.; Zhang, Z.; Xu, K.; Fang, Q.; Wu, X.; Ma, S. Molecular Networking: An Efficient Tool for Discovering and Identifying Natural Products. *J. Pharm. Biomed. Anal.* **2025**, *259*, 116741. https://doi.org/10.1016/j.jpba.2025.116741.

(95) Lee, C.; Kim, S.-Y.; Eum, S.; Paik, J.-H.; Bach, T. T.; Darshetkar, A. M.; Choudhary, R. K.; Hai, D. V.; Quang, B. H.; Thanh, N. T.; Choi, S. Ethnobotanical Study on Medicinal Plants Used by Local Van Kieu Ethnic People of Bac Huong Hoa Nature Reserve, Vietnam. *J. Ethnopharmacol.* **2019**, *231*, 283–294. https://doi.org/10.1016/j.jep.2018.11.006.

(96) Kambale, E. K.; Mukubwa, G. K.; Mwabonkolo, M. M.; Musuyu, D. M.; Nkanga, C. I.; Memvanga, P. B. In Vivo Antimalarial Activity of Self-Nanoemulsifying Drug Delivery Systems Containing Ethanolic Extract of Morinda Lucida in Combination with Other Congolese Plants Extracts. *Braz. J. Pharm. Sci.* **2022**, *58*, e20074. https://doi.org/10.1590/s2175-97902022e20074.

(97) Crepaldi, C. G.; Campos, J. L. A.; Albuquerque, U. P.; Sales, M. F. Richness and Ethnobotany of the Family Euphorbiaceae in a Tropical Semiarid Landscape of Northeastern Brazil. *South Afr. J. Bot.* **2016**, *102*, 157–165. https://doi.org/10.1016/j.sajb.2015.06.010.

(98) Melogmo Dongmo, Y. K.; Tchatat Tali, M. B.; Dize, D.; Jiatsa Mbouna, C. D.; Kache Fotsing, S.; Ngouana, V.; Pinlap, B. R.; Zeuko'o Menkem, E.; Yamthe Tchokouaha, L. R.; Fotso Wabo, G.; Lenta Ndjakou, B.; Lunga, P. K.; Fekam Boyom, F. Anti-Shigella and Antioxidant-Based Screening of Some Cameroonian Medicinal Plants, UHPLC-LIT-MS/MS Fingerprints, and Prediction of Pharmacokinetic and Drug-Likeness Properties of Identified Chemicals. *J. Ethnopharmacol.* **2024**, *324*, 117788. https://doi.org/10.1016/j.jep.2024.117788.

(99) Hirudkar, J. R.; Parmar, K. M.; Prasad, R. S.; Sinha, S. K.; Lomte, A. D.; Itankar, P. R.; Prasad, S. K. The Antidiarrhoeal Evaluation of Psidium Guajava L. against Enteropathogenic Escherichia Coli Induced Infectious Diarrhoea. *J. Ethnopharmacol.* **2020**, *251*, 112561. https://doi.org/10.1016/j.jep.2020.112561.

(100) Qiu, M.; Cao, D.; Gao, Y.; Li, S.; Zhu, J.; Zhou, L.; Zhou, Y.; Jin, J.; Zhao, Z. New Clerodane Diterpenoids from Croton Crassifolius. **2016**.

(101) Hardwickiic Acid and Lupeol from Leaves of Croton Macrostachyus and Their Antibacterial Activity. *Lett. Appl. NanoBioScience* **2024**, *13* (4), 185. https://doi.org/10.33263/LIANBS134.185.

(102) Garcia, D. A.; Pressete, C. G.; Miranda, R.; Salem, P. P. O.; Nicácio, K. J.; Costa, L. P. D. M.; Murgu, M.; Lago, J. H. G.; Dias, D. F.; Soares, M. G.; Ionta, M.; Chagas-Paula, D. A. Biological and Metabolomics-Guided Isolation of Tetrahydrofurofuran Lignan from Croton Spp. with Antiproliferative Activity against Human Melanoma Cell Line. *Fitoterapia* **2024**, *177*, 106070. https://doi.org/10.1016/j.fitote.2024.106070.

(103) De Jesus Prado, V. M.; De Jesus, R. A.; Oliveira, J. M. A.; Blank, A. F.; Bezerra, D. P.; Soares, M. B. P.; Silva, V. R.; De Souza Santos, L.; Cardoso, C. L.; Vilela, A. F. L.; De Lima Nogueira, P. C.; De Souza Moraes, V. R. Biological Studies and Chromatograms Aided by Chemometric Analysis in Evaluation of Seasonality and Extraction Method of Croton Grewioides Extracts. *Braz. J. Bot.* **2022**, *45* (2), 607–618. https://doi.org/10.1007/s40415-022-00806-3.

(104) Dall'Acqua, S.; Sinan, K. I.; Sut, S.; Ferrarese, I.; Etienne, O. K.; Mahomoodally, M. F.; Lobine, D.; Zengin, G. Evaluation of Antioxidant and Enzyme Inhibition Properties of Croton Hirtus

L'Hér. Extracts Obtained with Different Solvents. *Molecules* **2021**, *26* (7), 1902. https://doi.org/10.3390/molecules26071902.

(105) Hadi, V.; Hotard, M.; Ling, T.; Salinas, Y. G.; Palacios, G.; Connelly, M.; Rivas, F. Evaluation of Jatropha Isabelli Natural Products and Their Synthetic Analogs as Potential Antimalarial Therapeutic Agents. *Eur. J. Med. Chem.* **2013**, *65*, 376–380. https://doi.org/10.1016/j.ejmech.2013.04.030.

(106) Polanco-Hernández, G.; Escalante-Erosa, F.; García-Sosa, K.; Rosado, M. E.; Guzmán-Marín, E.; Acosta-Viana, K. Y.; Giménez-Turba, A.; Salamanca, E.; Peña-Rodríguez, L. M. Synergistic Effect of Lupenone and Caryophyllene Oxide against *Trypanosoma Cruzi*. *Evid. Based Complement. Alternat. Med.* **2013**, *2013*, 1–6. https://doi.org/10.1155/2013/435398.

(107) Owusu, K.; Owusu, S. O.; Mensah, J. O.; Laryea, M. K.; Borquaye, L. S. Synergistic Action of Phytoconstituents Drives the Anthelmintic Potential of Croton Penduliflorus Stem Bark Extracts. *Discov. Chem.* **2025**, *2* (1), 187. https://doi.org/10.1007/s44371-025-00265-1.

(108) Izumi, E.; Ueda-Nakamura, T.; Veiga, V. F.; Pinto, A. C.; Nakamura, C. V. Terpenes from *Copaifera* Demonstrated in Vitro Antiparasitic and Synergic Activity. *J. Med. Chem.* **2012**, *55* (7), 2994–3001. https://doi.org/10.1021/jm201451h.

(109) Mesia, G. K.; Tona, G. L.; Penge, O.; Lusakibanza, M.; Nanga, T. M.; Cimanga, R. K.; Apers, S.; Van Miert, S.; Totte, J.; Pieters, L.; Vlietinck, A. J. Antimalarial Activities and Toxicities of Three Plants Used as Traditional Remedies for Malaria in the Democratic Republic of Congo: *Croton Mubango , Nauclea Pobeguinii* and *Pyrenacantha Staudtii*. *Ann. Trop. Med. Parasitol.* **2005**, *99* (4), 345–357. https://doi.org/10.1179/136485905X36325.

(110) Mianda, S. M.; Invernizzi, L.; Van Der Watt, M. E.; Reader, J.; Moyo, P.; Birkholtz, L.-M.; Maharaj, V. J. In Vitro Dual Activity of Aloe Marlothii Roots and Its Chemical Constituents against Plasmodium Falciparum Asexual and Sexual Stage Parasites. *J. Ethnopharmacol.* **2022**, *297*, 115551. https://doi.org/10.1016/j.jep.2022.115551.

(111) Wei, W.-J.; Song, Q.-Y.; Zheng, Z.-Q.; Yao, X.; Li, Y.; Gao, K. Phytotoxic *Ent* -Isopimarane-Type Diterpenoids from *Euphorbia Hylonoma*. *J. Nat. Prod.* **2018**, *81* (11), 2381–2391. https://doi.org/10.1021/acs.jnatprod.8b00365.

(112) Li, X.-D.; Li, X.; Li, X.-M.; Xu, G.-M.; Liu, Y.; Wang, B.-G. 20-Nor-Isopimarane Epimers Produced by Aspergillus Wentii SD-310, a Fungal Strain Obtained from Deep Sea Sediment. *Mar. Drugs* **2018**, *16* (11), 440. https://doi.org/10.3390/md16110440.

(113) Elfawal, M. A.; Towler, M. J.; Reich, N. G.; Weathers, P. J.; Rich, S. M. Dried Whole-Plant *Artemisia Annua* Slows Evolution of Malaria Drug Resistance and Overcomes Resistance to Artemisinin. *Proc. Natl. Acad. Sci.* **2015**, *112* (3), 821–826. https://doi.org/10.1073/pnas.1413127112.

(114) Moe, S. R.; Rutina, L. P.; Hytteborn, H.; Du Toit, J. T. What Controls Woodland Regeneration after Elephants Have Killed the Big Trees? *J. Appl. Ecol.* **2009**, *46* (1), 223–230. https://doi.org/10.1111/j.1365-2664.2008.01595.x.

(115) Urbano, F.; Viterbi, R.; Pedrotti, L.; Vettorazzo, E.; Movalli, C.; Corlatti, L. Enhancing Biodiversity Conservation and Monitoring in Protected Areas through Efficient Data Management. *Environ. Monit. Assess.* **2024**, *196* (1), 12. https://doi.org/10.1007/s10661-023-11851-0.

(116) De Villiers, K. A.; Egan, T. J. Heme Detoxification in the Malaria Parasite: A Target for Antimalarial Drug Development. *Acc. Chem. Res.* **2021**, *54* (11), 2649–2659. https://doi.org/10.1021/acs.accounts.1c00154.

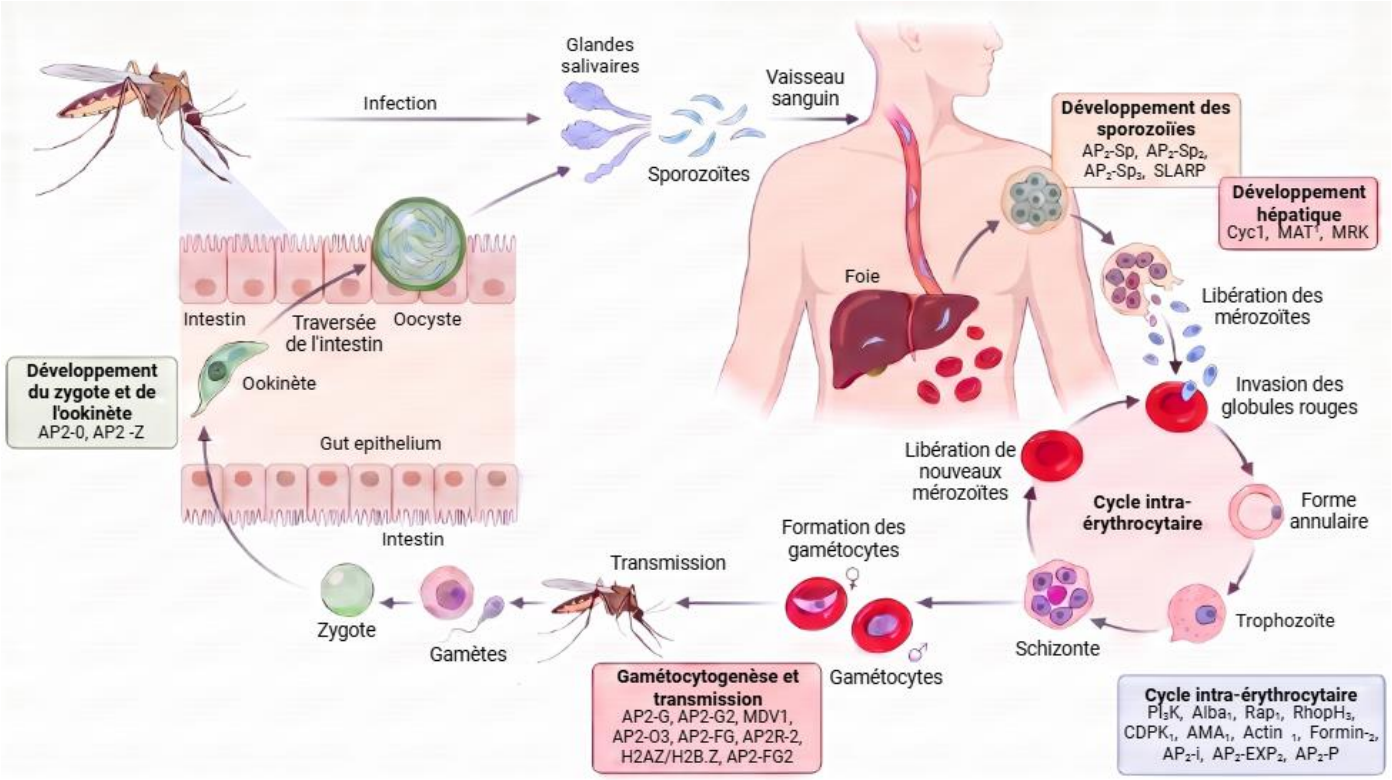


Figure 1 : Le cycle de vie de *P. falciparum* et les protéines régulatrices associées au développement et à la différentiation du parasite[16], figure adaptée de la référence 16. Créé avec BioRender.com

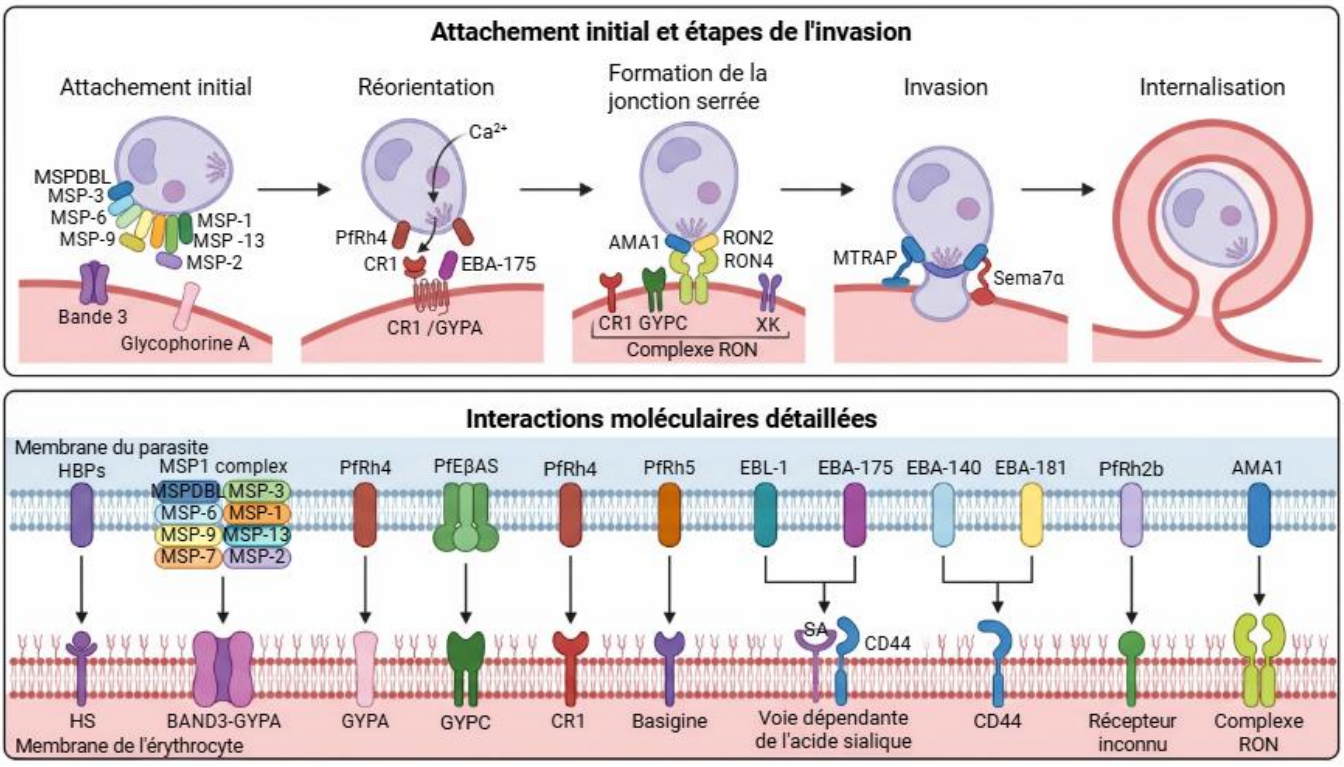


Figure 2 : Les mécanismes d'invasion des érythrocytes de *Plasmodium*. Dans la figure du haut, le processus d'invasion débute par la fixation du mérozoïte à la surface de l'érythrocyte, suivie de la libération du contenu des micronèmes et des rhoptres, provoquant une réorientation apicale. Il

s'ensuit la formation de jonctions serrées et une invagination de la membrane de l'érythrocyte, aboutissant finalement à l'internalisation du mérozoïte à l'intérieur de l'érythrocyte. La figure du bas met en lumière les interactions protéiques clés du processus d'invasion[16]. Figure adaptée de la référence 16. Créé avec BioRender.com.

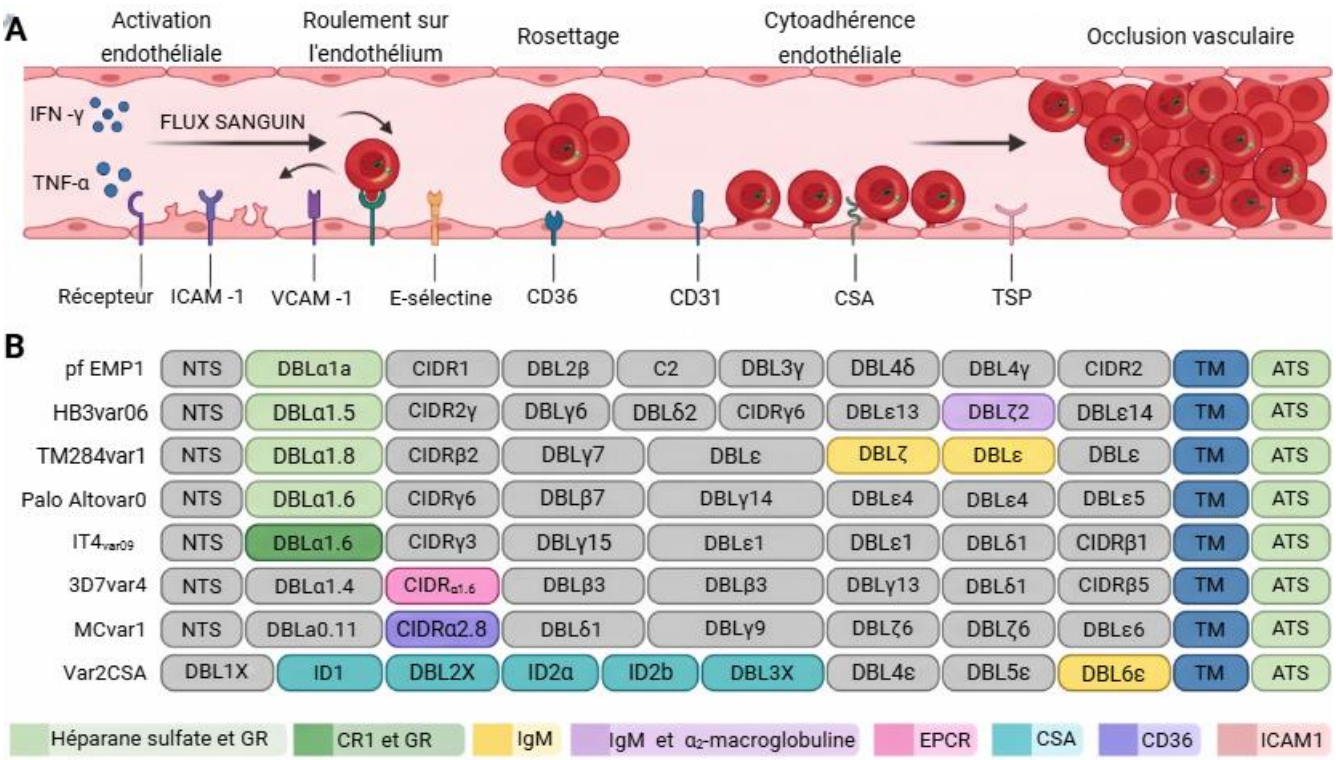


Figure 3 : Séquestration des GRi au niveau de l'endothélium vasculaire induite par les protéines membranaires *Pf*EMP-1 des GRi. **A)** Vue d'ensemble des mécanismes de séquestration et formation de rosettes aboutissant à l'occlusion vasculaire dans le cas d'une infection par *P. falciparum*. **B)** Liste non-exhaustive des structures de différents variants des protéines *Pf*EMP-1 interagissant avec différents récepteurs membranaires des cellules endothéliales et des GR sains[16]. Figure adaptée de la référence 16. Créé avec BioRender.com.

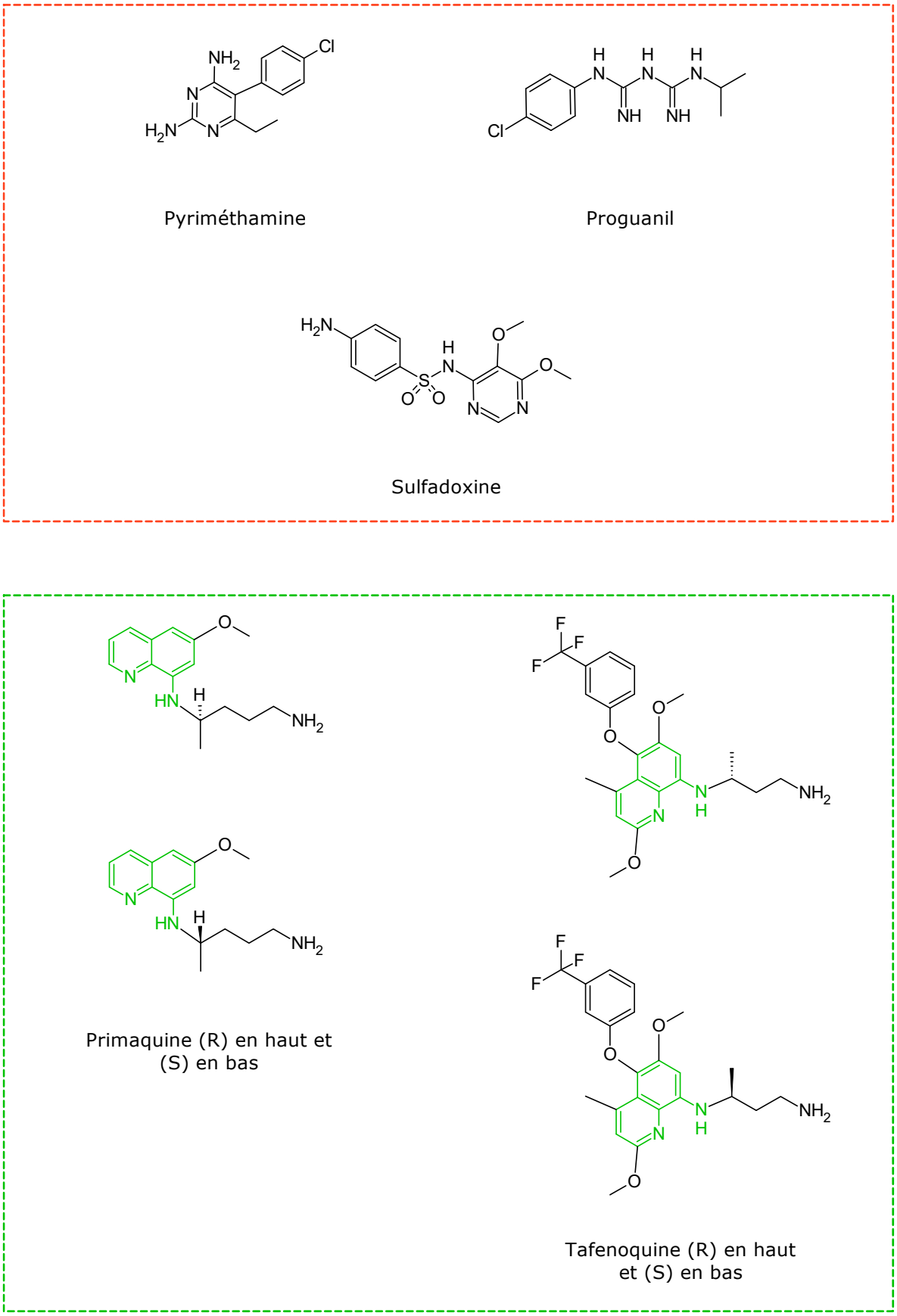


Figure 4 : Quelques antipaludiques utilisés en chimioprophylaxie : Les antifolates (encadré rouge) et les 8-amionquinoléines (encadré vert) parmi les plus utilisés. Le cycle quinoléique substitué en position 8 par un groupe amine caractéristique de cette classe de molécules est indiqué en vert[12].

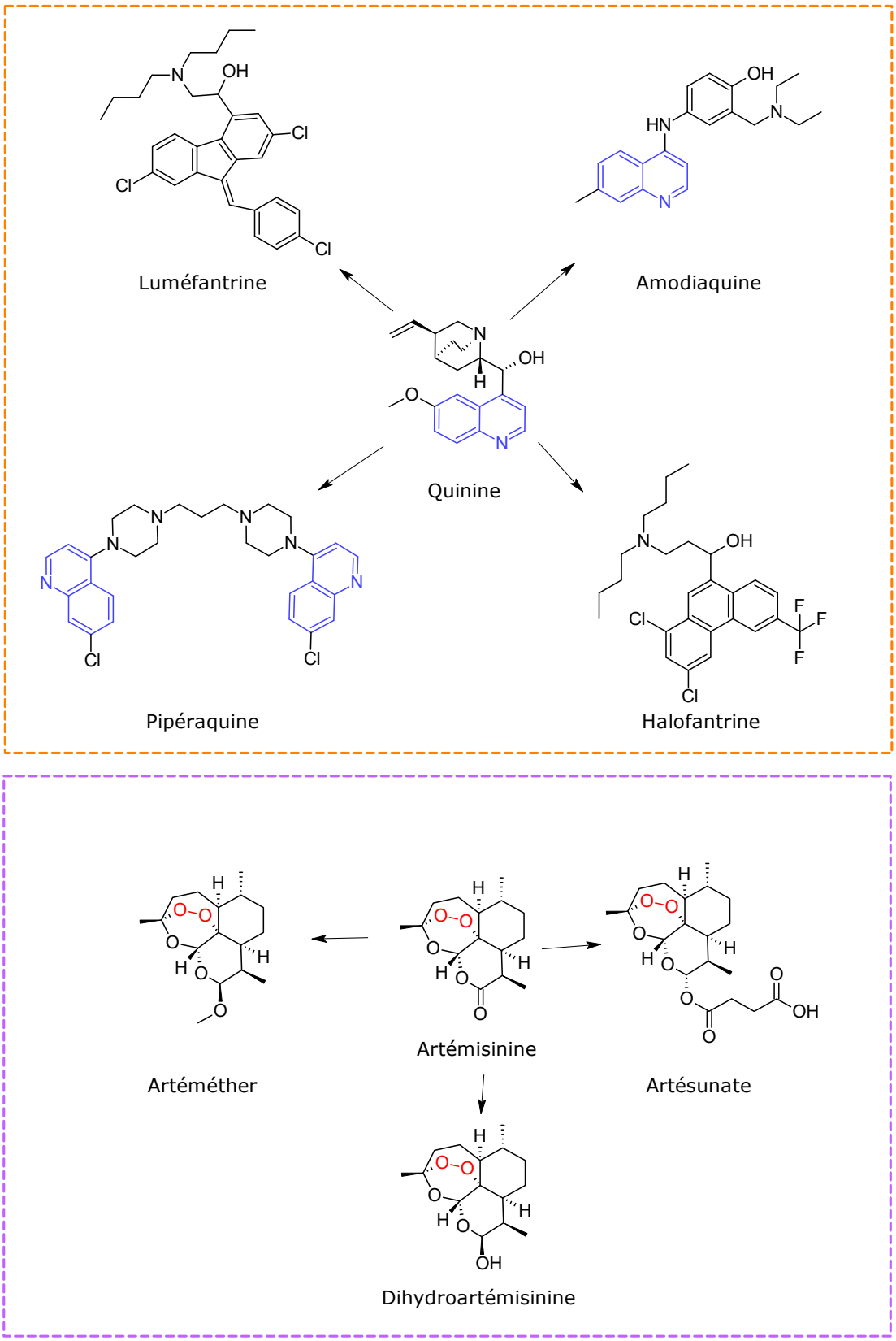


Figure 5 : Quelques dérivés de la quinine (encadré orange) et de l'artémisinine (encadré violet) les plus utilisés comme traitement contre le paludisme, la plupart entrant dans la composition des TCA. Le cycle quinoléique caractéristiques de la quinine et de ces dérivés est visible en bleu. La liaison endoperoxyde responssable de l'activité antipaludique de l'artémisinine et de ses dérivés est visible en rouge[12].

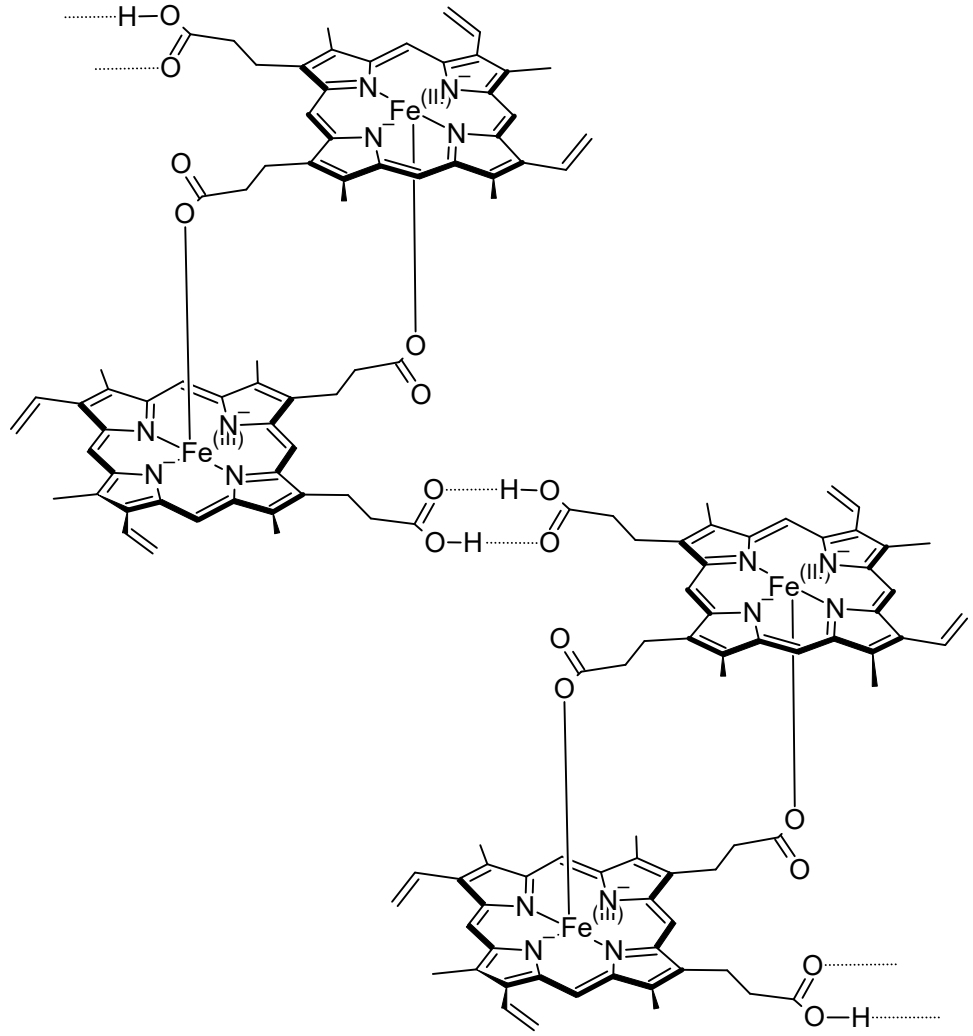


Figure 6 : Structure de l'hémozoïne[34,116], figure inspirée des références **34** et **88**. Crée avec ChemSketch.

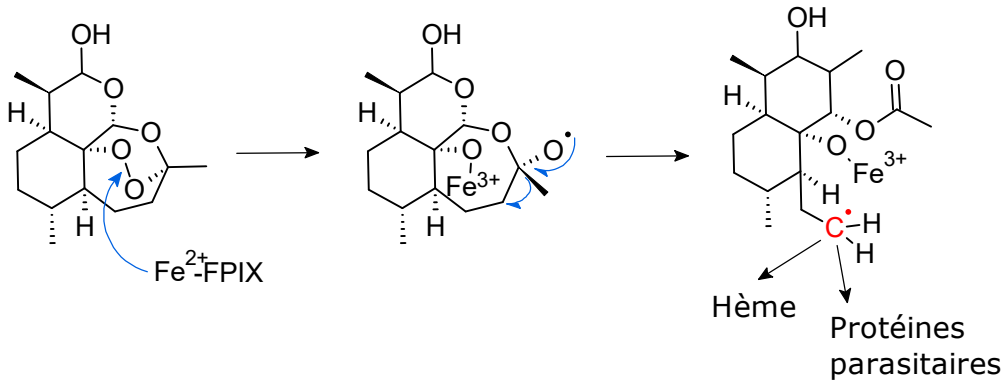


Figure 7 : Activation de l'artémisinine et de ses dérivés (ici la dihydroartémisinine). Le clivage de la liaison endoperoxyde est initiée par l'hème (Fe^{2+}-FPIX :la ferroporphyrine IX (hème ferreux)) formant des radicaux alkoxydes. Des réarrangements produisent un radical libre carbo-centré (en rouge) qui alkylera d'autres hème ou des protéines plasmodiales[37]. Figure adaptée de la référence **37**. Créé avec ChemSketch.

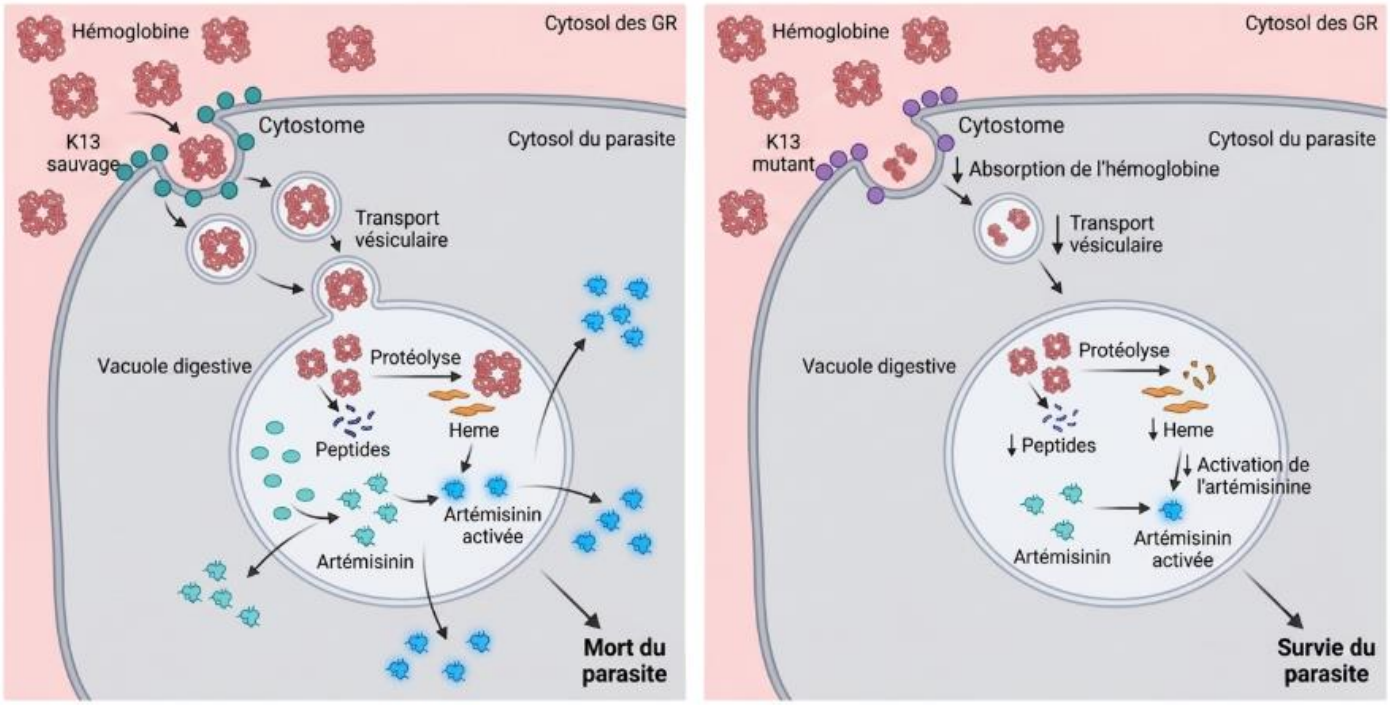


Figure 8 : Mécanismes d'action de l'artémisinine et résistance partielle. À gauche ; Chez les parasites sensibles au médicament, l'hémoglobine est efficacement transportée vers la vacuole digestive, où sa protéolyse libère de l'hème libre. Celui-ci active efficacement les artémisinines, permettant ainsi leur action antipaludique. À droite ; Chez les parasites présentant une résistance partielle à l'artémisinine, le transport de l'hémoglobine vers la vacuole digestive est diminué, en particulier au stade annulaire. Cette réduction entraîne une moindre libération d'hème libre et, par conséquent, une activation moins efficace des artémisinines. La baisse de l'absorption et de la dégradation de l'hémoglobine ralentit le développement des parasites à ce stade, favorisant leur survie après une exposition brève à l'artémisinine et retardant leur élimination au cours du traitement[38]. Figure adaptée de la référence **38**. Créé avec ChemSketch.

Tableau 1. Données spectrales RMN de C.A.R.17

N°	^{13}C : δ (ppm)	^{1}H : δ (ppm) (Intégrale, *multiplicité*, *constante de couplage* (*J*) en Hertz)	HMBC ^{13}C-^{1}H	COSY ^{1}H-^{1}H
1	40,22 CH2	1,49 (1H, *ddd*, *J* = 13,7 ; 10,0 ; 7,5 Hz)	C3	H3, H1b, H2, H18, H19
		1,91 (1H, *dt*, *J* = 13,8 ; 3,4 Hz)		H1a, H2
2	28,36 CH2	1,59 (2H, *ddt*, *J* = 9,9 ; 7,0 ; 2,6 Hz)	C19	H3, H1a, H1b
3	79,63 CH	3,20 (1H, *m*)	C18, C19, C5, C1, C2	H1a, H2
4	40,68 Cq	-	C18, C19, C1, C2, C6, C5	-
5	55,62 CH	1,11 (1H, *dd*, *J* = 12,5 ; 2,6 Hz)	C7, C19, C20, C6, C9, C18, C1	H6a, H6b
6	23,82 CH2	1,68 (1H, *ddd*, *J* = 10,3 ; 5,2 ; 2,6 Hz)	C7, C1, C5	H7a, H7b, H6b, H5
		1,43 (1H, *qd*, *J* = 13,0 ; 4,6 Hz)		H6a, H7a, H7b, H5
7	37,1 CH2	2,04 (1H, *m*)	C6, C9, C5, C14	H7b, H6a, H6b
		2,39 (1H, *ddt*, *J* = 13,8 ; 4,5 ; 2,0 Hz)		H7a, H6a, H6b
8	139,25 Cq	-	C7, C6, C9	-
9	60,36 CH	1,65 (1H, *m*)	C14, C7, C12, C20, C11, C5	H11, H7a, H7b, H6b, H5
10	40,1 Cq	-	C2	-
11	66,54 CH	3,80 (1H, *ddd*, *J* = 13,4 ; 7,4 ; 4,6 Hz)	C12, C9, C17	H12a, H12b, H9
12	46,98 CH2	1,79 (1H, *ddd*, *J* = 12,2 ; 4,5 ; 1,6 Hz)	C15, C11, C14, C17	H14, H11, H12b
		1,35 (1H, *td*, *J* = 12,0 ; 1,7 Hz)		H12a, H11
13	39,68 Cq	-	C15, C14, C16, C11, C9	-
14	128,72 CH	5,22 (1H, *q*, *J* = 1,8 Hz)	C15, C7, C12, C9, C17	H7a, H12a, H6a, H9
15	147,6 CH	5,77 (1H, *ddd*, *J* = 17,3 ; 10,6 ; 1,7 Hz)	C17, C12, C16	H16a, H16b
16	113,1 CH2	4,91 (1H, *td*, *J* = 11,8 ; 1,8 Hz)	C12	H16b, H15
		4,93 (1H, *m*)		H16a, H15
17	30,21 CH3	1,01 (3H, *s*)	C14, C15, C16	H12a

Tableau 1. Données spectrales RMN de C.A.R.17 (Suite et fin)

N°	**^{13}C : δ (ppm)**	**^{1}H : δ (ppm) (Intégrale, *multiplicité*, *constante de couplage* (*J*) en Hertz)**	**HMBC ^{13}C-^{1}H**	**COSY ^{1}H-^{1}H**
18	29,06 CH3	1,00 (3H, *s*)	C1, C19, C5, C3	H19
19	16,34 CH3	0,80 (3H, *s*)	C18, C3	H18
20	16,43 CH3	0,79 (3H, *s*)	C5, C1, C9	H1, H9, H5