

REPUBLIQUE DU CAMEROUN

*Paix – Travail – Patrie*

\*\*\*\*\*

UNIVERSITE DE YAOUNDE I  
FACULTE DES SCIENCES  
DEPARTEMENT DE CHIMIE ORGANIQUE

\*\*\*\*\*



REPUBLIC OF CAMEROUN

*Peace – Work – Fatherland*

\*\*\*\*\*

UNIVERSITY OF YAOUNDE I  
FACULTY OF SCIENCES  
DEPARTMENT OF ORGANIC CHEMISTRY

\*\*\*\*\*

**METABOLITES SECONDAIRES DE FICUS PUMILA  
LINN ET FICUS THONNINGII BLUME (MORACEAE) :  
STRUCTURES, TRANSFORMATIONS CHIMIQUES ET  
QUELQUES ACTIVITES BIOLOGIQUES**

Doctorat/Ph.D en Chimie Organique

Par :

**FONGANG FOTSING Yannick Stéphane**  
**D.E.A. en Chimie Organique**

Sous la direction  
**NGOUELA Silvère Augustin**  
Professeur

Année Académique  
2014-2015





## AVERTISSEMENT

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

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

Contact : [biblio.centrale.uyi@gmail.com](mailto:biblio.centrale.uyi@gmail.com)

## WARNING

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

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

Contact: [biblio.centrale.uyi@gmail.com](mailto:biblio.centrale.uyi@gmail.com)

# CERTIFICAT

*Je soussigné, Professeur NGOUELA Silvère Augustin, Directeur de thèse de Doctorat/Ph.D. de Monsieur FONGANG FOTSING Yannick Stéphane, (D.E.A. en Chimie Organique, Matricule 02Q106) certifie que le présent travail a été effectué par le candidat au Laboratoire des substances naturelles et de synthèse organique (LSNSO) du département de Chimie Organique, de la faculté des sciences de l'Université de Yaoundé I (Cameroun). Ce travail a été fait en collaboration avec le laboratoire des plantes marines et terrestres du Centre International pour les Sciences Chimiques et Biologiques (ICCBS) de l'Université de Karachi, au Pakistan.*

*Ce travail n'a encore fait l'objet d'aucune présentation pour l'acquisition de quelque diplôme académique que ce soit.*

# DEDICACES

*A mon Père*

*A mon Epouse*

*A ma Fille*

*Et à la mémoire de ma Maman*

# REMERCIEMENTS

*Je loue l'éternel DIEU Tout-Puissant pour toutes les grâces, les merveilles dont il ne cesse de me combler et sans qui toute œuvre humaine serait vanité.*

*L'accomplissement de ce travail est bien évidemment lié à des moments durant lesquels diverses contributions m'ont été bénéfiques. Je tiens de ce fait à exprimer mes remerciements les plus sincères et ma profonde reconnaissance à tous ceux et celles qui de près ou de loin y ont contribué. J'adresse avant tout, mes plus sincères remerciements :*

*Au Professeur Etienne TSAMO, chef du laboratoire de substances naturelles et de synthèse organique, pour m'avoir accueilli dans son laboratoire, et pour les nombreuses discussions constructives. Je lui adresse également mes sincères remerciements pour la patience, la confiance qu'il m'a accordée, la rigueur qu'il a su m'enseigner, le souci du travail bien fait, la franchise, et pour la formation scientifique qu'il m'a apportée pour mener à bien ce travail, tout en me laissant libre de mes choix. Trouvez en ces quelques lignes Professeur, l'expression de ma profonde reconnaissance ;*

*À mon directeur de thèse, le Professeur Silvère A. NGOUELA, qui à initié ce sujet et l'a personnellement dirigé de bout en bout jusqu'à son terme. Je lui suis extrêmement reconnaissant pour sa grande disponibilité à discuter de mes problèmes académiques. Vos encouragements, votre dynamisme, vos judicieux conseils et surtout votre rigueur scientifique ont été très déterminants pour la réalisation de ce travail. Recevez Professeur, mes plus vifs remerciements pour ces belles années passées ensemble, et sans doute pour celles à venir ;*

*Au Professeur Muhammad A. SHAIQ du centre ICCBS, Université de Karachi au Pakistan pour m'avoir donné l'opportunité de finaliser ce travail dans son unité de recherche (marine and terrestrial plants research unit) et permis ainsi de travailler dans un environnement dynamique, avec des instruments analytiques très performants. Son sens de l'humour et son engouement pour la recherche des produits naturels, ainsi que les différents échanges scientifiques et culturels ont été pour moi une source de motivation ;*

*Au Professeur Augustin E. NKENGFACK, Chef de Département de Chimie Organique de l'Université de Yaoundé I, pour son dynamisme, son dévouement et sa disponibilité dans la bonne marche du Département. Professeur, soyez assuré de mon profond respect ;*

*Aux enseignants du Département de Chimie Organique de l'Université de Yaoundé I pour la qualité de la formation qu'ils m'ont donnée. Je m'engage à suivre votre exemple avec la ferme volonté de faire mieux, par vos conseils ;*

*Au Docteur Diderot NOUNGOUE TCHAMO (M.C.), pour son aide quotidienne, son écoute attentive, sa grande sympathie, sa disponibilité et les multiples conseils tout au long de ce travail de thèse ;*

*Au Docteur Bruno LENTA NDJAKOU (M. C), pour sa disponibilité quotidienne, sa franchise, la pédagogie dont il m'a fait profiter, pour toutes nos discussions, ses conseils multiples et pour tous les efforts déployés avec constance et efficacité pour le bon fonctionnement du laboratoire. Recevez toute ma gratitude ;*

*Au Docteur Jean Jules BANKEU KEZETAS, qui m'a accordé toute sa confiance et m'a permis de mener à bien ce travail en mettant à ma disposition tous ses contacts au pays et à l'étranger, toutes ses compétences et son expérience. Merci tout particulièrement pour ton soutien scientifique, mais aussi humain dans la dernière ligne droite de la rédaction qui a été particulièrement difficile. Infiniment merci pour ton humour sans autre pareil, ta détermination, ton soutien et ton amitié ;*

*Au Docteur Lateef MEHREEN de l'Université de Karachi au Pakistan pour la réalisation des tests antioxydants et l'inhibition des cholinestérases ;*

*Au Docteur Clément ASSOBA (M. C.) de l'Université de Buea pour la réalisation des tests antimicrobiens ;*

*Aux Docteurs Ferdinand TANTANGMO, Angelbert AWANTU, Brice MBA'NING et Eric VOUFFO pour leurs multiples conseils, encouragements et lectures critiques ;*

*À mes collègues et amis du département de Chimie de l'École Normale Supérieure de Maroua pour leur collaboration, leur amitié, les bons moments vécus ensemble et ceux à venir ;*

*À mes camarades et promotionnaires au sein du laboratoire (Aimée TCHUENTE, Louis-Marie KAMDEM, Rosine NGAMGWE, Jules NGATCHOU, Joël ATEBA, Beaudoin DONGMO, Claire WALEGUELE, Ulrich KAGHO, Thierry TONGO, Flore ESSOUNG), qui ont contribué par leur soutien et amitié, chacun à sa façon à la progression de ce travail dans une ambiance toujours amicale et stimulante ;*

*À mes ami(e)s Docteurs Armelle TSAMO et Ostend TATUEDOM ; Lazare SIDJUI, Line SIMO, Christelle TSAGUE, Pascal DOUANLA, Bosco JOUDA et Saustin DONGMO, grâce à qui les moments de découragement n'ont jamais été solitaires, mais d'excellente compagnie. Merci pour les moments mémorables passés ensemble ;*

*À Monsieur Victor NANA de l'Herbier National du Cameroun pour l'identification du matériel végétal ;*

*À ma maman Jacqueline PETE de regrettée mémoire, qui n'a pas attendue les fruits de sa bonne éducation. Elle qui grâce à sa détermination dans le travail de la terre et le commerce, m'a inscrit à l'école et m'a soutenu au prix de sacrifices inoubliables. Que de bons souvenirs, repose en paix Maman Chérie ;*

*À papa, Moyo Jean Bosco qui m'a indiqué la bonne voie en me rappelant que la volonté fait toujours les grands Hommes ;*

*À mon parrain Monsieur Clotaire KOUOMO et sa famille pour le soutien multiforme, ses divers conseils pertinents, mais surtout pour sa grande franchise. Merci infiniment Padre ;*

*Aux familles MOYO, DACHEUA, NANA, KEPSEU, PETIEU, YANKER, KOUAMO, DIHEWOU, TAKAM, FOTSO, KEPGANG et NHONDO pour leur soutien inconditionnel ;*

*À mes frères et amis de toujours Achille DIMO, Achille NANKPE, Alain KAMBA, Annick KENMOGNE, Aymeric TIENTCHEU, Emmanuel KOLOKOU, Eric TIEPMA, Francis TCHAMI, Gisèle MEGNE, Jean GANTY, Roméo KEPSEU, Joël MBATENG, Julio NGANWOÛO, Noélie MECHE ép. SIMO, Patrice TAME, Séverin SIME, Théophile TIENEPAS, Yves DJIEKOU. De même qu'aux couples KEPSEU, MINGUE, YEPMO, YANKPE et leurs familles pour leur soutien multiforme ;*

*À mes cousins et cousines (Ghislaine TCHOTCHENI, Herline TCHAPTIE, Junior YANKPE, Liliane DJOHOU, Nina PETIEU, Princesse KIÉLA, René NGESSI et Sonia DJOMO) ; neveux et nièces (Annette KEPSEU, Cordel FOTSING, Dalice NANA, Gloria KOUAMO, Guillaume SIME, Léana KEPSEU, Loïc NGUEMEDJO, Loyick MOYO, Merveille MENGUEPTCHI, Miguel DACHEUA, Nathan KEPSEU, Ornela NINMA'A, Precious PETIEU, Samanta YEPDJO, Vanelle SIME et Vidal KOUAMO) pour les encouragements et la chaleur familiale.*

*Je remercie vivement les organismes internationaux qui ont financé notre laboratoire pendant la réalisation de ce travail :*

*La Fondation Internationale pour la Science (FIS) ;*

*L'Union Européenne (UE) ;*

*La Third World Academy of Science for the Developing World (TWAS), non seulement pour le financement accordé à notre laboratoire, mais aussi et surtout pour le financement de douze mois qu'elle m'a accordé à travers la bourse de mobilité « TWAS-Advanced Training Program FR number: 3240257255 » à ICCBS-Karachi Pakistan pour la finalisation de cette thèse.*

# SOMMAIRE

LISTE PROTOCOLAIRE DES ENSEIGNANTS DE LA FACULTE DES SCIENCES .....	i
CERTIFICAT .....	xi
DEDICACES .....	xii
REMERCIEMENTS .....	xiii
SOMMAIRE .....	xvi
LISTE DES ABREVIATIONS ET SYMBOLES.....	xix
LISTE DES TABLEAUX.....	xxi
LISTE DES FIGURES.....	xxiii
LISTE DES SCHEMAS .....	xxvii
RESUME.....	xxviii
ABSTRACT .....	xxx
INTRODUCTION GENERALE.....	0
CHAPITRE I- ETUDE BIBLIOGRAPHIQUE SUR LES ESPECES ETUDIEES .....	4
I.1- ETUDE BOTANIQUE DE <i>FICUS PUMILA</i> L. ET <i>FICUS THONNINGII</i> B. ....	5
I.1.1- Aperçu sur les Moraceae .....	5
I.1.2- Aperçu sur le genre <i>Ficus</i> .....	5
I.1.3- Aspect botanique sur <i>Ficus pumila</i> Linn.....	8
I.1.4- Aspect botanique sur <i>Ficus thonningii</i> Blume .....	10
I.2. INTERETS ET UTILISATIONS DE <i>F. PUMILA</i> L. ET <i>F. THONNINGII</i> B.....	13
I.2.1- Sur le plan économique .....	13
I.2.2- Sur le plan culturel et ornemental.....	13
I.2.3- Sur le plan alimentaire.....	14
I.2.4- Sur le plan thérapeutique .....	14
I.2.5- Données pharmacologiques.....	15
I.2.6- Données toxicologiques.....	16
I.3- ETUDES PHYTOCHIMIQUES ANTERIEURES .....	16
I.3.1- Les coumarines .....	16
I.3.2- Les cycloartanes .....	17
I.3.3- Les stéroïdes .....	19
I.3.4- Les sesquiterpènes .....	20
I.3.5- Les triterpènes .....	21



I.3.6- Les flavonoïdes.....	22
I.4- GÉNÉRALITÉ SUR LES FLAVONOÏDES .....	24
I.4.1- Etude structurale et classification.....	25
I.4.2- Voie de biosynthèse des flavonoïdes.....	31
I.4.3- Méthodes de séparation et d'analyse des flavonoïdes .....	35
I.4.4- Activités biologiques des flavonoïdes .....	36
I.5- GENERALITES SUR LES RADICAUX LIBRES ET LES ANTIOXYDANTS.....	39
I.5.1- Les radicaux libres et Espèces Réactives de l'Oxygène (ERO).....	39
I.5.2- Les antioxydants .....	44
I.6 - LA MALADIE D'ALZHEIMER (MA).....	45
I.6.1- Introduction .....	45
I.6.2- Définition.....	46
I.6.3- Description clinique.....	46
I.6.4- Prévalence.....	46
I.6.5- Neuropathologie .....	46
I.6.6- Symptômes .....	48
I.6.7- Causes.....	48
I.6.8- Traitements pharmacologiques.....	49
I.6.9- Méthodes de détection des inhibiteurs des cholinestérases .....	52
I.7- LES MALADIES INFECTIEUSES .....	52
I.7.1- Généralités .....	52
I.7.2- Prévalence et fardeau économique des maladies infectieuses.....	53
I.7.3- Agents infectieux : Microbes et Parasites .....	54
I.7.4- Cas du paludisme.....	56
I.7.5- Relation hôte-bactéries pour les maladies infectieuses .....	57
I.7.6. Traitement des maladies infectieuses .....	57
I.7.7- Place des plantes médicinales dans la lutte contre les résistances aux antibiotiques .....	63
CHAPITRE II- RESULTATS ET DISCUSSION .....	65
II.1- ETUDE PHYTOCHIMIQUE DE <i>F. PUMILA</i> L. ET <i>F. THONNINGII</i> B.....	66
II.1.1- Matériel végétal, extraction et isolement des composés .....	66
II.1.2- Détermination de structures des composés isolés .....	70
II.2- TRANSFORMATIONS CHIMIQUES SUR QUELQUES COMPOSES ISOLEES ..	158
II.2.1- Réactions d'estérification.....	158

II.2.2- Réactions d'éthérisation .....	170
II.2.3- Le concept de « Chimie click ».....	173
II.2.4- Epoxydation .....	177
II.3. ACTIVITES BIOLOGIQUES DES EXTRAITS ET DE QUELQUES COMPOSES PURS ISOLES .....	178
II.3.1- Introduction .....	178
II.3.2- Résultats et discussion.....	178
II.3.2.1- Activité antimicrobienne .....	180
II.3.2.2- Activité antioxydante ou antiradicalaire .....	182
II.3.2.3- Activité anticholinestérase (acétylcholinestérase et butyrylcholinestérase) ....	184
CONCLUSION ET PERSPECTIVES .....	187
CHAPITRE III- MATERIELS ET METHODES .....	191
III.1- GENERALITES .....	192
III.1.1- Techniques chromatographiques .....	192
III.1.2- Méthodes physico-chimiques et appareillage .....	192
III.1.3- Tests de caractérisation chimique .....	193
III.2- EXTRACTION ET ISOLEMENT DES COMPOSES.....	194
III.2.1- Matériel végétal .....	194
III.2.2- Extraction.....	194
III.2.3- Isolement des composés.....	195
III.3- TRANSFORMATIONS CHIMIQUES DE QUELQUES COMPOSES ISOLES ...	205
III.3.1- Acétylation.....	205
III.3.2- Estérisation .....	206
III.3.3- Ethérisation .....	206
III.3.4- Epoxydation .....	206
III.3.5- Tentative de réaction en « chimie Click » .....	207
III.4- EVALUATION DES ACTIVITES BIOLOGIQUES .....	207
III.4.1- Evaluation de l'activité antimicrobienne .....	207
III.4.2- Evaluation de l'activité antiradicalaire .....	209
III.4.3- Evaluation de l'activité inhibitrice des cholinestérases .....	209
III.5- CARACTERISTIQUES PHYSICOCHIMIQUES DES COMPOSES ISOLES.....	211
REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES .....	223
PUBLICATION ISSUE DE CE TRAVAIL .....	248

# LISTE DES ABREVIATIONS ET SYMBOLES

ADN	:	Acide désoxyribonucléique
AE	:	Acétate d'Ethyle
APG	:	Angiosperm Phylogeny Group
APT	:	Attached Proton Test
ATP	:	Adénosine Triphosphate
BHA	:	Butylated HydroxyAnisole
CC	:	Chromatographie sur Colonne
CCM	:	Chromatographie sur Couche Mince
CHI	:	Chalcone isomérase
CHS	:	Chalcone synthase
CI <sub>50</sub>	:	Concentration Inhibitrice médiane
CMI	:	Concentration Minimale Inhibitrice
COSY:	:	Correlation Spectroscopy
CuAAC	:	Copper(I)-Catalysed Alkyne-Azide Cycloaddition.
CS	:	Chorismate synthase
4CL	:	4-coumarate-CoA ligase ou 4-coumarate-CoA synthase
$\delta$	:	Echelle de déplacement chimique en ppm
d	:	Doublet
dd	:	Doublet dédoublé
ddd	:	Doublet dédoublé dédoublé
ddl	:	Doublet dédoublé large
DAHPS	:	3-déoxy-D-arabino-heptulosonate 7-phosphate synthase
DC	:	Dichroïsme circulaire
DEPT	:	Distortionless Enhancement by Polarization Transfer
DHD/SDH	:	3-déhydroquinone déshydrogénase/shikimate 5-déhydrogénase
DHQS	:	3-déhydroquinone synthase
DIPEA	:	Diisopropyl éthylamine
DMSO	:	Diméthylsulfoxyde
DPPH	:	Diphénylpicrylhydrazyl
ERO	:	Espèce Réactive de l'Oxygène
ESI	:	ElectroSpray Ionization (Ionisation par électrospray)
ESI-HR	:	ElectroSpray Ionisation High Resolution

<i>F.</i>	:	<i>Ficus</i>
Hex	:	Hexane
Hz	:	Hertz
HMBC	:	Heteronuclear Multiple Bond Correlation
HSQC	:	Heteronuclear Single Quantum Correlation
I.E.	:	Ionisation par Impact Electronique
IR	:	Infra Rouge
<i>J</i>	:	Constant de couplage
M.A.	:	Maladie d'Alzheimer
MHz	:	Mégahertz
mmol	:	Millimole
M.I.E.	:	Maladie Infectieuse Emergente
<i>m</i>	:	Multiplet
<i>m</i> -CPBA	:	méta Chloro PerBenzoic Acid
N.D	:	Non déterminé
NOE	:	Nuclear Overhauser Effect
NOESY	:	Nuclear Overhauser Effect Spectroscopy
PAL	:	Phenylalanine Ammonia Lyase
PBP 2A	:	Penicillin binding protein 2A
P.F.	:	Point de Fusion
ppm	:	partie par million
<i>q</i>	:	Quartet
RMN <sup>13</sup> C	:	Résonance Magnétique Nucléaire du Carbone 13
RMN <sup>1</sup> H	:	Résonance Magnétique Nucléaire du Proton
RMN 1D	:	Résonance Magnétique Nucléaire à une Dimension
RMN 2D	:	Résonance Magnétique Nucléaire à deux Dimensions
<i>s</i>	:	Singulet
<i>sl</i>	:	Singulet large
SK	:	Shikimate kinase
<i>sl</i>	:	Singulet large
SM	:	Spectrométrie de masse
SOD	:	Superoxyde dismutase
<i>t</i>	:	Triplet
<i>td</i>	:	Triplet de doublets
<i>tl</i>	:	Triplet large
UV	:	Ultra Violet
WHO	:	World Health Organization

# LISTE DES TABLEAUX

<b>Tableau I</b>	Quelques usages de <i>F. thonningii</i> et <i>F. pumila</i> en médecine traditionnelle	14
<b>Tableau II</b>	Quelques coumarines isolées de <i>F. pumila</i>	17
<b>Tableau III</b>	Quelques cycloartanes isolés de <i>F. pumila</i>	18
<b>Tableau IV</b>	Quelques stéroïdes isolés de <i>F. pumila</i>	19
<b>Tableau V</b>	Quelques sesquiterpènes isolés de <i>F. pumila</i>	20
<b>Tableau VI</b>	Quelques triterpènes isolés de <i>F. pumila</i>	21
<b>Tableau VII</b>	Quelques flavonoïdes isolés de <i>F. pumila</i>	23
<b>Tableau VIII</b>	Les principales espèces réactives de l'oxygène	41
<b>Tableau IX</b>	Données spectrales de FPE -7 et de la naringénine	72
<b>Tableau X</b>	Données spectrales de FPE-9 et de la (+)-afzeléchine	75
<b>Tableau XI</b>	Données spectrales de FPE-10 et de la catéchine	78
<b>Tableau XII</b>	Données spectrales de FPFE-5 et de la rutine	82
<b>Tableau XIII</b>	Données spectrales de FPE-1 et du bergaptène	85
<b>Tableau XIV</b>	Données spectrales de FPE-2 et du psoralène	87
<b>Tableau XV</b>	Données spectrales de FPE-22-10 et de l'aviprine	90
<b>Tableau XVI</b>	Données spectrales de FPE-22-5 et du blumenol A	95
<b>Tableau XVII</b>	Données spectrales de FTF-19 et de l'alpinumisoflavone	99
<b>Tableau XVIII</b>	Données spectrales de FTBR-15 et hydroxyalpinumisoflavone	100
<b>Tableau XIX</b>	Données spectrales de FTF-31-FM et de la wightéone	103
<b>Tableau XX</b>	Données spectrales de FTF-41-8 et de l'hydrate de lupiwightéone	107
<b>Tableau XXI</b>	Données spectrales de FTF-41-3 et de la $\beta$ -isolutéone	112
<b>Tableau XXII</b>	Données spectrales de FTF-31-L et de la déhydroferreirine	115
<b>Tableau XXIII</b>	Données spectrales de FTF-41-6	118
<b>Tableau XXIV</b>	Données de spectrales de FTBR-11 et de la lutéone	125

<b>Tableau XXV</b>	Données spectrales de FTBR-9 et de la (+)-aromadendrine	128
<b>Tableau XXVI</b>	Données spectrales de FTBR -10 et de la shutérine	131
<b>Tableau XXVII</b>	Données spectrales de FTBR-7 et de la conrauiflavonol	134
<b>Tableau XXVIII</b>	Données spectrales de FTBR-8	141
<b>Tableau XXIX</b>	Données spectrales de FTF-41-5 et de la (+)-dihydroquercétine	144
<b>Tableau XXX</b>	Données spectrales de FTF-7A et de la friedéline	149
<b>Tableau XXXI</b>	Données spectrales de FTBR-3 et de la <i>p</i> -menthane-3,6-diol	156
<b>Tableau XXXII</b>	Structures des esters de catéchine	162
<b>Tableau XXXIII</b>	Quelques propriétés biologiques répertoriées des composés isolés connus	178
<b>Tableau XXXIV</b>	Activités antimicrobiennes des extraits et de quelques composés	180
<b>Tableau XXXV</b>	Activité antiradicalaire des extraits et de quelques composés isolés	182
<b>Tableau XXXVI</b>	Activité anticholinestérase des extraits et de quelques composés	184
<b>Tableau XXXVII</b>	Chromatogramme de l'extrait au méthanol des lianes de <i>F. pumila</i> .	194
<b>Tableau XXXVIII</b>	Chromatogramme de la fraction F <sub>1</sub> des lianes de <i>F. pumila</i>	195
<b>Tableau XXXIX</b>	Chromatogramme de la fraction F <sub>3</sub> des lianes de <i>F. pumila</i>	196
<b>Tableau XXXX</b>	Chromatogramme de la fraction F <sub>4</sub> des lianes de <i>F. pumila</i>	197
<b>Tableau XXXXI</b>	Chromatogramme de l'extrait des figues de <i>F. thonningii</i>	198
<b>Tableau XXXXII</b>	Chromatogramme de la fraction F <sub>2</sub> des figues de <i>F. thonningii</i>	199
<b>Tableau XXXXIII</b>	Chromatogramme de la fraction F <sub>4</sub> des figues de <i>F. thonningii</i>	199
<b>Tableau XXXXIV</b>	Chromatogramme de la fraction F <sub>5</sub> des figues de <i>F. thonningii</i>	200
<b>Tableau XXXXV</b>	Chromatogramme de la fraction F <sub>6</sub> des figues de <i>F. thonningii</i>	201
<b>Tableau XXXXVI</b>	Chromatogramme de la fraction F <sub>7</sub> des figues de <i>F. thonningii</i>	202
<b>Tableau XXXXVII</b>	Chromatogramme de l'extrait des racines de <i>F. thonningii</i>	203

# LISTE DES FIGURES

<b>Figure 1</b>	Photos des feuilles et des figes de quelques <i>Ficus</i>	6
<b>Figure 2</b>	Photos des feuilles, des branches et des figes de <i>F. pumila</i>	8
<b>Figure 3</b>	Photos des feuilles et des figes de <i>F. thonningii</i>	11
<b>Figure 4</b>	Répartition géographique de <i>F. Thonningii</i> Blume au Cameroun	12
<b>Figure 5</b>	Conformations du cycle C du noyau flavane	27
<b>Figure 6</b>	Les sites d'action des radicaux libres dans la cellule	40
<b>Figure 7</b>	Mécanisme d'action des Espèces Réactives de l'Oxygène	43
<b>Figure 8</b>	Atrophie cérébrale d'une personne atteinte de la M.A.	47
<b>Figure 9</b>	Prévalence de la maladie d'Alzheimer selon l'âge.	48
<b>Figure 10</b>	Répartition mondiale des cas de paludisme dans le monde et en Afrique selon l'OMS	55
<b>Figure 11</b>	Spectre de RMN $^1\text{H}$ (DMSO- $d_6$ , 500 MHz) de FPE-7	71
<b>Figure 12</b>	Spectre de RMN $^{13}\text{C}$ (DMSO- $d_6$ , 125 MHz) de FPE-7	72
<b>Figure 13</b>	Spectre de RMN $^1\text{H}$ (DMSO- $d_6$ , 500 MHz) de FPE-9	74
<b>Figure 14</b>	Spectre de RMN $^{13}\text{C}$ (DMSO- $d_6$ , 125 MHz) de FPE-9	75
<b>Figure 15</b>	Spectre de RMN $^1\text{H}$ (DMSO- $d_6$ , 500 MHz) de FPE-10	77
<b>Figure 16</b>	Spectre de RMN $^{13}\text{C}$ (DMSO- $d_6$ , 125 MHz) de FPE-10	78
<b>Figure 17</b>	Spectre UV (MeOH) de FPFE-5	79
<b>Figure 18</b>	Spectre IR (KBr) de FPFE-5	79
<b>Figure 19</b>	Spectre ESI (mode positif) de FPFE-5	80
<b>Figure 20</b>	Spectre de RMN $^1\text{H}$ ( $\text{CD}_3\text{OD}$ , 500 MHz) de FPFE-5	81
<b>Figure 21</b>	Spectre de RMN $^{13}\text{C}$ ( $\text{CD}_3\text{OD}$ , 150 MHz) de FPFE-5	82
<b>Figure 22</b>	Spectre de RMN $^1\text{H}$ ( $\text{CDCl}_3$ , 500 MHz) de FPE-1	84
<b>Figure 23</b>	Spectre de RMN $^{13}\text{C}$ ( $\text{CDCl}_3$ , 125 MHz) de FPE-1	85
<b>Figure 24</b>	Spectre de RMN $^1\text{H}$ ( $\text{CDCl}_3$ , 500 MHz) de FPE-2	86
<b>Figure 25</b>	Spectre de RMN $^1\text{H}$ ( $\text{CDCl}_3$ , 500 MHz) de PFE-22-10	89

<b>Figure 26</b>	Spectre de RMN $^{13}\text{C}$ ( $\text{CDCl}_3$ , 125 MHz) de FPE-22-10	89
<b>Figure 27</b>	Spectre de RMN $^1\text{H}$ ( $\text{CDCl}_3$ , 500 MHz) de FPE-4	91
<b>Figure 28</b>	Spectre de RMN $^1\text{H}$ (Pyridine- <i>d</i> <sub>5</sub> , 400 MHz) de FPE-11	92
<b>Figure 29</b>	Spectre de RMN $^1\text{H}$ ( $\text{CD}_3\text{OD}$ , 500 MHz) de PFE-22-5	94
<b>Figure 30</b>	Spectre de RMN $^{13}\text{C}$ ( $\text{CD}_3\text{OD}$ , 150 MHz) de PFE-22-5	94
<b>Figure 31</b>	Spectre de RMN $^1\text{H}$ ( $\text{CD}_3\text{OD}$ , 300 MHz) de PFE-5	96
<b>Figure 32</b>	Spectre de RMN $^1\text{H}$ ( $\text{DMSO-}d_6$ , 500 MHz) de FTF-19	98
<b>Figure 33</b>	Spectre de RMN $^{13}\text{C}$ ( $\text{DMSO-}d_6$ , 125 MHz) de FTF-19	98
<b>Figure 34</b>	Spectre de RMN $^1\text{H}$ ( $\text{DMSO-}d_6$ , 500 MHz) de FTBR-15	101
<b>Figure 35</b>	Spectre de RMN $^{13}\text{C}$ ( $\text{DMSO-}d_6$ , 125 MHz) de FTBR-15	102
<b>Figure 36</b>	Spectre de RMN $^1\text{H}$ ( $\text{DMSO-}d_6$ , 400 MHz) de FTF-31-FM	104
<b>Figure 37</b>	Spectre de RMN $^{13}\text{C}$ ( $\text{DMSO-}d_6$ , 125 MHz) de FTF-31-FM	105
<b>Figure 38</b>	Spectre de RMN $^1\text{H}$ ( $\text{DMSO-}d_6$ , 500 MHz) de FTF-41-8	109
<b>Figure 39</b>	Spectre de RMN $^{13}\text{C}$ ( $\text{DMSO-}d_6$ , 125 MHz) de FTF-41-8	109
<b>Figure 40</b>	Spectre de RMN $^1\text{H}$ ( $\text{DMSO-}d_6$ , 500 MHz) de FTF-41-3	111
<b>Figure 41</b>	Spectre de RMN $^{13}\text{C}$ ( $\text{DMSO-}d_6$ , 125 MHz) de FTF-41-3	112
<b>Figure 42</b>	Spectre de RMN $^1\text{H}$ ( $\text{DMSO-}d_6$ , 300 MHz) de FTF-31-L	114
<b>Figure 43</b>	Spectre de RMN $^{13}\text{C}$ ( $\text{DMSO-}d_6$ , 125 MHz) de FTF-31-L	115
<b>Figure 44</b>	Spectre de masse en EI de FTF-41-6	119
<b>Figure 44a</b>	Spectre de masse en EI-HR de FTF-41-6	120
<b>Figure 45</b>	Spectre de RMN $^1\text{H}$ ( $\text{DMSO-}d_6$ , 500 MHz) de FTF-41-6	120
<b>Figure 45a</b>	Spectres de RMN $^1\text{H}$ élargis ( $\text{DMSO-}d_6$ , 500 MHz) de FTF-41-6	121
<b>Figure 46</b>	Spectre de RMN $^{13}\text{C}$ ( $\text{CDCl}_3$ , 125 MHz) de FTF-41-6	122
<b>Figure 47</b>	Spectre HSQC de FTF-41-6	122
<b>Figure 48</b>	Spectre HMBC de FTF-41-6	123
<b>Figure 49</b>	Spectre de RMN $^1\text{H}$ ( $\text{DMSO-}d_6$ , 500 MHz) de FTBR-11	124
<b>Figure 50</b>	Spectre de RMN $^{13}\text{C}$ ( $\text{DMSO-}d_6$ , 125 MHz) de FTBR-11	125
<b>Figure 51</b>	Spectre de RMN $^1\text{H}$ ( $\text{DMSO-}d_6$ , 500 MHz) de FTBR-9	127



<b>Figure 52</b>	Spectre de RMN $^{13}\text{C}$ (DMSO- $d_6$ , 125 MHz) de FTBR-9	128
<b>Figure 53</b>	Spectre de RMN $^1\text{H}$ (DMSO- $d_6$ , 500 MHz) de FTBR-10	130
<b>Figure 54</b>	Spectre de RMN $^1\text{H}$ (DMSO- $d_6$ , 125 MHz) de FTBR-10	130
<b>Figure 55</b>	Spectre de RMN $^1\text{H}$ (DMSO- $d_6$ , 500 MHz) de FTBR-7	133
<b>Figure 56</b>	Spectre de RMN $^{13}\text{C}$ (DMSO- $d_6$ , 125 MHz) de FTBR-7	134
<b>Figure 57</b>	Spectre de RMN $^1\text{H}$ (DMSO- $d_6$ , 500 MHz) de FTBR-8	138
<b>Figure 58</b>	Spectre de RMN $^{13}\text{C}$ (DMSO- $d_6$ , 125 MHz) de FTBR-8	139
<b>Figure 59</b>	Spectre COSY (DMSO- $d_6$ , 500 MHz) de FTBR-8	139
<b>Figure 60</b>	Spectre HSQC (DMSO- $d_6$ ) de FTBR-8	140
<b>Figure 61</b>	Spectre HMBC (DMSO- $d_6$ ) de FTBR-8	140
<b>Figure 62</b>	Spectre de masse en Impact Electronique de FTF-41-5	142
<b>Figure 63</b>	Spectres de RMN $^1\text{H}$ (DMSO- $d_6$ , 500 MHz) de FTF-41-5	143
<b>Figure 64</b>	Spectre de RMN $^{13}\text{C}$ (DMSO- $d_6$ , 125 MHz) de FTF-41-5	143
<b>Figure 65</b>	Spectre de RMN $^1\text{H}$ ( $\text{CDCl}_3$ , 500 MHz) de FTF-6	145
<b>Figure 66</b>	Spectre de RMN $^1\text{H}$ ( $\text{CDCl}_3$ , 500 MHz) de FTF-7A	147
<b>Figure 67</b>	Spectre COSY ( $\text{CDCl}_3$ , 500 MHz) de FTF-7A	148
<b>Figure 68</b>	Spectre de RMN $^{13}\text{C}$ ( $\text{CDCl}_3$ , 125 MHz) de FTF-7A	148
<b>Figure 69</b>	Spectre de RMN $^1\text{H}$ ( $\text{CDCl}_3$ , 500 MHz) de FTF-18	151
<b>Figure 70</b>	Spectre de RMN $^1\text{H}$ ( $\text{CDCl}_3$ , 500 MHz) de FTF-17	152
<b>Figure 71</b>	Spectre de RMN $^1\text{H}$ ( $\text{CDCl}_3$ , 500 MHz) de FTBR-3	154
<b>Figure 72</b>	Spectre COSY ( $\text{CDCl}_3$ , 500 MHz) de FTBR-3	155
<b>Figure 73</b>	Spectre de RMN $^{13}\text{C}$ ( $\text{CDCl}_3$ , 125 MHz) de FTBR-3	155
<b>Figure 74</b>	Spectre de masse IE du composé <b>64</b> (FTBR-10-A2)	158
<b>Figure 75</b>	Spectre de RMN $^1\text{H}$ ( $\text{CDCl}_3$ , 500 MHz) du composé <b>64</b>	158
<b>Figure 76</b>	Spectre de RMN $^{13}\text{C}$ ( $\text{CDCl}_3$ , 125 MHz) du composé <b>64</b>	159
<b>Figure 77</b>	Spectre de masse IE du composé <b>65</b> (FTBR-10-A3)	159
<b>Figure 78</b>	Spectre de RMN $^1\text{H}$ ( $\text{CDCl}_3$ , 500 MHz) du composé <b>65</b>	160
<b>Figure 79</b>	Spectre de RMN $^1\text{H}$ ( $\text{CDCl}_3$ , 500 MHz) du composé <b>66</b>	161

<b>Figure 80</b>	Spectre de RMN $^{13}\text{C}$ ( $\text{CDCl}_3$ , 125 MHz) du composé <u>66</u>	161
<b>Figure 81</b>	Spectre de masse IE du composé <u>67</u>	165
<b>Figure 82</b>	Spectre de RMN $^1\text{H}$ ( $\text{CDCl}_3$ , 500 MHz) du composé <u>67</u>	165
<b>Figure 83</b>	Spectre de masse IE du composé <u>68</u>	166
<b>Figure 84</b>	Spectre de RMN $^1\text{H}$ ( $\text{CDCl}_3$ , 500 MHz) du composé <u>68</u>	166
<b>Figure 85</b>	Spectre de masse IE du composé <u>69</u>	167
<b>Figure 86</b>	Spectre de RMN $^1\text{H}$ ( $\text{CDCl}_3$ , 500 MHz) du composé <u>69</u>	167
<b>Figure 87</b>	Spectre de masse IE du composé <u>70</u>	168
<b>Figure 88</b>	Spectre de RMN $^1\text{H}$ ( $\text{CDCl}_3$ , 500 MHz) du composé <u>70</u>	168
<b>Figure 89</b>	Spectre de RMN $^1\text{H}$ ( $\text{CDCl}_3$ , 500 MHz) du composé <u>71</u>	169
<b>Figure 90</b>	Spectre de masse IE du composé <u>72</u>	170
<b>Figure 91</b>	Spectre de RMN $^1\text{H}$ ( $\text{CDCl}_3$ , 500 MHz) du composé <u>72</u>	171
<b>Figure 92</b>	Spectres élargis de RMN $^1\text{H}$ ( $\text{CDCl}_3$ , 500 MHz) du composé <u>72</u>	172

# LISTE DES SCHEMAS

<b>Schéma 1</b>	Classification systématique du genre <i>Ficus</i>	7
<b>Schéma 2</b>	Squelette commun des flavonoïdes	25
<b>Schéma 3</b>	Principales classes de flavonoïdes	26
<b>Schéma 4</b>	Sous-classes des isoflavonoïdes	28
<b>Schéma 5</b>	Conversion des proanthocyanidines en anthocyanidines par catalyse acide	29
<b>Schéma 6</b>	Différents types de prénylation rencontrés dans le genre <i>Ficus</i>	30
<b>Schéma 7</b>	Voie de biosynthèse de la naringénine chalcone à partir des carbohydrates	32
<b>Schéma 8</b>	Voie générale de la biosynthèse des flavonoïdes	33
<b>Schéma 9</b>	Formation des Espèces Réactives de L'oxygène (ERO)	39
<b>Schéma 10</b>	La cascade amyloïde.	46
<b>Schéma 11</b>	Une synapse et les mécanismes de neurotransmission cholinergique	49
<b>Schéma 12</b>	Protocole d'extraction et d'isolement des composés de l'extrait méthanolique des lianes de <i>F. pumila</i>	66
<b>Schéma 13</b>	Protocole d'extraction et d'isolement des composés de l'extrait méthanolique des figues de <i>Ficus thonningii</i>	68
<b>Schéma 14</b>	Protocole d'extraction et d'isolement des composés de l'extrait méthanolique des racines de <i>Ficus thonningii</i>	69
<b>Schéma 15</b>	Fragmentation de l'hydrate de lupiwightéone par I.E	108
<b>Schéma 16</b>	Présentation de l'ensemble des réactions de « Chimie clip »	173
<b>Schéma 17</b>	Mécanisme de la cycloaddition de Huisgen	174
<b>Schéma 18</b>	Mécanisme de la catalyse de la CuAAC proposé par Sharpless <i>et al.</i>	174
<b>Schéma 19</b>	Forme libre et réduite du DPPH	181

# RESUME

Cette thèse s'inscrit dans le cadre des thématiques de recherche menées au sein du Département de Chimie Organique de l'Université de Yaoundé I, dans le domaine de la chimie des substances naturelles. Elle vise essentiellement la recherche des molécules naturelles bioactives d'origine végétale, et potentiellement intéressantes en thérapeutique en général.

Cette thèse rapporte les résultats des investigations phytochimiques faites sur *Ficus pumila* Linn et *F. thonningii* Blume, deux plantes médicinales camerounaises de la famille des Moraceae. Elle rapporte également les résultats de l'hémisynthèse de quelques composés et de l'évaluation des activités antiradicalaire, antimicrobienne ainsi que les propriétés inhibitrices des extraits bruts, des composés isolés et d'hémisynthèse sur les cholinestérases.

Ce travail avait pour objectif la recherche de nouvelles molécules bioactives et la contribution à la classification chimio-taxonomique des plantes du genre *Ficus*. Les composés ont été isolés à l'aide des méthodes usuelles de séparation. Les structures ont été élucidées grâce aux méthodes spectroscopiques usuelles (UV, IR, SM, RMN 1D et 2D) et par comparaison de certaines données physiques et spectrales avec celles décrites dans la littérature. De ce travail, 32 composés ont été isolés parmi lesquels 29 ont été entièrement caractérisés, les 03 autres étant en cours d'élucidation.

De l'extrait au méthanol des lianes de *Ficus pumila*, 10 composés ont été isolés à l'aide des méthodes chromatographiques usuelles (chromatographie flash, CC et CCM analytique). Parmi ceux-ci, on a dénombré 03 flavonoïdes (la naringénine, l'afzélechine et la catéchine), 03 coumarines (le psoralène, le bergaptène et l'aviprine), 02 stérols (le mélange de  $\beta$ -sitostérol et de stigmastérol et le 3-*O*- $\beta$ -D-glucopyranoside de sitostérol), un dérivé de l'acide benzoïque (l'acide vanilique) et une ionone (le blumenol A). De l'extrait au méthanol des feuilles de *F. pumila* un composé a été filtré et purifié ; il s'agissait de la rutine [quercétine 3-*O*- $\beta$ -(6''-*O*- $\alpha$ -rhamnosylglucoside)]. De l'extrait au méthanol des figues de *F. thonningii*, 11 composés ont été isolés dont 07 flavonoïdes (l'alpinumisoflavone, la wightéone, l'hydrate de lupiwightéone, la  $\beta$ -isolutéone, la déhydroferreirine, la dihydroquercétine et la 5,7,2',4'-tétrahydroxy-3'-(3-hydroxy-3-méthylbutyl)isoflavone, un dérivé nouveau d'isoflavonoïde auquel nous avons donné le nom trivial de thonningiisoflavone) ; 04 triterpènes (l'acétate de  $\beta$ -amyrine, la friedéline, l'acétate de lupéol et l'hexanoate de lupéol). De l'extrait au méthanol des racines de *F. thonningii*, dix composés ont été isolés dont 06 flavonoïdes (l'aromadendrine, la shutérine, la lutéone, le conraui flavonol, l'hydroxyalpinumisoflavone, et

le (2*R*, 3*R*)-3,5,4'-trihydroxy-7-méthoxy-6-(3,3-diméthylallyl)-dihydroflavonol, dérivé nouveau de flavonoïde auquel nous avons attribué le nom trivial thonningiol), un monoterpène (*p*-menthane-3,6-diol) et trois structures qui restent à élucider.

Utilisant certains flavonoïdes isolés comme matière première, dix dérivés nouveaux ont été préparés par acétylation, acylation, estérification et époxidation.

Les extraits bruts, les composés isolés, ainsi que les composés d'hémisynthèse ont été évalués *in vitro* pour leurs activités antimicrobienne, antiradicalaire, et leurs propriétés inhibitrices des cholinestérases.

Les résultats saillants sont les suivants :

- l'extrait méthanolique des figes de *F. thonningii* a été actif contre *Escherichia coli*, *Proteus vulgaris*, *Providencia stuartii*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Staphylococcus aureus* et *Candida albicans* avec des concentrations minimales bactéricides variant de 31,3 à 125 mg/mL. De plus trois des composés isolés à savoir la shutérine (**55**), le conrauiflavonol (**56**) et la dihydroquercétine (**58**) sont actifs avec des CMI variant entre 0,31 à 1,25 mg/mL sur les micro-organismes testés ;

- Tous les extraits testés ont piégé les radicaux libres avec des pourcentages d'inhibition variant entre  $26,10 \pm 0,12$  et  $93,82 \pm 0,26$  %. L'extrait des feuilles de *F. pumila* a montré l'activité la plus élevée aux trois concentrations différentes (0,1 ; 0,5 et 1%), suivie de l'extrait des figes de *F. thonningii*. L'extrait méthanolique des figes de *F. pumila* s'est révélée être la moins active. Quatre flavonoïdes à savoir l'afzélechine ( $38,84 \pm 0,43$   $\mu$ M), la rutine ( $37,2 \pm 0,21$   $\mu$ M), la catéchine ( $49,30 \pm 0,52$   $\mu$ M), et la dihydroquercétine ( $48,7 \pm 0,21$   $\mu$ M) ont développé une activité antioxydante modérée proche de celle de la référence, le BHA ( $44,20 \pm 0,32$   $\mu$ M). Le composé le plus actif est le  $\beta$ -isolutéone isolé pour la première fois d'une source naturelle, avec une  $CI_{50} = 8,81 \pm 0,19$   $\mu$ M, six fois plus actif que la référence ;

- Aucun des extraits testés n'a inhibé les cholinestérases. Néanmoins, trois composés, dont deux isoflavonoïdes [l'alpinumisoflavone (**46**) et l'hydrate de lupiwightéone (**49**)] isolés des figes de *F. Thonningii* et une coumarine [aviprine(**40**)] obtenue des lianes de *F. pumila* ont montré une bonne activité inhibitrice de la butyrylcholinestérase mais pas contre l'acétylcholinestérase.

**Mots-clés** : *Moraceae* - *Ficus pumila* - *Ficus thonningii* – flavonoïdes – thonningiol – thonningiisoflavone – hémisynthèses – activités biologiques.

# ABSTRACT

This thesis is in the framework of research conducted in the Department of Organic Chemistry, University of Yaounde I, in the field of natural products chemistry. This work was aimed to search new plant based bioactive molecules (and/or lead), which can be used as lead drugs in therapeutic.

In this thesis therefore, we report the results of phytochemical investigations of *Ficus pumila* Linn and *Ficus thonningii* Blume, two Cameroonian medicinal plants of the Moraceae family. This work also includes results of the chemical transformations from some three isolates, as well as the evaluation of the antimicrobial, DPPH free radical scavenging and butyrylcholinesterase inhibition of extracts, some isolates and semisynthetic compounds.

The aim of this work was to search new bioactive molecules for future drugs discovery and to contribute in the chemo-taxonomic classification of plants of the genus *Ficus*. Obtained compounds were isolated using conventional separation methods. Structures have been elucidated by usual spectroscopic methods (UV, IR, MS, 1D and 2D NMR) and by comparison of some physical and spectral data with those described in the literature. From this work, 32 compounds were isolated among which 29 were fully characterized.

From the methanolic extract of the liana of *F. pumila*, 10 compounds were isolated using usual chromatographic methods (flash chromatography, CC, analytic TLC). Among these, 03 were flavonoids (naringenin, afzelechin and catechin), 03 coumarins (psoralen, bergapten and aviprin), 02 sterols (a mixture of  $\beta$ -sitostérol and stigmasterol and  $\beta$ -sitosterol 3-*O*- $\beta$ -D-glucopyranoside), a benzoic acid derivative (vanilic acid) and an ionone (blumenol A). From the methanolic extract of the leaves of *F. pumila*, a compound was purified and named rutin [quercetin 3-*O*- $\beta$ -(6''-*O*- $\alpha$ -rhamnosyl)glucoside]. From the methanolic extract of the figs of *F. thonningii*, 11 compounds were isolated. Among these, 07 were flavonoids (alpinumisoflavon, wighteon, lupiwighteon hydrate,  $\beta$ -isoluteon, dehydroferreirin, dihydroquercetin and 5,7,2',4'-tetrahydroxy-3'-(3-hydroxy-3-méthylbutyl)isoflavone, a new isoflavonoïd derivative named thonningiisoflavone) ; 04 triterpenes ( $\beta$ -amyrin acetate, friedelin, lupeol acetate and lupeol hexanoate). From the methanolic extract of the roots of *F. thonningii*, 10 compounds were isolated. Among these, 06 were flavonoïds (aromadendrin, shuterin, luteon, conrauiflavonol, hydroxyalpinumisoflavon, and (2*R*, 3*R*)-3,5,4'-trihydroxy-7-méthoxy-6-(3,3-diméthylallyl)-

dihydroflavonol, a new flavonoid derivative named thonningiol) ; one monoterpen (*p*-menthan-3,6-diol) and 03 unsolved structures, whose are still being determined.

Using three isolated flavonoids as starting raw material, ten new derivatives were prepared through acetylation, acylation, esterification and epoxidation.

Crude extracts, isolates, as well as compounds prepared by structural modification were screened *in vitro* for their antimicrobial, DPPH radical scavenging and cholinesterase inhibitory activities.

The prominent results are hereunder reported :

- The methanolic extract of figs of *F. thonningii* was active against *Escherichia coli*, *Proteus vulgaris*, *Providencia stuartii*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Staphylococcus aureus* and *Candida albicans* with minimum bactericidal concentrations ranging from 31.3 to 125 mg / mL. In addition, three of the isolates [(shuterin (**55**), conrauf flavonol (**56**) and dihydroquercetin (**58**)] were active with MICs ranging from 0.31 to 1.25 mg / mL on the tested microorganisms;

- All tested extracts trapped free radicals with inhibition percentages ranging from  $26.10 \pm 0.12$  to  $93.82 \pm 0.26$  %. Leaves extract of *F. pumila* showed the highest activity at the three different concentrations (0.1, 0.5 and 1 %), followed by the methanolic extract of the figs of *F. thonningii*. The methanolic extract of the figs of *F. pumila* was the least active. Four flavonoids namely afzelechin ( $38.84 \pm 0.43$   $\mu$ M), rutin ( $37.2 \pm 0.21$   $\mu$ M), catechin ( $49.30 \pm 0.52$   $\mu$ M) and dihydroquercetin ( $48.7 \pm 0.21$   $\mu$ M) have developed a moderate antioxidant activity close to that of the reference, BHA ( $44.20 \pm 0.32$   $\mu$ M). Interestingly, the most active compound,  $\beta$ -isoluteon isolated for the first time from a natural source, with an  $IC_{50} = 8.81 \pm 0.19$   $\mu$ M was six time more active than the reference;

- None of the tested extracts inhibit cholinesterase. However, three of the isolated compounds, two isoflavonoids [the alpinumisoflavone (**46**) and lupiwighteon hydrate (**49**)] isolated from the methanolic extract of figs of *F. thonningii* and a coumarin [aviprin (**40**)] isolated from the methanolic extract of liana of *F. pumila*, showed good activity against butyrylcholinesterase but not against acetylcholinesterase.

**Key-words index:** *Moraceae* - *Ficus pumila* - *Ficus thonningii* - flavonoids - thonningiol - thonningiisoflavone - semisynthesis - biological activities.



# **INTRODUCTION GENERALE**





L'incidence des maladies infectieuses émergentes et ré-émergentes est aujourd'hui une réalité et suscite beaucoup d'intérêts. Ces dernières, en plus des maladies parasitaires et métaboliques, constituent un véritable problème de santé publique. Elles sont la principale cause des taux de mortalité élevés enregistrés dans les pays en développement où la majeure partie de la population n'a pas accès aux soins de santé adéquats. Dans les pays industrialisés par contre, les résistances aux antibiotiques existants se développent de façon alarmante (Leport et Guégan, 2011).

Souvent d'origine animale, ces infections constituent parfois une menace sanitaire majeure pour l'homme, qu'il s'agisse d'un agent non antérieurement identifié ou d'un agent déjà identifié mais ayant subi une évolution qui lui permet d'atteindre de nouvelles populations, espèces et aires géographiques. Cette extension des maladies infectieuses émergentes (MIE) est accrue par différents facteurs comme l'augmentation des flux humains, animaux et de marchandises ou le réchauffement climatique (Snowden, 2008).

Les maladies infectieuses émergentes ou ré-émergentes sont en nette augmentation de façon permanente, tant dans les pays en développement que dans les pays industrialisés (Roué, 2001 ; Leport *et al.*, 2003 ; Snowden, 2008 ; Leport et Guegan, 2011). Le nombre de personnes touchées est en progression, de 10 à 15 % au cours des quinze dernières années (Lavarde *et al.*, 2013). Elles sont à l'origine de 14 millions de décès dans le monde chaque année. Le risque épidémique touche cependant d'abord les pays en voie de développement, où elles sont responsables de 43 % (soit 90 % des mortalités mondiale) du nombre total des décès, contre 1 % dans les pays industrialisés (Dalton *et al.*, 2008 ; Astagneau et Ancelle, 2011 ; Brugères-Picoud et Rey, 2010). La maladie d'Alzheimer, avec 24 millions de personnes touchées à travers le monde dont 20 % des plus de 85 ans, n'est pas en reste. Un nouveau cas est diagnostiqué toutes les sept secondes, et il est probable que cette fréquence augmente dans les années à venir, à cause du vieillissement de la population (Urbain, 2007).

Les ravages causés par ces maladies sont ressentis avec beaucoup plus d'acuité dans les pays en voie de développement en raison de la falsification des principes actifs, des coûts très souvent élevés des médicaments conventionnels utilisés en thérapeutique, ajoutées à leur accessibilité précaire d'une part ; aux conflits, à la pauvreté, la famine ou encore à la dissémination délibérée d'agents infectieux ou chimiques d'autre part (Roué, 2001).

Avec le temps, les connaissances scientifiques ont évolué, les mesures de confinement se sont perfectionnées et l'amélioration de l'assainissement ainsi que la découverte des vaccins ont permis de maîtriser peu à peu les flambées d'un certain nombre de maladies infectieuses et parasitaires. La réalité, c'est que malgré nos efforts pour ne pas nous laisser distancer par

l'évolution et l'adaptation des micro-organismes, la bataille est loin d'être gagnée. Et pour cause, les micro-organismes sont bien équipés pour envahir de nouveaux territoires, évoluer et s'adapter à de nouveaux hôtes ou à de nouvelles niches écologiques, modifier leur virulence ou leur mode de transmission, et acquérir une résistance aux médicaments existants. Leur développement constaté depuis plusieurs décennies, semble voué à se poursuivre (Leport et Guégan, 2011).

Face à ce défi, l'imagination, le savoir-faire et l'acharnement de la communauté scientifique internationale pour la recherche permanente et sans cesse croissante de nouveaux agents chimio-thérapeutiques de moindre coûts et relativement moins toxiques s'impose plus que jamais. D'une manière générale, les médicaments actuels dérivent pour près de 70 % d'entre eux de substances naturelles, les têtes de série ayant été découvertes pour la plupart à partir des trois règnes (végétal, animal et minéral), (Gessler *et al.*, 1994). Les molécules actives sont soit directement extraites, soit modifiées par hémisynthèse ou synthétisées entièrement. L'intérêt sans cesse croissant porté aux composés phénoliques découle non seulement de leur diversité structurale mais également de leurs nombreuses activités biologiques au rang desquelles on peut citer les propriétés antibactériennes, antifongiques, anti-inflammatoires, anti-tumorales, antioxydantes, cardiovasculaires et cytotoxiques (Tiina *et al.*, 2000 ; Widelski *et al.*, 2009 ; Gai-Mei *et al.*, 2010 ; Mazimba *et al.*, 2011).

La phytothérapie a sérieusement intégré le monde entier. Néanmoins, compte tenu de l'efficacité et de la relative toxicité des extraits utilisés, très peu d'espèces ont été explorées à ce jour. Cette approche de valorisation des plantes médicinales constitue l'un des axes privilégiés de recherche au Département de Chimie Organique de la Faculté des Sciences de l'Université de Yaoundé I.

C'est dans ce dynamisme que, dans le cadre de nos travaux devant conduire à l'obtention du Doctorat/Ph.D en Chimie Organique, nous avons entrepris l'étude phytochimique et pharmacologique de *Ficus pumila* Linn et *F. thonningii* Blume, deux plantes médicinales camerounaises largement utilisées en pharmacopée traditionnelle pour le traitement de nombreuses maladies infectieuses (Ong *et al.*, 2008 ; Tsobou *et al.*, 2013).

Le choix de ces plantes a été motivé, non seulement par le fait qu'il existait dans la littérature des résultats issus des enquêtes ethnobotaniques et pharmacologiques intéressants, mais aucun échantillon africain n'avait encore fait l'objet d'une étude phytochimique, mais aussi et surtout parce que les plantes de la famille des Moracées sont largement utilisées en pharmacopée traditionnelle pour le traitement et/ou la prévention de plusieurs maladies infectieuses, métaboliques et parasitaires y compris le diabète (Musabayane, 2012).

Au regard de tout ce qui précède, la recherche de nouvelles substances à potentiel antibiotique s'impose.

L'objectif général de ce travail consiste à déceler des extraits, isoler et caractériser des métabolites secondaires pouvant servir de matière première dans l'élaboration de phytomédicaments ou des médicaments de synthèse.

Les objectifs spécifiques se définissent en quatre points :

- obtenir les extraits méthanoliques bruts des différentes parties de ces plantes ; fractionner et réaliser des tests biologiques ;
- isoler, purifier et caractériser les métabolites secondaires des fractions obtenues ;
- préparer par hémisynthèse des analogues structuraux des métabolites isolés en grande quantité.
- évaluer les activités antimicrobiennes, antioxydantes et cholinestérases aussi bien des extraits bruts, que celles des composés purs isolés et des analogues structuraux préparés.

Dans le premier chapitre, nous résumons l'étude bibliographique faite sur les connaissances botaniques, phytochimiques et pharmacologiques des plantes appartenant à la famille des Moracées, du genre *Ficus* et des espèces étudiées, suivi d'une revue sur les flavonoïdes. Une présentation des maladies infectieuses, la maladie d'Alzheimer et des antioxydants terminera cette synthèse bibliographique.

Le second chapitre est consacré à l'étude phytochimique et pharmacologique de *F. pumila* Linn et *F. thonningii* Blume. Nous y détaillons les étapes du fractionnement et décrivons l'identification des composés isolés, ainsi que les transformations effectuées sur certains des composés purs isolés, suivi des résultats des tests biologiques obtenus *in vitro*. Cette partie s'achève par la discussion des résultats obtenus, une conclusion générale et des perspectives.

Dans le troisième chapitre, nous décrivons le matériel et les méthodes de laboratoire utilisés.

Nous terminons le document par une présentation détaillée de la bibliographie consultée.

---

**CHAPITRE I- ETUDE  
BIBLIOGRAPHIQUE SUR LES ESPECES  
ETUDIEES**

---

## **I.1- ETUDE BOTANIQUE DE *FICUS PUMILA* L. ET *FICUS THONNINGII* B.**

### **I.1.1- Aperçu sur les Moraceae**

Communément appelée famille du mûrier ou famille des figues, les Moraceae sont une famille de plantes à fleurs très répandue dans toutes les régions tropicales et subtropicales du monde entier (Judd *et al.*, 2008). Ce sont des arbres et des arbustes persistants (presque toujours avec du latex laiteux caractéristique de cette famille, laticifères vrais), plus exceptionnellement de plantes herbacées vivaces, mais aussi des lianes, parfois épiphytes (Kerharo et Adam, 1974).

Les feuilles sont alternes, plus rarement opposées, simples, ou pseudo-verticillées. Elles possèdent des stipules parfois caduques, laissant alors une cicatrice annulaire caractéristique.

Les fleurs, actinomorphes et très réduites, sont unisexuées. Les mâles ont un androcé avec 1 à 6 étamines libres et opposisépales, et parfois un rudiment d'ovaire. Les femelles ont un ovaire supère ou infère, bicarpellé, uniloculaire et uniovulé (Corner, 1962 ; Berg *et al.*, 1985).

Cette large famille d'environ 50 genres, pour 900 à 1400 espèces, est présente au Cameroun avec 13 genres et une centaine d'espèces (Berg *et al.*, 1985).

### **I.1.2- Aperçu sur le genre *Ficus***

Le genre *Ficus* plus connu sous le nom de sinistre "étrangleur", est sans doute le membre le plus illustre de la famille des Moraceae et l'un des plus importants de la faune tropicale. L'étymologie du nom générique *Ficus* tire ses origines du Latin ancien où il signifie « figuier ». C'est un genre extrêmement agressif à la fois par sa pénétration dans le monde entier, et dans le comportement de ses arbres à faire valoir leurs territoires individuels, et à dominer un autre arbre hôte bien établi (Kerharo, 1974; Orwa *et al.*, 2009).

#### **I.1.2.1. Aspect botanique et caractères morphologiques**

Les *Ficus* sont en majorité des grands arbres, arbustes terrestres, ou semi-épiphytes, parfois lianescentes avec des racines aériennes présentes ou pas. Les figuiers ont des feuilles caractéristiques qui permettent de distinguer les différentes espèces. Elles sont disposées en spirales dans certains cas, et sont tout simplement distiques, subopposées ou subverticillées.

Le fruit ou figue est tout d'abord une sorte de sac dont l'intérieur est tapissé de nombreuses fleurs. À l'extrémité se trouve une étroite ouverture apicale protégée par des écailles appelées ostioles. Les fruits qui contiennent les graines, diffèrent beaucoup par la taille et la forme qui sont souvent stipitées ; les fruits à graines ont une ou deux couleurs et dans ce cas la partie inférieure est brune (brun foncé) et la supérieure jaunâtre (Berg, 1985).

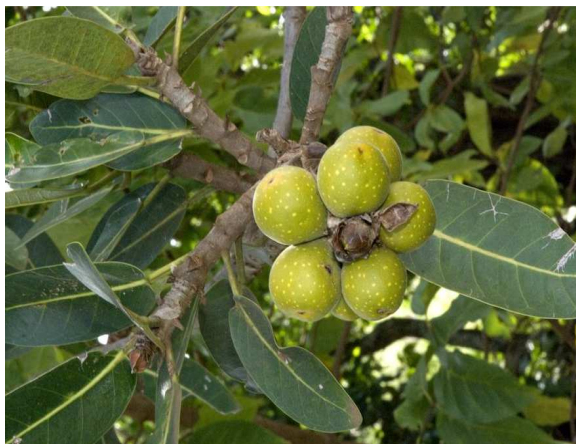
Le genre *Ficus* possède un certain nombre d'espèces estimé à 850 pour la plupart tropicales, dont près d'une centaine se trouve en Afrique, (Lansky et Paavilainen, 2011; Thomas, 1988).



*F. bonsai*



*F. benamina* L



*F. ovata* Vahl



*F. carica* L

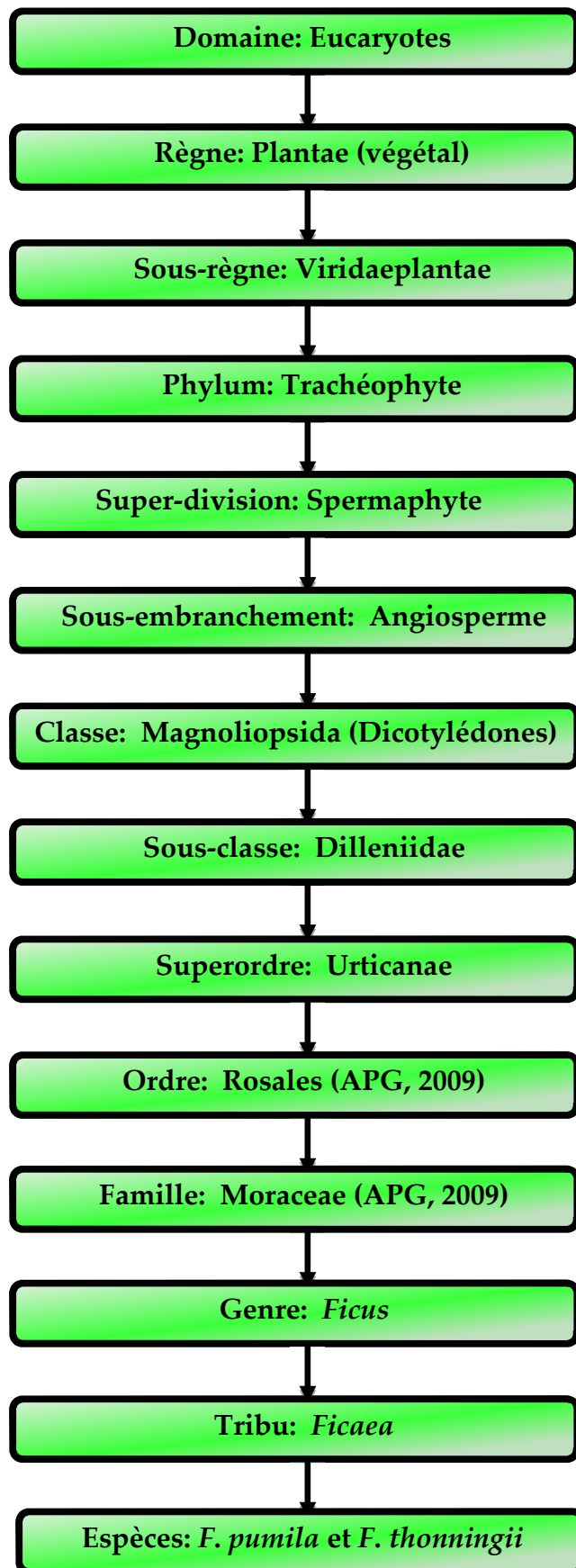
**Figure 1:** Photos des feuilles et des figes de quelques *Ficus*, (Images de Simon van Noort, 2013).

#### **I.1.2.2. Taxonomie et systématique du genre *Ficus***

Le schéma 1 montre la classification systématique du genre *Ficus* dans le règne végétal. Cette classification est présentée sous forme d'arbre phylogénique. (Chandrasekar *et al.*, 2010; Sirisha *et al.*, 2010).

Sur plus d'une centaine d'espèces présentes en Afrique, 99 sont présentes au Cameroun, au rang desquelles *F. schweinfurthii*, *F. gnaphalocarpa*, *F. polita*, *F. exasperata*, *F. ovata*, *F. mucosa*, *F. bubu*, *F. thonningii*, *F. pumila*, *etc.* (Berg, 1985).

**Schéma 1:** Classification systématique du genre *Ficus* (source APG, 2009)



### I.1.3- Aspect botanique sur *Ficus pumila* Linn

*F. pumila* Linn (1753) a été scientifiquement décrit pour la première fois par le botaniste, zoologiste et physicien Suédois Carl Linneaus (1707 – 1778). L'étymologie du nom générique *pumila* tire ses origines du Latin ancien où il signifierait « nain » ou « pygmé » (Berg, 1985 ; Grin, 2002).

#### I.1.3.1. Caractères morphologiques

*F. pumila* est une plante rampante très rameuse. Ce *Ficus* rampe sur le sol, s'accroche aux arbres ou aux murs. Il peut mesurer de 1 à 15 m de long. Dès qu'il trouve un support humide auquel s'accrocher, il produit des racines aériennes et du latex blanc dans toutes les parties aériennes. La coloration de l'écorce externe varie du brun au gris, tandis que l'écorce interne varie du rougeâtre au jaunâtre (Berg, 1985 ; Grin, 2002).



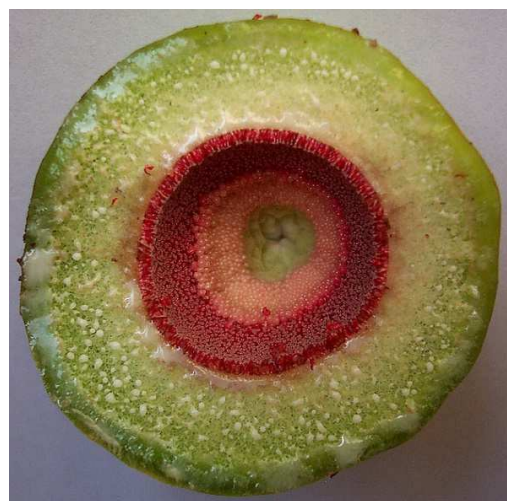
Figes et feuilles



Fige immature



Figes mûres



Coupe transversale de la fige

**Figure 2:** Photos des feuilles, des branches et des figes de *F. pumila* (Fongang, 2012)



Leurs feuilles sont hétéromorphes ou polymorphes, petites sur les branches lianescentes rampantes et munies de racines aériennes. Elles mesurent 1-3 cm de long et 0,8-2 cm de large (Starr, 2003).

Leurs figes forment des réceptacles charnus ellipsoïdiques en cornets. La fige mature mesure 4 à 8 cm de long et 3 à 4 cm de diamètre (Starr, 2003).

### **I.1.3.2. Taxonomie et systématique**

Le schéma 1 (voir genre *Ficus*) donne une classification botanique du *Ficus pumila* Linn, sous forme d'arbre phylogénique.

### **I.1.3.3. Habitat et répartition géographique**

*F. pumila* ou « figuier du Japon » est une espèce native d'Asie du Sud et de ses environs (Lamarck et Poiret, 1783 ; Neal, 1965). GRIN (2002), localise sa distribution native en Chine, au Japon, aux îles Ryukyu, à Taiwan, au Vietnam et en Malaisie. C'est une plante ornementale communément cultivée dans les régions tropicales chaudes du monde. Sa propagation se fait principalement par pollinisation ou par bouturage. Cette espèce est à ce jour introduite de part le monde (Lamarck et Poiret, 1783 ; Grin, 2002 ; Starr, 2003)

### **I.1.3.4. Noms vernaculaires**

Différents noms ont été donnés à cette plante en fonction de la population et du lieu où on la trouve. Le tableau ci-dessous l'illustre bien.

<b>Langues</b>	<b>Noms</b>	<b>Références</b>
Anglais	<i>Creeping fig, Fig wine, Creeping rubber plant,</i>	
Allemand	<i>Kletter-feige</i>	
Chinois	<i>Bi li, Man tu lua, Mu-lien, Mu-man-t'ou</i>	
Danois	<i>Haengefigen</i>	
Espagnol	<i>Higuera trepadora, Paja de colchon, Paz y justice, Una</i>	(Grin, 2002;
Français	Figuiers rampant, Figuiers nain rampant	Walter, 2009;
Italien	<i>Fico rampicante</i>	Lansky, 2009)
Japonais	<i>Oo itabi, Itabi kadsoura, Ki fatsisou</i>	
Myanmar	<i>Jyauk kat nyaung nwe</i>	
Portugais	<i>Falsa-hera, Hera de China, Mama de pared</i>	
Serbe	<i>Penjuci fikus</i>	

### I.1.4- Aspect botanique sur *Ficus thonningii* Blume

Il est à noter que cette espèce dont le synonyme est *F. microcarpa* Vahl, ne doit pas être confondue à l'espèce *F. microcarpa* Linnaeus Filius (Lansky et Paavilainen, 2011).

A l'issue de nombreuses études botaniques, des synonymes lui ont été attribués, comme le montre le tableau ci-dessous.

#### Synonymes

<i>F. burkei</i> Miquel	<i>F. chlamydodora</i> Warb
<i>F. dekdekena</i> Miquel	<i>F. dusenii</i> Warb
<i>F. hoscstetteri</i> Miquel	<i>F. iteophylla</i> Miquel
<i>F. microcarpa</i> L. f	<i>F. punctata</i> Miquel ex Chev
<i>F. rupicola</i>	<i>F. ruspolii</i>
<i>F. pragueana</i> Mildbr. & Burret	<i>F. rokko</i>
<i>Urostigma hoscstetteri</i>	<i>F. schimperi</i> Miquel
<i>Urostigma acrocarpum</i> Miquel	<i>Urostigma schimperi</i> Miquel
<i>Urostigma thonningii</i> Blume	<i>Urostigma dekdekena</i> Miquel

**Références:** Berg, 1985 ; Grandtner, 2005 ; Palli, 2006 ; Sreedharan, 2004

#### I.1.4.1. Caractères morphologiques

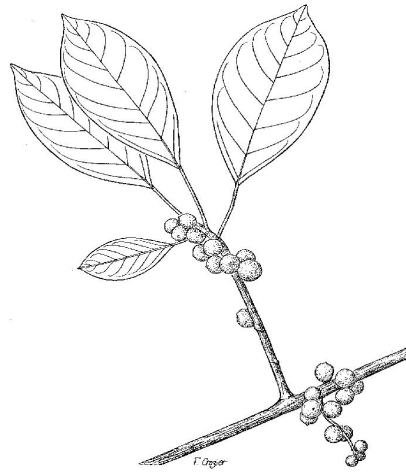
*F. thonningii* est un arbre, ou un arbuste dont la taille varie de 6 à 50 m de haut, de 80 à plus de 120 cm de diamètre. Son tronc à fût rarement droit, peut aussi être cannelé, ramifié auprès de la base, ou dressé (Beentje, 1994 ; Orwa *et al.*, 2009).

L'écorce des jeunes branches est poilue, mais lisse et claire à cimes sphériques denses sur les vieilles branches et les tiges. La plante entière dégage un copieux latex laiteux avec de nombreuses racines aériennes qui pendent des branches (Orwa *et al.*, 2009).

Les feuilles ovales ou oblongues elliptiques, disposées en spirales, tendant parfois à être opposées dans quelques espèces sont très larges et arrondies à la base. Elles ont une coloration verte sombre (Kerharo, 1974).

Leurs figes sphériques lisses, glabres ou pubescentes long de 2 à 4 mm ont un diamètre de 7 à 14 mm. Elles sont situées par paires à l'aisselle des feuilles, ou (serrés) sur le vieux bois. Sous forme de bourgeons calyptrés, sessiles ou pédonculées, elles seront jaunes ou rouges (presque unicolores) à maturité (Berg, 1985).

Leurs fleurs sont pistillées avec un périanthe haut de 1 mm environ, à graines sessiles, et munies d'un style long de 1,5 mm environ. (Kerharo, 1974 ; Berg, 1985).



Figes et feuilles



Figes mures

Coupe transversale de la fige

**Figure 3:** Photos des feuilles et des figes de *F. thonningii* (Defour, 2010)

#### I.1.4.2. Taxonomie et systématique

Le schéma 1 (voir genre *Ficus*) donne une classification botanique de *F. thonningii* Blume, présentée sous forme d'arbre phylogénique.

#### I.1.4.3. Habitat et répartition géographique

Cette plante native des régions tropicales et subtropicales est très fréquente dans les galeries forestières. Espèce de savanes boisées Soudano-zambéziennes, *F. thonningii* s'étend depuis le Cap-Vert, à travers le Cameroun et le Gabon, jusqu'en Ethiopie et en République Sudafricaine. Il est présent dans la quasi-totalité des pays d'Afrique tropicale et subsaharienne (Berg et Wiebes, 1992 ; Berg, 1985). Au Cameroun, cette espèce a été recensée dans de nombreuses localités (Fig. 4).



NB : A l'Ouest, dans les localités de Bamena, Bangangté, Dschang, Bayangam, et Mbouda.

Figure 4 : Répartition géographique de *F. thonningii* Blume au Cameroun (Fongang, 2014)

#### I.1.4.4. Noms vernaculaires

De nombreux noms lui sont attribués dans les localités où il se trouve. Le tableau ci-dessous donne une liste non exhaustive de quelques noms vernaculaires.

Langues	Noms vernaculaires	Langues	Noms vernaculaires	Langues	Noms vernaculaires
Afrikaans	<i>Gewone wurgvy</i>	Arabe	<i>Jammeiz al abiad</i>	Fang, Gabon	<i>Emvyeng</i>
Anglais	<i>Strangler fig, common wild fig, Bark-cloth fig, Chinese banyan</i>	Diola, Sénégal	<i>Di kikilik</i>	Zulu	<i>Umbombe</i>
				Mbouda (Ouest-Cameroun)	<i>Ngueme</i>
<p><b>Références:</b> Raponda et Sillans, 1961 ; Kerharo, 1974 ; Adjanohoun, 1988 ; Burkill, 1997; Orwa, 2009 ; Tsobou <i>et al.</i>, 2013.</p>					

## **I.2. INTERETS ET UTILISATIONS DE *F. PUMILA* L. ET *F. THONNINGII* B.**

Les plantes du genre *Ficus* sont d'une grande importance et à ce titre diversement utilisées.

### **I.2.1- Sur le plan économique**

L'intérêt économique des *Ficus* réside d'une part dans leur utilisation pour la fabrication de nombreux produits commerciaux. Leur bois généralement blanc (bien que moins résistant que ceux d'autres genres) est utilisé en menuiserie ordinaire et artisanat (fabrication des meubles et mobiliers, ustensiles de cuisine, pressoirs pour bière de banane, mortier, manches d'outils, et la construction de pirogues, etc.), en construction et charpenterie (construction de clôtures autour des habitations, établissement des limites de propriétés, stabilisation des talus, support des ruches d'abeilles). Les fibres d'écorces servent dans la fabrication des nattes, sacs et toiles. Leurs branches sèches fournissent du bois de chauffage (Kerharo, 1978 ; Orwa, 2009).

Au Gabon, *F. thonningii*, plus connu sous l'appellation de « *Ficus* à pagnes » a pendant des décennies servi comme source de fibres d'étoffes indigènes obtenues par assouplissement et par battage de ses écorces (Kerharo, 1978).

Les plants de *F. pumila*, (et de nombreux autres *Ficus*) qui se reproduisent très simplement par bouturage, sont commercialisés à travers le monde, pour leur belles allures décoratives le long des enclos, habitations et espaces publics et privés (Grin, 2002).

Le *Ficus* est réputé pour ses capacités dépolluantes : *F. pumila* absorbe le formaldéhyde que l'on retrouve dans les cuisines fraîchement meublées, les peintures, les colles de tapisserie, les moquettes et la fumée de cigarette. Il absorbe aussi l'ammoniac et le xylène (Lansky, 2011).

### **I.2.2- Sur le plan culturel et ornemental**

*F. thonningii* est planté dans de nombreux villages Africains comme arbre à palabres et ombrage, propice à la fois, aux discussions et au repos. Il est également planté au milieu des habitations familiales comme fétiche, ou arbre magique, considéré comme lieux sacrés chez les populations indigènes (Adjanooun *et al.*, 1988). Au Congo, pour fortifier les enfants rachitiques, il faut les baigner avec le décocté et leur attacher aux poignets et aux chevilles une tresse de fibre des écorces (Bouquet, 1969).

Sur le plan ornemental, ces plantes sont très employées à titre décoratif pour l'embellissement de divers lieux, des places publiques et des résidences privées. Le *F. thonningii* est apprécié pour la qualité de l'ombrage frais qu'il offre, *F. pumila* (plante rampante) quant à

lui recouvre les toits, les clôtures, et les murs des habitations offrant une sublime verdure qui épouse à merveille la couleur de ses figues (Grin, 2002).

### I.2.3- Sur le plan alimentaire

Les figuiers cultivés dans la région méditerranéenne sont bien connus du public grâce à la figue comestible (*F. carica* L). Cependant la consommation de ces figues n'est pas absolument sans danger pour l'Homme qui ne peut consommer qu'une quantité très restreinte. Les fruits sont présents en toute saison. De nombreux mammifères frugivores et d'oiseaux se nourrissent de figues, tandis que d'autres recherchent les guêpes cachées à l'intérieur. Les figues sont riches en calcium, un élément important pour la croissance des os et la formation des coquilles d'œufs. Non seulement les figuiers donnent des fruits lorsque la forêt en offre peu, mais ils contiennent des minéraux essentiels. Dans les forêts où ils abondent, ils constituent pour de nombreux animaux et oiseaux l'une des plus importantes sources de nourriture (White et Abernethy, 1996). Les feuilles de *F. thonningii* constituent un fourrage complémentaire pour les vaches, chèvres et moutons en période de carence. Selon Egli (1988), les teneurs des feuilles en protéines brutes (15,6 %) et en cendres (12,4 %) sont importantes. Les figues mûres sont utilisées dans la préparation de confitures (Orwa, 2009).

### I.2.4- Sur le plan thérapeutique

En général, les feuilles des arbres fruitiers contiennent plus d'antioxydants que leurs fruits. Leur plus haut degré de médication serait associé au degré plus élevé de toxicité (Lansky, 2009). Ce qui expliquerait sans doute pourquoi en médecine conventionnelle les feuilles sont plus utilisées que les racines, les écorces, et les fruits. Le tableau ci-dessous donne un aperçu de leurs applications en médecine traditionnelle.

**Tableau I:** Quelques usages de *F. thonningii* et *F. pumila* en médecine traditionnelle

Pays	Partie	Usage	Préparation	Références
<i>Ficus Thonningii</i> Blume				
Cameroun	Ecorces + feuilles	Fièvre typhoïde, diarrhée, syphilis	Décoction	Tsobou <i>et al.</i> , 2013
Ethiopie	Ecorces du tronc, racine	Malnutrition et débilité	Décoction	Musabayane <i>et al.</i> , 2007
Nigeria	Feuilles fraîches	Mal de dos	-	Bhat <i>et al.</i> , 1990

**Tableau I:** Quelques usages de *F. thonningii* et *F. pumila* en médecine traditionnelle (suite)

Pays	Partie	Usage	Préparation	Références
<b><i>Ficus Thonningii</i> Blume</b>				
R.D. Congo	Ecorces de tiges	Phlegmons	Macéré	Adjahonou <i>et al.</i> , 1988
Rwanda	Feuilles sèches	Dysenterie	Macéré à chaud	Maikere <i>et al.</i> , 1989
Sénégal	Ecorces du tronc	Infection des voies respiratoires	Décocté	Kerharo et Adam, 1974
Tanganyika	Ecorces + racines	Induction de la lactation	Macéré à chaud	Watt et Breyer, 1962
<b><i>Ficus pumila</i> Linn</b>				
Chine	Feuilles et figes	Dysenterie	Nutrition	Kitajima <i>et al.</i> , 2000
	Figes sèches	Problèmes urinaires et impuissance sexuelle	Décoction	Ong <i>et al.</i> , 2008 ; Shizhen <i>et al.</i> , 1973
Malaisie	Feuilles	Asthme	Cataplasme	Ong <i>et al.</i> , 2008
Japon	Feuilles	Diabète, pression artérielle, vertiges	Boissons	Mitsuhashi, 1988 ; Tobinaga, 1989
Taiwan	Racines	Infection du foie	-	Yang <i>et al.</i> , 1987

En raison de ces multiples et diverses vertus thérapeutiques, de nombreuses équipes de recherche à travers le monde, se sont intéressés aux activités biologiques, ainsi qu'aux constituants chimiques de ces espèces.

### **I.2.5- Données pharmacologiques**

*F. Thonningii* et *F. pumila* sont sans doute largement utilisés dans la pharmacopée traditionnelle pour les multiples activités biologiques qu'elles possèdent.

Musabayane *et al.* (2007 ; 2012) ont montré que l'extrait éthanolique des écorces du tronc de *F. thonningii* réduit non seulement la glycémie *in vivo*, mais stimule également la santé et la vitalité des reins et du cœur.

Il a été observé une activité antidiabétique, cardioprotective, rénoprotectrice, et hypoglycémique de l'extrait méthanolique des feuilles de *F. Thonningii* (Grin *et al.*, 1994 ;

Musabayane *et al.*, 2006) et une activité antibactérienne, anti-diarrhéique (Hanelt, 2001 ; Koné *et al.*, 2007) ; Analgésique, anti-inflammatoire et antioxydante (Igoli *et al.*, 2005 ; Dangarembizi *et al.*, 2013).

L'extrait au chlorure de méthylène des feuilles de *F. pumila* possède une activité antimicrobienne, antioxydante, diurétique, antiulcéreuse (Juan *et al.*, 1997 ; Ragassa *et al.*, 1999 ; Cheng *et al.*, 2008 ; Muhammed, 2012).

### **I.2.6- Données toxicologiques**

La capacité que possèdent certaines plantes de provoquer une hyperpigmentation est connue depuis fort longtemps. Le latex blanc présent dans les feuilles et les tiges, et la sève des fruits de *F. pumila* renferme des furanocoumarines, psoralène et bergaptène, responsables de phytodermatites et l'irritation des yeux (Nancy, 1995 ; Paulsen *et al.*, 1998 ; Bruneton, 2001).

## **I.3- ETUDES PHYTOCHIMIQUES ANTERIEURES**

De par leurs intérêts socio-économique et thérapeutique, les plantes du genre *Ficus* ont fait l'objet de nombreuses études phytochimiques. Suite aux travaux menés jusqu'à ce jour par de nombreuses équipes de recherche en vue de déterminer la composition chimique des espèces de ce genre, il en découle qu'elles constituent une véritable source de métabolites secondaires appartenant à plusieurs classes de substances naturelles.

Si *F. thonningii* n'a jusqu'ici fait l'objet d'aucun travail phytochimique, l'espèce *Ficus pumila* a été très étudiée, principalement en Asie où cette plante est originaire. Les travaux phytochimiques antérieurs porteront donc sur cette espèce. Les travaux chimiques antérieurs réalisés sur l'espèce *F. pumila* révèlent la présence des coumarines, des cycloartanes, des sesquiterpènes, des triterpènes, et des flavonoïdes comme composés majoritaires.

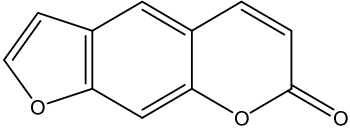
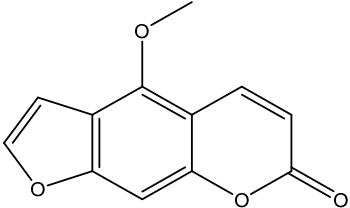
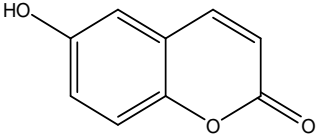
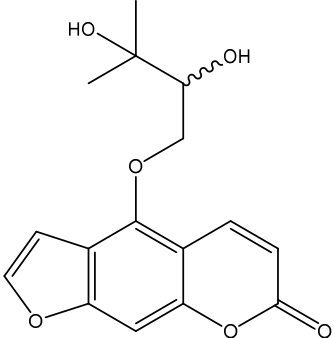
### **I.3.1- Les coumarines**

Les coumarines font partir de la famille des benzopyrones. Il existe quatre principaux sous-types de coumarine : les coumarines simples, les furanocoumarines, les pyranocoumarines et les coumarines pyrone-substituées. Les coumarines se composent d'un noyau benzénique relié à un noyau pyrone et sont très répandues dans les Moracées. On les trouve sous forme de coumarines simples avec ou sans prénylation(s) (Juan *et al.*, 1997 ; Malikov et Saidkhodzhaev, 1998 ; Mehtab *et al.*, 2011).

Le Tableau II regroupe les structures de quelques coumarines isolées de *F. pumila*.



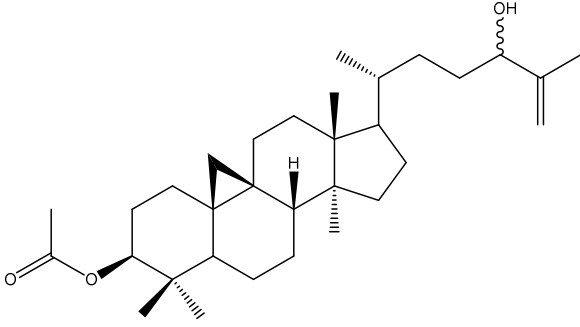
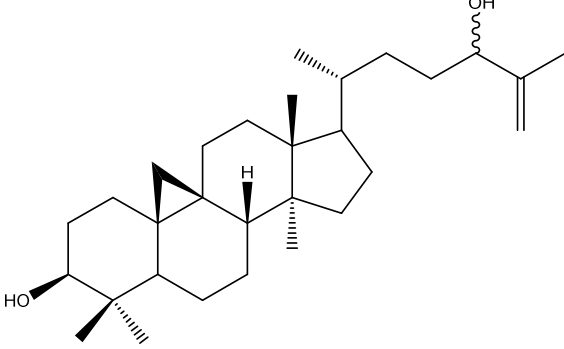
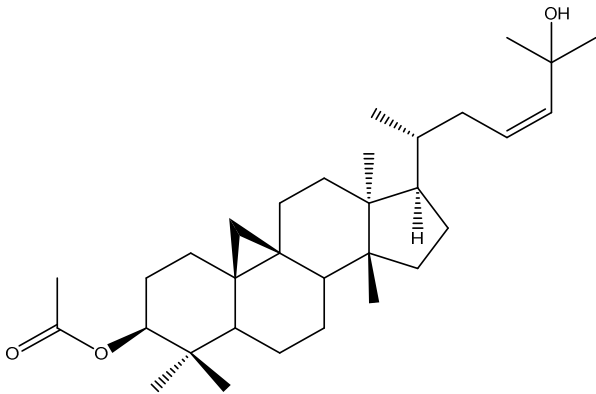
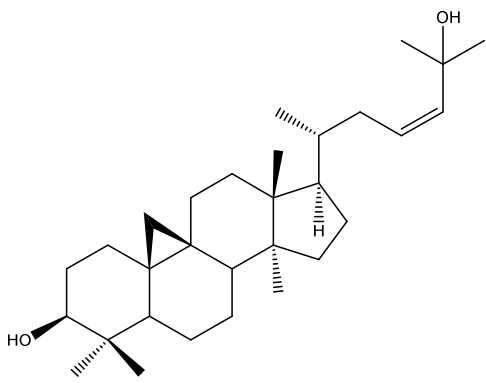
**Tableau II:** Quelques coumarines isolées de *F. pumila*

Partie de la plante	Composé et nom	Référence
Feuilles	 <b>1: Psoralène</b>	Juan <i>et al.</i> , 1997
	 <b>2: Bergaptène</b>	
	 <b>3: Ombéliféronne</b>	
	 <b>4: Hydrate d'oxypeucedanine ou aviprine</b>	

### I.3.2- Les cycloartanes

Ce sont des métabolites secondaires largement répandus dans le règne végétal, tant chez les plantes supérieures que chez les plantes inférieures. Du point de vue structurale, ce sont des triterpènes possédant un squelette stéroïdique de type 9,19-cyclolanostane. Leur squelette carboné à 30 atomes de carbone résulte de la condensation de 6 unités isopréniques. Ils présentent une grande diversité structurale. Le plus simple de cette série est le cycloarténol ou 9,19-cyclolanostane (Hebert, 1981 ; Connolly, 1983 ; Bruneton, 1999a).

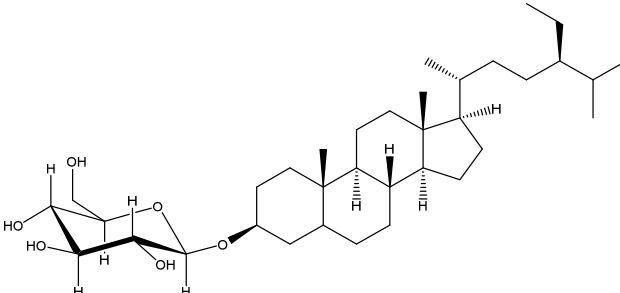
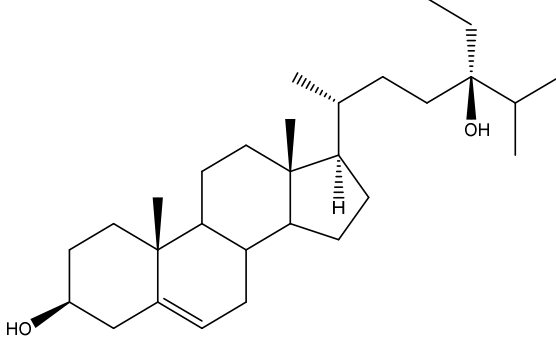
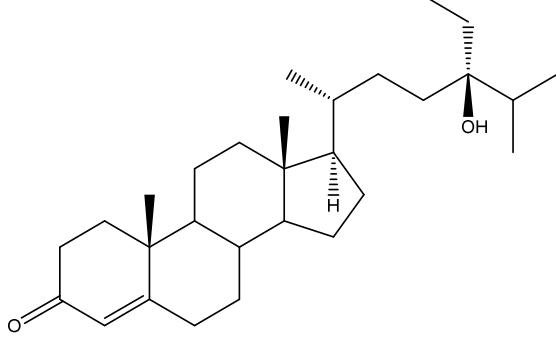
**Tableau III:** Quelques cycloartanes isolés de *F. pumila*

Partie de la plante	Composé et nom	Référence
Feuilles	 <p><b>5: (24RS)-3β-acétoxycycloart-25-èn-24-ol</b></p>	Kitajima <i>et al.</i> , 1998b
	 <p><b>6: (24RS)-cycloart-25-èn-3β,24-diol</b></p>	
	 <p><b>7: (23Z)-3β-acétoxycycloart-23-èn-25-ol</b></p>	
	 <p><b>8 : (23Z)-cycloart-23-èn-3β,25-diol</b></p>	

### I.3.3- Les stéroïdes

Les stéroïdes sont des alcools secondaires d'origine animale ou végétale tels que : les stérols, les acides biliaires, les cycloartanes, les hormones corticosurrénales, les hormones sexuelles et les lanostérols (Klyne, 1966).

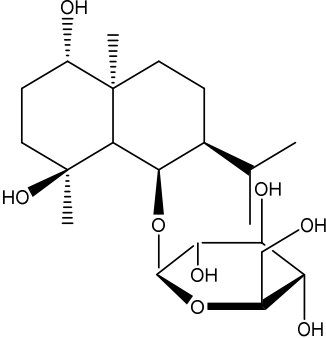
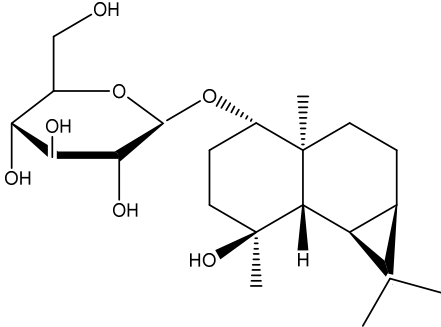
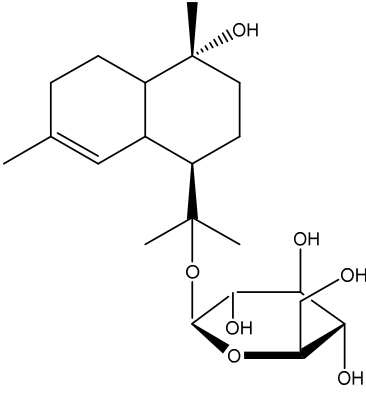
**Tableau IV:** Quelques stéroïdes isolés de *F. pumila*

Partie de la plante	Composé et nom	Référence
Figures	 <p><b>9: <math>\beta</math>-D- glucopyranoside de <math>\beta</math>-sitostérol</b></p>	Kitajima <i>et al.</i> , 1998a
	 <p><b>10: (24S)-Stigmat-5-ène-3<math>\beta</math>,24-diol</b></p>	
	 <p><b>11: (24S)-24-Hydroxystigmat-4-èn-3-one</b></p>	

### I.3.4- Les sesquiterpènes

Les sesquiterpènes constituent une classe de terpènes formée de 3 unités isopréniques avec un squelette de base en C<sub>15</sub>. Ils peuvent être acycliques ou contenir 1 à 2 cycles. De très nombreuses combinaisons sont possibles. Ces composés présentent une variété de squelettes carbonés sans commune mesure avec les autres groupes (Bruneton, 1999b). Le tableau V regroupe quelques sesquiterpènes isolés de *F. pumila*.

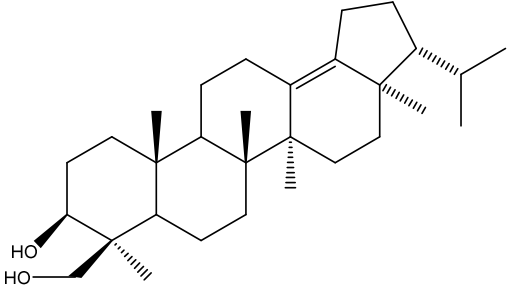
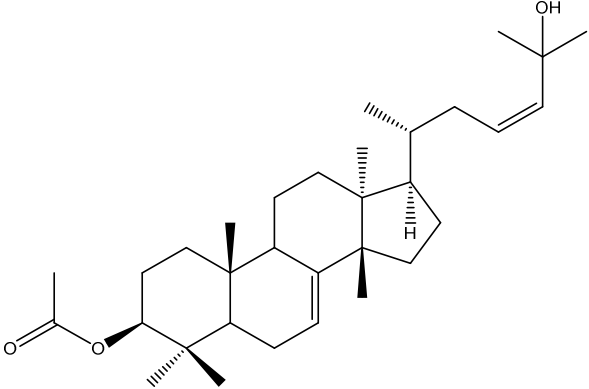
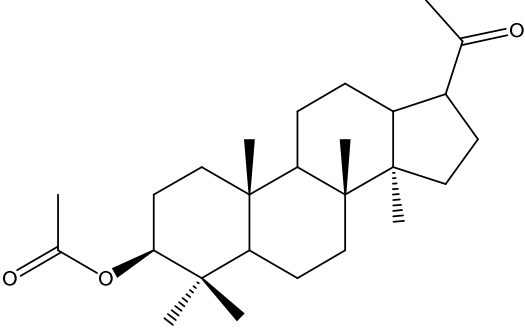
**Tableau V:** Quelques sesquiterpènes isolés de *F. pumila*

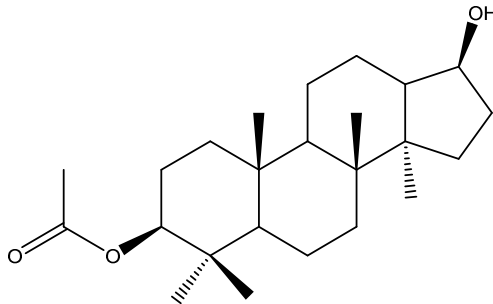
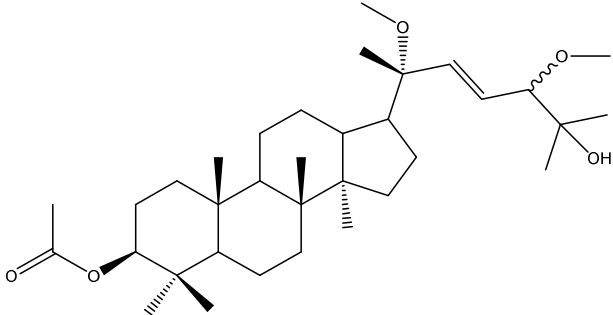
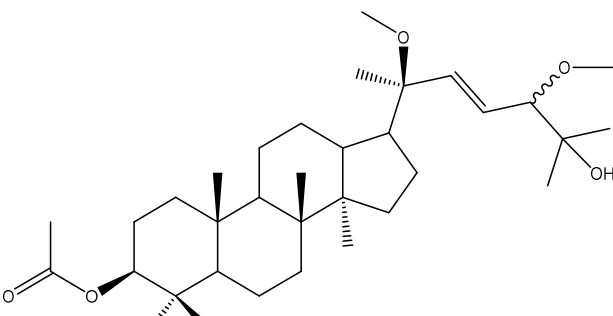
Partie de la plante	Composé et nom	Référence
Figues	 <p style="text-align: center;"><b>12: Pumilaside A</b></p>	Kitajima <i>et al.</i> , 2000
	 <p style="text-align: center;"><b>13: Pumilaside B</b></p>	
	 <p style="text-align: center;"><b>14: Pumilaside C</b></p>	

### I.3.5- Les triterpènes

Les triterpènes sont des composés naturels en C<sub>30</sub> issus de la cyclisation du squalène (Bruneton, 1999). Les terpénoïdes ou isoprénoïdes constituent une famille de produits naturels ayant en commun une origine biosynthétique résultant formellement d'un assemblage d'unités « isoprène » (5 carbones) selon un arrangement tête à queue (le plus répandu) ou mixte tête (t) à queue (q) et queue à queue. Ils sont très répandus dans les plantes du genre *Ficus*.

**Tableau VI:** Quelques triterpènes isolés de *F. pumila*

Partie de la plante	Composé et nom	Référence
Feuilles	 <p><b>15: Néohopane</b></p>	Consolacion <i>et al.</i> , 1999
Figes	 <p><b>16 : (23Z)-3β-acétoxyeupha-7,23-dièn-25-ol</b></p>	Kitajima <i>et al.</i> , 1998a
	 <p><b>17 : 3β-acétoxy-22,23,24,25,26,27-hexanordammaran-20-one</b></p>	Kitajima <i>et al.</i> , 1999

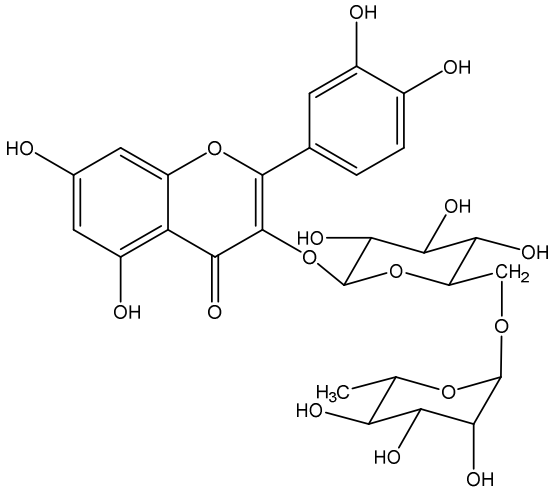
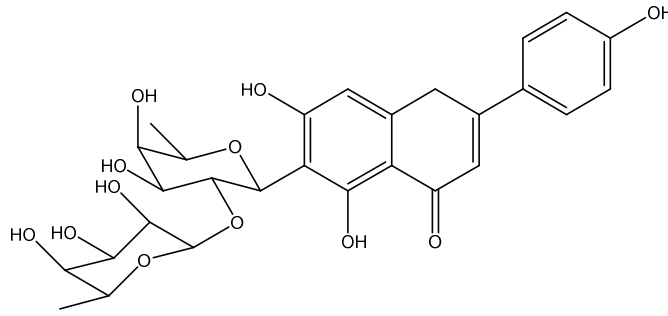
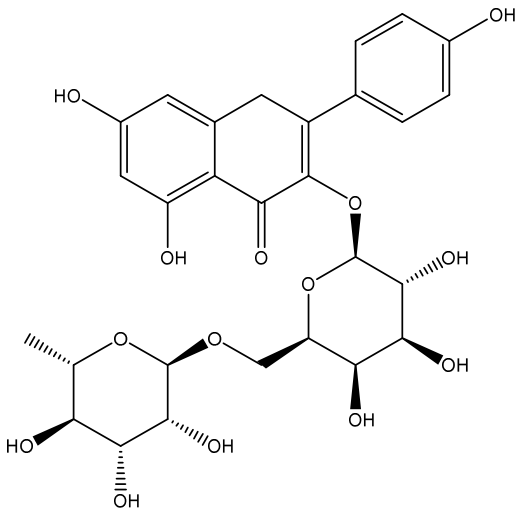
Figures	 <p><b>18: 3β-acétoxy-20,21,22,23,24,25,26,27-octanordammaran-17β-ol</b></p>	Kitajima <i>et al.</i> , 1999
	 <p><b>19: 3β-acétoxy-(20R,22E,24RS)-20,24-diméthoxydammaran-22-èn-25-ol</b></p>	
	 <p><b>20: 3β-acétoxy-(20S,22E,24RS)-20,24-diméthoxydammaran-22-èn-25-ol</b></p>	

### I.3.6- Les flavonoïdes

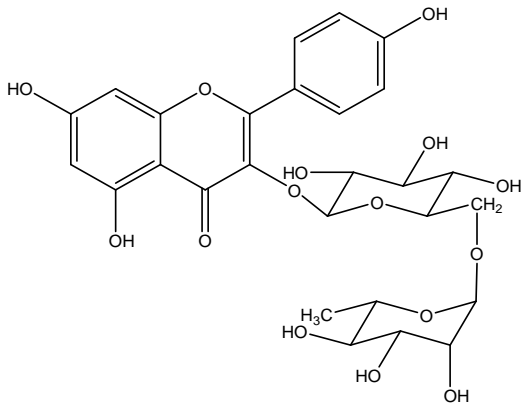
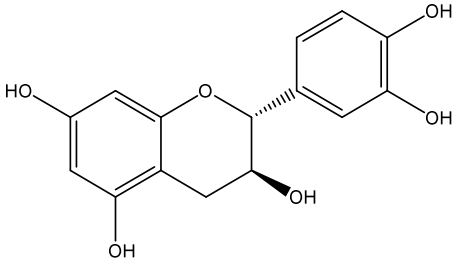
Les flavonoïdes représentent une très large classe de produits naturels dérivés des plantes et présentant une exceptionnelle diversité. Ces molécules aromatiques polysubstituées appartenant à la famille des polyphénols ont un rôle de métabolites secondaires dans le règne végétal. Les flavonoïdes isolés de *F. pumila* sont pour la plupart des flavonols simples ou glycosylés (Ning *et al.*, 2008).

Le Tableau VII regroupe les structures de quelques flavonoïdes isolés de *F. pumila*.

**Tableau VII:** Quelques flavonoïdes isolés de *F. pumila*

Partie de la plante	Composé isolée et nom	Références
Feuilles	 <p><b>21: Quercétine-3-rutinoside</b></p>	Ning <i>et al.</i> , 2008
	 <p><b>22 : Apigénin-6-néohesperidoside</b></p>	
	 <p><b>23: Kaempférol-3-robinobioside</b></p>	

**Tableau VII:** Quelques flavonoïdes isolés de *F. pumila* (suite)

Partie de la plante	Composé isolée et nom	Références
Feuilles	 <p><b>24: Kaempférol-3-rutinoside</b></p>	Ning <i>et al.</i> , 2008
	 <p><b>25: Catéchine</b></p>	

L'intérêt de l'étude d'une plante ne consiste pas seulement à la décrire et recenser ses vertus médicinales, mais également à isoler les métabolites secondaires responsables de ses activités. Au regard des tests chimiques qualitatifs opérés sur les composés isolés de ces deux *Ficus*, la majorité serait des flavonoïdes. Il nous a donc semblé opportun de faire un rappel sur la chimie des flavonoïdes.

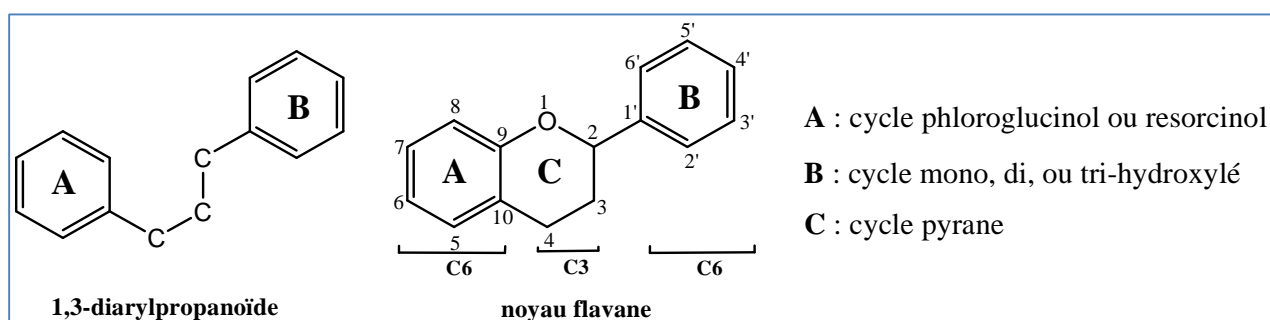
#### I.4- GÉNÉRALITÉ SUR LES FLAVONOÏDES

Les flavonoïdes désignent une très large classe de produits naturels dérivés des plantes et présentant une exceptionnelle diversité. Ces molécules aromatiques polysubstituées appartiennent à la famille des polyphénols (Harbonne et Williams, 2000). A ce jour, Pas moins de 10 000 structures ont été isolées, caractérisées et recensées, ce qui fait des flavonoïdes le troisième plus grand groupe de produits naturels, après les terpénoïdes (environ 30 000) et les alcaloïdes (12 000), (Tahara, 2007 ; Ziegler et Facchini, 2008 ; Degenhardt *et al.*, 2009 ; Martens *et al.*, 2010). Ils sont à l'origine d'effets physiologiques bénéfiques pour l'organisme humain et méritent l'intérêt croissant que la recherche leur porte.



### I.4.1- Etude structurale et classification

Les flavonoïdes possèdent un squelette de base commun de type 1,3-diarylpropanoïde en C<sub>6</sub>-C<sub>3</sub>-C<sub>6</sub>, dont un chaînon propanoïde souvent engagé dans un lien éther formant un cycle central hétérocyclique de type benzopyrane appelé cycle C et deux cycles aromatiques, nommés cycles A et B. L'hétérocycle central C existe communément sous trois formes : pyrane, pyrylium ou  $\gamma$ -pyrone (Aron et Kennedy, 2008). Le système de nomenclature le plus couramment utilisé pour les flavonoïdes fut initialement suggéré par Hemingway (1982) puis étendu par Porter en 1988. Une numérotation spécifique a été établie en fonction de la substitution de ces trois cycles comme indiqué ci-après, et sera utilisée pour l'ensemble de ce manuscrit (Schéma 2).

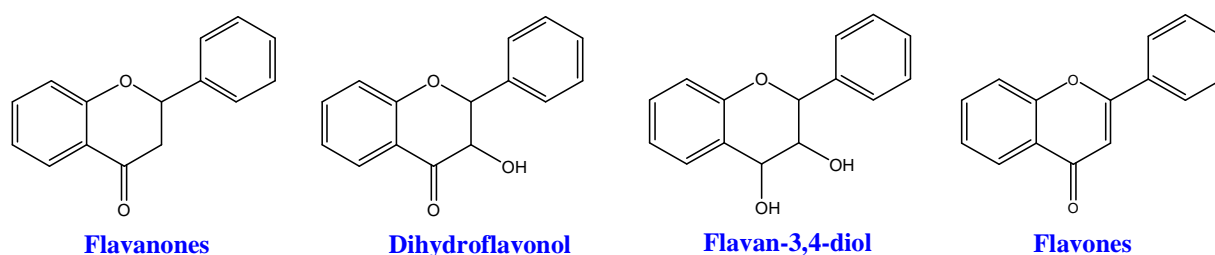


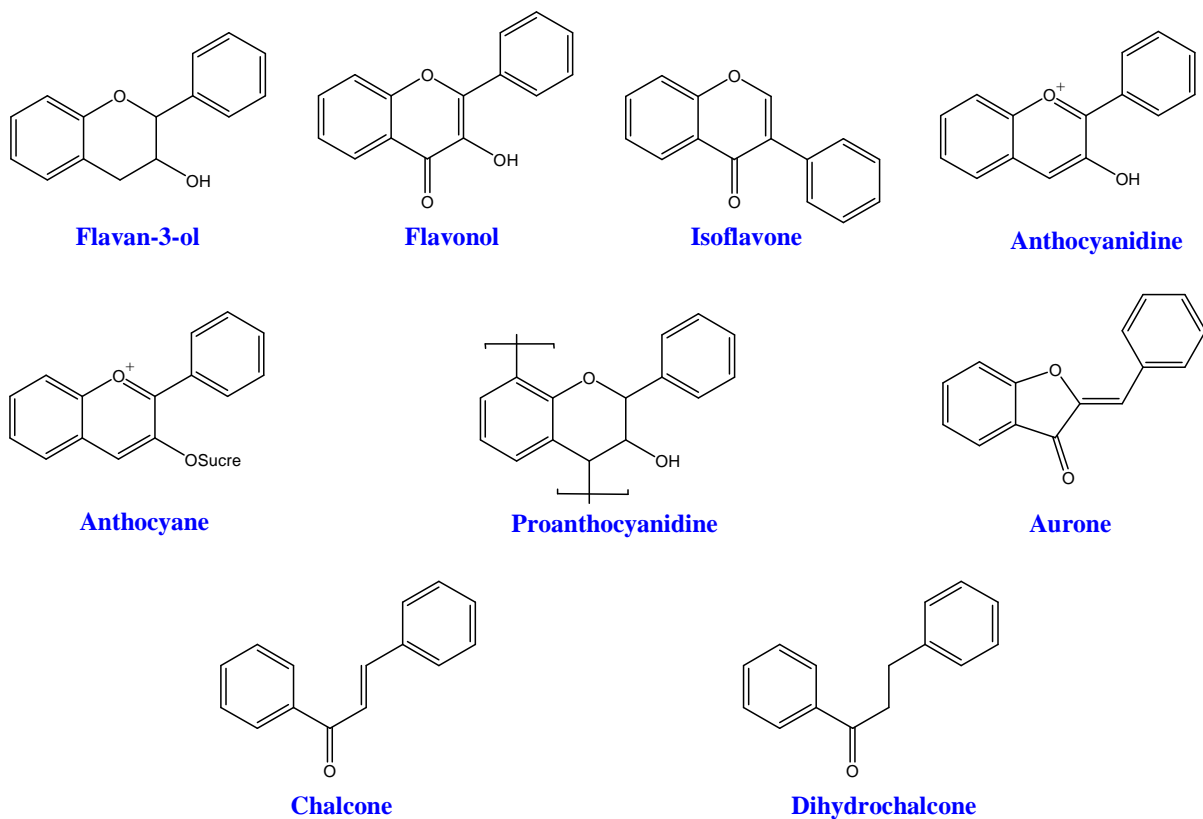
**Schéma 2** : Squelette commun des flavonoïdes

Selon l'état structural et le degré d'oxydation de l'hétérocycle central C, les flavonoïdes peuvent être répartis en plusieurs sous-classes qui se distinguent par une diversité fonctionnelle au niveau des carbones 2, 3 et/ou 4 (Forkmann et Heller, 1999 ; Crozier *et al.*, 2009).

Par ailleurs, au sein d'une même sous-classe, les possibilités de substitution des cycles A et B sont multiples : onze carbones du squelette flavonoïde peuvent porter un substituant de type hydroxyle, méthoxyle, méthyle, isoprényle ou benzyle. Chaque groupement hydroxyle, ainsi que certains carbones, peuvent être conjugués avec un ou plusieurs sucres et le glycoside correspondant peut être acylé à partir d'un acide phénolique ou aliphatique.

Les principales classes de flavonoïdes sont les suivantes :





**Schéma 3:** Principales classes de flavonoïdes (Andersen et Markham, 2006)

Plus de 80 sucres différents ont été trouvés liés aux flavonoïdes des plantes. Parmi lesquels le D-glucose est de loin le monosaccharide le plus courant. Les principaux groupes de flavonoïdes peuvent être définis et différenciés comme ci-dessous.

#### I.4.1.1. Les flavones et flavonols

Le cycle A est très souvent substitué par deux hydroxyles phénoliques en C<sub>5</sub> et C<sub>7</sub>, libres ou estérifiés. D'autre part, le cycle B peut être substitué en C<sub>4'</sub>, di-substitué en C<sub>3'</sub> et C<sub>4'</sub>, ou tri-substitué par des hydroxyles, méthoxyles ou prényles. Les flavonols diffèrent des flavones par la présence d'un hydroxyle en C<sub>3</sub> (Morreel *et al.*, 2006).

#### I.4.1.2. Les flavanones et dihydroflavonols

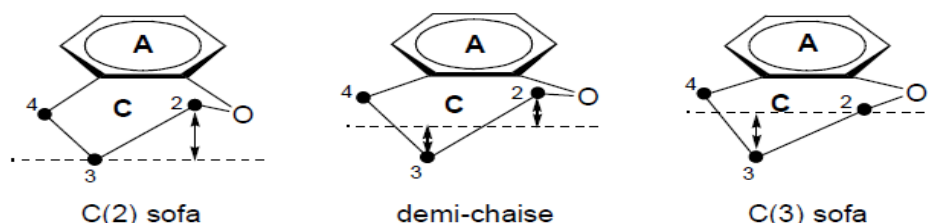
Les flavanones se caractérisent par l'absence de la double liaison entre les carbones C<sub>2</sub>-C<sub>3</sub> et donc par la présence d'un centre d'asymétrie en C<sub>2</sub>. Par conséquent, le cycle B peut avoir soit la configuration (2*S*), soit la configuration (2*R*). Cependant, la plupart des flavanones isolées des plantes est de configuration 2*S* parce que la réaction enzymatique catalysant la conversion de la chalcone en flavanone est stéréospécifique (Andersen et Markham, 2006 ; Isorez, 2007 ; Lahmer *et al.*, 2012).

Les dihydroflavonols se distinguent des flavanones par l'hydroxylation de la position C<sub>3</sub> et ont donc un centre asymétrique supplémentaire (Ono *et al.*, 2006). Quatre stéréo-isomères sont donc envisageables, et les quatre configurations sont retrouvées dans la nature, avec les (2*R*, 3*R*)-dihydroflavonols de loin les plus abondants (Grayer et Veitch, 2006).

#### I.4.1.3. Les flavan-3-ols, flavan-3,4-diols ou leucoanthocyanidines

Les flavan-3-ols sont toujours hydroxylés en C<sub>3</sub> et se caractérisent par l'absence du carbonyle en C<sub>4</sub>. Cette dernière position peut être libre (flavan-3-ols et anthocyanidols) ou hydroxylée (flavan-3,4-diols). D'un point de vue biosynthétique, les flavan-3-ols sont dérivés de la 2*S*-phénylalanine via les flavan-3,4-diols (Jacques *et al.*, 1977).

La structure conformationnelle du cycle C des flavan-3-ols a été étudiée, notamment par Clark-Lewis *et al.*, en 1964. Trois conformations possibles sont proposées : demi-chaise, C(2) sofa et C(3) sofa. La conformation demi-chaise présente les carbones C<sub>2</sub> et C<sub>3</sub> de part et d'autre du plan formé par le cycle A (représenté par la ligne en pointillé). Ces deux carbones possèdent de vraies liaisons axiales et équatoriales. Les conformations appelées sofa positionnent le carbone C<sub>2</sub> ou C<sub>3</sub> dans le plan formé par le cycle A et l'autre carbone (C<sub>3</sub> ou C<sub>2</sub> respectivement) en dehors de ce plan (Figure 4) (Ferreira *et al.*, 1999).



**Figure 5** : Conformations du cycle C du noyau flavane

#### I.4.1.4. Les chalcones, dihydrochalcones et aures

Les chalcones, dihydrochalcones et aures sont trois classes distinctes de composés comprenant pas moins de neuf cents structures parmi les flavonoïdes naturels.

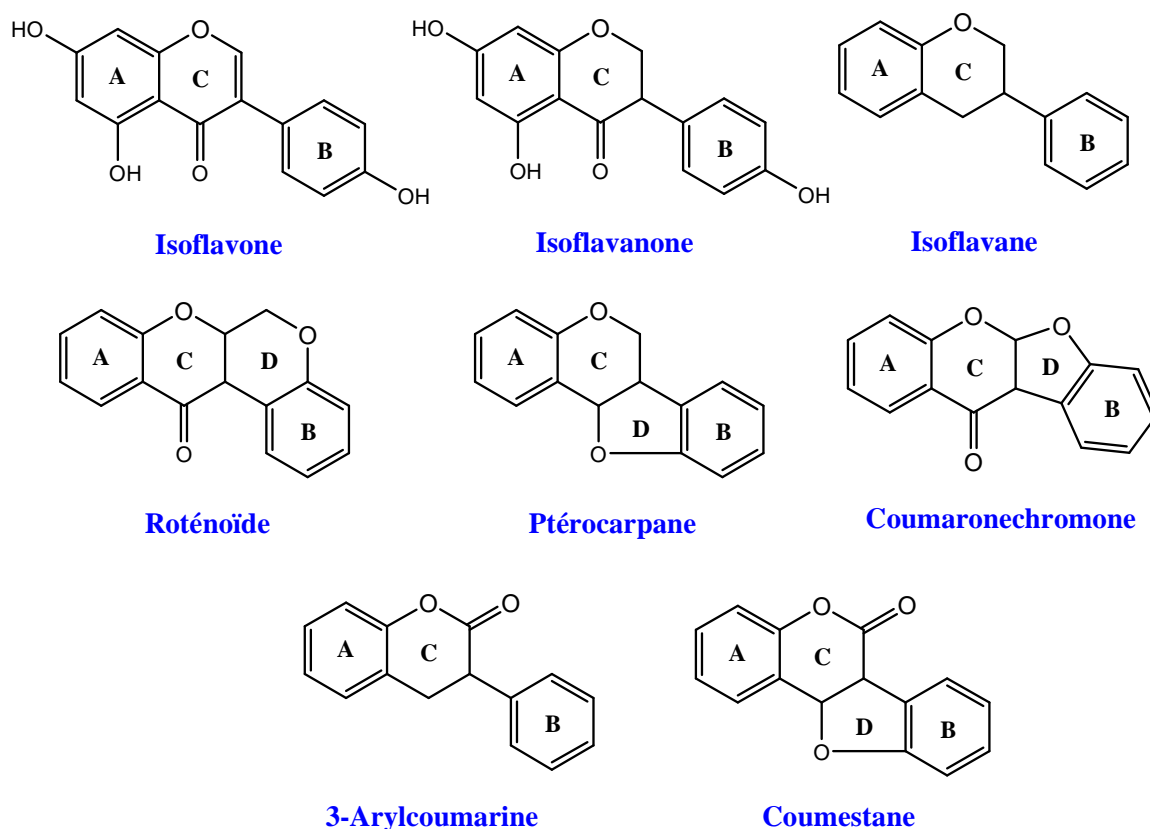
La caractéristique principale qui distingue les chalcones et les dihydrochalcones des autres flavonoïdes est la chaîne ouverte qui lie les cycles A et B à la place de l'hétérocycle central C. Les chalcones ont leur noyau pyranique central ouvert et sont constituées par deux unités aromatiques reliées par une chaîne tricarbonée, cétonique et insaturée. Le noyau B est assez fréquemment non substitué, alors que les substitutions sur le cycle A sont plus souvent identiques à celles des autres flavonoïdes. Toutefois, ces molécules naturelles sont toutes hydroxylées et/ou

méthoxylées et diverses combinaisons de trois à six groupements peuvent fonctionnaliser les cycles A et B du squelette chalcone (Veitch et Grayer, 2006).

Les aurones sont caractérisées par une structure de type 2-benzylidène coumarone (Ono *et al.*, 2006 ; Sarni-Manchado et Cheynier, 2006).

#### I.4.1.5. Les isoflavones

Ils dérivent d'une structure 1,2-diphénylpropane avec le cycle B en position C<sub>3</sub>. Ils peuvent être classés en une douzaine de catégories structurales.

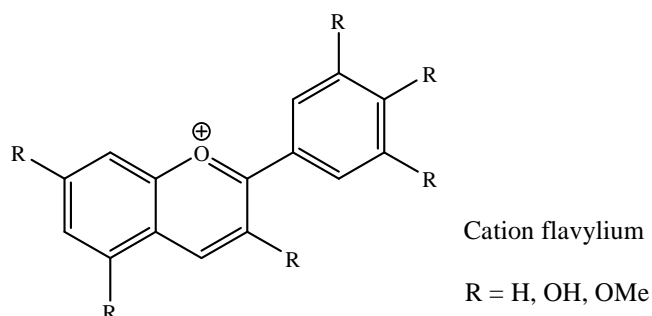


**Schéma 4:** Sous-classes des isoflavonoïdes (Boland et Donnelly, 1998 ; Andersen et Markham, 2006)

Ces catégories diffèrent entre elles, par le degré d'oxydation et l'existence ou non d'hétérocycles supplémentaires. Le schéma 4 présente les différentes sous classes d'isoflavonoïdes. Dans chaque catégorie, on note également la présence fréquente de dérivés prénylés. Parmi tous les isoflavonoïdes répertoriés dans le règne végétal, la catégorie la plus largement représentée est celle des isoflavones non glycosylées. Les isoflavones glycosylées quant à elles, existent mais sont plus rares (*O*-glycosylées et exceptionnellement *C*-glycosylées).

#### I.4.1.6. Les anthocyanidines et anthocyanes

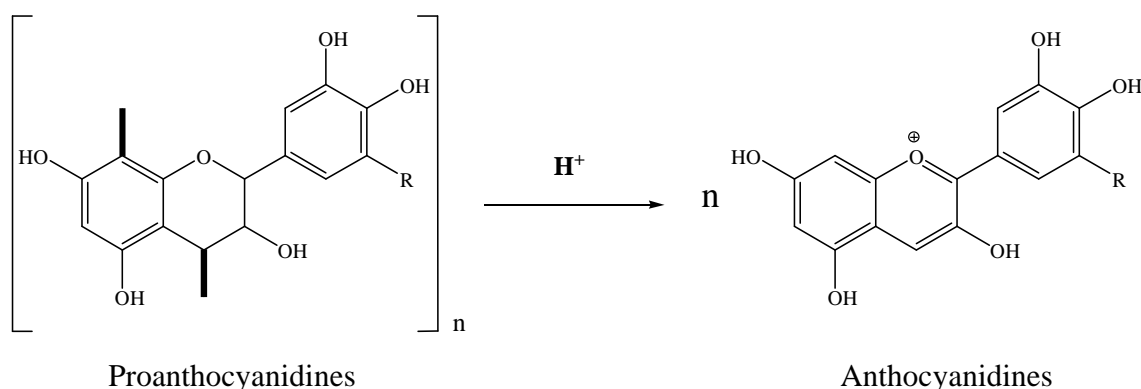
Les anthocyanes, formes glucosylées des anthocyanidines, sont des pigments visibles à l'œil nu qui donnent aux fruits et aux fleurs leur couleur rouge, bleue et pourpre.



Ces composés présentent la particularité d'être sous forme de cation appelé flavylum dans les milieux acides. Chaque anthocyane peut être différencié par le nombre de glucoses estérifiés, le taux d'acylation de ces glucoses, et le nombre d'acides aromatiques ou aliphatiques qui peuvent être liés à ce sucre (Macheix, 1990).

#### I.4.1.7. Les proanthocyanidines ou tannins condensés

Les proanthocyanidines, encore appelées tannins condensés, sont très largement répandues dans le règne végétal, par exemple dans les fruits, les baies et les graines (Hellstrom *et al.*, 2009).



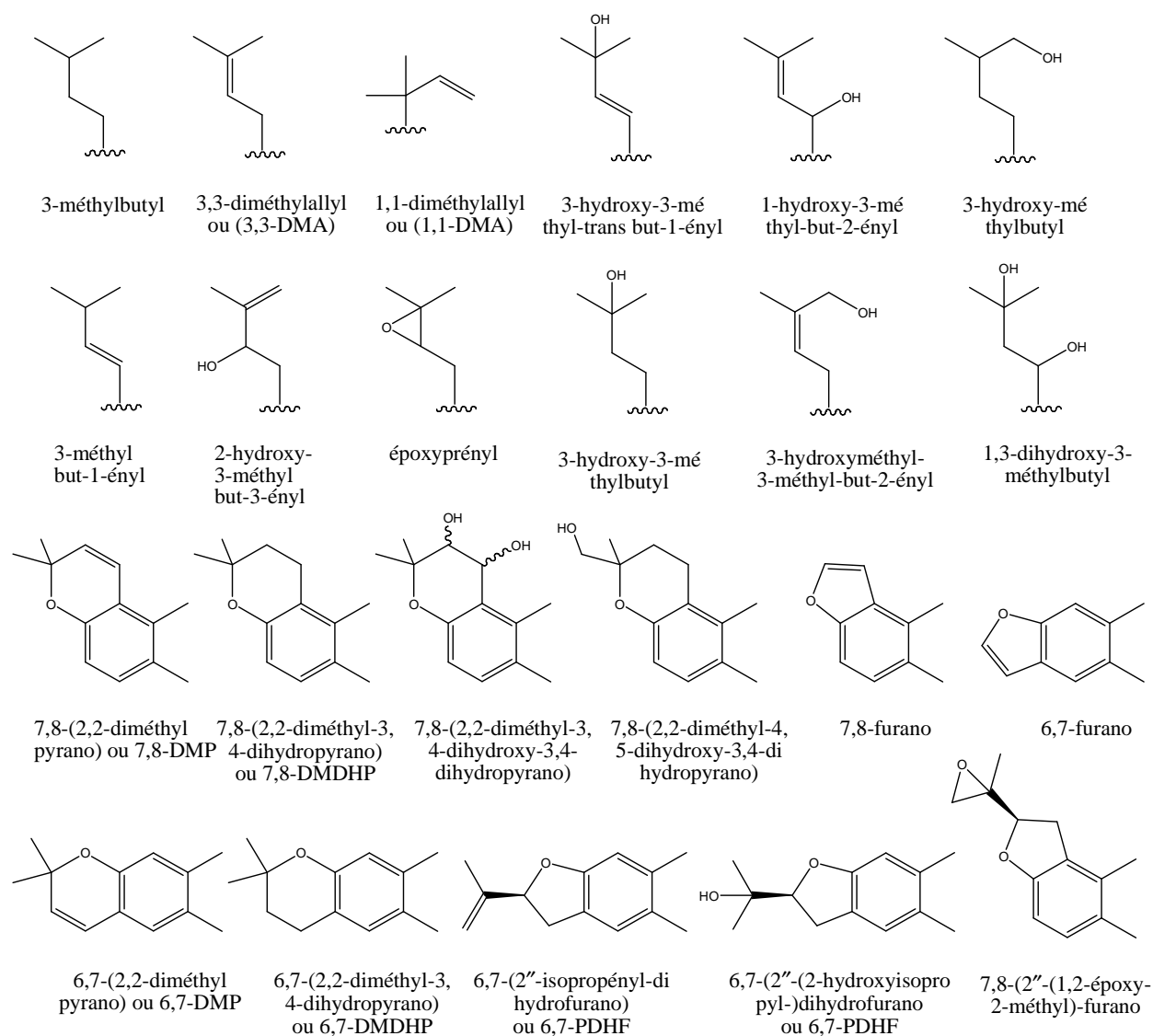
**Schéma 5:** Conversion des proanthocyanidines en anthocyanidines par catalyse acide

D'un point de vue structural, ce sont des oligomères d'unité monomérique de flavan-3-ol. Les unités de départ de la plupart des proanthocyanidines sont les (+)-catéchine et (-)-épicatéchine. Les structures des proanthocyanidines varient selon la nature du flavan-3-ol de départ et des unités d'extension (stéréochimie et hydroxylation du motif), le degré de polymérisation, la présence ou l'absence de modifications telles que l'estérification du

groupement hydroxyle en position 3, mais aussi de la position et la configuration de la liaison entre ces unités (Dixon *et al.*, 2005).

### I.4.1.8. Les flavonoïdes prénylés

Le terme « prénylé » est utilisé au sens large pour désigner le substituant prényle et/ou isopentényle, les dérivés furano et diméthylpyrano, ou encore le substituant géranyle et bien d'autres (Dewick, 1994; Chen *et al.*, 1991).



**Schema 6:** Différents types de prénylation rencontrés dans le genre *Ficus* et les genres voisins

Les différents types de prénylation rencontrés dans le genre *Ficus* et dans les genres voisins (*Dorstenia*, *Morus*, *Artocarpus*) sont représentés et regroupés dans le schéma 6.

#### I.4.2- Voie de biosynthèse des flavonoïdes

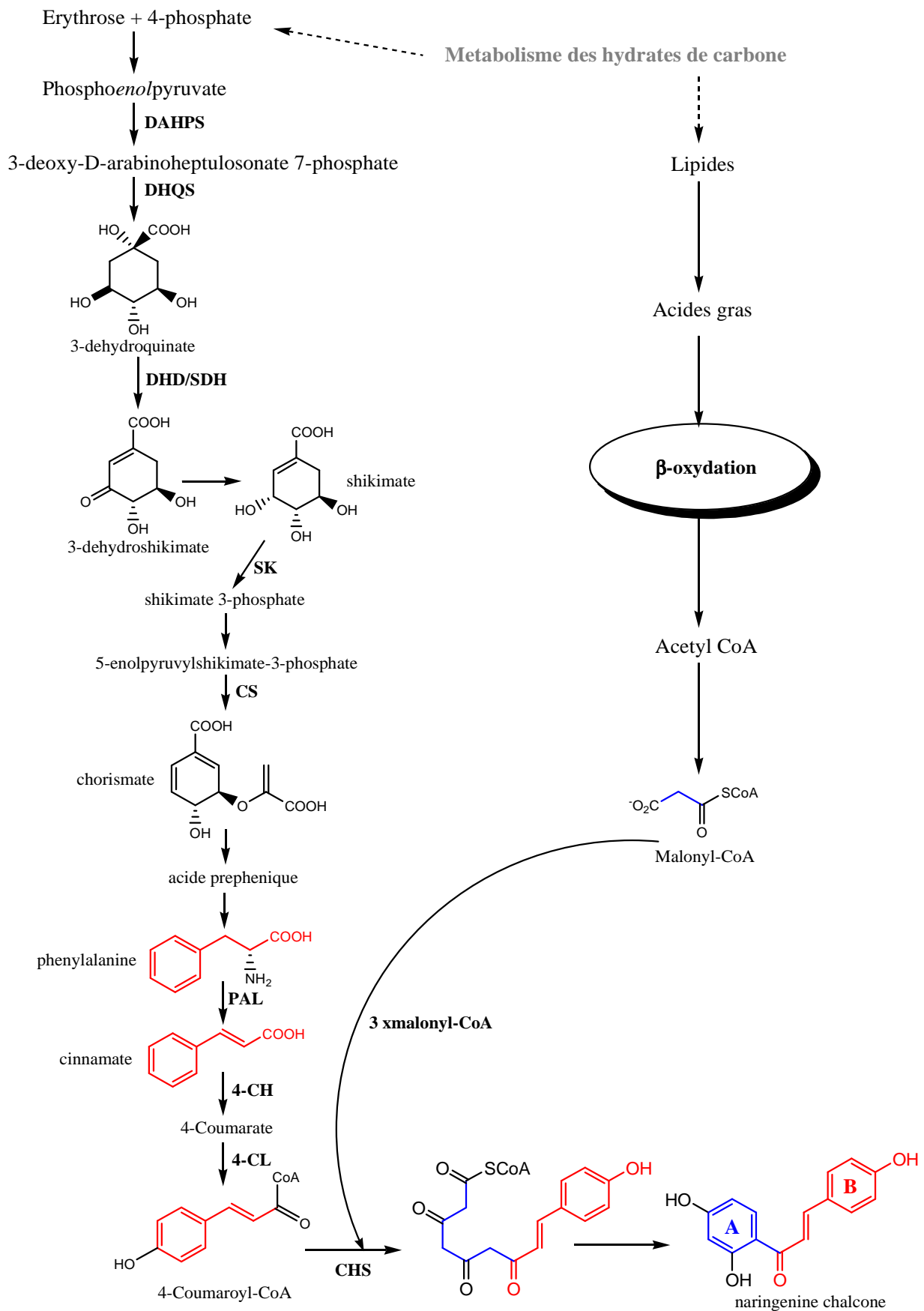
A ce jour, Il existe plusieurs ramifications dans la voie de biosynthèse des flavonoïdes. Une des caractéristiques principales du métabolisme des flavonoïdes est son origine biosynthétique mixte. Le squelette flavonoïde étant élaboré à partir de deux précurseurs clés d'origine biosynthétique distincte. Le premier précurseur (malonyl-CoA) est synthétisé par la voie de l'acétate de malonate (voie des polycétides) par l'intermédiaire d'une réaction catalysée par l'acétyl-CoA. Le second (4-coumaroyl-CoA) est synthétisé en empruntant deux voies biosynthétiques successives: la voie de l'acide shikimique. Cette voie métabolique est commune à l'ensemble des composés phénoliques. Les premiers flavonoïdes de cette biosynthèse, les chalcones, sont formés à partir du 4-coumaroyl-CoA (obtenu en trois réactions séquentielles) et à partir du malonyl-CoA. Le 4-coumaroyl-CoA est produit à partir d'un acide aminé, la phénylalanine, qui subit trois conversions enzymatiques catalysées par la phénylalanine ammonia-lyase (ou PAL), la cinnamate 4-hydroxylase (ou C4H) et la 4-coumarate : CoA ligase (ou 4CL), (Bednar et Hadcock, 1988).

La première étape de la biosynthèse consiste en la condensation du 4-coumaroyl-CoA avec trois molécules de malonyl-CoA catalysé par la chalcone synthase (CHS) pour produire une chalcone, créant ainsi le squelette de base des flavonoïdes. Ainsi, les trois molécules de malonyl-CoA fournissent le cycle A ou phloroglucinol des flavonoïdes et le 4-coumaroyl-CoA procure le cycle B et les 3 atomes de carbone du chaînon propanoïde central (C<sub>3</sub>-C<sub>6</sub>). La deuxième étape est l'isomérisation de la chalcone pour former la flavanone, qui peut se produire spontanément ou bien en présence de la chalcone isomérase (CHI) qui catalyse la cyclisation intramoléculaire stéréospécifique des chalcones en flavanones, obtenues avec la configuration 2S (Cain *et al.*, 1997; Bednar et Hadcock, 1988).

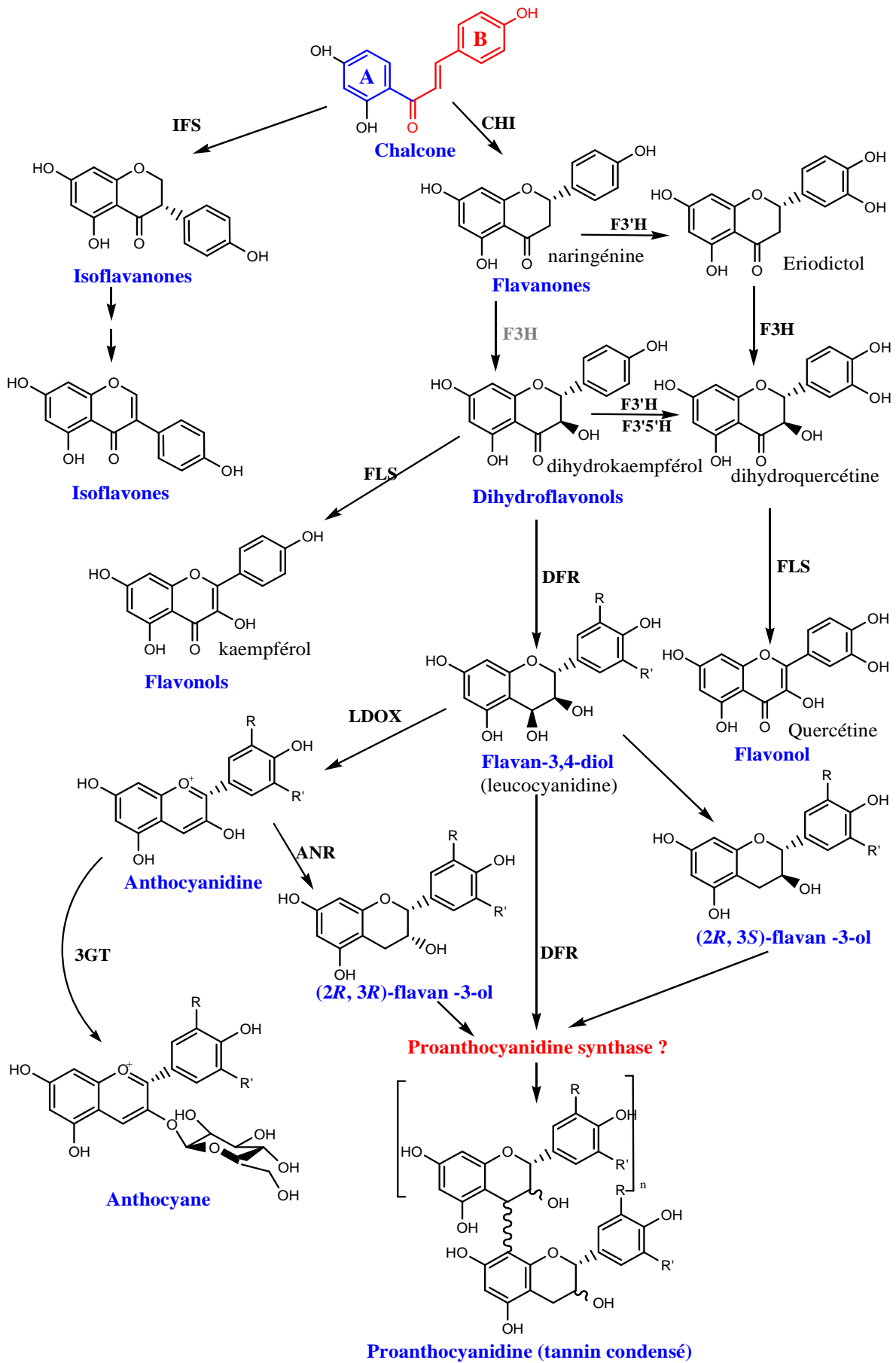
La 2S flavanone est le substrat commun de plusieurs étapes biosynthétiques reliant trois réactions majeures : la flavanone peut être convertie en isoflavone sous l'action de l'isoflavone synthase (IFS), ou bien subir une hydroxylation en position 5' pour former l'ériodictyol grâce à la flavonoïde 3'-hydroxylase (F3'H). Les flavanones peuvent également être oxygénées en dihydroflavonols de manière stéréospécifique par la flavanone 3-hydroxylase (F3H). Ces dihydroflavonols peuvent être ensuite hydroxylés par deux enzymes, la F3'H et la F3'5'H aussi appelée flavonoïde 3',5'-hydroxylase, et c'est la présence ou l'absence de ces deux enzymes qui va déterminer le nombre de groupes hydroxyles du cycle B du dihydroflavonol, aussi bien que celui des monomères de proanthocyanidines. L'action de la flavonol synthase (FLS) permet la déshydrogénation de la liaison C<sub>2</sub>-C<sub>3</sub> du dihydroflavonol en flavonol, cependant cette enzyme

est en compétition avec la dihydroflavonol Réductase (DFR), qui est capable de réduire les dihydroflavonols pour former les leucoanthocyanidines ou flavan-3,4-diols (Schéma 7), (Forkmann et Heller, 1999 ; Martens *et al.*, 2002).





**Schéma 7:** Voie de biosynthèse de la naringénine chalcone à partir des hydrates de carbone (Kreuzaler et Hahlbrock, 1972 ; Bednar et Hadcock, 1988 ; Cain *et al.*, 1997)



**Schéma 8:** Voie générale de la de biosynthèse des flavonoïdes (Martens *et al.*, 2002)

### **I.4.3- Méthodes de séparation et d'analyse des flavonoïdes**

#### **I.4.3.1- Méthodes de séparation et de purification**

Comme toutes les substances naturelles, l'analyse de la composition des extraits bruts, celle des fractions obtenues par dégrossissement, la séparation des métabolites secondaires, ainsi que la pureté des molécules isolées sont obtenues par les techniques chromatographiques usuelles à savoir :

- La chromatographie liquide sur colonne ouverte
- La chromatographie sur papier
- La chromatographie sur couche mince (CCM Prép.)

#### **I.4.3.2. Méthodes d'analyse des flavonoïdes**

Comme méthodes d'analyse des flavonoïdes nous citerons :

- **L'ultra-Violet (UV)** : l'examen des flavonoïdes sous lumière UV 365 nm est très utilisé pour l'identification des flavonoïdes. Tous les flavonoïdes apparaissent en UV sous forme de spots colorés, permettant d'avoir des renseignements nécessaires dans la détermination de leurs structures (Mabry *et al.*, 1970 ; Harborne, 1975 ; Markham, 1982).

- **La spectrométrie Ultraviolet-visible (UV-vis)**

C'est une méthode très importante pour l'analyse des flavonoïdes, pour cela l'enregistrement d'un spectre d'absorption ultraviolet dans le méthanol est indispensable. L'addition de réactifs aux échantillons donne des informations importantes sur la nature et la position des substituants (Jurd, 1962 ; Bacon et Mabry, 1976 ; Markham, 1989).

- **La spectrométrie de masse :**

Elle fournit un pic moléculaire dont la masse, renseigne globalement sur le nombre et la nature des substituants hydroxyles, méthoxyles, acétyles, prényles etc. (Nielson et Moller, 1970). Les pics de fragmentation caractéristiques fournissent les renseignements sur la répartition des substituants sur les noyaux A et B. Le développement de divers modes d'ionisation dont les plus récentes sont les techniques d'ionisation douces que sont l'électrospray (ESI : electrospray ionization) et l'ionisation chimique à pression atmosphérique (APCI : atmospheric pressure chemical ionization) connaissent un véritable succès, permettant entre autres l'analyse des structures complexes. Les flavonoïdes glycosylés sont généralement enregistrés en FAB.

- **La spectroscopie de résonance magnétique nucléaire (RMN)**

Cette technique très précise et très efficace, est couramment utilisée et permet entre autres de:

- Différencier les squelettes de flavonoïdes par l'existence ou l'absence de signaux spécifiques.

- Localiser et différencier les diverses familles de protons, éventuellement leur localisation en fonction de leur nombre et des constantes de couplage.

- Déterminer le nombre, la nature et la position des unités osidiques (sucres) ainsi que la nature de la jonction qui les lient (Markham, 1989 ; Pawan, 1992 ; Markham et Geiger, 1994).

#### **I.4.4- Activités biologiques des flavonoïdes**

Les flavonoïdes sont souvent des molécules de défense contre les organismes pathogènes. Il n'est donc pas surprenant que certains de ces composés possèdent un potentiel en thérapeutique contre les microorganismes (bactéries, virus, champignons), les parasites et les insectes. Leur capacité antioxydante peut aussi expliquer un certain nombre de propriétés thérapeutiques.

##### **I.4.4.1- Activité antimicrobienne**

Il est connu que certains flavonoïdes sont synthétisés par les plantes lors de l'invasion microbienne (Dixon *et al.*, 1983), il est par conséquent logique, qu'ils agissent comme substances antimicrobiennes efficaces *in vitro* contre les microorganismes (Cowan, 1999).

##### **Activité antibactérienne**

Des études *in vivo* sur animaux se sont révélées encourageantes (quercétine chez le cochon d'inde infecté par *Shigella*, sophoraisoflavone en injection intrapéritonéale chez des souris infectées par *Salmonella typhimurium*) (Cushnie *et al.*, 2005). Il est suggéré que les isoflavonoïdes agiraient en interférant avec l'incorporation de métabolites et de nutriments dans les cellules bactériennes ou en affectant les acides nucléiques des MRSA (Botta *et al.*, 2009). Il semble que la position et le type des prénylations soient importants pour l'activité. En effet, on a les meilleures activités avec les groupements isoprényles en position 3' (cycle B) et en 6 (cycle A). De plus, une hydroxylation en position 5 augmenterait l'activité. La présence d'un groupement hydroxyle aliphatique sur l'isoprényle pourrait être mise en relation avec une action sur les souches de *S. aureus* méticilline résistantes. De plus une *méta* dihydroxylation, soit sur le cycle A ou sur le cycle B, augmente l'activité (Botta *et al.*, 2009 ; Halbwirth, 2010).

##### **Activité antifongique**

De nombreux flavonoïdes possèdent des activités antifongiques, le plus grand nombre appartient aux flavanones et aux flavanes. Quelle que soit la classe de flavonoïdes considérée, il apparaît que le caractère lipophile des composés augmente l'activité, permettant aux molécules de pénétrer plus facilement à travers la membrane fongique (Grayer *et al.*, 1994 ; Jimenez-

Gonzalez *et al.*, 2008). De plus, la présence d'une chaîne isoprène apparaît comme importante pour l'activité mais pas essentielle (Jimenez-Gonzalez *et al.*, 2008).

### **Activité antivirale**

Le flavonoïde le plus étudié est de loin la génistéine ; néanmoins les mécanismes d'action ne sont pas clairement élucidés (Andres *et al.*, 2009). Des isoflavanones ainsi que des isoflavonoïdes prénylés ont une activité antivirale sur le VIH. Des études suggèrent qu'une absence de groupement hydroxyle en position 4' et une absence de substituant en position 5 est nécessaire à l'activité (Botta *et al.*, 2009). Des flavones (baicaléine, robustaflavone et hinokiflavone) sont décrites comme inhibant la reverse transcriptase du VIH-1, d'autres (gardénine A, 3,2'-dihydroxyflavone) inhibent la protéinase de VIH-1 ; l'intégrase de VIH-1 ou la transcription virale. Dans une étude sur 34 flavonoïdes naturels ou de synthèse, la chrysine apparaît comme la molécule présentant le meilleur index thérapeutique contre VIH-1. Plusieurs mécanismes d'action sont proposés, incluant une inhibition de la polymérase virale, un attachement à l'acide nucléique viral ou aux protéines de la capsid virale (Cushnie *et al.*, 2005). Le mécanisme des effets antimicrobiens des polyphénols est sans doute très complexe.

#### **I.4.4.2. Activité antioxydante**

L'intérêt métabolique des antioxydants alimentaires fait à l'heure actuelle l'objet d'un grand nombre de travaux. Parmi ces antioxydants, de nombreux auteurs ont mis en évidence le rôle prépondérant des polyphénols.

En effet, les flavonoïdes apportent une protection contre les radicaux libres en empêchant leur liaison avec les lipides membranaires des cellules ; ce qui se traduit par une diminution du malonyl dialdéhyde (péroxyde lipidique) et par la protection de la composition hématologique en permettant une bonne régénération érythrocytaire et une prévention contre la leucopénie et la thrombopénie observées en présence des radicaux libres (Chaudhuri *et al.*, 2007 ; Chandana et Vijayakuma, 2008). Les flavonoïdes sont susceptibles de réagir avec la plupart des espèces réactives oxygénées (Fuhrman *et al.*, 1995). En fait, leur activité antiradicalaire nécessite :

- la structure ortho-diphénolique du cycle B, qui est essentielle à l'activité des flavonoïdes possédant un hétérocycle saturé ;
- la double liaison 2-3 conjuguée avec la fonction 4-oxo-, qui est responsable de la délocalisation d'électrons stabilisant le radical aryloxy ;
- les hydroxyles en positions 3 et 5 qui permettent une activité antiradicalaire maximale, (Lopez-Lazaro, 2000 ; Siess *et al.*, 2000).

Les flavonoïdes et en particulier la quercétine qui présente les trois éléments de structure décrits ci-dessus, sont des piègeurs efficaces des radicaux hydroxyles et peroxydes particulièrement impliqués dans la peroxydation lipidique. Enfin, les flavonoïdes possédant une structure catéchol sur le cycle B, et en particulier la (+)-catéchine, sont des piègeurs de l'oxygène singulet, une forme réactive de l'oxygène (Erben-Russ *et al.*, 1987).

#### **I.4.4.3. Activité anti-inflammatoires et effets sur le système immunitaire**

De nombreux travaux semblent indiquer que les flavonoïdes possèdent des propriétés antiinflammatoires (Da Silva *et al.*, 1994 ; Galati *et al.*, 1994 ; Read, 1995) et sont capables de moduler le fonctionnement du système immunitaire (Middleton et Elliott, 1996). Les flavonoïdes sont de puissants inhibiteurs de la prolifération des lymphocytes B et T (Mookerjee *et al.*, 1986 ; Namgoong *et al.*, 1994). Les flavones (apigénine, lutéoline et 7,3',4' -trihydroxyflavone) et les flavonols (kaempférol, quercétine et myricétine) inhibent la prolifération des lymphocytes T alors que seule la myricétine est active sur les lymphocytes B. L'explication est encore mal connue.

L'effet antiprolifératif des flavonoïdes pourrait s'expliquer par leur capacité à inhiber l'activité de certaines protéines kinases (protéine Kinase C ou protéine tyrosine kinase) (Mookerjee *et al.*, 1986 ; Namgoong *et al.*, 1994). Par ailleurs, les flavonoïdes sont susceptibles de diminuer la libération d'histamine des basophiles et des mastocytes (Middleton et Drzewiecki, 1984). La phagocytose qui accompagne une infection virale ou bactérienne est suivie d'une production d'espèces oxygénées réactives par les neutrophiles, ce qui va promouvoir l'inflammation.

#### **I.4.4.4. Intérêt des flavonoïdes contre l'obésité**

Certains flavonoïdes sont supposés avoir un intérêt dans le métabolisme lipidique en diminuant la lipidémie. L'effet de quelques flavanones (la naringénine, la naringine, l'hespéretine et l'hesperidine) sur la conversion des préadipocytes en adipocytes, sur une lignée cellulaire AML-I a été étudié (Morikawa *et al.*, 2008). Les deux flavonoïdes sous forme aglycone, à savoir la naringénine et l'hespéretine, ont induit un arrêt de la croissance des cellules entraîné par une apoptose. L'impact de la naringénine sur différentes protéines impliquées dans l'apoptose a été déterminé. Le résultat était que dans les cellules traitées avec ce flavonoïde, les taux de protéines antiapoptotiques (p-Akt, NF- $\kappa$ B, et Bcl-2) étaient diminués, et ceux de Bad (protéines pro-apoptotiques) augmentés. L'exposition des cellules à la naringénine ou à l'hespéretine durant de courtes périodes a augmenté la taille des gouttes lipidiques dans le cytoplasme. De plus,

l'expression de la *fatty acid* synthase (intervenant dans la synthèse des acides gras) et des PPAR- $\gamma$  a été augmentée dans les cellules traitées à la naringénine. Ces résultats suggèrent que l'apoptose induite par les flavanones n'intervient pas sur la conversion des pre-adipocytes en adipocytes. De ce fait, les adipocytes sembleraient ne pas être une cible directe pour les activités hypolipémiantes des flavanones (Morikawa *et al.*, 2008).

#### **I.4.4.5. Intérêt des flavonoïdes contre le cancer**

Parmi les flavonoïdes les plus actifs sur les cellules tumorales, nous citons la quercétine et la catéchine qui sont très abondantes dans les aliments. La quercétine prévient la cancérogenèse, surtout le cancer de la peau et du colon. La présence de 20 % de quercétine dans l'alimentation chez les animaux diminue le cancer du côlon et y prévient l'apparition des cryptes anormales (Pietta 2000).

La catéchine, est un inhibiteur de certaines réactions d'oxydation donnant un ADN anormal, elle inhibe surtout la formation du 8-hydroxydesoxyguanosine (8-OHDG), un marqueur des dommages oxydatifs de l'ADN. Il a été prouvé que la catéchine est plus active que la vitamine E sur les radicaux libres (Pietta 2000 ; Tomofuji *et al.*, 2009).

### **I.5- GENERALITES SUR LES RADICAUX LIBRES ET LES ANTIOXYDANTS**

#### **I.5.1- Les radicaux libres et Espèces Réactives de l'Oxygène (ERO)**

##### **I.5.1.1- Définitions**

On définit un radical libre, comme étant toute entité chimique instable et très réactive, atomique ou moléculaire indépendante contenant un ou plusieurs électrons non appariés (ou célibataires) dit « libre » sur leur couche externe. Bien que le terme de radical libre ait souvent été assimilé à une espèce réactive ou à un oxydant, il est important de signaler que tous les radicaux libres ne sont pas forcément des oxydants. De même que, tous les oxydants ne sont pas des radicaux libres (Novelli, 1997 ; Favier, 2003).

Les ERO sont une famille d'entités chimiques regroupant les dérivés non radicalaires (ne possédant pas d'électron célibataire) dont la toxicité est importante (anion peroxyde, peroxyde d'hydrogène, peroxydinitrite) et les radicaux libres oxygénés (espèces chimiques possédant un ou plusieurs électrons célibataires non appariés) qui intéressent notre propos (anion superoxyde, radical hydroxyle, monoxyde d'azote), (Favier, 2003).

### I.5.1.2. Origine, production et mécanisme d'action des radicaux libres

L'origine des radicaux libres est diverse : tout d'abord, la pollution de notre environnement peut générer la formation d'espèces réactives de l'oxygène. Les radicaux libres peuvent être considérés comme des déchets du métabolisme cellulaire. Ils ont une durée de vie extrêmement courte. Il est donc difficile d'étudier leur métabolisme, si bien que les connaissances concernant leur production dans des conditions physiologiques et pathologiques sont encore limitées (Favier, 2003).

L'utilisation principale de l'oxygène par notre organisme est réalisée au niveau des mitochondries qui lui procure l'énergie nécessaire sous forme d'ATP. Cette réaction complexe, au niveau des membranes internes de la mitochondrie, passe par une réduction de façon progressive et contrôlée de l'oxygène en eau grâce à l'apport de 4 électrons. En revanche, sa réduction incomplète conduit à des espèces extrêmement réactives communément appelées radicaux libres de l'oxygène, sous l'effet des rayons U.V, des radiations ionisantes et des métaux de transition. Il y a formation successive d'anion superoxyde, de peroxyde d'hydrogène et de radicaux hydroxyles (Cadenas et Davies, 2000 ; Favier, 2003). Ils sont produits dans toutes les cellules de l'organisme tout à fait normalement et en faible quantité dans les mitochondries. Il s'agit des ions oxygènes, hydroxyles et de l'eau oxygénée qui sont libérés lors des réactions biochimiques (Martin, 2014).

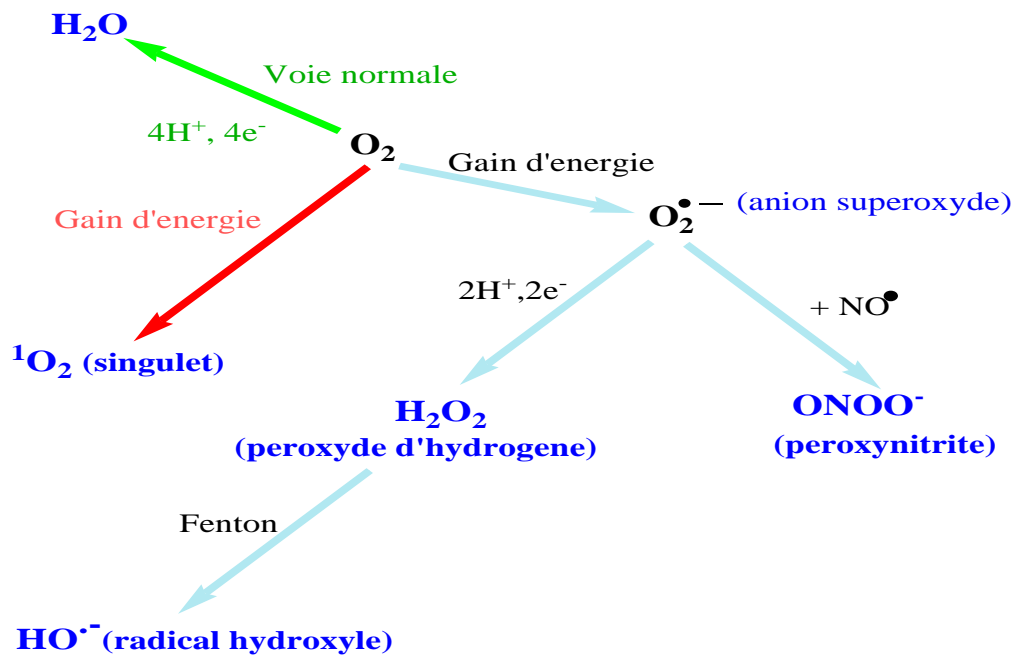


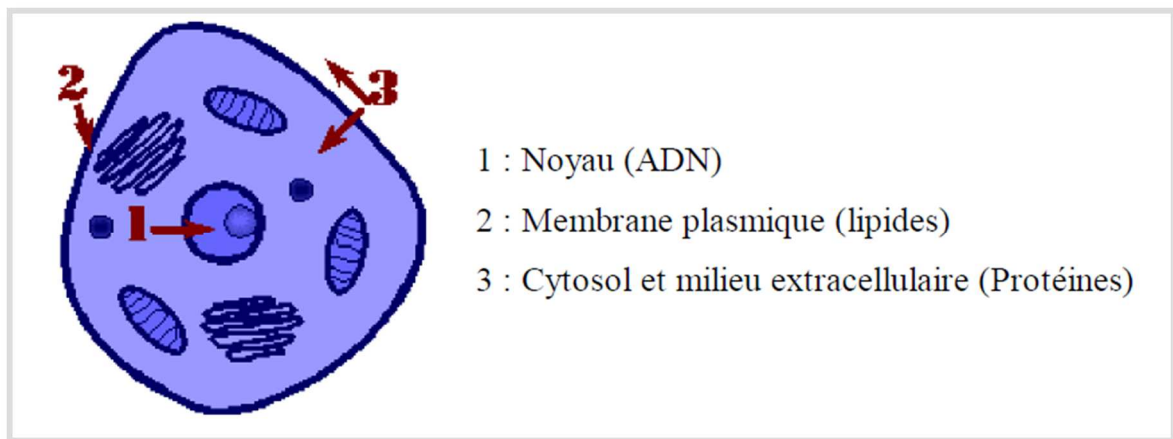
Schéma 9 : Formation des Espèces Réactives de L'oxygène (ERO) (Martin, 2014)



Les métaux de transition (fer, cuivre, manganèse ou zinc) constituent des éléments donneurs d'électrons susceptibles d'initier une réaction radicalaire. Pour le fer, le cycle d'Haber-Weiss contenant la réaction de Fenton génère des radicaux hydroxyles.

Avant d'être neutralisés ils provoquent des lésions sur tous les éléments qu'ils côtoient. La tendance naturelle des électrons non appariés à interagir avec les électrons de molécules ou d'atomes voisins, pour reformer des liaisons chimiques covalentes, confère aux radicaux libres une très grande instabilité et une extrême réactivité chimique. Le plus souvent, le radical libre va oxyder de nombreuses molécules biologiques (lipides, glucides, protéines, acides aminés et acides nucléiques) ne comportant pas d'électron(s) célibataire(s) provoquant ainsi une réaction en chaîne au cours de laquelle apparaissent de nouveaux radicaux dits secondaires, favorisant ainsi une propagation en chaîne de ces derniers dans l'organisme. Les différents processus de formation des radicaux libres sont schématisés sur le schéma 9.

Heureusement, ces effets délétères des radicaux libres sont fortement atténués grâce aux nombreux systèmes de défense de l'organisme. La figure 6 présente les différents sites d'action des radicaux libres dans la cellule.



**Figure 6:** Les sites d'action des radicaux libres dans la cellule (Wilson et Salamatian, 2003)

L'organisme sait cependant se défendre contre ceux-ci, grâce aux enzymes antioxydantes contenues dans nos cellules. Ces enzymes sont aidées dans leur action antiradicalaire par les vitamines E et C, la provitamine A, le zinc et le sélénium. Si ces systèmes de défense sont débordés ou insuffisants, les radicaux libres deviennent nuisibles : ils s'attaquent alors aux membranes cellulaires dont les acides gras insaturés sont dénaturés (leur structure est modifiée); ils agressent également les protéines.

### I.5.1.3. Principaux radicaux libres

Les espèces réactives de l'oxygène regroupent l'ensemble des dérivés radicalaires de l'oxygène, mais également d'autres composés non-radicalaires très réactifs. Les principales espèces réactives de l'oxygène sont regroupées dans le tableau VIII.

**Tableau VIII** : Les principales espèces réactives de l'oxygène

Nature	Espèces Réactives de l'Oxygène	Formules chimiques
Radicaux	Dioxygène singulet	$^1\text{O}_2$
	Anion superoxyde	$\text{O}_2^{\cdot-}$
	Radical monoxyde d'azote	$\text{NO}\cdot$
	Radical hydroxyle	$\text{HO}\cdot$
	Radical alkoxyde	$\text{RO}\cdot$
	Radical hydroperoxyde	$\text{HOO}\cdot$
	Radical peroxyde	$\text{ROO}\cdot$
Non radicaux	Hydro peroxyde organique	$\text{ROOH}$
	Peroxyde d'hydrogène	$\text{H}_2\text{O}_2$
	Oxygène moléculaire	$^3\text{O}_2$
	Peroxinitrite	$\text{ONOO}^-$
	Hypochlorite	$\text{ClO}^-$

Il existe de façon globale deux principales sources des Espèces Réactives de l'Oxygène (ERO) qui sont : les sources exogènes et les sources endogènes (Salvayre *et al.*, 2003).

#### ➤ Sources exogènes des ERO

Elles sont surtout d'origine physique et chimique (ex. radiations X ou gamma, UV (315-400 nm), radiolyse de l'eau, réactions photochimiques, ...), (Salvayre *et al.*, 2003).

#### ➤ Sources endogènes des ERO

De nombreux systèmes enzymatiques identifiés dans les cellules sont également capables de générer des oxydants : Les NAD(P)H oxydases sont des enzymes présentes dans la paroi vasculaire et qui génèrent  $\text{O}_2^{\cdot-}$  en utilisant le NADH ou NADPH comme substrat. La xanthine-oxydase joue un rôle important dans la production des ERO lors de l'ischémie/reperfusion. Dans l'organisme, l'oxygène est réduit à 95 % dans les mitochondries (centrale énergétique de la cellule) par voie enzymatique en molécule non toxique (Mabile *et al.*, 1997).

#### **I.5.1.4. Rôles physiologiques des radicaux libres**

Les organismes vivants possèdent des systèmes de défense ; ainsi à l'état physiologique il existe un équilibre "naturel" entre la production des radicaux libres et les systèmes antioxydants. Les leucocytes et les macrophages utilisent leur effet bactéricide: ils produisent des radicaux libres pour détruire des bactéries ou d'autres xénobiotiques.

Les ERO sont des armes à double tranchant : ils protègent l'organisme contre les microorganismes et les cellules tumorales mais ils sont aussi à l'origine de l'altération et de l'usure des tissus donc responsables de la toxicité de l'oxygène et de ses effets mutagènes. L'ensemble de ces effets négatifs de l'oxygène est appelé le stress oxydant, qui peut être considérablement majoré dans certaines circonstances pathologiques (Rösen *et al.*, 2004).

#### **I.5.1.5. Rôles des radicaux libres dans quelques pathologies**

La présence des ERO a des conséquences potentiellement graves pour la cellule. Sous certaines conditions, il apparaît un déséquilibre entre la production des radicaux libres et les systèmes antioxydants provoqué soit par une production exagérée de radicaux libres, soit par une diminution des défenses antioxydantes sous l'effet de certains stimuli-pathologiques endogènes (hyper-LDLémie, diabète de type II, cancer, etc.) ou exogènes (polluants environnementaux, tabagisme, ...). On parle alors de stress oxydant à l'origine bien souvent d'altérations moléculaires participant à de nombreux processus pathologiques comme l'athérosclérose, l'hypertension, l'asthme, la cirrhose, la fibrose kystique, l'infection au VIH, la maladie de Parkinson, le mongolisme, le syndrome de Down, etc. (Costa et Moradas-Ferreira, 2001).

Cependant, il est difficile d'évaluer le rôle précis de ces ERO au cours des différents stades du processus pathologique. Ce sont des atomes et/ou des molécules dotés d'une forte énergie et qui, avant d'être neutralisés détruisent ce qu'ils rencontrent.

#### **I.5.1.6. Systèmes de protection contre les ERO**

Notre corps peut être comparé à une immense usine dans laquelle des milliards de réactions chimiques se produisent en même temps. Pour préserver sa survie, l'organisme doit disposer de moyens lui permettant de contrer les ERO, molécules douées d'une extrême toxicité. Ces systèmes de défenses sont constitués d'un dispositif endogène d'une part comprenant des enzymes présentes dans la plupart des cellules telles que le superoxyde dismutase (SOD), la catalase, le système glutathion-peroxydase, et d'un dispositif d'antioxydants exogènes apportés par l'alimentation ou les médicaments (Favier, 2003).

Les « piègeurs de radicaux libres » encore appelés antioxydants, agissent en piégeant les radicaux libres et en captant l'électron célibataire, les transformant en molécules ou ions stables. Les antioxydants patrouillent dans toutes les zones du corps et élaborent des stratégies de défense spécialisées. Aussi longtemps que ces lignes de défense naturelle sont intactes et complètes, les radicaux libres ne peuvent nuire à l'organisme (Favier, 2003).

## I.5.2- Les antioxydants

### I.5.2.1- Définition

On désigne par antioxydant (ou piègeurs de radicaux libres) toute substance qui, lorsqu'elle est présente en faible concentration comparée à celle du substrat oxydable, peut retarder ou empêcher de manière significative l'oxydation de ce substrat. Ce sont des composés qui réagissent avec les radicaux libres et les rendent inoffensifs (Boyd *et al.*, 2003).

La raison pour laquelle les antioxydants sont importants vient du fait que l'oxygène est un élément potentiellement toxique puisqu'il peut être transformé en formes plus réactives telles que le superoxyde, le peroxyde d'hydrogène, l'oxygène singulet et les radicaux hydroxyles, collectivement connus sous le nom d'oxygène actif (Boyd *et al.*, 2003).

### I.5.2.2. Mécanisme d'action des antioxydants

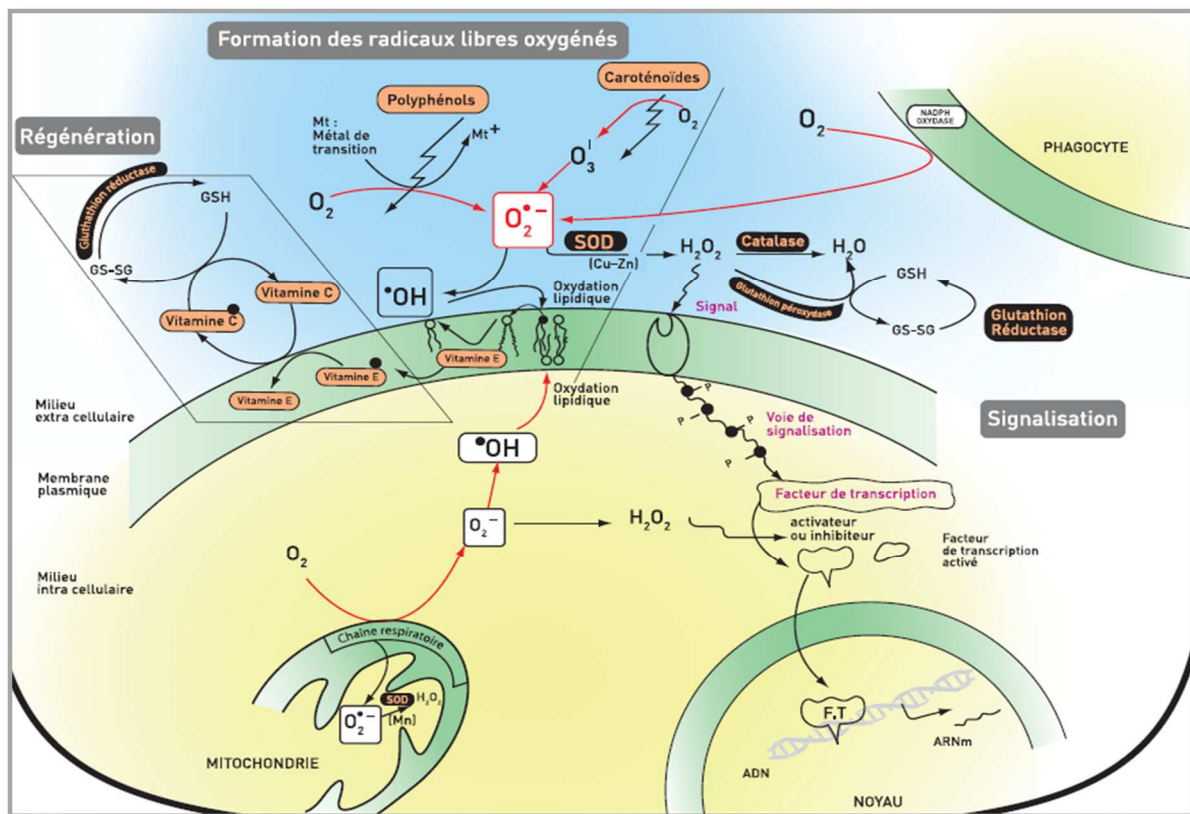


Figure 7: Mécanisme d'action des Espèces Réactives de l'Oxygène (Rock, 2006)

### **I.5.2.3. Les antioxydants naturels**

Les plantes constituent une source très importante d'antioxydants. Les antioxydants naturels dont l'efficacité est la plus reconnue aussi bien dans l'industrie agroalimentaire que pour la santé humaine sont les tocophérols, la vitamine C, les caroténoïdes, l'albumine, l'acide urique, les œstrogènes, les polyamines, les flavonoïdes, l'acide ascorbique, les composés phénoliques, etc. Les antioxydants peuvent stabiliser les membranes en diminuant leur perméabilité et elles ont également une capacité de lier les acides gras libres (Favier, 2003).

De nombreuses études ont mis en évidence des composés antioxydants dans divers végétaux (Kasuga *et al.*, 1988) comme par exemple le romarin (Wu *et al.*, 1982), la cosse de riz (Ramarathnam *et al.*, 1989), le thé (Amarowicz et Shahidi, 1996), la graine de sésame (Fukuda *et al.*, 1985) ou de colza (Wanasundara *et al.*, 1994), le gingembre (Jitoe *et al.*, 1992), etc. Les antioxydants d'origine naturelle semblent contribuer de manière significative à la prévention de certaines maladies telles que les cancers et les maladies cardiovasculaires.

L'intérêt porté aux antioxydants naturels, notamment de nature polyphénolique ne cesse de croître. Dans le domaine de la nutrition, il s'agit d'étudier de nouvelles molécules pour la prévention et/ou le traitement de certaines maladies liées au vieillissement. Ces dernières années, de nombreuses classes de substances naturelles ont été étudiées et le nombre de composés reconnus pour leurs propriétés antioxydantes intéressantes ne cesse de croître.

Les polyphénols, et particulièrement les flavonoïdes peuvent agir de différentes façons dans les processus de régulation du stress oxydant : soit par la capture directe des espèces réactives de l'oxygène, soit par chélation des métaux de transition comme le fer (empêchant ainsi la réaction de Fenton) ou par inhibition de l'activité de certaines enzymes responsables de la production d'ERO. Sous certaines conditions, les flavonoïdes sont cependant susceptibles de se comporter comme agents prooxydants et d'engendrer une altération des protéines, de l'ADN ou encore des lipides membranaires et des glucides (Siess *et al.*, 2000 ; Favier, 2003).

## **I.6 - LA MALADIE D'ALZHEIMER (MA)**

### **I.6.1- Introduction**

Avec le vieillissement de la population, la MA est devenue un problème majeur de santé publique. Outre la prise de conscience générale des problèmes que pose cette maladie, son coût global pour la société, déjà très élevé, ne devrait cesser de s'alourdir car sa prévalence croît d'une manière exponentielle avec l'âge. Les progrès effectués ces dernières années, tant sur le plan physiopathologique, clinique et thérapeutique, sont considérables (WAR, 2010 ; HAS, 2011). Le

souci actuel du clinicien doit être de diagnostiquer la maladie le plus précocement possible afin d'instaurer une prise en charge rapide et adaptée.

### **I.6.2- Définition**

La maladie d'Alzheimer (MA) du nom du neuropsychiatre allemand Aloïs Alzheimer (1864-1915), est une maladie dégénérative et évolutive du cerveau qui engendre un déclin progressif des facultés cognitives, notamment la faculté de penser et la mémoire (HAS, 2011).

### **I.6.3- Description clinique**

La MA est principalement caractérisée par une détérioration progressive, irréversible et durable de certaines régions de certaines cellules du cerveau qui affecte à terme le fonctionnement intellectuel (mémoire, orientation, jugement, langage, et capacité à acquérir de nouvelles connaissances) et comportemental (exercer son jugement) d'un individu. Avec le temps, la vie quotidienne est compromise (WAR, 2010 ; HAS, 2011).

### **I.6.4- Prévalence**

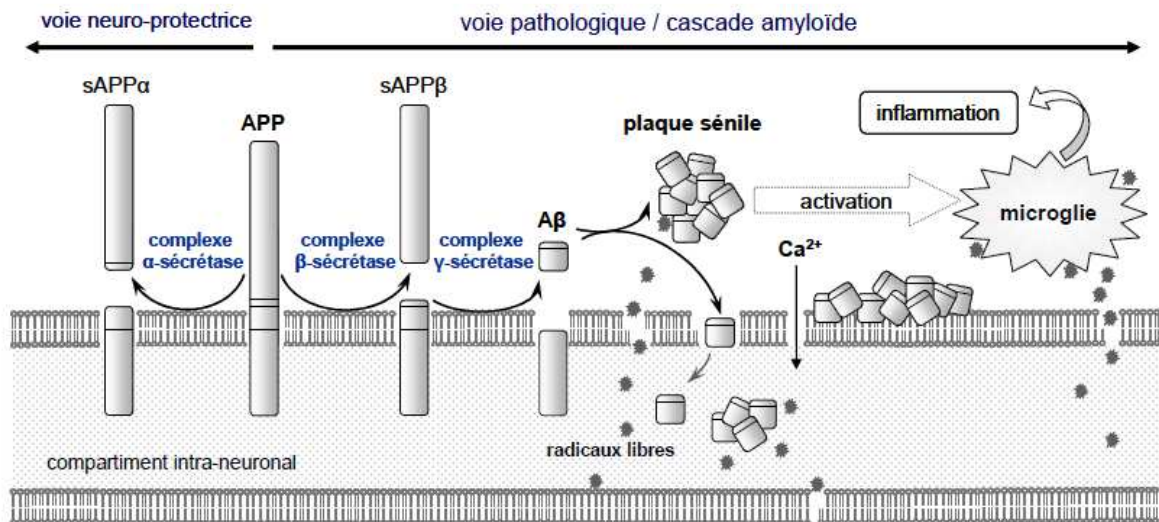
Un siècle après sa découverte, la MA est la forme de démence sénile la plus répandue (80 % des cas) et touche 24 millions de personnes à travers le monde. Ce chiffre pourrait atteindre les 81 millions en 2040, notamment à cause du vieillissement de la population (Ferri *et al.*, 2005). En effet, bien qu'elle ne soit pas directement causée par l'âge, cette pathologie concerne 3% des personnes âgées de plus de 65 ans, et 20% des plus de 85 ans. Ainsi, 60% des personnes touchées par la MA vivent dans les pays développés, où l'espérance de vie est plus longue (Letenneur *et al.*, 1993 ; (WAR, 2010 ; HAS, 2011).

### **I.6.5- Neuropathologie**

Bien qu'il existe de nombreux tests permettant de mettre en évidence les démences séniles, le diagnostic de la maladie d'Alzheimer ne peut se faire avec certitude que par l'examen histopathologique *post mortem* du cerveau, révélant une atrophie marquée, ainsi que des lésions caractéristiques et la dégénérescence neurofibrillaire (Alzheimer, 1897).

#### **I.6.5.1- Peptide $\beta$ -amyloïde et plaques séniles**

Les plaques séniles formées à la surface des neurones génèrent des radicaux libres qui entraînent des lésions au niveau du neurone et une entrée massive de calcium dans la cellule (Mattson et Goodman, 1995; Mark *et al.*, 1996). De plus, elles activent anormalement la microglie qui, au lieu de phagocyter le peptide A $\beta$ , provoque des réactions inflammatoires ainsi qu'une augmentation des radicaux libres (Kawakami *et al.*, 2004; Wilkinson et Landreth, 2006).



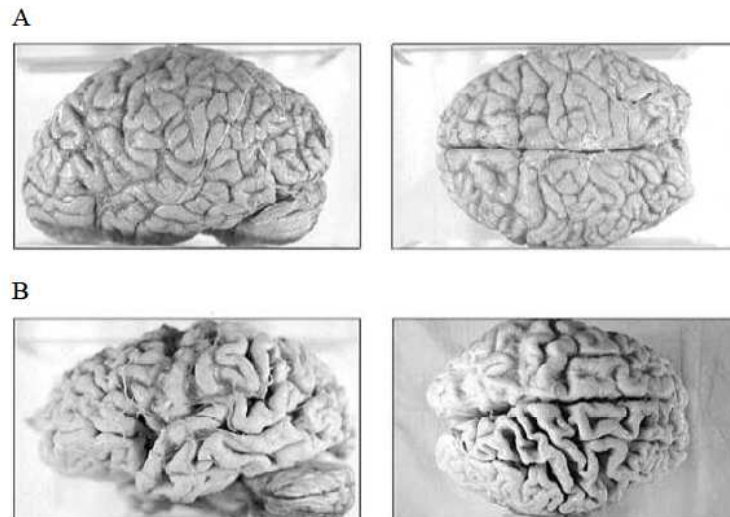
**Schéma 10:** La cascade amyloïde (Urbain, 2007).

Le résultat de cette cascade de réactions est la mort des neurones par apoptose (Floden *et al.*, 2005). Cette hypothèse de réactions en chaîne, dont le point de départ est le peptide Aβ, est couramment admise et appelée cascade amyloïde (Hardy et Higgins, 1992).

#### I.6.5.2. Perte neuronale et déficit cholinergique

La mort des neurones intervient principalement au niveau de l'hippocampe, zone impliquée dans la mémoire épisodique et spatiale ainsi que dans l'apprentissage, au niveau du cortex entorhinal impliqué dans la mémoire associative, et au niveau du noyau basal de Meynert (Whitehouse *et al.*, 1982; Jessen *et al.*, 2006). Il en résulte une atrophie marquée du cerveau chez les patients au stade avancé de la maladie (Fig. 8). Ces zones situées dans la partie basale du cerveau antérieur sont les principales sources d'innervation cholinergique (Schliebs et Arendt, 2006), entraînant un déficit en acétylcholine chez les personnes atteintes par la MA (Richter *et al.*, 1980).

L'acétylcholine est un neurotransmetteur essentiel, impliqué aussi bien dans les processus d'apprentissage, de concentration, de mémorisation à court ou long terme, que dans le système nerveux périphérique (Drachman et Leavitt, 1974). Par ailleurs, il a été démontré que l'enzyme catalysant la synthèse de l'acétylcholine, la choline acétyltransférase, est nettement déficitaire chez les personnes atteintes de la maladie d'Alzheimer (Perry *et al.*, 1977; Rossor *et al.*, 1982; Rinne *et al.*, 1988) ; Ces observations ont conduit à l'hypothèse cholinergique (Bartus *et al.*, 1982), ce qui stipule que les troubles cognitifs de la maladie sont principalement dus à un déficit cholinergique, et que ces dysfonctionnements peuvent être atténués par l'utilisation d'agonistes cholinergiques (Cummings et Back, 1998; Francis *et al.*, 1999).



**Figure 8:** Atrophie cérébrale. A) cerveau d'une personne âgée saine. B) cerveau d'une personne atteinte de la maladie d'Alzheimer (Tys, 2001).

### I.6.6- Symptômes

La MA est une maladie progressive assez lente. Les premières manifestations de la maladie sont le plus souvent des troubles de la mémoire (75 % des cas). Puis, à ces troubles de la mémoire et du langage viennent s'ajouter des problèmes de motricité et d'orientation dans l'espace et le temps. L'intensité de ces symptômes évolue avec la maladie, et la personne atteinte d'Alzheimer finit par avoir des difficultés à accomplir les tâches de la vie quotidienne, comme se laver ou s'habiller. De nombreux patients présentent également des troubles psycho-comportementaux plus ou moins marqués : brusques sautes d'humeur, agressivité, anxiété, dépression, voire hallucinations ou paranoïa (Lanari *et al.*, 2006). Au stade le plus avancé de la maladie, le patient ne reconnaît plus ses proches, peut devenir inconscient, et doit souvent être admis dans un centre d'accueil spécialisé.

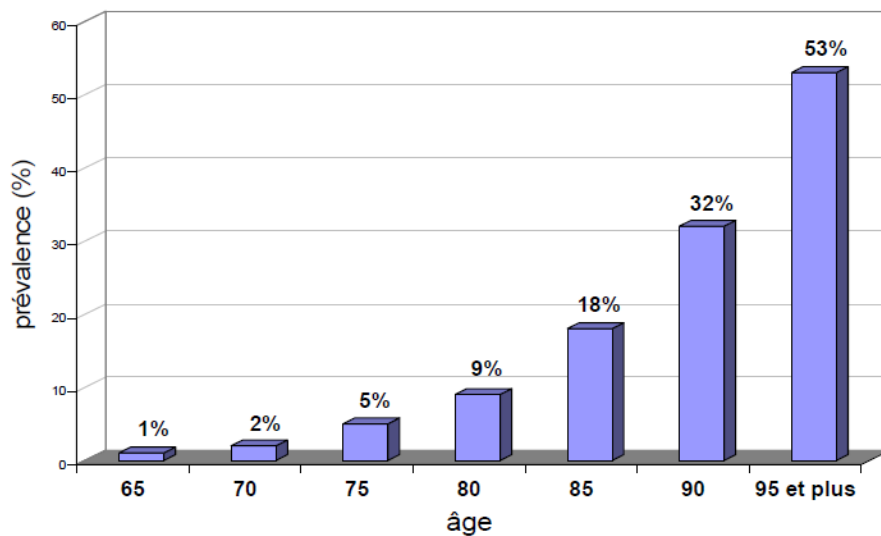
Cependant, bien que la progression de la maladie suive le même schéma, son intensité peut varier d'une personne à une autre en fonction des conditions de vie, de l'âge et de l'état de santé général du sujet. La maladie se termine invariablement par le décès de la personne.

### I.6.7- Causes

Les causes de la MA restent inconnues. Toutefois, l'âge est le facteur de risque le plus évident ; en effet, bien que cette neuropathologie ne s'inscrive pas dans le processus normal du vieillissement, les différentes études sur la prévalence de la maladie indiquent que le risque de développer la MA augmente avec l'âge. D'une manière générale, les nombreuses études entreprises ces dernières années mettent en avant l'influence de deux types de facteurs : les facteurs héréditaires et les facteurs de risque dits aussi environnementaux. Alors que les premiers



sont pour la plupart bien identifiés, les seconds sont souvent sujets à controverse (Dartigues *et al.*, 1991 ; Lai *et al.*, 2003 ; D'Introno *et al.*, 2006).



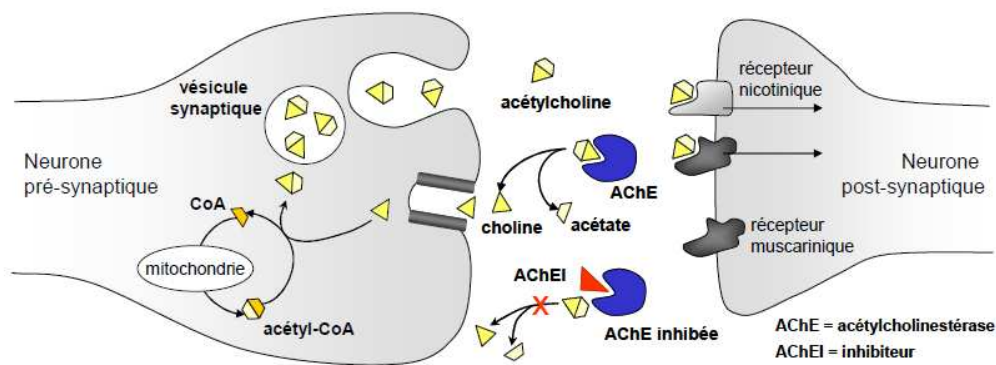
**Figure 9 :** Prévalence de la maladie d'Alzheimer selon l'âge. (Letenneur *et al.*, 1993)

Au-delà de ces facteurs intrinsèques que sont l'âge et le sexe, d'autres déterminants externes sont à l'étude, tel que la consommation de tabac ou d'alcool, ou l'influence de l'aluminium. Cependant, les travaux qui tiennent également compte d'autres paramètres tels que le niveau d'éducation ou d'occupation infirment ces résultats (Dartigues *et al.*, 1991; Hebert *et al.*, 1992; Letenneur *et al.*, 2004). En effet, le niveau d'éducation et l'activité intellectuelle seraient des facteurs influençant le développement de la MA, avec toutefois des observations contradictoires (Letenneur *et al.*, 1999; Fritsch *et al.*, 2002; Wilson *et al.*, 2004; Caamano-Isorna *et al.*, 2006). Là encore, l'importance des corrélations entre les différents facteurs est soulignée (Garcia *et al.*, 2001). En ce qui concerne la consommation d'alcool, elle semble n'avoir pas ou peu d'incidence sur le risque de développer une démence de type Alzheimer (Hebert *et al.*, 1992; Ruitenberg *et al.*, 2002; Letenneur *et al.*, 2004). L'aluminium suscite également des débats depuis que des traces ont été identifiées dans les zones lésées du cerveau (Shin *et al.*, 1995).

### **I.6.8- Traitements pharmacologiques**

A ce jour, la maladie d'Alzheimer reste incurable. Il existe cependant des traitements permettant d'atténuer les troubles cognitifs, sans toutefois empêcher la progression de la maladie. La plupart agissent sur l'activité cholinergique (Pepin et Delwaide, 1999), mais d'autres voies d'action sont à l'étude, visant notamment à empêcher la production de peptide  $\alpha\beta$  (Wolfe, 2002). Nous nous limiterons ici à quelques traitements disponibles sur le marché, et principalement ceux qui inhibent l'acétylcholinestérase.

L'acétylcholinestérase (AChE) est une enzyme présente dans le tissu neuronal qui permet la régulation de l'influx nerveux : en dégradant l'acétylcholine résiduelle issue d'une neurotransmission, elle libère la fente synaptique en vue d'une éventuelle nouvelle transmission, permettant ainsi le passage des informations. Chez les personnes atteintes de la MA, le taux d'acétylcholine est particulièrement bas, ce qui explique les troubles cognitifs observés. L'une des solutions pour augmenter le taux d'acétylcholine au niveau synaptique consiste alors à diminuer sa dégradation, ceci en inhibant l'action de l'acétylcholinestérase.



**Schéma 11:** Une synapse et les mécanismes de neurotransmission cholinergique.

C'est sur la base de cette hypothèse que sont apparus sur le marché les inhibiteurs de l'AChE (Grossberg, 2003; Recanatini et Valenti, 2004). Depuis, il a été mis en évidence que cette enzyme, en plus de son rôle dans la dégradation cholinergique, accélère la formation des plaques amyloïdes (Alvarez *et al.*, 1995; Inestrosa *et al.*, 1996) ; ceci renforce l'intérêt de découvrir de nouveaux inhibiteurs de l'acétylcholinestérase.

Les plus courants sur le marché sont :

- **La physostigmine ou éserine (26)**, cet alcaloïde naturel est le premier inhibiteur de l'AChE à avoir été testé dans le cadre de la MA. Elle est issue des fèves de Calabar (*Physostigma venenosum* Balf., Fabaceae). Son affinité pour l'AChE est 10 000 fois supérieure à celle de l'acétylcholine, ce qui en fait un parasymphomimétique très puissant qui entraîne bradycardie, vomissements et paralysie respiratoire (Robinson et Robinson, 1968; Bruneton, 1999).

- **La tacrine (Cognex) (27)** a été le premier inhibiteur commercialisé dans le cadre du traitement symptomatique de la MA en 1993, mais a été abandonnée depuis à cause de ses nombreux effets secondaires (toxicité hépatique, troubles digestifs et cutanés) et d'une demi-vie courte qui nécessitait quatre prises par jour, ce qui est problématique pour des personnes souffrant de pertes de mémoire (Augry *et al.*, 1997).

- **Le donépézil (Aricept) (28)** est apparu trois ans plus tard, présentant moins d'effets secondaires et surtout une demi-vie plus longue, ce qui facilite considérablement la prise du traitement (Rogers et Friedhoff, 1997). De plus le donépézil interagit peu avec d'autres médicaments, ce qui permet de le combiner avec d'autres traitements tels que des psychotropes.

- **La rivastigmine (Exelon) (29)**, un dérivé de la physostigmine, pour le traitement symptomatique des formes légères à modérément sévères de la MA (Agid *et al.*, 1998; Spencer et Noble, 1998). Sa sélectivité pour la cholinestérase cérébrale ainsi que son métabolisme indépendant du système enzymatique hépatique permettent une action ciblée tout en limitant les effets secondaires et les interactions médicamenteuses (Polinsky, 1998).

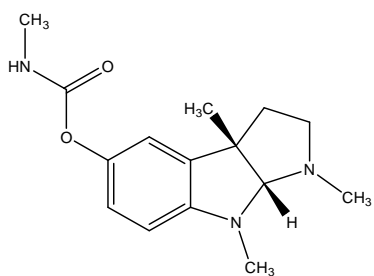
- **La galantamine (Reminyl) (30)**, issue du perce-neige commun (*Galanthus nivalis* L., Amaryllidaceae). A la différence des précédents inhibiteurs, la galanthamine présente un double mécanisme d'action : en plus d'inhiber l'AChE, elle provoque une modulation allostérique des récepteurs nicotiques présynaptiques, ce qui augmente la libération de neuromédiateurs. Des études récentes ont par ailleurs démontré un effet favorable de la galanthamine sur la production du peptide neuroprotecteur sAPP $\alpha$  (Maelicke *et al.*, 2001 ; Lenzken *et al.*, 2007).

- **L'huperzine A (31)**, un alcaloïde naturel autorisé dans le traitement des symptômes de la MA, mais pour l'instant uniquement en Chine, où il a fait l'objet de nombreuses études (Zhu *et al.*, 2006) ; il provient d'un lycopode chinois : *Huperzia serrata* (Thunb.) Trevis (Lycopodiaceae) (Liu *et al.*, 1986; Ashani *et al.*, 1992). Cet inhibiteur réversible spécifique de l'AChE présente une demi-vie relativement longue et améliore les capacités cognitives des patients sans provoquer d'effets secondaires lourds (Zhang *et al.*, 2006).

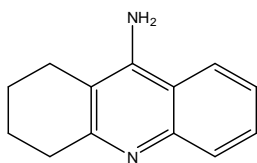
- **Le métrifonate (32)** est un organophosphate utilisé dans le traitement de la schistosomiase. Des études ont montré que cette substance, après conversion naturelle non-enzymatique, génère une molécule présentant une activité inhibitrice de l'AChE : le 2,2-dichlorovinyl diméthyl phosphate (**33**), encore appelé dichlorvos ou DDVP (Williams, 1999). Ce médicament n'a pas encore obtenu d'autorisation de mise sur le marché pour le traitement symptomatique de la MA.

De nombreuses molécules d'origine naturelle se sont révélées inhibitrices de l'activité de l'AChE lors de tests *in vitro*, que ce soit des alcaloïdes ou d'autres classes de composés ; ces molécules proviennent en grande partie de plantes, mais également d'organismes marins tels que des coraux ou des éponges, ou encore de microorganismes (Hostettmann *et al.*, 2006).

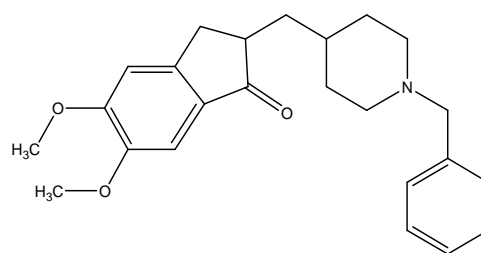
Néanmoins, peu de ces métabolites ont fait l'objet de tests sur des modèles animaux.



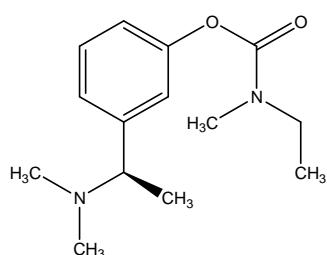
(26)



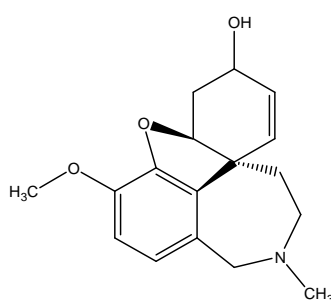
(27)



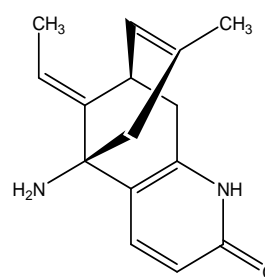
(28)



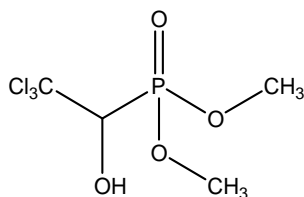
(29)



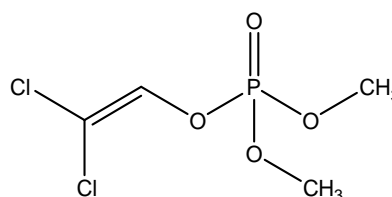
(30)



(31)



(32)



(33)

## I.6.9- Méthodes de détection des inhibiteurs des cholinestérases

Afin de détecter de nouveaux inhibiteurs potentiels de l'acétylcholinestérase, plusieurs méthodes sont disponibles. Les principales reposent sur des tests colorimétriques, telles que la méthode d'Ellman et la méthode bioautographique au Fast Blue B.

## I.7- LES MALADIES INFECTIEUSES

### I.7.1- Généralités

Il y a quelques décennies, les maladies infectieuses semblaient être maîtrisées grâce à la généralisation des mesures d'hygiène et à l'utilisation des antibiotiques et des vaccins. Les progrès scientifiques et technologiques laissaient même croire à une possible éradication de nombreuses pathologies ; celle de la variole à la fin des années 1970 par la vaccination généralisée en a été le symbole (Sansonetti et Orth, 2006). La résurgence des maladies

infectieuses et des parasitoses ajoutée à l'émergence régulière de nouveaux agents infectieux ont démenti ce pronostic optimiste. Les faits sont éloquents :

(i) la permanence d'endémies dans les pays en développement et leurs corollaires, le risque de pathologies d'importation dues à l'explosion des voyages intercontinentaux et à la globalisation du commerce ;

(ii) la résistance des microbes aux antibiotiques et antiparasitaires disponibles ;

(iii) le sida et les hépatites (B et C) devenus endémiques ;

(iv) les toxi-infections d'origine alimentaire ;

(v) les infections acquises en milieu hospitalier (ou infections nosocomiales) ;

(vi) la menace de catastrophes économiques dues à la résurgence d'épizooties avec le risque croissant de transmission à l'homme ;

(vii) les risques plausibles du bioterrorisme ; sans oublier l'impact du réchauffement global de la planète sur les agents infectieux, leurs réservoirs et leurs vecteurs (Connolly *et al.*, 2004; Desenclos et De-Valk, 2005).

### **I.7.2- Prévalence et fardeau économique des maladies infectieuses**

Avec une mortalité de près de 15 millions chaque année, les maladies infectieuses et parasitaires sont responsables de 26,3 % des décès causés par l'ensemble des maladies et des traumatismes survenant sur la planète (OMS, 2002). Les principaux types d'infections responsables de décès sont les infections respiratoires aiguës (3,1 millions), le VIH/sida (1,5 - 2,7 millions, avec 1,6 million pour l'Afrique), les maladies diarrhéiques (2 millions avec 760 000 enfants), la tuberculose (1,6 million) et le paludisme (660 000 décès) par an. La rougeole cause encore 745 000 décès en dépit de l'existence d'un vaccin efficace, bien toléré et abordable (Sansone et Orth, 2006 ; Onusida, 2013 ; OMS, 2013 ; OMS, 2014).

L'Afrique et l'Asie du Sud-est supportent la plus forte charge de mortalité. Plus de 90 % des maladies infectieuses humaines surviennent dans les pays en voie de développement, particulièrement chez les enfants, dans les régions les plus déshéritées, où l'hygiène générale et individuelle est insuffisante et où les politiques de prévention sont inexistantes, inadaptées ou insuffisamment financées (McMichael, 2004).

Cependant, le développement industriel génère aussi dans les pays industrialisés de nouvelles conditions d'émergence infectieuse, comme les infections alimentaires par des agents prenant avantage de la chaîne du froid ou de l'industrialisation de la chaîne alimentaire, les infections nosocomiales survenant dans un environnement hospitalier de plus en plus complexe,

alors que la multi-résistance va croissante, les infections opportunistes chez les patients immuno-compromis et les infections des voyageurs (McMichael et Butler, 2004). Il est également important de signaler qu'un pourcentage important de cancers (de 15 à 20 %) sont probablement causés par un agent infectieux, viral ou bactérien (Sansone et Orth, 2006). Les cancers du foie, du col utérin et de l'estomac pourraient être quasi éradiqués par la mise au point ou l'utilisation (lorsque disponibles) de vaccins, respectivement contre les virus des hépatites B (vaccin disponible) et C, certains papillomavirus (vaccins en partie disponibles) et *Helicobacter pylori*. Il est par ailleurs probable que des infections constituent un facteur de risque dans l'étiologie de maladies touchant une large fraction de la population du globe, telles que l'athérosclérose avec *Chlamydia pneumoniae* (Yamashita *et al.*, 1998) et le diabète avec *Helicobacter pylori* (Jeon *et al.*, 2012).

Les décès et la morbidité liés aux maladies infectieuses et parasitaires humaines ont un coût économique et social considérable et un effet sur la croissance qui peuvent être évalués globalement en incorporant les coûts directs imputables aux soins médicaux et les coûts indirects imputables à la réduction d'années d'espérance de vie et de productivité dus à des morts prématurées ou à des complications chroniques. Ce poids porte essentiellement sur les populations les plus défavorisées de la planète (McMichael et Butler, 2004). Il va sans dire que la prévention et le contrôle des maladies infectieuses dans les régions endémiques représente une approche socio-économique rentable autant qu'humaniste (OMS, 2002 ; Sansone et Orth, 2006).

### **I.7.3- Agents infectieux : Microbes et Parasites**

Les organismes causant les infections chez l'homme appartiennent à une très large gamme de groupes taxonomiques et vont des virus aux vers.

#### **I.7.3.1- Les virus**

Les virus infectent toutes les formes de vie, des bactéries à l'homme en passant par les champignons, les plantes et les animaux (Mims *et al.*, 1993). Ils portent l'information génétique dans leur ADN ou ARN, mais étant métaboliquement inertes par eux-mêmes, ils ne peuvent se répliquer qu'après avoir infecté un hôte, parasitant ainsi l'habilité de l'hôte à transcrire l'information génétique (Kayser *et al.*, 2008).

### **I.7.3.2- Les bactéries**

Les bactéries sont des cellules procaryotes avec une organisation cellulaire caractéristique; elles ont un effet bénéfique direct ou indirect soit pour leur potentiel usage commercial, soit pour leur action sur l'organisme humain (flore commensale) ou sur l'environnement dans lequel nous vivons (Mims *et al.*, 1993). Par rapport au grand nombre de bactéries vivant librement, il y en a relativement peu qui causent des pathologies avec un impact important sur le bien-être des humains. Leur importance est telle que les principales ont été bien étudiées et sont actuellement bien connues. Cependant de nouveaux pathogènes continuent à émerger entraînant l'apparition d'infections non encore connues. Ainsi des cas d'infections à *Photorhabdus asymbiotica*, bactérie pourtant entomopathogène, ont été récemment signalés aux Etats-Unis et en Australie (Costa *et al.*, 2010).

### **I.7.3.3- Les champignons parasites**

Les champignons sont des microorganismes eucaryotes dont 200 seulement, parmi plus d'un million d'espèces existantes, ont été décrits jusqu'à présent comme agents infectieux chez l'homme. Seulement une douzaine de ces espèces pathogènes sont responsables de 90 % des mycoses. De nombreuses mycoses sont relativement bénignes, c'est le cas des dermatomycoses. Cependant, ces dernières années, le nombre de mycoses menaçant le pronostic vital a augmenté, de par notamment l'augmentation du nombre de patients présentant un déficit immunitaire, quelle qu'en soit la cause. La plupart des champignons pathogènes vivent librement ; ils entrent dans l'organisme de l'hôte par inhalation ou à travers les plaies. Certains existent dans la flore normale du corps humain (*Candida*) et sont inoffensifs à moins qu'il y ait une défaillance des défenses immunitaires (Kayser *et al.*, 2008).

### **I.7.3.4- Les protozoaires**

Les protozoaires sont des eucaryotes unicellulaires vivant librement dans l'environnement, mais parasitant l'homme. Ils causent ainsi des infections dont la prévalence est particulièrement importante dans les pays chauds. La transmission des parasites protozoaires se fait principalement par deux voies, les piqûres d'insectes suceurs de sang et l'ingestion accidentelle d'agents infectieux. La restriction géographique de certaines espèces est due à la distribution des insectes vecteurs et/ou aux conditions climatiques nécessaires pour compléter le développement du parasite dans l'insecte (Sansone et Orth, 2006). Les infections acquises par voie orale dépendent peu des conditions climatiques, cependant la transmission oro-fécale est

favorisée par de mauvaises conditions sociales et hygiéniques, ainsi que par une augmentation de la survie des agents infectieux dans des conditions chaudes et humides (McMichael, 2004).

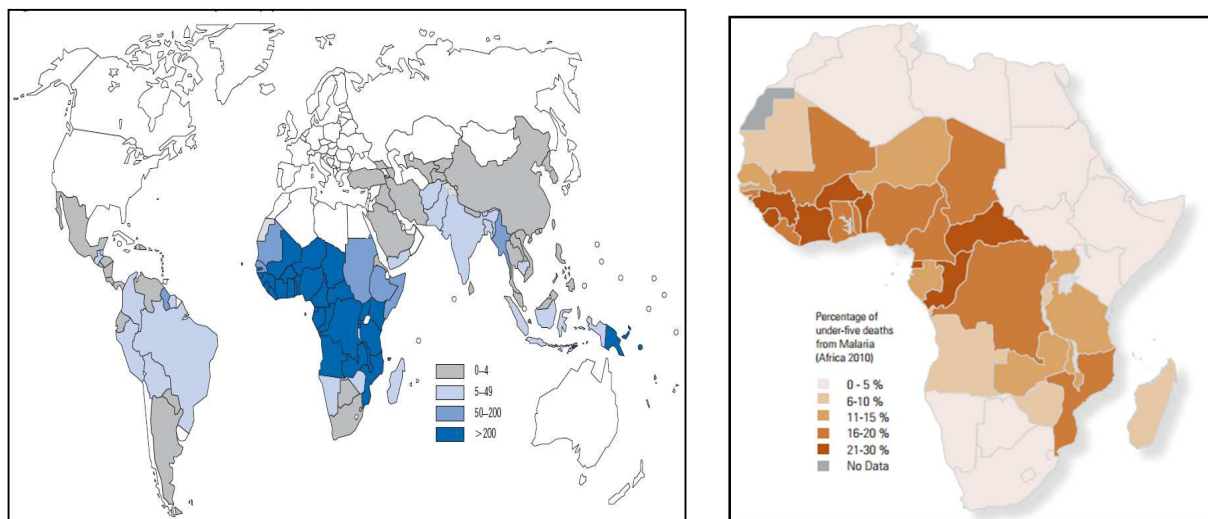
## I.7.4- Cas du paludisme

### I.7.4.1- Définition

Le paludisme ou malaria est une infection parasitaire des hématies, causée par quatre espèces de *Plasmodium* (*falciparum*, *ovale*, *malariae* et *vivax*), transmises à l'homme par un moustique femelle du genre Anophèle.

### I.7.4.2- Manifestations, épidémiologie et fardeau économique

Le paludisme se manifeste généralement par des accès de fièvre, des maux de tête et des vomissements (Kayser *et al.*, 2008). La forme la plus virulente et létale est due au *Plasmodium falciparum*, espèce que l'on trouve surtout en Afrique subsaharienne, mais qui se propage à d'autres régions du monde telles que l'Asie du Sud-Est et qui réapparaît dans les zones où il avait été éradiqué. La seconde espèce la plus fréquente, *P. vivax*, est rarement fatale et se trouve notamment en Asie, dans certaines parties de l'Amérique, dans le Sud de l'Europe et en Afrique du Nord (Murray *et al.*, 2009). Parmi la quarantaine d'espèces d'anophèles transmettant la malaria humaine, l'espèce *Anopheles gambiae*, la plus compétitive et la plus difficile à combattre, est trouvée exclusivement en Afrique dans les régions où sont réunies les meilleures conditions (pluviosité, température, humidité) pour sa reproduction et sa survie.



**Figure 10:** Répartition des cas de paludisme dans le monde et en Afrique selon l'OMS (Aregawi *et al.*, 2008 ; WHO, 2013).

Les catégories de population les plus touchées par la malaria sont les enfants de moins de cinq ans, les femmes enceintes et les personnes immuno-déficientes. En 2012, sur les 207



millions de cas de paludisme enregistrés, il y a eu 627 000 décès. Avec 80 % de ces décès survenant chez des enfants vivant dans 14 pays d'Afrique, où un enfant meurt de paludisme chaque minute. La République démocratique du Congo et le Nigéria représentent plus de 40 % du total estimé de décès dus au paludisme à l'échelle mondiale (WHO, 2013). Le paludisme constitue une entrave majeure au développement des pays où il sévit par le drame qu'il engendre sur le plan aussi bien humain, sanitaire que socio-économique. Dans les milieux ruraux, les paysans peuvent rater des saisons de culture ou de récolte, exposant ainsi leurs familles à la famine et à un manque de revenus (Holding et Snow, 2001).

On estime que, dans les pays fortement impaludés, les dépenses liées au paludisme représentent environ 40 % du budget alloué au secteur de santé publique ; les familles dépensent 25 % de leur revenu pour la prévention et le traitement du paludisme (WHO, 2010).

### **I.7.5- Relation hôte-bactéries pour les maladies infectieuses**

Certains microorganismes coexistent avec l'hôte dans une relation équilibrée, ils constituent ce qu'on appelle la flore indigène ou flore commensale du corps que l'on retrouve chez des individus bien portants. Certaines de ces espèces sont bénéfiques pour l'hôte, leur importance étant mise à mal par l'antibiothérapie (Murray *et al.*, 2009).

Une infection se développe quand un agent pathogène pénètre dans l'organisme, s'y multiplie et fait apparaître des symptômes de la maladie suite à des lésions cellulaires ou à des réactions immunitaires (Mims *et al.*, 1993). Les vertébrés ont toujours été exposés aux infections microbiennes depuis des centaines de millions d'années. Comme résultat de ce contact constant pouvant engendrer la maladie ou la mort, ils ont développé des systèmes de reconnaissance des invasions étrangères hautement efficaces, avec des réponses immunitaires et inflammatoires pour restreindre la croissance et la propagation des microorganismes ainsi que pour les éliminer du corps. Si ces réponses étaient totalement efficaces, il y aurait très peu d'infections microbiennes, les microorganismes ne pouvant pas persister dans l'organisme de l'hôte (Kayser *et al.*, 2008).

### **I.7.6. Traitement des maladies infectieuses**

La prise en charge et la prévention des maladies infectieuses se réalise essentiellement par l'usage des médicaments (chimiothérapie), l'utilisation des vaccins (immunisation) et des mesures d'assainissement de l'environnement (meilleures conditions d'hygiène, de nutrition, etc.) (Walsh, 2003). La chimiothérapie et l'immunisation diffèrent sur plusieurs points (Walsh, 2003 ; Geddes, 2005 ; Murray *et al.*, 2009):

- **Spécificité** : au niveau des antibiotiques, elle constitue leur habilité à détruire les cellules du microbe et non celles de l'hôte, ce qui suppose que l'antibiotique devrait idéalement toucher

une cible présente uniquement dans le microbe. La spécificité des vaccins est assez différente, car les cibles spécifiques sur lesquelles ils doivent agir existent déjà chez l'hôte, dans le système immunitaire, et demandent seulement à être activées.

- **Résistance** : Le développement de la résistance affecte aussi bien les antibiotiques que les vaccins.

- **Observance et praticabilité** : Une différence majeure entre antibiotiques et les vaccins réside dans le fait que les antibiotiques sont destinés à soigner une pathologie et doivent être administrés régulièrement, tandis que les vaccins sont destinés à prévenir la pathologie et sont administrés quelques fois seulement, souvent une seule fois.

Une autre approche pour combattre les maladies infectieuses repose sur l'aspect épidémiologique. L'épidémiologie concerne les moyens par lesquels les maladies surviennent, se propagent et s'éradiquent dans une communauté ; les études épidémiologiques peuvent donc contribuer efficacement à prendre des mesures nécessaires au contrôle d'une maladie. Par exemple, si une maladie infectieuse est transmise par un insecte vecteur, une stratégie alternative d'attaque repose sur le contrôle du vecteur ; la transmission par voie oro-fécale peut être prévenue par la surveillance de la qualité de l'eau et de l'évacuation des eaux usées ; les infections se transmettant par les produits sanguins peuvent être en partie contrôlées par des dépistages systématiques au niveau des centres de transfusion.

Enfin l'hôpital constitue un environnement où le contrôle est particulièrement crucial ; on y trouve en effet des patients souffrant de plusieurs pathologies, dont les infections qui se propagent facilement dans cet environnement confiné. Il existe de nombreux médicaments combattant les maladies infectieuses, mais le développement rapide des résistances suscite à rechercher de nouvelles molécules ou d'envisager d'autres moyens pour combattre celles-ci.

#### **1.7.6.1- Traitement d'infections bactériennes : les antibiotiques**

Les antibiotiques sont des molécules d'origine naturelle, semi-synthétique ou synthétique qui arrêtent la croissance des microorganismes ou les tuent. Les antibiotiques qui stoppent la croissance des microbes sont bactériostatiques, ceux qui tuent les microbes sont bactéricides. Certains antibiotiques peuvent être bactériostatiques dans certaines circonstances, et bactéricides dans d'autres (Walsh, 2003). Les antibiotiques sont destinés à bloquer sélectivement des processus cruciaux dans les cellules microbiennes. La plupart des molécules introduites en thérapeutique des maladies infectieuses dans les 60 dernières années ont été des produits naturels, élaborés par des microorganismes dans des conditions particulières pour affecter les microbes voisins, soit pour réguler leur croissance, soit tout simplement pour les tuer (Murray *et al.*, 2009).

Les produits naturels possédant l'activité antimicrobienne sont des produits du métabolisme secondaire aux voies primaires et fonctions vitales du métabolisme. Lorsque les microorganismes producteurs d'antibiotiques entrent en phases stationnaires de croissance et font face à une compétition pour l'espace vital et les substances nutritives, ils déclenchent les gènes qui encodent la production des molécules d'antibiotiques et les utilisent pour réguler la croissance de leurs voisins. Les producteurs d'antibiotiques ont ainsi un avantage sélectif de croissance, y compris d'accès aux substances nutritives par rapport à leurs voisins mourants (Walsh, 2003). La production d'antibiotiques par les microbes nécessite des mécanismes de "self-protection" des producteurs afin de se protéger de l'action létale des antibiotiques.

Les antibiotiques sont groupés en classes en rapport avec leurs cibles dans les bactéries. Il y a quatre principales cibles :

- La synthèse de la paroi bactérienne
- La synthèse des protéines par les bactéries
- La synthèse de l'ADN ou de l'ARN bactérien
- La synthèse des folates

Le développement rapide de résistances nécessite la poursuite des recherches en vue de trouver de nouveaux antibiotiques et de prolonger la durée d'utilisation des antibiotiques existants. Parmi les stratégies envisageables, il y a la recherche de nouvelles cibles, la recherche de nouvelles molécules et la recherche de composés non-antibiotiques pouvant soigner les infections.

- **Recherche de nouvelles cibles**

Les biologistes caractérisent sans cesse de nouveaux gènes ou enzymes essentiels à la survie des bactéries ou à leur virulence. C'est à partir de ces cibles moléculaires que les laboratoires de recherche envisagent les antibiotiques du futur, qu'il s'agisse des modifications de molécules actuelles ou de molécules radicalement nouvelles (Tytgat *et al*, 2009). La plupart des antibiotiques actuels proviennent du criblage des produits naturels et ont été choisis surtout de manière empirique, en fonction de leur effet antibactérien, de leur pharmacocinétique ainsi que de leur toxicité. Dans bien des cas, on ne connaissait pas leur mécanisme d'action. Leur cible réelle (enzyme ou gène bactérien) n'a été identifiée que pendant ou après leur développement clinique (Walsh, 2003). Actuellement, les antibiotiques sont groupés en quelques grandes classes chimiques dont chacune agit sur un mécanisme biologique vital pour l'agent infectieux. Mais un nombre croissant de souches microbiennes, en particulier en milieu hospitalier, devient résistant à ces médicaments, ce qui pose un sérieux problème de santé publique (Perry et Hall, 2009). L'exploration des processus métaboliques essentiels des bactéries et la caractérisation des

enzymes qui les catalysent constituent donc des voies importantes de recherche de nouveaux points d'attaque potentiels. Cela permet d'espérer la mise au point de nouveaux antibiotiques contre lesquels les bactéries n'ont encore développé aucune résistance. Autrefois empirique, la démarche des laboratoires devient donc plus rationnelle : c'est à partir des protéines cibles parfaitement connues que des molécules inhibitrices sont recherchées, et certaines de ces molécules deviendront probablement les antibiotiques de demain (Falconer et Brown, 2009). Les laboratoires partent souvent des antibiotiques connus pour développer des dérivés plus actifs, soit en modifiant la molécule d'origine de manière à la faire agir sur une cible légèrement différente, soit en lui adjoignant un inhibiteur de résistance lorsque le mécanisme est connu. Dans certains cas, la modification structurale peut aboutir à un changement de mécanisme d'action.

La recherche basée sur les nouvelles cibles doit se faire dans le cadre d'une stratégie à plus long terme pour créer de nouvelles classes d'antibiotiques agissant sur des cibles jusqu'ici inexplorées.

#### - **Recherche de nouvelles molécules**

La recherche de nouveaux antibiotiques part de deux sources, les produits naturels et les composés synthétiques. Les produits naturels ont fourni de nombreux médicaments à la thérapeutique et ont servi à l'hémi-synthèse de beaucoup d'autres. L'objectif de molécules de synthèse entièrement nouvelles n'ayant pas rencontré le succès espéré, les laboratoires se sont intéressés aux antibiotiques existants en améliorant leur efficacité, stabilité, pharmacocinétique ou en diminuant les effets indésirables par des modifications chimiques. Cette approche a permis par exemple d'obtenir cinq générations de pénicillines, quatre générations de céphalosporines, deux générations de carbapénems (Lam, 2007). Une stratégie alternative dans la recherche de nouvelles molécules oriente diverses équipes de recherche vers les composés inhibant les mécanismes de résistance aux antibiotiques. Cette stratégie a déjà donné de bons résultats tels que le développement des inhibiteurs de  $\beta$ -lactamases (acide clavulanique, sulbactam, tazobactam), qui sont co-administrés avec des  $\beta$ -lactames (amoxicilline) donnant une combinaison de composés comme l'Augmentin.

#### **I.7.6.2- Traitement d'infections virales**

La prise en charge des infections virales se fait suivant deux options. La première consiste en une prévention par la vaccination ; c'est la meilleure option, elle permet de prévenir de nombreuses viroses telles que la poliomyélite, la rougeole, la rubéole, la varicelle, les hépatites A et B. Cependant il existe encore nombre de virus pour lesquels les vaccins ne sont pas disponibles (VIH, hépatite C, Ebola, etc.). La deuxième option, moins efficace et plus coûteuse,

repose sur un traitement curatif faisant appel aux antiviraux notamment pour le VIH ou la grippe. Cependant, pour de nombreuses maladies virales, une fois déclarées, il n'existe pas de traitement ; c'est le cas de la rougeole et de la rubéole (Kayser *et al.*, 2008). Les maladies virales doivent être prises au sérieux car les virus sont susceptibles à tout moment d'émerger (SARS), de muter (H5N1), de devenir résistants aux rares antiviraux disponibles (VIH), de provoquer des épidémies potentiellement dévastatrices (VIH) ou de franchir la barrière d'espèce (VIH) ; en outre les médicaments antiviraux sont en nombre très limité (beaucoup moins nombreux que les antibiotiques). Il faut cependant remarquer que les maladies virales sont parfois relativement bénignes, car nombre d'entre elles peuvent être contrées par notre système immunitaire et sont accessibles à la vaccination (Kayser *et al.*, 2008 ; Murray *et al.*, 2009).

### **I.7.6.3- Traitement d'infections fongiques**

Le traitement des infections fongiques fait appel à un nombre restreint d'antifongiques pouvant être classés comme suit.

(i) Les polyènes (Amphotéricine B, Nystatine) détruisent la structure de la membrane en se fixant sur les stérols membranaires.

(ii) Les azolés (Kétoconazole, Fluconazole, Itraconazole, etc.) inhibent la synthèse de l'ergostérol dans la membrane, action essentiellement fongistatique.

(iii) Le 5-fluorocytosine (Flucytosine) interfère avec la synthèse de l'ADN.

(iv) L'échinocandine inhibe la synthèse du glucane de la paroi cellulaire.

(v) L'allylamine inhibe la biosynthèse de l'ergostérol.

(vi) La griséofulvine inhibe la mitose des cellules fongiques (Walsh, 2003 ; Murray *et al.*, 2009).

Le développement de nouveaux antifongiques demeure nécessaire étant donné que les champignons, comme les autres microorganismes pathogènes, développent des mécanismes de résistance. Cette résistance repose notamment sur la modification de la perméabilité membranaire (diminution de l'influx et augmentation de l'efflux) et sur des mutations aboutissant à des produits géniques présentant une affinité moindre pour les antifongiques. La recherche peut aussi s'orienter vers les inhibiteurs de la résistance, notamment les inhibiteurs des pompes à efflux (Kayser *et al.*, 2008).

### **I.7.6.4- Traitement du paludisme**

La lutte contre le paludisme englobe deux aspects :

(i) La lutte contre le moustique vecteur, l'anophèle ; si cette lutte est une réussite dans les pays tempérés, il y subsiste néanmoins le paludisme d'importation. La situation est tout à fait différente dans les régions tropicales où on assiste en plus à l'apparition de la résistance des moustiques vis-à-vis des insecticides après les échecs de tentatives d'éradication.

(ii) La lutte contre l'agent pathogène, le *Plasmodium*, rendue compliquée par le développement de la résistance du parasite à l'égard des médicaments existants.

- **Mode d'action des médicaments antipaludiques majeurs**

Le parasite au stade intra-érythrocytaire synthétise des protéines à partir des acides aminés issus de la dégradation de l'hémoglobine, processus libérant l'hème qui est toxique pour le parasite. Le parasite détoxifie l'hème en le polymérisant en hémozoïne qui lui est non toxique. Les aminoquinoléines et les aminoalcools agissent principalement en inhibant cette formation d'hémozoïne, restaurant ainsi l'effet toxique de l'hème sur les parasites (Kumar *et al.*, 2007).

L'**artémisinine** et ses dérivés agissent grâce à leur pont endoperoxyde en libérant des espèces réactives de l'oxygène qui sont toxiques pour le *Plasmodium* dans toutes les phases du cycle schizogonique, en déclenchant un stress oxydatif (Meshnick *et al.*, 1993). Il a également été reporté que l'artémisinine et ses dérivés auraient un mode d'action multivarié, ils agiraient par interférence avec le transport mitochondrial d'électrons, par modulation de l'effet du système immunitaire et par interférence avec la calcium-ATPase sarcoplasmique / endoplasmique (Golenser *et al.*, 2006).

Les **naphthoquinones** (ex : atovaquone) inhibent les fonctions mitochondriales du parasite par le blocage du transfert d'électrons au niveau de la dihydroorotate déshydrogénase, ce qui empêche la synthèse de l'orotate et par conséquent celle des bases pyrimidiques (Vaidya, 1998).

Les **tétracyclines** agiraient par blocage de la réplication du génome de l'apicoplaste, empêchant ainsi le développement des parasites en mérozoïtes (Dahl *et al.*, 2006).

Cependant, le *Plasmodium falciparum* développe des résistances vis-à-vis des antipaludiques courants, notamment la chloroquine, ce qui cause des échecs thérapeutiques qui contribuent à l'élévation des taux de mortalité (Trape, 2001). La chimiorésistance apparue dans les années 1950 en Asie, s'est étendue à d'autres parties du monde et touche toutes les zones tropicales (OMS, 2005). Cette chimiorésistance est généralement due à des mutations qui induisent entre autres une diminution de l'accumulation des médicaments dans la vacuole digestive du parasite par un phénomène d'efflux, une modification de la cible des médicaments et une inactivation des médicaments (Urso *et al.*, 2001). Pour faire face au développement de la chimiorésistance du *Plasmodium falciparum*, une des solutions envisageables consiste à restaurer la sensibilité du *Plasmodium* en combinant les médicaments auxquels il est devenu résistant à

d'autres composés pouvant inhiber cette résistance. Ainsi dans le cas de chloroquino-résistance, le vérapamil empêche l'efflux de la chloroquine hors de la vacuole digestive du parasite, ce qui favorise son accumulation, restaurant ainsi son effet. Un autre exemple est la modulation de la résistance à la méfloquine par le penfluridol qui agit également en favorisant l'accumulation de la méfloquine dans les vacuoles digestives du parasite (Afonso *et al.*, 2006).

### **I.7.7- Place des plantes médicinales dans la lutte contre les résistances aux antibiotiques**

La résistance des microorganismes aux antibiotiques constitue un sérieux problème qui concerne presque tous les antibiotiques et qui se manifeste dans tous leurs champs d'application. D'où l'intérêt sans cesse croissant de chercher de nouveaux composés pouvant agir soit directement sur les microorganismes, soit indirectement en inhibant un ou plusieurs mécanismes de résistance. Cette recherche nécessite de disposer de méthodes d'évaluation des propriétés antimicrobiennes des extraits de plantes et des composés purs. Les méthodes les plus couramment utilisées sont la microdilution qui permet de déterminer la CMI, la diffusion sur agar permettant de mesurer le diamètre d'inhibition, tandis que la CCM bioautographie permet la localisation des composés actifs sur une plaque chromatographique. Si ces méthodes classiques permettent d'évaluer l'effet antimicrobien des composés testés, une fois l'activité établie, des méthodes plus élaborées sont requises pour élucider le mécanisme d'action de ces composés. Les nouveaux composés actifs peuvent être recherchés dans les plantes médicinales, car celles-ci constituent une source potentielle de composés antimicrobiens et/ou inhibiteurs des mécanismes de résistances aux antibiotiques. En effet, de nombreux composés d'origine végétale ont déjà démontré des propriétés antimicrobiennes; ces composés agissent suivant plusieurs mécanismes:

- (i) formation de complexes avec des macromolécules telles que les protéines et les polysaccharides, inhibant ainsi leurs fonctions (polyphénols) ;
- (ii) rupture de membranes microbiennes (flavonoïdes lipophiles, terpénoïdes, défensines);
- (iii) inhibition de l'adhésion de protéines microbiennes aux récepteurs polysaccharidiques de l'hôte (polypeptides).

Les plantes médicinales fournissent également des composés qui n'ont pas nécessairement un effet direct sur les microorganismes, mais qui augmentent ou restaurent l'activité des antibiotiques en inhibant les mécanismes de résistance. Ces composés appartiennent à diverses classes phytochimiques et agissent comme inhibiteurs des pompes à efflux (flavonoïdes, terpénoïdes, alcaloïdes), inhibiteurs des PBP-2A (quinones, terpénoïdes),

provoquant la perméabilité des membranes bactériennes (terpénoïdes) et inhibiteurs des bêtalactamases (alkyles gallates).





## **CHAPITRE II- RESULTATS ET DISCUSSION**



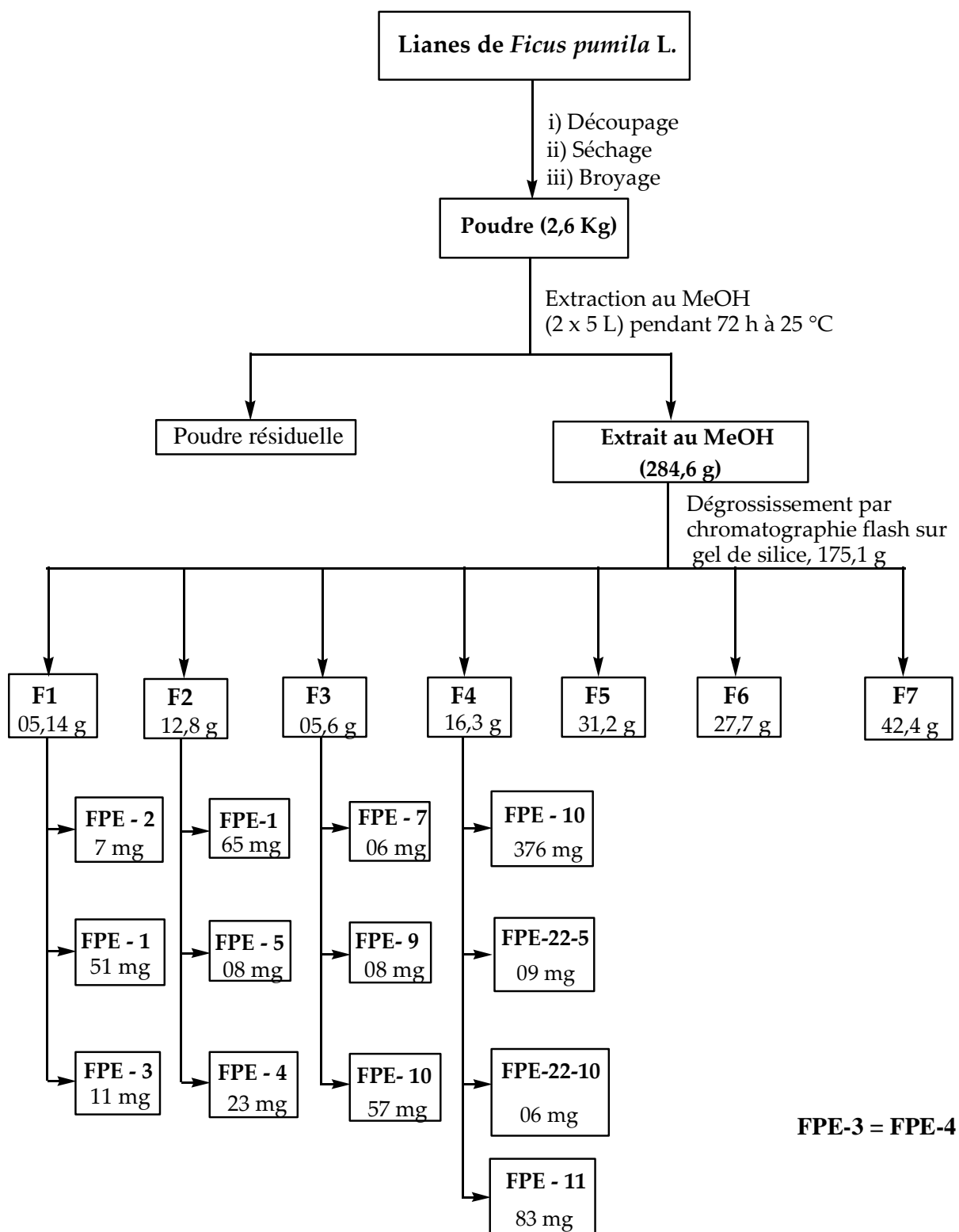
## II.1- ETUDE PHYTOCHIMIQUE DE *F. PUMILA* L. ET *F. THONNINGII* B.

### II.1.1- Matériel végétal, extraction et isolement des composés

#### II.1.1.1- *Ficus pumila* Linn

*F. pumila* Linn a été récolté en Août 2012 sur la barrière du lycée de Ngoa-ékélé, à Ngoa-ékélé (Yaoundé, Région du Centre Cameroun). La plante a été identifiée par Monsieur NANA Victor, botaniste à l'Herbier National du Cameroun où un échantillon de référence a été déposé sous le numéro HNC 49523.

Les figes, les feuilles et les lianes ont été découpées, séchées puis broyées. Les poudres obtenues (2,1 kg de figes, 3,6 kg de feuilles et 2,6 kg de lianes) ont été soumises à l'extraction au MeOH ( $2 \times 5$  L), à température ambiante, pendant 72 heures. Après évaporation à l'évaporateur rotatif des différents filtrats, on a obtenu respectivement 284,6 ; 418,2 et 208,6 g d'extraits. L'extrait des lianes (175,1 g) a subi une chromatographie flash suivie de chromatographies successives sur colonne ouverte des fractions F1 – F7 obtenues. A l'issue de ces chromatographies, dix composés ont été isolés (schéma 12).



**Schéma 12:** Protocole d'extraction et d'isolement des composés de l'extrait méthanolique des lianes de *F. pumila* L.

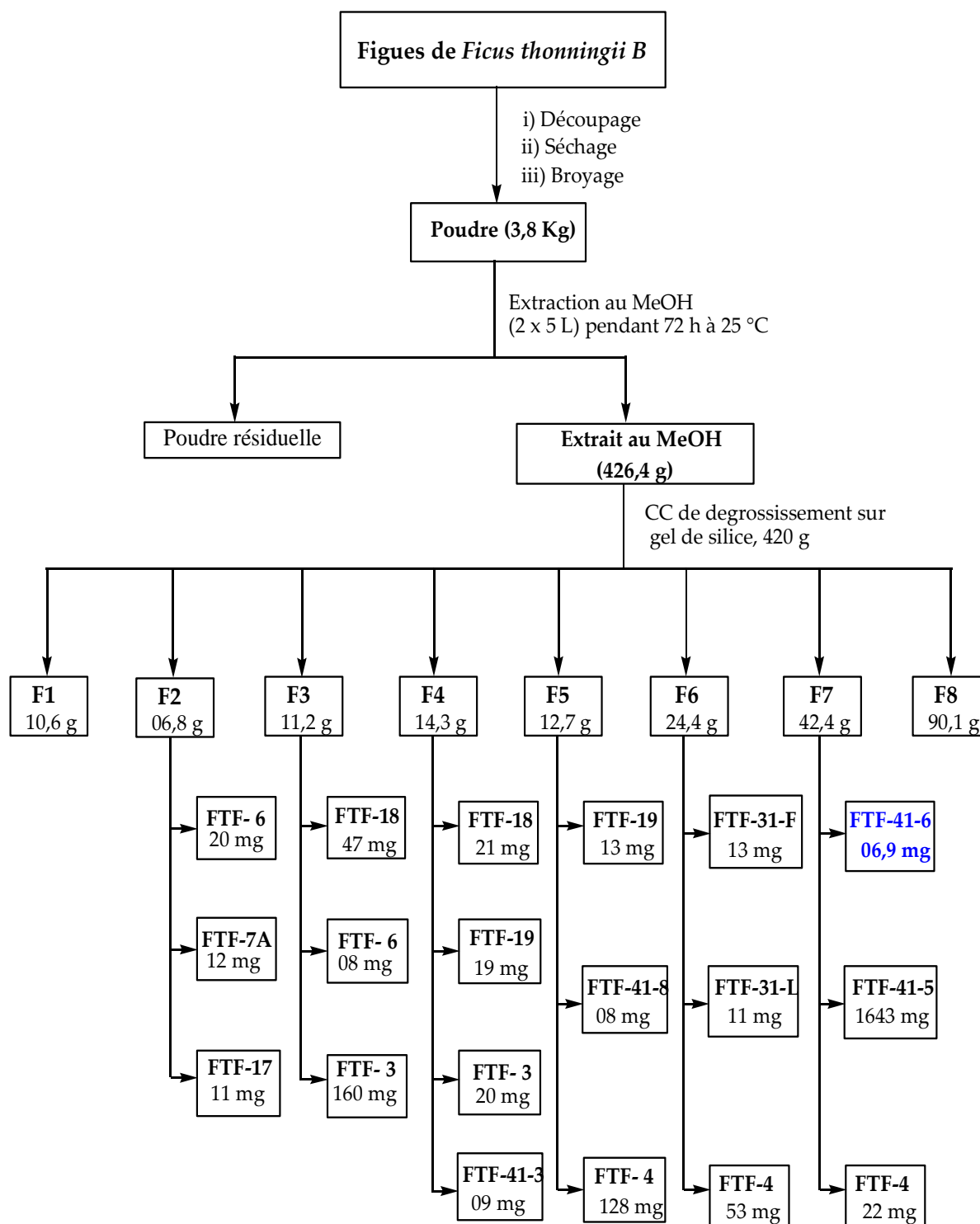
Il convient de mentionner que pour des raisons de complexité, les fractions F6 et F7 étaient très difficiles à étudier. La fraction F5 n'a conduit à l'isolement d'aucun composé pur.

### II.1.1.2- *Ficus thonningii* Blume

Les différentes parties de *F. thonningii* Blume (écorces, bois du tronc, figues et racines) ont été récoltées en août 2012 à Bamenda (Région du Nord-Ouest Cameroun). L'identification de la plante a été réalisée par Monsieur DATCHAM NDAM (enseignant de botanique au département de Biologie, faculté des sciences, Université de Bamenda) et confirmé par Monsieur Victor NANA, botaniste à l'Herbier National du Cameroun, où un échantillon a été conservé et enregistré sous le numéro HNC 44042.

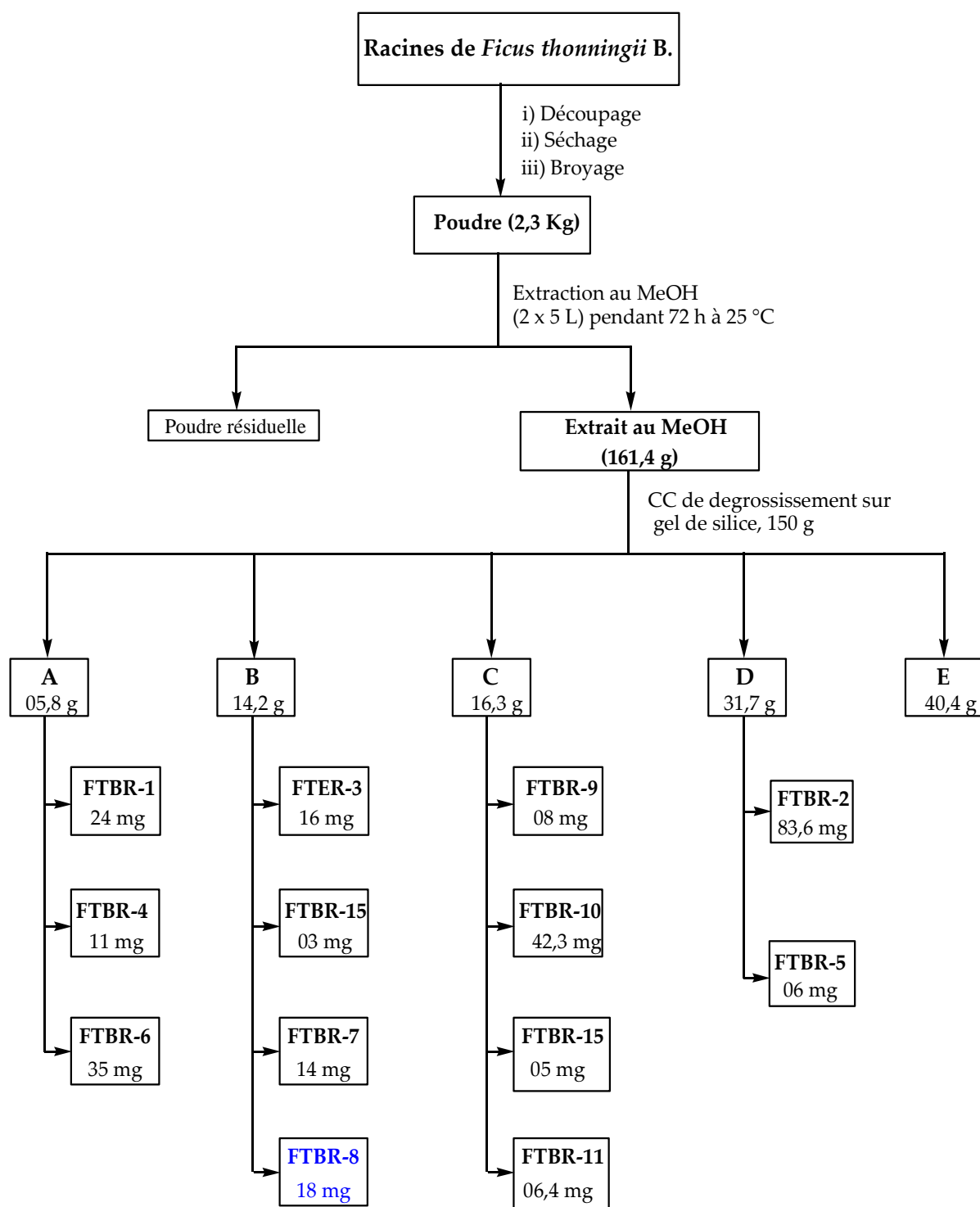
Les figues, les racines, les écorces et le bois du tronc, ont été découpés, séchés puis broyés. Les poudres obtenues [3,8 kg (figues), 2,3 kg (racines), 1,8 kg (écorces du tronc) et 3,2 kg (bois du tronc)] ont été extraites à température ambiante au MeOH (2 × 5 L) pendant 72 heures. Les filtrats ont été évaporés à l'évaporateur rotatif sous pression réduite, conduisant respectivement à 426,4 g, 161,6 g, 86,4 g et 124,6 g d'extraits.

L'extrait au méthanol des figues de *F. thonningii* (420,0 g) a été soumis à une chromatographie sur colonne de gel de silice. L'élution s'est faite avec les mélanges Hex-DCM, puis DCM-MeOH de polarités croissantes. Un total de 160 fractions de 500 mL chacune ont été recueillies et regroupées sur la base de la CCM analytique pour donner 8 fractions principales indexées de F1 à F8. Après purification par chromatographies successives sur colonne de ces fractions, treize composés ont été obtenus (schéma 13).



**Schéma 13:** Protocole d'extraction et d'isolement des composés de l'extrait méthanolique des figues de *F. thonningii* B.

Un traitement similaire a été appliqué sur 161,4 g d'extrait des racines. A l'issu des chromatographies, douze composés ont été isolés (schéma 14).



**Schéma 14:** Protocole d'extraction et d'isolement des composés de l'extrait méthanolique des racines de *F. thonningii* B.

### II.1.2- Détermination de structures des composés isolés

La détermination structurale des composés isolés a été faite par analyse de leurs données spectrales, et pour les composés connus, par comparaison de leurs données spectroscopiques et physiques avec celles décrites dans la littérature.

### II.1.2.1- Composés isolés de *F. pumila* L.

Des lianes de *F. pumila*, 10 composés ont été isolés dont : 01 dérivé de l'acide benzoïque, 01 ionone, 02 stérols, 03 flavonoïdes et 03 coumarines. Un flavonoïde glycosilé a été filtré et purifié de l'extrait au méthanol des feuilles.

#### II.1.2.1.1- Les flavonoïdes.

##### II.1.2.1.1.1- Identification de la naringénine, FPE-7

Le composé FPE-7,  $[\alpha]_{D^{29}}: -23,6^{\circ}$  ( $c = 0,2$  ; MeOH) a été obtenu sous forme de solides fins blanchâtre dans le mélange hexane-acétate d'éthyle (4 : 1). Une CCM développée dans le système butanol – acide acétique – eau (4 : 1 : 5) sur plaque de gel de silice laisse apparaître un spot. Pulvérisée à l'ammoniac, il laisse apparaître une tache vert - violet ( $R_f$  0,88). FPE-7 répond positivement au test au chlorure ferrique dans le méthanol, caractéristique des phénols et réagit positivement au réactif de Neu en montrant une fluorescence jaune sous UV à 365 nm, caractéristique des flavonoïdes. Il fond entre 251 – 252 °C, est soluble dans le DMSO.

Son spectre IR (KBr) montre les bandes d'absorption caractéristiques des groupes hydroxyle libres ( $3435\text{ cm}^{-1}$ ), d'un carbonyle de cétone ( $1635\text{ cm}^{-1}$ ), des doubles liaisons C=C aromatiques ( $1612 - 1554\text{ cm}^{-1}$ ), d'un groupe d'éther cyclique ( $1522\text{ cm}^{-1}$ ), et d'un groupe méthylène ( $1457\text{ cm}^{-1}$ ).

Son spectre d'adsorption UV réalisé dans le méthanol exhibe une bande d'adsorption intense à  $\lambda_{\max}$  291 nm et une petite inflexion à 326 nm caractéristique des bandes I et II des flavanones. Ces bandes traduisent l'absence de conjugaison entre les cycles A et B, marquant ainsi la différence avec les flavones, flavonols, et chalcones correspondants (Mabry *et al*, 1970; Grayer, 1989).

Sa formule brute  $C_{15}H_{12}O_5$  (calculée 272,2528 pour  $C_{15}H_{12}O_5$ ) renfermant dix degrés d'insaturation, est déduite de son spectre de masse en impact électronique haute résolution pour le pic à  $m/z$  272,0685.

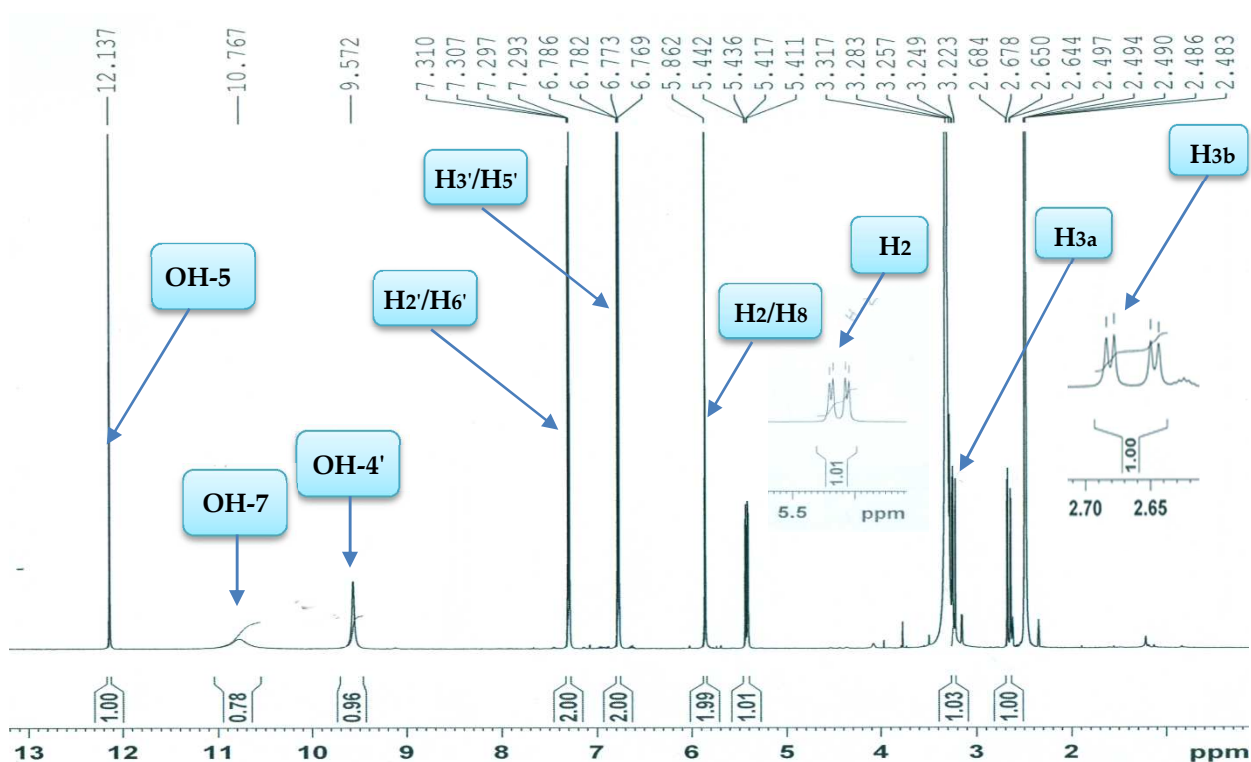
Le spectre de RMN  $^1\text{H}$  enregistré dans le DMSO (Fig 11) laisse apparaître:

- Un singulet d'un proton à  $\delta_H$  12,14 attribuable à un hydrogène d'hydroxyle phénolique formant une liaison hydrogène avec un carbonyle. La position C-5 est donc substituée par un phénol.
- Deux singulets larges d'un proton chacun à  $\delta_H$  10,77 et 9,57 attribuables à deux groupes hydroxyles phénoliques libres.

- Quatre protons regroupés en deux doublets de deux protons chacun à  $\delta_H$  7,30 (2H ; d ;  $J = 7,0$  Hz) et 6,78 (2H ; d ;  $J = 7,0$  Hz) formant un système aromatique parasubstitué (AA'BB'), attribuable au cycle B des flavonoïdes.

- Deux protons du cycle A d'un flavonoïde qui apparaissent sous forme d'un singulet large de deux protons à  $\delta_H$  5,86. Il s'agit respectivement des protons H-6 et H-8 (Mabry *et al.*, 1970).

- Trois doublets dédoublés d'un proton chacun à  $\delta_H$  5,43 (1H ; dd ;  $J = 12,5 ; 3,0$  Hz ; H-2) ; 3,26 (1H, dd,  $J = 13,0 ; 17,0$  Hz ; H-3a) et 2,66 (1H ; dd ;  $J = 3,0 ; 17,0$  Hz ; H-3b) caractéristiques des protons du cycle C d'une flavanone.



**Figure 11:** Spectre de RMN  $^1H$  (DMSO- $d_6$ , 500 MHz) de FPE-7.

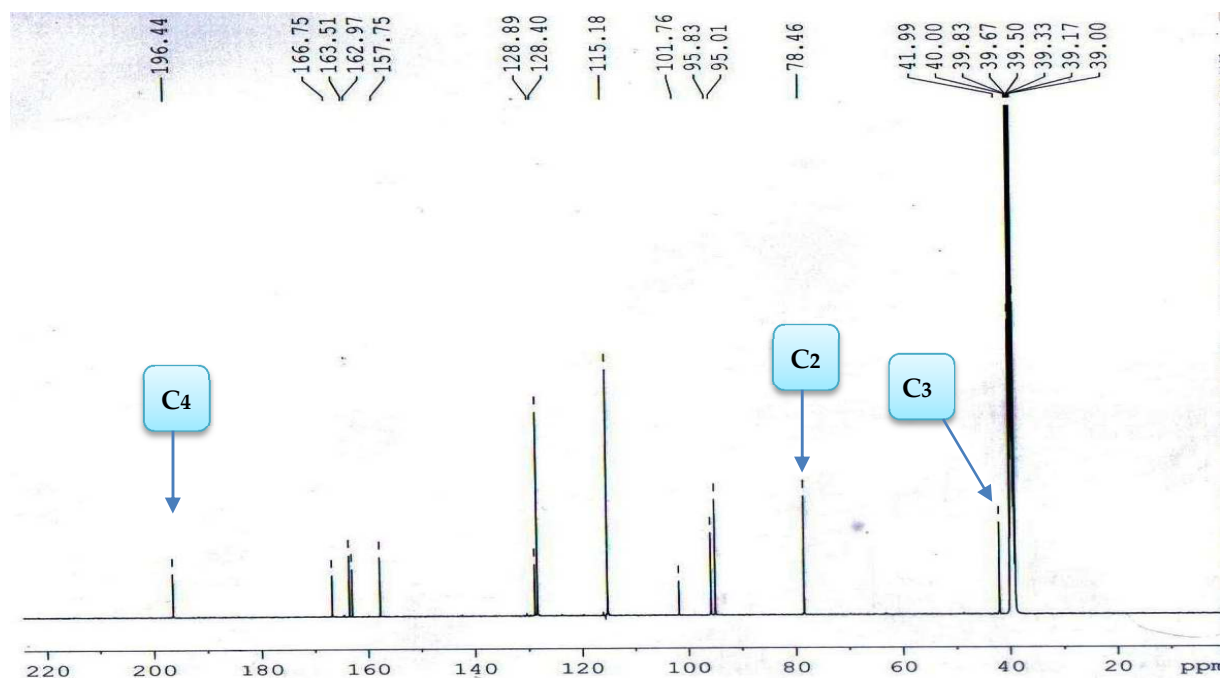
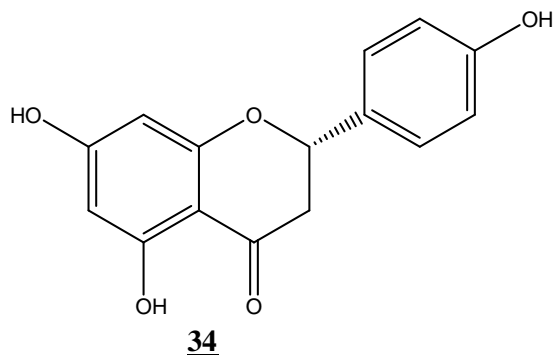
Le spectre de RMN  $^{13}C$  (Fig. 12) complètement découplé révèle treize signaux pour un total de quinze carbones répartis en :

- Sept carbones quaternaires dont un carbonyle de cétone à  $\delta_C$  196,4.
- Cinq méthines dont deux ( $\delta_C$  128,4 et 115,2) intègrent pour deux carbones chacun.
- Un méthylène à  $\delta_C$  78,5 ( $C_3$ ).

Ainsi, l'ensemble de ces informations nous permet de suggérer que le composé FPE-7 serait une flavanone trihydroxylée. L'examen des spectres de RMN bidimensionnel (COSY, HSQC et HMBC) confirment cette hypothèse.



Sur la base de toutes ces données, la structure **34** correspond à celle de la naringénine, une flavanone connue isolée des feuilles de *Ficus benjamina* Linn en 2003 par Hassan et collaborateurs (Hassan *et al.*, 2003 ; Ibrahim *et al.*, 2003 ; Jain et Mittal, 2012).



**Figure 12:** Spectre de RMN  $^{13}\text{C}$  (DMSO- $d_6$ , 125 MHz) de FPE-7.

**Tableau IX :** Données de RMN  $^1\text{H}$  (DMSO- $d_6$ , 500 MHz) et  $^{13}\text{C}$  (DMSO- $d_6$ , 125 MHz) de FPE -7 et de la naringénine (DMSO- $d_6$ , 500 MHz) (Ibrahim *et al.*, 2003)

Position	FPE - 7		Naringénine	
	$\delta_{\text{H}}$ (m, $J$ (Hz))	$\delta_{\text{C}}$ (m)	$\delta_{\text{H}}$ (m, $J$ (Hz))	$\delta_{\text{C}}$ (m)
2	5,43 (1H, dd, $J=12,5$ ; 3,0 Hz)	78,5 d	5,41 (1H, dd, $J=12,7$ ; 2,7 Hz)	78,8 d
3	3,26 (1H, dd, $J=17,0$ ; 13,0 Hz)	42,0 t	3,08 (1H, dd, $J=17,2$ ; 12,8 Hz)	42,3 t
	2,66 (1H, dd, $J=17,0$ ; 3,0 Hz)		2,67 (1H, dd, $J=17,1$ ; 2,9 Hz)	
4	-	196,4 s	-	197,3 s

5-OH	12,14 (1H, s)	163,5 s	-	163,8 s
6	5,86 (1H, sl)	95,8 d	5,89 (1H, sl)	96,2 d
7-OH	10,77 (1H, sl)	166,7 s	-	167,0 s
8	5,86 (1H, sl)	95,0 d	5,89 (1H, sl)	95,4 d
9	-	163,0 s	-	163,3 s
10	-	101,8 s	-	102,1 s
1'	-	128,9 s	-	129,2 s
2'	7,30 (1H, d, $J = 7,0$ Hz)	128,4 d	7,30 (1H, d, $J = 8,4$ Hz)	128,6 d
3'	6,78 (1H, d, $J = 7,0$ Hz)	115,2 d	6,80 (1H, d, $J = 8,4$ Hz)	115,6 d
4'-OH	9,57 (1H, sl)	157,8 s	-	158,1 s
5'	6,78 (1H, d, $J = 7,0$ Hz)	115,2 d	6,80 (1H, d, $J = 8,4$ Hz)	115,6 d
6'	7,30 (1H, d, $J = 7,0$ Hz)	128,4 d	7,30 (1H, d, $J = 8,4$ Hz)	128,6 d

#### II.1.2.1.1.2- Identification de l'afzélechine, FPE-9

Le composé FPE-9 a été obtenu sous forme de fines particules solides de couleur jaune pâle dans le mélange hexane-acétate d'éthyle (3 : 2). Une CCM développée dans le système toluène-acétate d'éthyle- acide formique (9 : 2 : 0.5) sur plaque de gel de silice montre un spot visible à 365 nm sous UV ; pulvérisé au mélange vanilline-acide sulfurique suivi d'un léger chauffage, il laisse apparaître une tache vert-bleu ( $R_f$  0,53). FPE-9 répond positivement au test au chlorure ferrique dans le méthanol, caractéristique des phénols et au test de Shinoda, caractéristique des flavonoïdes (Bruneton, 1993). Il fond entre 221 - 222° C, est soluble dans le DMSO.

Son spectre IR (KBr) montre les bandes d'absorption caractéristiques à 3407  $\text{cm}^{-1}$  (hydroxyle libres), 1612 – 1554  $\text{cm}^{-1}$  (doubles liaisons aromatiques), à 1522  $\text{cm}^{-1}$  (un groupe d'éther cyclique) et à 1457  $\text{cm}^{-1}$  (groupe méthylène). On note l'absence de groupement carbonyle au sein de cette molécule.

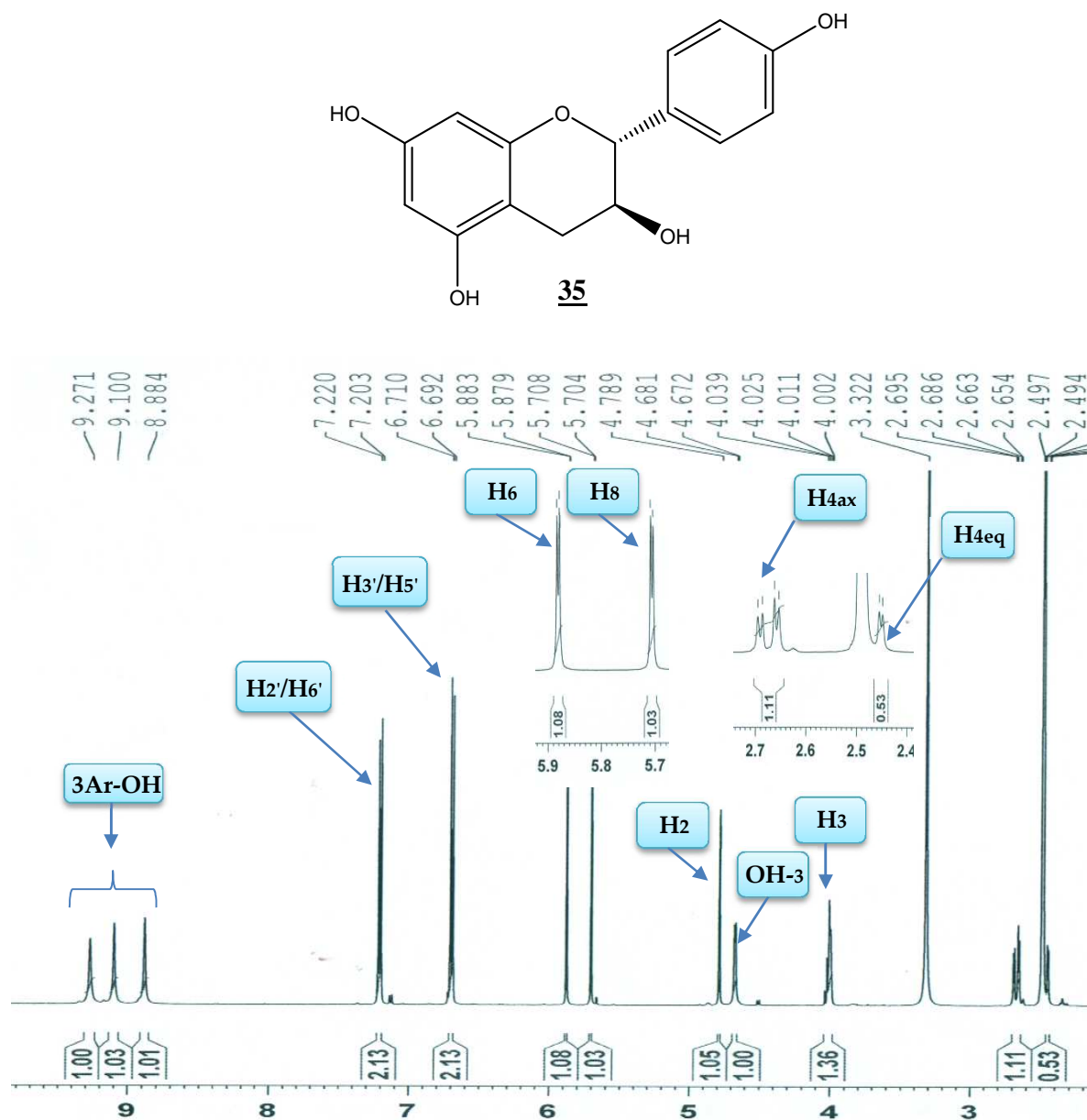
Sa formule brute  $\text{C}_{15}\text{H}_{14}\text{O}_5$  (calculée 274,2687 pour  $\text{C}_{15}\text{H}_{14}\text{O}_5$ ) renfermant neuf degrés d'insaturation, est déduite de son spectre de masse impact électronique haute résolution pour le pic à  $m/z$  274,0841.

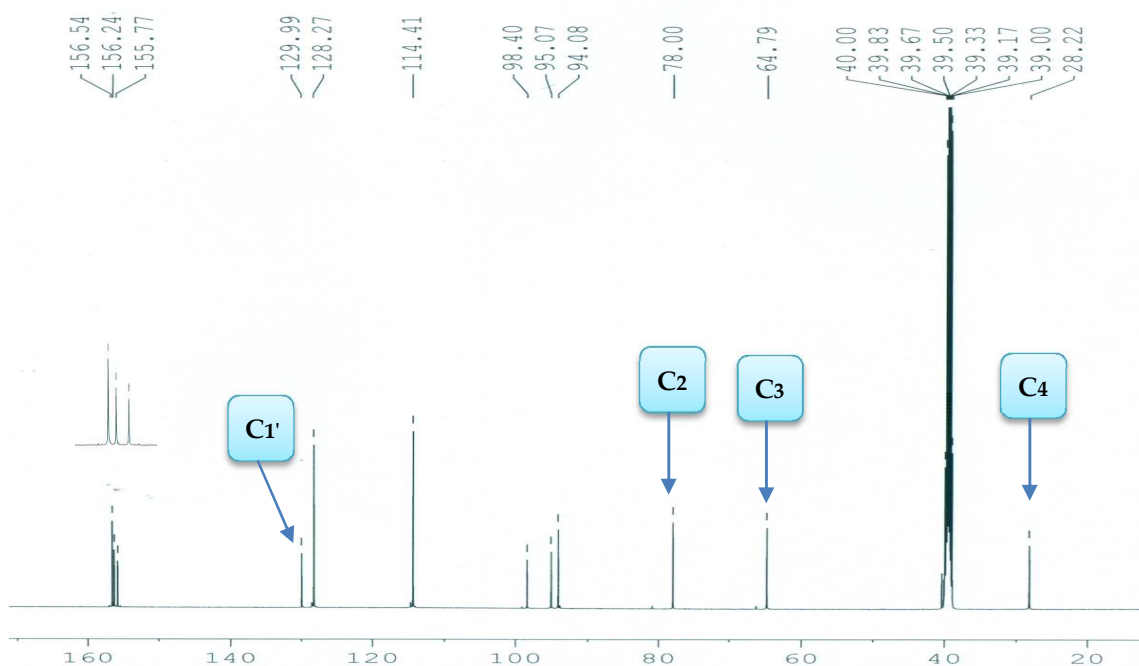
Le spectre de RMN  $^1\text{H}$  (Fig. 13) montre que ce composé serait un flavan-3-ol. En effet, dans la région des protons aromatiques nous observons un ensemble de deux signaux intégrant chacun pour deux protons à  $\delta_{\text{H}}$  7,21 (2H, d,  $J = 8,5$  Hz, H-2'/H-6') et  $\delta_{\text{H}}$  6,70 (2H, d,  $J = 8,5$  Hz, H-3' H-5') formant un système aromatique para di-substitué attribuable au cycle B ; et deux

doublets d'un proton chacun à  $\delta_H$  5,88 (1H, d,  $J = 2,0$  Hz, H-6) et  $\delta_H$  5,71 (1H, d,  $J = 2,0$  Hz, H-8) appartenant à un cycle A di-hydroxylés en 5 et 7.

La présence du cycle C des flavan-3-ols a été évidente au vu des couplages géminaux et de la valeur du déplacement chimique des protons H-4ax, H-4eq et OH-3, d'une part, et la présence de deux singulets larges d'un proton chacun à  $\delta_H$  4,79 (1H, sl, H-2) et  $\delta_H$  4,01 (1H, sl, H-3) d'autre part. Le proton H-4eq apparaît sous la forme d'un doublet dédoublé d'un proton à  $\delta_H$  2,67 (1H, dd,  $J = 16,0 ; 4,5$  Hz), H-4ax à  $\delta_H$  2,67 (1H, dd,  $J = 17,0 ; 3,5$  Hz) et OH-3 à  $\delta_H$  4,68 (1H, d,  $J = 4,5$  Hz).

Ces données suggèrent que la structure du composé FPE-9 est celle de la (+)-Afzéléchine isolée de *Ficus retusa* L., par Taha et collaborateurs en 2011 (Taha *et al.*, 2011).





**Figure 14:** Spectre de RMN  $^{13}\text{C}$  (DMSO- $d_6$ , 125 MHz) de FPE-9

**Tableau X:** Données de RMN  $^1\text{H}$  (DMSO- $d_6$ , 500 MHz) et  $^{13}\text{C}$  (DMSO- $d_6$ , 125 MHz) de FPE-9 et de la (+)-afzéléchine (Acetone- $d_6$ , 400 MHz) (Taha *et al.*, 2011)

Position	FPE- 9		Afzelechine	
	$\delta_{\text{H}}$ (m, $J$ (Hz))	$\delta_{\text{C}}$ (m)	$\delta_{\text{H}}$ (m, $J$ (Hz))	$\delta_{\text{C}}$ (m)
2	4,79 (1H, sl)	78,0 d	4,67 (1H, d, $J = 4,5$ Hz)	78,1 d
3	4,01 (1H, m)	64,8 d	4,02 (1H, m)	64,9 d
3-OH	4,68 (1H, d, $J = 4,5$ Hz)	-	4,80 (1H, sl)	-
4	2,47 (1H, dd, $J = 17,0; 3,5$ Hz) 2,67 (1H, dd, $J = 16,0; 4,5$ Hz)	28,2 t	2,44 (1H, dd, $J = 15,0; 3,3$ Hz) 2,67 (1H, dd, $J = 15,0; 4,2$ Hz)	28,2 t
5-OH	9,10 (1H, sl)	156,2 s	9,13 (1H, sl)	156,5 s
6	5,88 (1H, d, $J = 2,0$ Hz)	95,1 d	5,88 (1H, d, $J = 2,1$ Hz)	95,2 d
7-OH	9,89 (1H, sl)	156,5 s	9,92 (1H, sl)	157,1 s
8	5,71 (1H, d, $J = 2,0$ Hz)	94,1 d	5,72 (1H, d, $J = 2,1$ Hz)	94,2 d
9	-	156,5 s	-	158,0 s
10	-	98,4 s	-	98,5 s
1'	-	130,0 s	-	130,0 s
2'	7,21 (1H, d, $J = 8,5$ Hz)	128,3 d	7,23 (1H, d, $J = 8,4$ Hz)	128,3 d
3'	6,70 (1H, d, $J = 8,5$ Hz)	114,4 d	6,72 (1H, d, $J = 8,1$ Hz)	114,5 d

4'-OH	9,27 (1H, sl)	155,7 s	9,30 (1H, sl)	155,8 s
5'	6,70 (1H, d, $J = 8,5$ Hz)	114,4 d	6,72 (1H, d, $J = 8,1$ Hz)	114,5 d
6'	7,21 (1H, d, $J = 8,5$ Hz)	128,3 d	7,23 (1H, d, $J = 8,4$ Hz)	128,3 d

### II.1.2.1.1.3- Identification de la catéchine, FPE-10.

Le composé FPE-10 a été obtenu sous forme de fines particules solides de couleur beige dans le mélange hexane-acétate d'éthyle (1 : 1). Il répond positivement au test au chlorure ferrique dans le méthanol, caractéristique des phénols et au test de Shinoda, caractéristique des flavonoïdes (Bruneton, 1993). Il fond entre 178-179 °C, est soluble dans le DMSO.

Son spectre de masse Impact Electronique présente le pic de l'ion moléculaire  $[M]^+$  à  $m/z$  290,3 dont l'analyse haute résolution permet de lui attribuer la formule brute  $C_{15}H_{14}O_6$  pour le pic à  $m/z$  290,0790 (calculée 290,2681 pour  $C_{15}H_{14}O_6$ ). FPE-10 renferme neuf degrés d'insaturation soit un atome d'oxygène de plus le composé FPE-9.

Le spectre de RMN  $^{13}C$  découplé large bande (Fig. 16) fait ressortir 15 signaux de carbone en accord avec la formule brute. L'analyse du spectre découplé large bande et des spectres obtenus par les techniques DEPT 90 et DEPT 135 permet de regrouper ces 15 signaux comme suit :

- Un signal de carbone secondaire à  $\delta_C$  27,9.
- Sept signaux de carbones tertiaires parmi lesquels deux oxygénés et hybridés  $sp^3$  à  $\delta_C$  66,3 et 81,0. Les cinq autres sont hybridées  $sp^2$  à  $\delta_C$  93,9 ; 95,1 ; 114,5 ; 115,1 et 118,5.
- Sept signaux de carbone quaternaires tous hybridées  $sp^2$  dont cinq oxygénés à  $\delta_C$  144,9 ; 144,9 ; 155,4 ; 156,2 et 156,5.

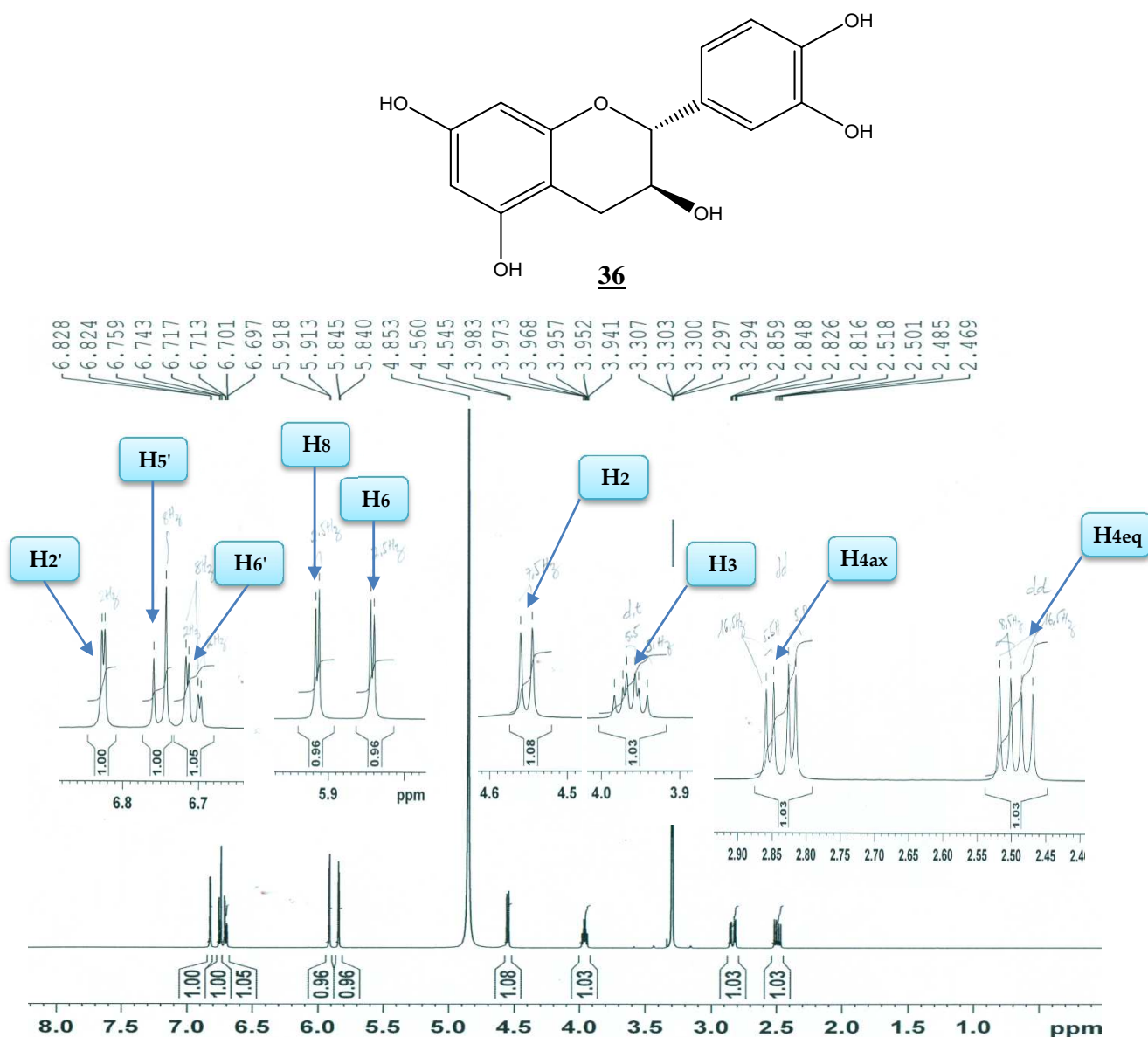
Sur son spectre de RMN  $^1H$  (Fig. 15) on observe de très nombreuses similitudes avec celui de FPE-9. On y observe deux doublets dédoublés de protons geminaux intégrant chacun pour un proton à  $\delta_H$  2,50 (1H, dd,  $J = 16,0 ; 8,0$  Hz) et 2,83 (1H, dd,  $J = 16,0 ; 5,5$  Hz) portés par un atome de carbone hybridé  $sp^3$  à  $\delta_C$  27,9 en  $\alpha$  d'un centre chiral. Un signal intégrant pour un proton à  $\delta_H$  3,96 (1H, ddd,  $J = 12,0 ; 8,0 ; 4,0$  Hz) porté par un carbone hybridé  $sp^3$  oxygéné à  $\delta_C$  66,3. Puis deux autres doublets d'un proton chacun à  $\delta_H$  4,55 (1H, d,  $J = 7,5$  Hz) /  $\delta_C$  81,0 et 4,84 (1H, d,  $J = 4,5$  Hz) attribuables respectivement au proton H-2 et l'hydroxyle OH-3. Tout cet ensemble de signaux sont en la faveur d'un squelette de type flavan-3-ol.

On observe sur ce même spectre dans la zone des protons aromatiques, un ensemble de deux doublets intégrant chacun pour un proton à  $\delta_H$  6,67 (1H, d,  $J = 8,0$  Hz) /  $\delta_C$  115,1 et à  $\delta_H$  6,70 (1H, d,  $J = 2,0$  Hz) /  $\delta_C$  114,5, puis deux doublets d'un proton chacun à  $\delta_H$  5,84 (1H, d,  $J =$

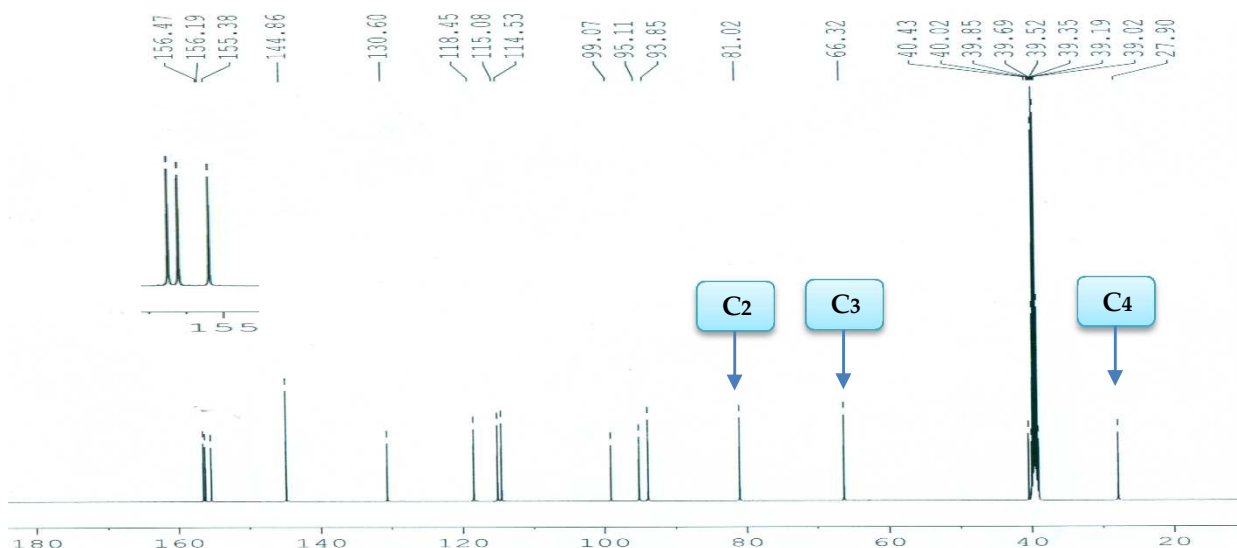
2,5 Hz) et 5,91 (1H, d,  $J = 2,5$  Hz), correspondant aux protons H-6 et H-8 du cycle A. La seule modification est l'apparition d'un doublet dédoublé d'un proton à  $\delta_H$  6,58 (1H, dd,  $J = 8,0 ; 2,0$  Hz) /  $\delta_C$  118,5, le tout correspondant à un système ABX du cycle B.

Les quatre hydroxyles phénoliques échangeables à l'eau lourde que l'on observe à  $\delta_H$  8,82 ; 8,82 ; 8,92 et 9,16 ont été respectivement localisés sur les carbones C-5 ( $\delta_C$  156,2), C-7 ( $\delta_C$  155,4), C-3' ( $\delta_C$  144,9) et C-4' ( $\delta_C$  144,9) sur la base de leurs corrélations  $^{2-3}J$  observées sur le spectre HMBC d'une part, et sur la base de la fragmentation Retro-Diels-Alder d'autre part.

L'ensemble de toutes ces données comparées à celles décrites dans la littérature, permettent d'attribuer au composé FPE-10 la structure **36**, qui est celle de la (+)-catéchine, isolée pour la toute première fois de *Polygonum multiflorum* par Nanoka et collaborateurs (1982).



**Figure 15:** Spectre de RMN  $^1H$  (DMSO- $d_6$ , 500 MHz) découplé large bande de FPE-10



**Figure 16:** Spectre de RMN  $^{13}\text{C}$  (DMSO- $d_6$ , 125 MHz) de FPE-10

**Tableau XI:** Données de RMN  $^1\text{H}$  (DMSO- $d_6$ , 500MHz) et  $^{13}\text{C}$  (DMSO- $d_6$ , 125 MHz) de FPE-10 et de la catéchine (Acétone- $d_6$ , 600 MHz) (Taha *et al.*, 2011)

Position	FPE-10		Catéchine	
	$\delta_{\text{H}}$ (m, $J$ (Hz))	$\delta_{\text{C}}$ (m)	$\delta_{\text{H}}$ (m, $J$ (Hz))	$\delta_{\text{C}}$ (m)
2	4,55 (1H, d, $J = 7,5$ Hz)	81,0 d	4,48 (1H, d, $J = 7,2$ Hz)	83,0 d
3	3,96 (1H, ddd, $J = 12,0 ; 8,0 ; 4,0$ Hz)	66,3 d	4,00 (1H, ddd, $J = 8,5 ; 7,8 ; 5,5$ Hz)	68,6 d
3-OH	4,84 (1H, d, $J = 4,5$ Hz)	-	3,67 (1H, sl)	-
4	2,50 (1H, dd, $J = 16,0 ; 8,0$ Hz) 2,83 (1H, dd, $J = 16,0 ; 5,5$ Hz)	27,9 t	2,53 (1H, dd, $J = 16,0 ; 8,5$ Hz) 2,87 (1H, dd, $J = 16,0 ; 5,5$ Hz)	28,7 t
5-OH	9,16 (1H, sl)	156,2 s	-	157,7 s
6	5,84 (1H, d, $J = 2,5$ Hz)	95,1 d	5,86 (1H, d, $J = 2,4$ Hz)	95,6 d
7-OH	8,91 (1H, sl)	155,4 s	-	157,1 s
8	5,91 (1H, d, $J = 2,5$ Hz)	93,8 d	5,94 (1H, d, $J = 2,4$ Hz)	96,4 d
9	-	156,5 s	-	158,0 s
10	-	99,1 s	-	100,9 s
1'	-	130,6 s	-	132,4 s
2'	6,82 (1H, d, $J = 2,0$ Hz)	114,5 d	6,85 (1H, d, $J = 1,2$ Hz)	115,4 d
3'-OH	8,82 (1H, sl)	144,9 s	8,91 (1H, sl)	146,4 s
4'-OH	9,60 (1H, sl)	149,9 s	9,20 (1H, sl)	146,4 s
5'	6,74 (1H, d, $J = 8,0$ Hz)	115,1 d	6,76 (1H, d, $J = 8,0$ Hz)	116,2 d
6'	6,70 (1H, dd, $J = 8,0 ; 2,0$ Hz)	118,5 d	6,73 (1H, dd, $J = 8,0 ; 1,2$ Hz)	120,2 d

#### II.1.2.1.1.4- Identification de la quercétine 3-rutinoside (rutine), FPFE-5.

Soluble dans le méthanol, ce composé a été isolé de l'extrait des feuilles de *F. pumila*, sous forme de fines particules solides jaunes dans l'acétate d'éthyle et purifié sur colonne de silice RP-18, éluée avec le mélange eau-méthanol (7 : 3). Visible sous lampe UV à 254 nm et 366 nm (coloration bleue intense), il montre un spot jaune sur plaque de CCM, révélée au mélange acide sulfurique-anisaldéhyde.

Son spectre UV (MeOH) (Fig. 16) exhibe deux maxima d'adsorption à  $\lambda_{\text{Max}}$  257 et 354 nm, indicatrice d'une structure de type flavonol (Mabry *et al.*, 1970).

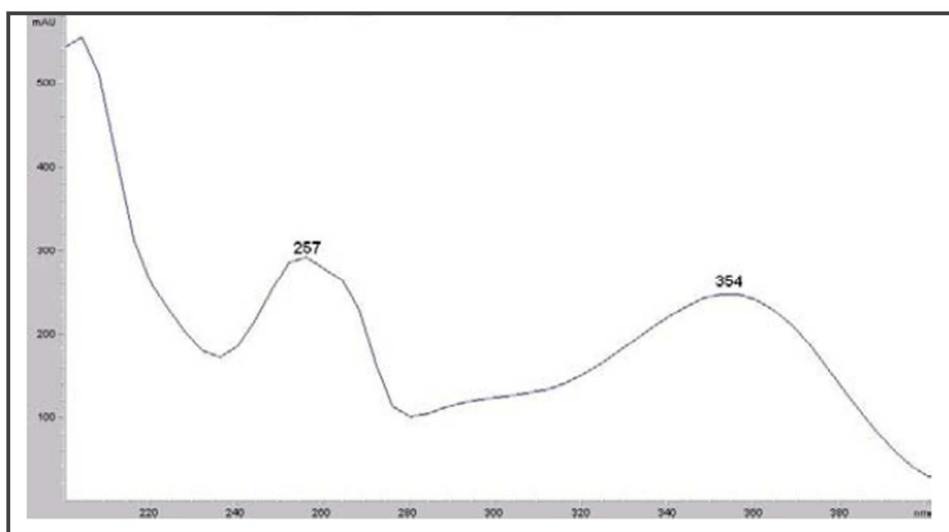


Figure 17: Spectre UV (MeOH) de FPFE-5

Son spectre IR à transformée de Fourier dans le KBr (Fig. 17) montre des bandes caractéristiques à 3329, 1653, 1596, 1501, 1455, 1359, 1296, 1203, 1172, 1063, 808, 686  $\text{cm}^{-1}$

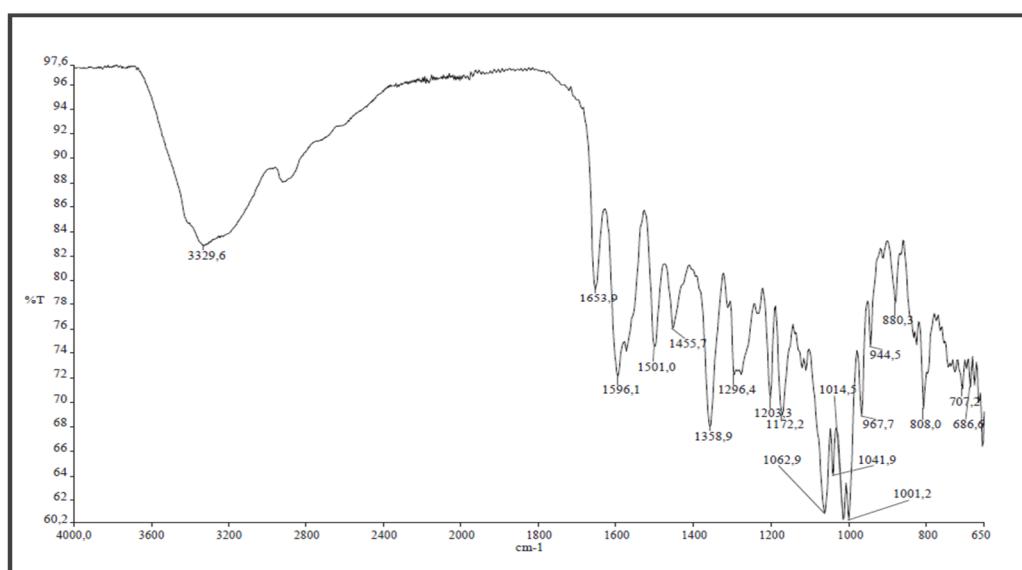
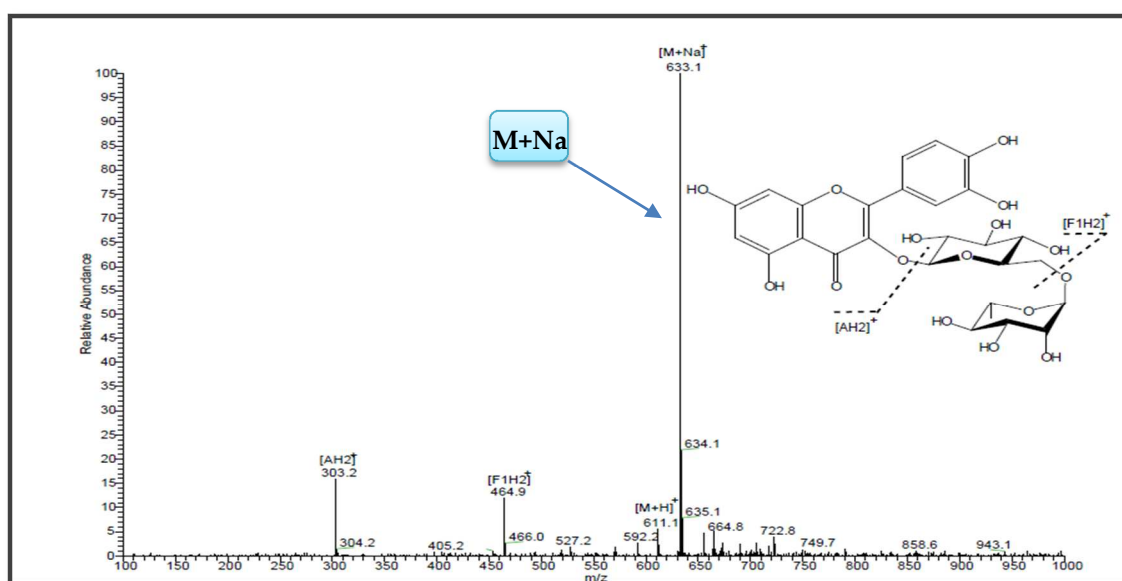


Figure 18 : Spectre IR (KBr) de FPFE-5



Son spectre de masse FAB enregistré en mode positif présente le pic de l'ion pseudo moléculaire  $[M + H]^+$  à  $m/z$  611 indiquant ainsi une masse de 610 u.m.a pour ce composé. Cette hypothèse sera confirmée suite à l'enregistrement de son spectre de masse ESI en mode positif (Fig. 19) sur lequel l'ion quasi moléculaire  $[M + H]^+$  est observé à  $m/z$  611,1 (intensité 10) et celui de son adduit sodique  $[M + Na]^+$  à  $m/z$  633,1 (pic de base). L'observation sur ce même spectre des pics à  $m/z$  464,9 (13) et  $m/z$  303,2 (16) indiquerait respectivement la perte d'une ( $M - 146$ ) et de deux ( $M - 146 - 162$ ) molécules de sucre (Crow *et al.*, 1986). L'analyse à haute résolution de l'ion pseudo moléculaire a permis de lui attribuer la formule brute  $C_{27}H_{30}O_{16}$  (calculée 610,1824 pour  $C_{27}H_{30}O_{16}$ ) pour le pic à  $m/z$  610,1534. FPFE renferme alors 13 degrés d'insaturation.



**Figure 19:** Spectre ESI (mode positif) de FPFE-5

Le spectre de RMN  $^1H$  (Fig. 20) de ce composé présente des signaux caractéristiques des protons aromatiques des cycles A et B des flavonoïdes. En effet, les protons à  $\delta_H$  6,33 (1H, d,  $J = 2,0$  Hz) et  $\delta_H$  6,15 (1H, d,  $J = 2,0$  Hz) couplant en AX sont respectivement attribuables aux protons H-8 et H-6 du cycle A.

Nous observons également trois signaux d'un proton chacun caractéristiques d'un système ABX à  $\delta_H$  7,67 (1H, d,  $J = 2,0$  Hz),  $\delta_H$  7,62 (1H, dd,  $J = 8,0 ; 2,0$  Hz) et  $\delta_H$  6,85 (1H, d,  $J = 8,0$  Hz) attribuable au noyau aromatique B qui serait ainsi trisubstitué.

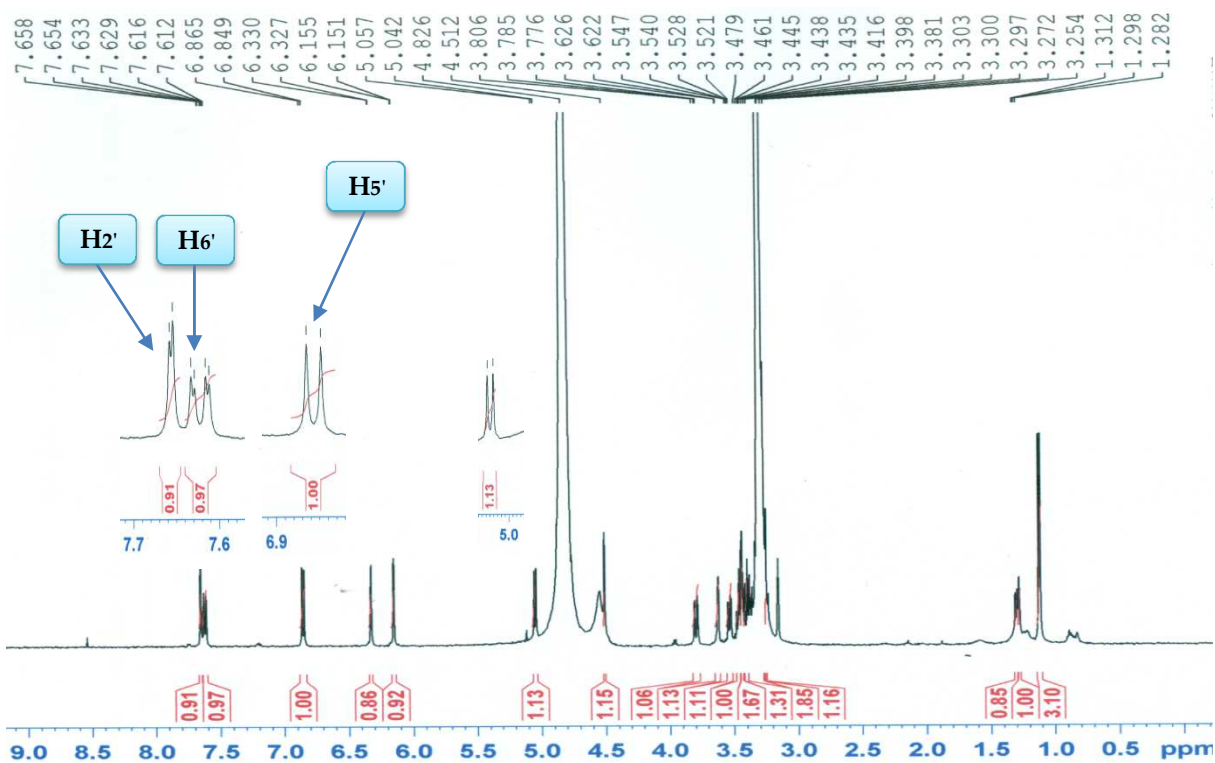
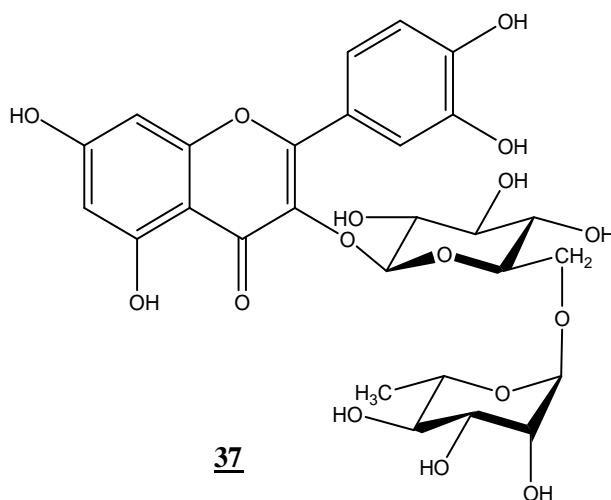
Les protons osidiques apparaissent entre 3,25 et 5,06 ppm parmi lesquels deux protons anomériques à  $\delta_H$  4,51 (1H ; sl) et à  $\delta_H$  5,06 (1H ; d ;  $J = 7,5$  Hz).

Les signaux de RMN  $^1H$  couplés à ceux du  $^{13}C$  complètement découplé suggèrent qu'il s'agit d'un flavonoïde diglycosylé avec la quercétine comme aglycone, ce qui est en conformité

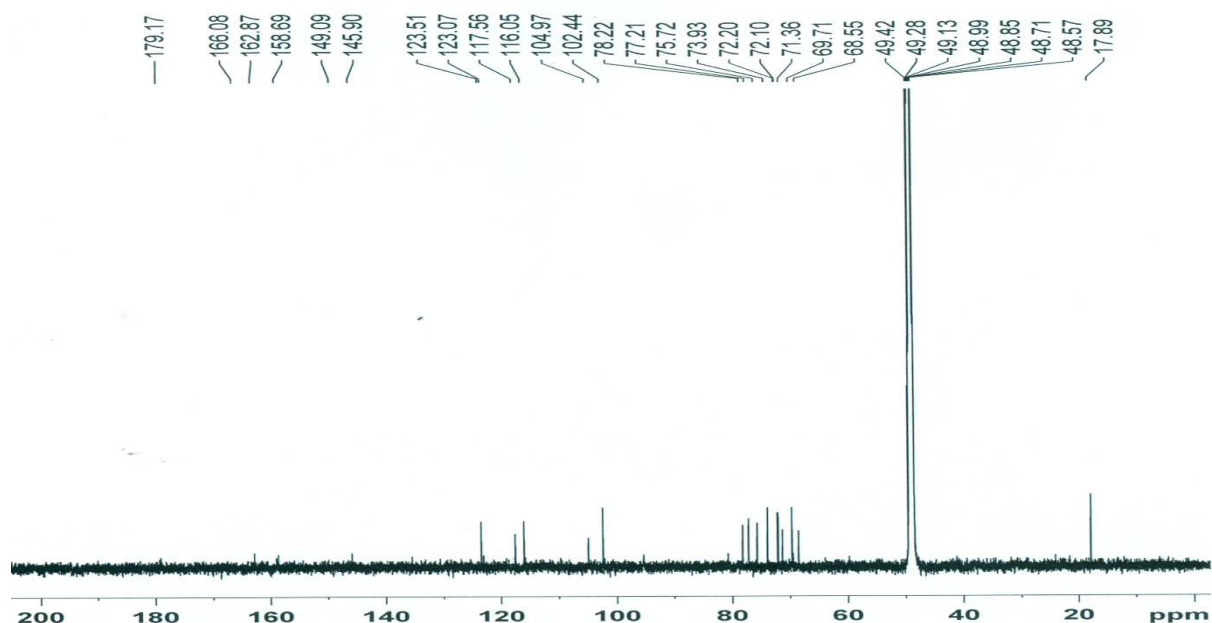
avec l'hypothèse émise par la fragmentation des unités osidiques observées sur le spectre de masse ESI tels que le rapportent les travaux de Niassy et collaborateurs (2004).

En effet, la constante de couplage du doublet d'un proton observé à  $\delta_H$  5,05 (1H, d,  $J = 7,5$  Hz), indique que ce sucre serait un  $\beta$ -D-glucopyranose, l'autre proton anomérique à  $\delta_H$  4,51 (1H, sl) et le méthyle à  $\delta_H$  1,12 (3H, d,  $J = 7,0$  Hz) dont le carbone résonne à  $\delta_C$  17,9 suggèreraient que la seconde unité osidique soit l' $\alpha$ -L-rhamnose.

Sur la base de ces données comparées à celles décrites dans la littérature par Niassy et collaborateurs (2004), la structure **37** est celle de la rutine [quercétine 3-O- $\beta$ -(6''-O- $\alpha$ -rhamnosyl)glucoside)] (Fathiazada *et al.*, 2006 ; Kazuma *et al.*, 2003)



**Figure 20:** Spectre de RMN  $^1H$  ( $CD_3OD$ , 500 MHz) découpé large bande de FPFE-5



**Figure 21:** Spectre de RMN  $^{13}\text{C}$  ( $\text{CD}_3\text{OD}$ , 150 MHz) de FPFE-5

**Tableau XII:** Données de RMN  $^1\text{H}$  ( $\text{CD}_3\text{OD}$ , 500 MHz) et  $^{13}\text{C}$  ( $\text{CD}_3\text{OD}$ , 150 MHz) de FPFE-5 et de la rutine ( $\text{CD}_3\text{OD}$ , 400 MHz) (Kazuma *et al.*, 2003)

Position	FPFE - 5		Rutine	
	$\delta_{\text{H}}$ (m, $J$ (Hz))	$\delta_{\text{C}}$ (m)	$\delta_{\text{H}}$ (m, $J$ (Hz))	$\delta_{\text{C}}$ (m)
2	-	158,7 s	-	158,5 s
3	-	135,2 s	-	135,6 s
4	-	179,1 s	-	179,4 s
5	-	162,9 s	-	163,0 s
6	6,15 (1H, d, $J = 2,0$ Hz)	100,8 d	6,21 (1H, d, $J = 2,0$ Hz)	100,0 d
7	-	166,1 s	-	166,0 s
8	6,33 (1H, d, $J = 2,0$ Hz)	95,5 d	6,40 (1H, d, $J = 2,0$ Hz)	94,9 d
9	-	158,7 s	-	159,4 s
10	-	105,0 s	-	105,7 s
1'	-	123,1 s	-	123,2 s
2'	7,67 (1H, d, $J = 2,0$ Hz)	117,6 d	7,66 (1H, d, $J = 2,1$ Hz)	117,7 d
3'	-	145,9 s	-	145,8 s
4'	-	150,0 s	-	149,8 s
5'	6,85 (1H, d, $J = 8,0$ Hz)	116,1 d	6,87 (1H, d, $J = 8,7$ Hz)	116,1 d
6'	7,62 (1H, dd, $J = 8,0 ; 2,0$ Hz)	123,5 d	7,62 (1H, dd, $J = 8,5 ; 2,1$ Hz)	123,6 d

### 3-Glu

H-1	5,05 (1H, d, $J = 7,5$ Hz)	105,0 d	5,10 (1H, d, $J = 7,7$ Hz)	104,7 d
H-2	3,47 (1H, dd, $J = 9,0 ; 7,0$ Hz)	75,7 d	3,46 (1H, dd, $J = 8,9 ; 7,7$ Hz)	75,7 d
H-3	3,39 (1H, t, $J = 8,5$ Hz)	78,2 d	3,40 (1H, t, $J = 8,9$ Hz)	78,2 d
H-4	3,27 (1H, t, $J = 9,0$ Hz)	71,4 d	3,26 (1H, t, $J = 8,9$ Hz)	71,4 d
H-5	3,32 (1H, m)	77,2 d	3,32 (1H, m)	77,3 d
H-6a	3,80 (1H, dd, $J = 10,5;1,5$ Hz)	68,6 d	3,80 (1H, dd, $J = 11,0;1,2$ Hz)	68,6 d
H-6b	3,39 (1H, dd, $J = 9,0 ; 6,0$ Hz)		3,38 (1H, dd, $J = 11,0;5,7$ Hz)	

### 6''-rham

H-1	4,51 (1H, sl)	102,4 d	4,51 (1H, d, $J = 1,5$ Hz)	102,4 d
H-2	3,62 (1H, dl, $J = 2,0$ Hz)	72,1 d	3,62 (1H, dd, $J = 3,2 ; 1,5$ Hz)	72,1 d
H-3	3,53 (1H, dd, $J = 9,5 ; 3,5$ Hz)	72,2 d	3,54 (1H, dd, $J = 9,5 ; 3,2$ Hz)	72,3 d
H-4	3,27 (1H, t, $J = 9,0$ Hz)	73,9 d	3,27 (1H, t, $J = 9,5$ Hz)	74,0 d
H-5	3,42 (1H, q, $J = 6,1$ Hz)	69,7 d	3,43 (1H, dq, $J = 9,5; 6,1$ Hz)	69,7 d
H-6	1,11 (3H, t, $J = 6,0$ Hz)	17,9 d	1,11 (3H, t, $J = 6,1$ Hz)	17,8 d

#### II.1.2.1.2- Les coumarines.

##### II.1.2.1.2.1- Identification de FPE-1, le bergaptène

Soluble dans le chloroforme, il a été isolé de l'extrait au méthanol des figues de *F. pumila* sous forme d'aiguilles cristallines blanches dans le mélange hexane-acétate d'éthyle (24 : 01). Il fond entre 188 - 189°C et présente une fluorescence bleu intense sur plaque de CCM illuminée en UV à 254 nm, ce qui laisse présager que FPE-1 serait une coumarine.

Sa formule brute  $C_{12}H_8O_4$  (calculée 216,1895 pour  $C_{12}H_8O_4$ ) renfermant neuf degrés d'insaturation, a été déduite de son spectre de masse en impact électronique haute résolution pour le pic à  $m/z$  216,0423. Outre ce pic, nous observons un pic important à  $m/z$  201 (40 %) résultant de la perte d'un groupement méthyle soit  $[M - 15]$ .

Sur son spectre de RMN  $^1H$  (Fig. 22), on observe :

- Un système AB de deux protons oléfiniques à  $\delta_H$  8,13 (1H, d,  $J = 10,0$  Hz) et 6,25 (1H, d,  $J = 10,0$  Hz), caractéristiques respectivement des protons en position H-4 et H-3 des coumarines (Cardono *et al.*, 1992).

- Un système AB de deux protons oléfiniques à  $\delta_H$  7,54 (1H, d,  $J = 2,5$  Hz) et 7,00 (1H, d,  $J = 2,5$  Hz), caractéristiques des protons en position H-2' et H-3' d'un cycle furannique.

- Un singulet d'un proton à  $\delta_H$  7,11 (1H, s) attribuable au proton H-8,

- Un singlet de trois protons à  $\delta_H$  4,25 (3H, s), correspondant aux protons d'un groupement méthoxyle aromatique.

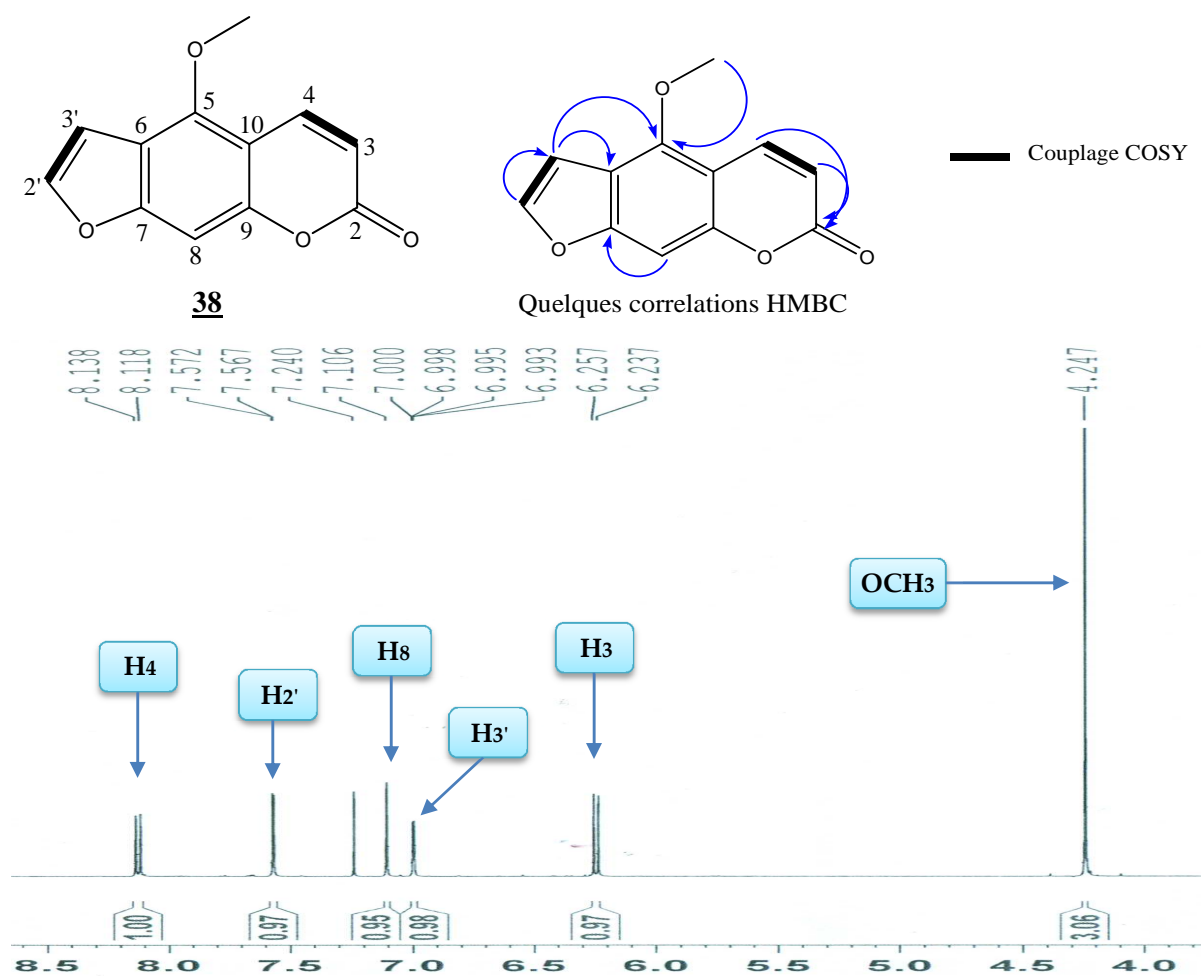
Son spectre de RMN  $^{13}C$  (Fig. 23) complètement découplé révèle la présence de 12 signaux de carbone comme l'indique la formule brute. L'analyse de ce spectre couplé aux spectres DEPT 90 et 135 a permis de distinguer :

- Six signaux de carbones quaternaires dont un carbonyle de lactone conjugué à  $\delta_C$  161,1 ; caractéristiques des coumarines (Cardono *et al.*, 1992) et cinq signaux de carbone aromatiques à  $\delta_C$  158,4 ; 152,7 ; 149,6 ; 112,7 ; 106,4 ;

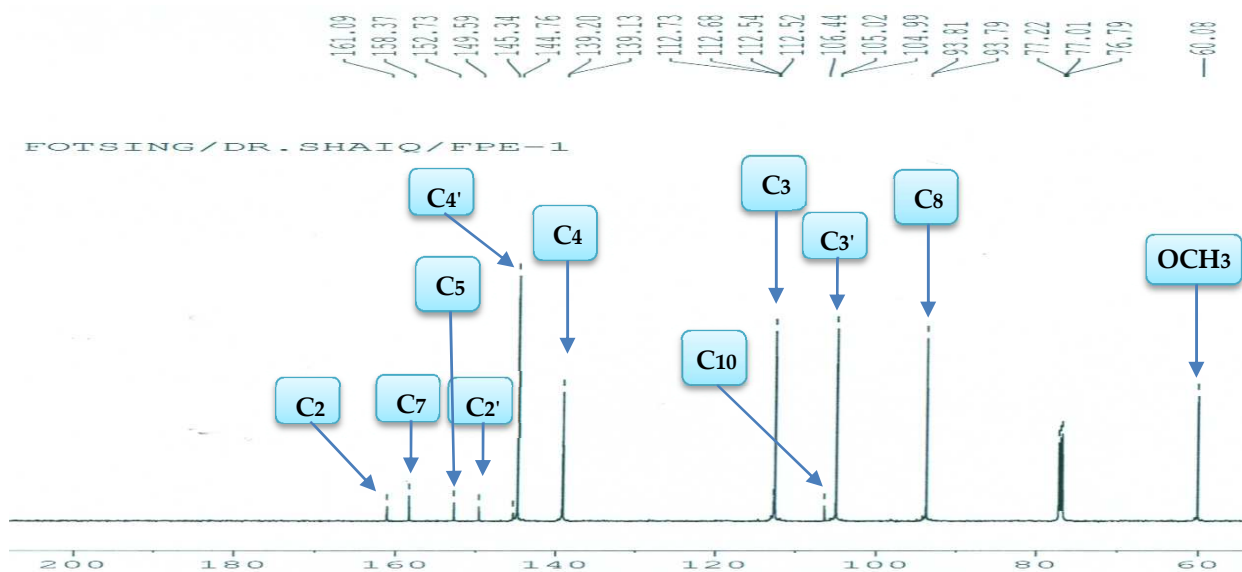
- Cinq signaux de carbones tertiaires dont un aromatique à  $\delta_C$  93,8 et quatre autres tous hybridés  $sp^2$  à  $\delta_C$  144,8 ; 139,2 ; 112,5 et 105,0 ;

- Un signal de carbone primaire à  $\delta_C$  60,1, attribuable à un groupement méthoxyle aromatique.

L'ensemble de toutes ces données spectrales, comparées à celles décrites dans la littérature permet d'attribuer au composé FPE-1 la structure **38** qui est celle du bergaptène (Liu *et al.*, 2004 ; Thanh *et al.*, 2004 ; Patil *et al.*, 2010 )



**Figure 22:** Spectre de RMN  $^1H$  (500 MHz,  $CDCl_3$ ) de FPE-1



**Figure 23:** Spectre de RMN  $^{13}\text{C}$  (150 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ) de FPE-1

**Tableau XIII:** Données de RMN  $^1\text{H}$  ( $\text{CDCl}_3$ , 500 MHz) et  $^{13}\text{C}$  ( $\text{CDCl}_3$ , 500 MHz) de FPE-1 et du bergaptène ( $\text{CDCl}_3$ , 300MHz) (Thanh et *al.*, 2004)

Position	FPE-1		Bergaptène	
	$\delta_{\text{H}}$ (m, $J$ (Hz))	$\delta_{\text{C}}$ (m)	$\delta_{\text{H}}$ (m, $J$ (Hz))	$\delta_{\text{C}}$ (m)
2	-	161,1 s	-	161,6 s
3	6,25 (1H, d, $J = 10,0$ Hz)	112,5 d	6,28 (1H, d, $J = 9,9$ Hz)	113,0 d
4	8,13 (1H, d, $J = 10,0$ Hz)	139,2 d	8,16 (H, d, $J = 9,9$ Hz)	139,6 d
5	-	149,6 s	-	150,0 s
6	-	112,7 s	-	113,1 s
7	-	158,4 s	-	158,8 s
8	7,11 (1H, s)	93,8 d	7,15 (1H, s)	94,3 d
9	-	152,7 s	-	153,1 s
10	-	106,4 s	-	106,8 s
2'	7,54 (1H, d, $J = 2,5$ Hz)	144,8 d	7,61 (1H, d, $J = 2,4$ Hz)	145,2 d
3'	7,00 (1H, d, $J = 2,5$ Hz)	105,0 d	7,03 (1H, d, $J = 2,4$ Hz)	105,4 d
5-OMe	4,25 (3H, s)	60,1 q	4,28 (3H, s)	60,5 q

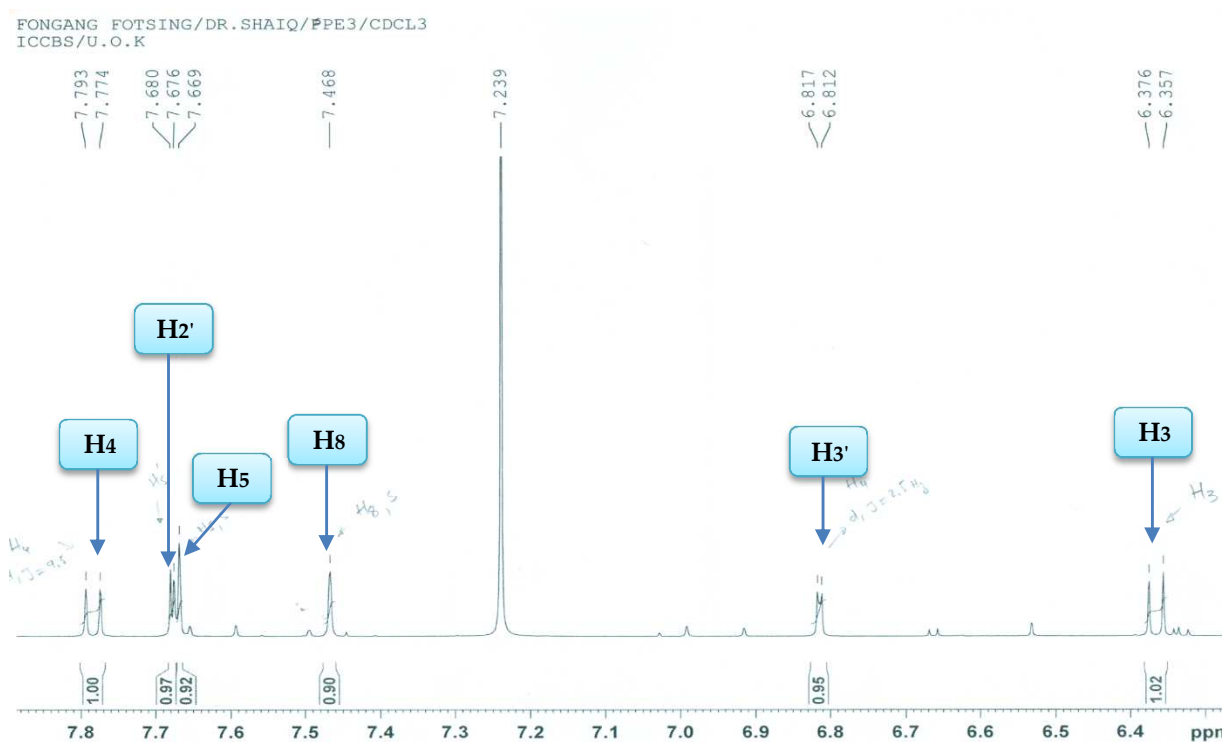
#### II.1.2.1.2.2- Identification de FPE-2, le psoralène

Ce composé cristallise sous forme de paillettes blanches dans le mélange Hex.-A.E (24 : 01). Soluble dans le chloroforme, il fond entre 161 - 162°C, et présente une fluorescence bleu intense sous UV à 254 nm, ce qui laisse présager que FPE-3 serait une coumarine.

Son spectre de masse en impact électronique présente le pic de l'ion moléculaire à  $m/z$  186,1 dont l'analyse à haute résolution lui attribue la formule brute  $C_{11}H_6O_3$  pour le pic à  $m/z$  186,0317 (calc. 186,1635 pour  $C_{11}H_6O_3$ ). FPE-2 renferme neuf degrés d'insaturation et un groupement méthoxyle en moins que le composé FPE-1.

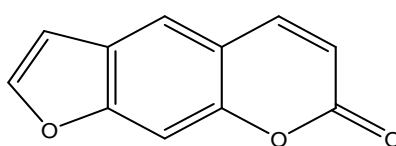
En effet, une étude comparative des spectres de RMN  $^1H$  de ces deux composés (FPE-1 et FPE-2) révèle de nombreuses similitudes. On observe sur ces deux spectres les signaux caractéristiques d'un squelette de type furanocoumarine. Les seules différences observées entre ces deux composés résident au niveau de :

- L'absence sur le spectre de RMN  $^1H$  de FPE-2 du signal du groupement méthoxyle ;
- L'apparition d'un signal additionnel d'un singulet d'un proton à  $\delta_H$  7,67 (1H, s) attribuable au proton H-5 en lieu et place du groupement méthoxyle.



**Figure 24:** Spectre de RMN  $^1H$  ( $CDCl_3$ , 500 MHz) de FPE-2

Sur la base de ces données spectroscopiques, la structure **39** connue sous le nom de psoralène a été attribuée au composé FPE-3 (Kim *et al.*, 2006).



**39**

**Tableau XIV:** Données de RMN <sup>1</sup>H (CDCl<sub>3</sub>, 500 MHz) de FPE-2 et du Psoralène (CDCl<sub>3</sub>, 300 MHz) (Kim *et al.*, 2006)

Position	FPE-2	Psoralène
	$\delta_H$ (m, <i>J</i> (Hz))	$\delta_H$ (m, <i>J</i> (Hz))
2	-	-
3	6,37 (1H, d, <i>J</i> = 9,5 Hz)	6,36 (1H, d, <i>J</i> = 9,6 Hz)
4	7,78 (1H, d, <i>J</i> = 9,5 Hz)	7,78 (H, d, <i>J</i> = 9,6 Hz)
5	7,67 (1H, s)	7,67 (1H, s)
6	-	-
7	-	-
8	7,47 (1H, s)	7,44 (1H, sl)
9	-	-
10	-	-
2'	7,68 (1H, d, <i>J</i> = 2,0 Hz)	7,68 (1H, d, <i>J</i> = 2,4 Hz)
3'	6,81 (1H, d, <i>J</i> = 2,5 Hz)	6,82 (1H, d, <i>J</i> = 2,4 Hz)

#### II.1.2.1.2.3- Identification de FPE-22-10, Aviprine

Soluble dans le chloroforme, ce composé se présente sous forme de poudre jaune pâle après précipitation dans le système hexane – acétate d'éthyle (13 : 7) et fond en se décomposant à 134 °C. Il présente une fluorescence bleu intense sous UV à 254 nm, ce qui laisse présager que ce composé tout comme FPE-1 et FPE-3 serait une coumarine. Son pouvoir rotatoire est  $[\alpha]_D^{24} + 18$  (Me<sub>2</sub>CO, c = 0,2).

Son spectre UV présente des bandes d'absorption à  $\lambda_{\max}$  310, 268, 250 et 225 nm.

Son spectre IR exhibe des bandes de vibration caractéristiques des hydroxyles (3400 cm<sup>-1</sup>), d'un carbonyle de lactone (1716 cm<sup>-1</sup>), des doubles liaisons C=C aromatiques (1604).

Sa formule brute C<sub>16</sub>H<sub>16</sub>O<sub>6</sub> (calculée 304,2946 pour C<sub>16</sub>H<sub>16</sub>O<sub>6</sub>), renfermant neuf degrés d'insaturation a été déduite de son spectre de masse haute résolution en impact électronique pour le pic à *m/z* 304,0947. Ceci est en accord avec les spectres de RMN <sup>1</sup>H et <sup>13</sup>C. Une étude comparative des spectres de RMN des composés FPE-1 et FPE-22-10 révèle de nombreuses similitudes.



En effet, On observe sur leurs spectres, les signaux caractéristiques d'un squelette de type furanocoumarine. Les différences majeures observées sur les spectres de RMN  $^1\text{H}$  de ces deux composés résident au niveau de :

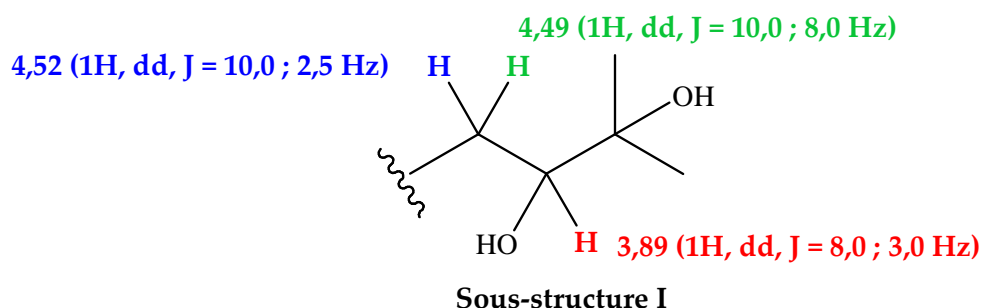
- la disparition du singulet de trois protons attribuable au signal du groupement méthoxyle aromatique visible sur le spectre de RMN  $^1\text{H}$  du composé FPE-1 ;
- l'apparition d'un ensemble de signaux caractéristiques d'une unité isoprène.

On observe également un ensemble de trois signaux apparaissant chacun sous la forme d'un doublet dédoublé d'un proton à  $\delta_{\text{H}}$  4,52 (1H, dd,  $J = 10,0 ; 2,5$  Hz),  $\delta_{\text{H}}$  4,43 (1H, dd,  $J = 10,0 ; 8,0$  Hz), et  $\delta_{\text{H}}$  3,89 (1H, dd,  $J = 8,0 ; 3,0$  Hz) dont les corrélations sont évidentes sur le spectre COSY. Les corrélations observées sur le spectre HSQC ont permis de relier ces protons aux carbones à  $\delta_{\text{C}}$  74,5 pour les deux premiers protons et 71,7 pour le troisième.

- deux singulets de trois protons chacun à  $\delta_{\text{H}}$  1,34 (3H, s) /  $\delta_{\text{C}}$  26,7 et  $\delta_{\text{H}}$  1,30 (3H, s) /  $\delta_{\text{C}}$  25,2 attribuables à deux méthyles.

- deux singulets d'un proton chacun à  $\delta_{\text{H}}$  2,77 et 2,10 attribuables à deux hydroxyles aliphatiques.

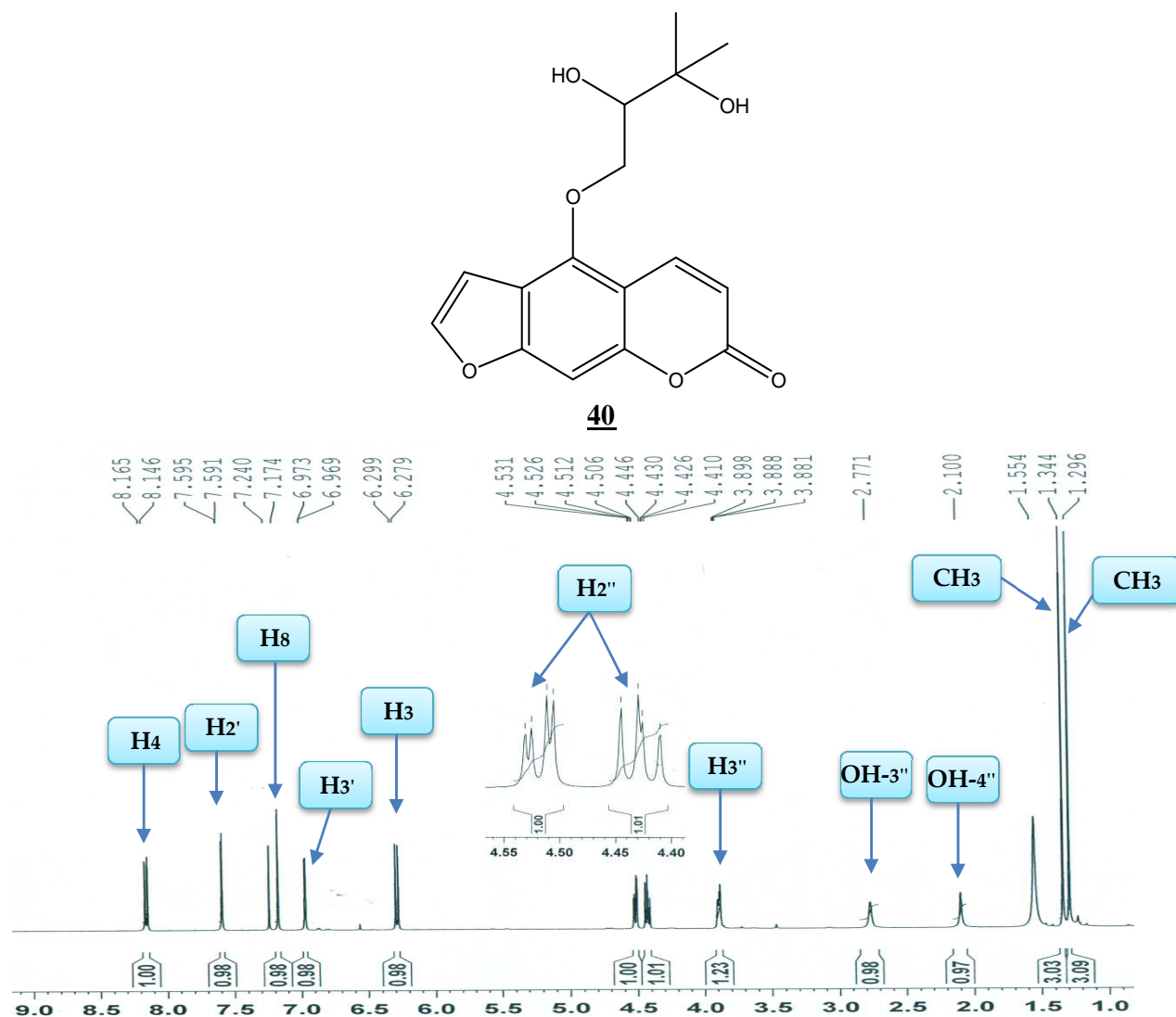
Toutes ces informations sont en accord avec une unité isoprène de type 2,3-dihydroxy-3-méthylbutyl (sous-structure I).



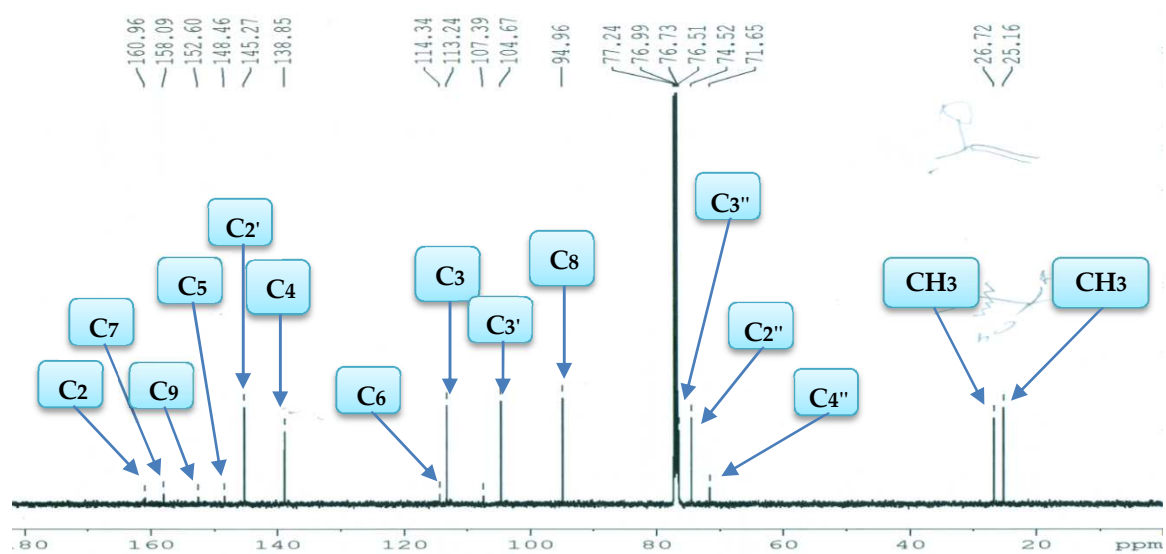
Sur son spectre de RMN  $^{13}\text{C}$  (Fig. 26), on observe 16 signaux de carbone dont l'analyse combinée avec le spectre de DEPT 135 permet de distinguer :

- Sept signaux de carbones quaternaires dont un carbonyle de lactone conjugué à  $\delta_{\text{C}}$  161,0,
- Cinq méthines,
- Un méthylène à  $\delta_{\text{C}}$  74,5
- Deux méthyles à  $\delta_{\text{C}}$  26,7 et 25,2

Toutes ces données spectroscopiques (Tableau XV) sont en accord avec celles décrites dans la littérature pour l'aviprine ou hydrate d'oxypeucedanine, précédemment isolé de *Peucedanum ostruthium* par Joa *et al.*, (2011).



**Figure 25:** Spectre de RMN  $^1\text{H}$  ( $\text{CDCl}_3$ , 500 MHz) de PFE-22-10



**Figure 26:** Spectre de RMN  $^{13}\text{C}$  ( $\text{CDCl}_3$ , 125 MHz) de PFE-22-10

**Tableau XV:** Données de RMN  $^1\text{H}$  ( $\text{CDCl}_3$ , 500 MHz) et  $^{13}\text{C}$  ( $\text{CDCl}_3$ , 125 MHz) de FPE-22-10 et de l'aviprine ( $\text{CDCl}_3$ , 300MHz) (Thanh *et al.*, 2004 ; Joa *et al.*, 2011)

Position	FPE-22-10		Aviprine	
	$\delta_{\text{H}}$ (nH, m, $J$ (Hz))	$\delta_{\text{C}}$ (m)	$\delta_{\text{H}}$ (nH, m, $J$ (Hz))	$\delta_{\text{C}}$ (m)
2	-	161,0 s	-	161,6 s
3	6,29 (1H, d, $J = 10,0$ Hz)	113,2 d	6,26 (1H, d, $J = 9,9$ Hz)	113,3 d
4	8,16 (1H, d, $J = 9,5$ Hz)	138,9 d	8,17 (1H, d, $J = 9,9$ Hz)	139,5 d
5	-	148,5 s	-	148,9 s
6	-	114,3 s	-	114,6 s
7	-	158,1 s	-	158,5 s
8	7,17 (1H, s)	95,0 d	7,13 (1H, sl)	95,1 d
9	-	152,6 s	-	152,9 s
10	-	107,4 s	-	107,6 s
2'	7,59 (1H, d, $J = 2,0$ Hz)	145,3 d	7,61 (1H, d, $J = 2,4$ Hz)	145,6 d
3'	6,97 (1H, d, $J = 2,0$ Hz)	104,7 d	7,00 (1H, d, $J = 2,4$ Hz)	105,2 d
2''	4,43 (1H, dd, $J = 10,0 ; 8,0$ Hz) 4,52 (1H, dd, $J = 10,0 ; 2,5$ Hz)	74,5 t	4,45 (1H, dd, $J = 9,6 ; 7,8$ Hz) 4,57 (1H, dd, $J = 9,6 ; 3,0$ Hz)	74,9 t
3''	3,89 (1H, dd, $J = 8,0 ; 3,0$ Hz)	76,5 d	3,93 (1H, dd, $J = 7,8 ; 3,0$ Hz)	77,0 d
3''-OH	2,77 (1H, sl)	-	3,04 (1H, s)	-
4''-OH	2,10 (1H, sl)	71,7 q	2,18 (1H, s)	72,1 q
5''	1,34 (3H, s)	26,7 q	1,38 (3H, s)	27,0 q
6''	1,30 (3H, s)	25,2 q	1,33 (3H, s)	25,6 q

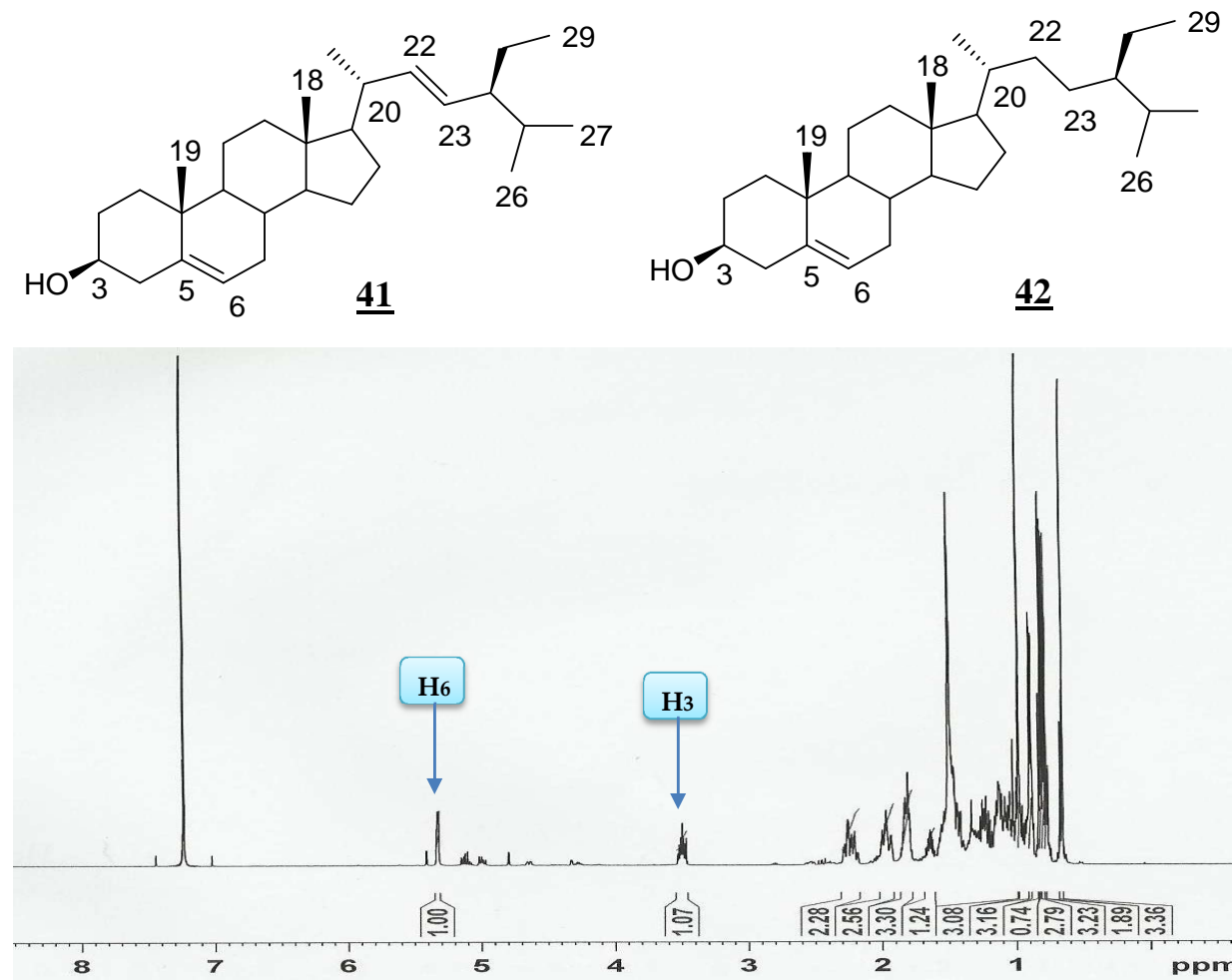
### II.1.2.1.3- Identification des stérols

#### II.1.2.1.3.1- Identification de FPE-4 (mélange de phytostérols)

Le composé FPE-4 cristallise sous forme d'aiguilles blanches dans le mélange *n*-hexane/acétate d'éthyle (13 : 03). Il est soluble dans le chloroforme et réagit positivement au test de Liebermann-Burchard, donnant une coloration bleue qui vire rapidement au vert foncé, caractéristique des stérols.

Sur son spectre de masse en IE, on observe deux pics d'ions moléculaires  $[\text{M}]^+$  à  $m/z$  412,3 (int. rel. = 100) et 414,3 (int. rel. = 26,8) compatibles respectivement avec les formules brutes  $\text{C}_{29}\text{H}_{46}\text{O}$  et  $\text{C}_{29}\text{H}_{48}\text{O}$ .

FPE-4 a été identifié à un mélange de phytostérols constitué de stigmastérol **41** et de  $\beta$ -sitostérol **42** avec le second comme composé majoritaire (Kovganko *et al.*, 1999) grâce à ses données de RMN  $^1\text{H}$  et une CCM comparative avec un échantillon de référence disponible au laboratoire.



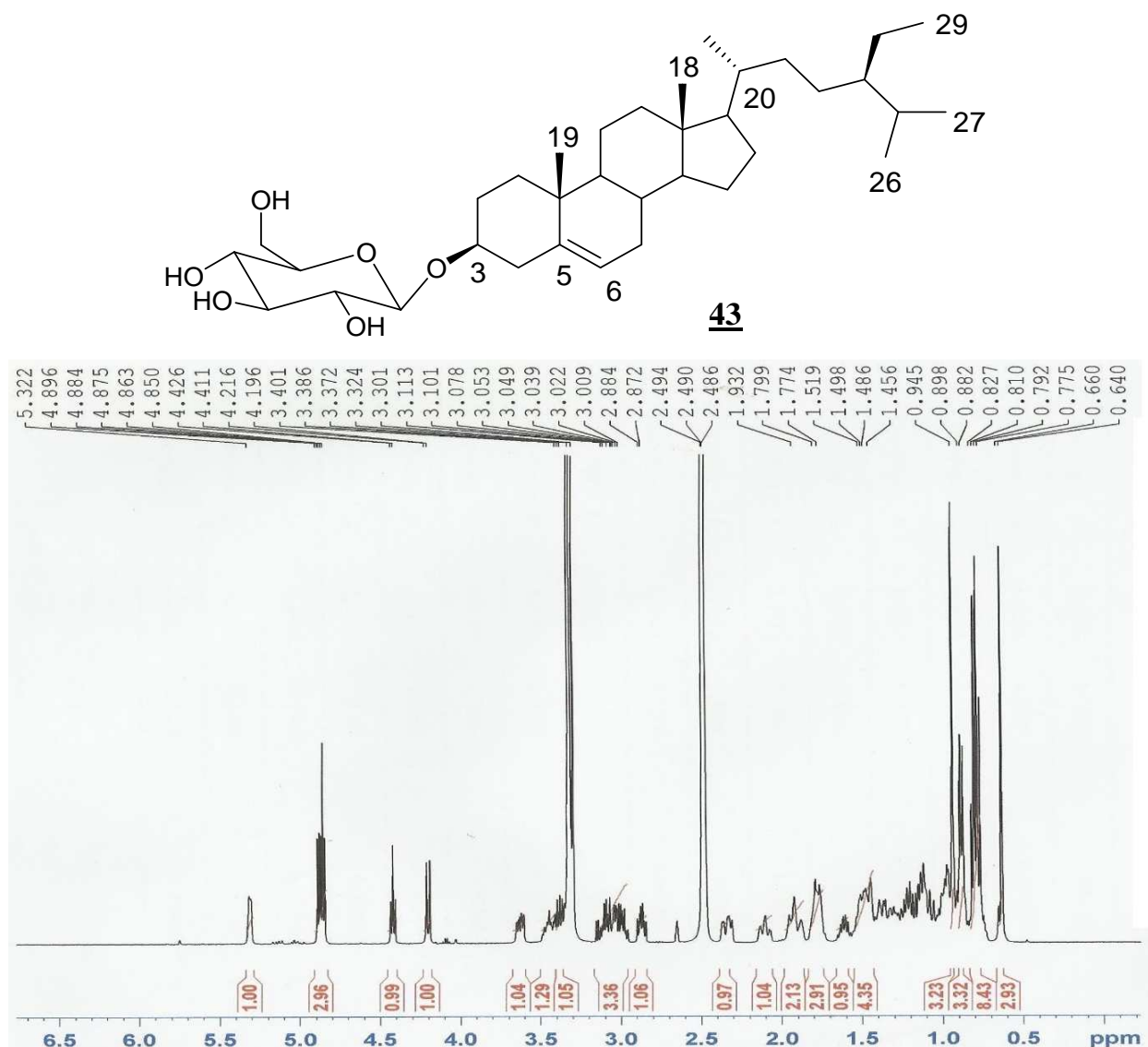
**Figure 27:** Spectre de RMN  $^1\text{H}$  ( $\text{CDCl}_3$ , 500 MHz) de FPE-4

#### II.1.2.1.3.2- Identification de FPE-11 (3-O- $\beta$ -D-glucopyranoside de $\beta$ -sitostérol)

Le composé FPE-11 se présente sous forme de fines particules solides de couleur beige dans le mélange *n*-hexane/acétate d'éthyle (3 : 7). Il est soluble dans la pyridine et fond entre 275 -277 °C. Il réagit positivement aux tests de Molish et de Liebermann-Burchard, indiquant à la fois la nature glycosidique et stéroïdique de celui-ci.

Son spectre de masse en ESI (mode positif) montre le pic de l'ion *pseudo* moléculaire  $[\text{M}-\text{H}]^+$  à  $m/z$  575, qui, combiné aux données de RMN, permet de lui attribuer la formule brute  $\text{C}_{35}\text{H}_{60}\text{O}_6$ , renfermant six degrés d'insaturation.

FPE-11 a été identifié au 3-*O*-β-D-glucopyranoside de β-sitostérol **43** par CCM comparative avec un échantillon authentique disponible dans notre laboratoire d'une part et par ces données de RMN <sup>1</sup>H d'autre part.



**Figure 28:** Spectre de RMN <sup>1</sup>H (Pyridine-*d*<sub>5</sub>, 400 MHz) de FPE-11

#### II.1.2.1.4- Une ionone : identification de FPE-22-5 (le blumenol A)

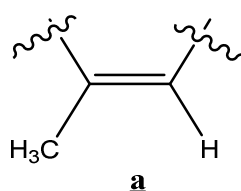
Le composé FPE-22-5 a été isolé sous forme de fines particules solides dans le système hexane-acétate d'éthyle (3 : 1). Il fond entre 114 – 115 °C, et est soluble dans l'acétone, et le méthanol.

Son poids moléculaire a été suggéré par le pic de l'ion moléculaire à *m/z* 224,1 sur son spectre de masse en Impact Electronique, dont l'analyse HRSMIE pour le pic à *m/z* 224,1412 permet de lui attribuer la formule moléculaire C<sub>13</sub>H<sub>20</sub>O<sub>3</sub> (calculée 224,2961 pour C<sub>13</sub>H<sub>20</sub>O<sub>3</sub>) renfermant quatre degrés d'insaturation.

Le large pic intense à  $3406\text{ cm}^{-1}$  observé sur son spectre IR et la perte successive de deux fragments à  $m/z - 18$  sur le spectre de masse IE, révèle la présence de deux groupes hydroxyles (associées à la perte de deux molécules d'eau). La présence d'un carbonyle conjugué est suggérée par l'absorption IR à  $\nu_{\text{max}} 1659\text{ cm}^{-1}$  et la bande d'absorption UV à  $\lambda_{\text{max}}(\text{MeOH}) 236\text{ nm}$  (4,05).

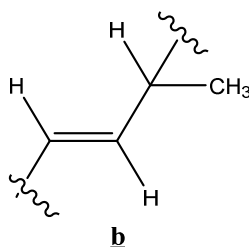
Sur son spectre de RMN  $^1\text{H}$  (Fig. 29), on observe :

- un signal à  $\delta_{\text{H}} 1,91$  (3H, sl) attribuable à un groupement méthyle situé sur un carbone hybridé  $\text{sp}^2$  à  $\delta_{\text{C}} 167,5$ , observable sur son spectre HMBC. Ce signal est couplé à un autre signal élargi à  $\delta_{\text{H}} 5,87$  (1H, sl), avec une faible corrélation sur le spectre COSY, suggérant un couplage à longue distance entre le groupe méthyle et un proton oléfinique, d'où la sous structure **a**.



- une superposition de deux protons à  $\delta_{\text{H}} 5,79$  (1H, d,  $J = 16,0\text{ Hz}$ ) et  $5,78$  (1H, dd,  $J = 16,0 ; 6,0\text{ Hz}$ ), suggère la présence d'une double liaison trans-disubstituée.

- un signal à  $\delta_{\text{H}} 1,23$  intégrant pour trois protons (3H, d,  $J = 6,5\text{ Hz}$ ) entretenant un couplage observable sur le spectre COSY avec un multiplet large à  $\delta_{\text{H}} 4,40$  (1H, dq,  $J = 6,5 ; 6,0\text{ Hz}$ ), également couplé à l'un des protons éthyléniques à  $\delta_{\text{H}} 5,78$  ; d'où la sous-structure **b**.



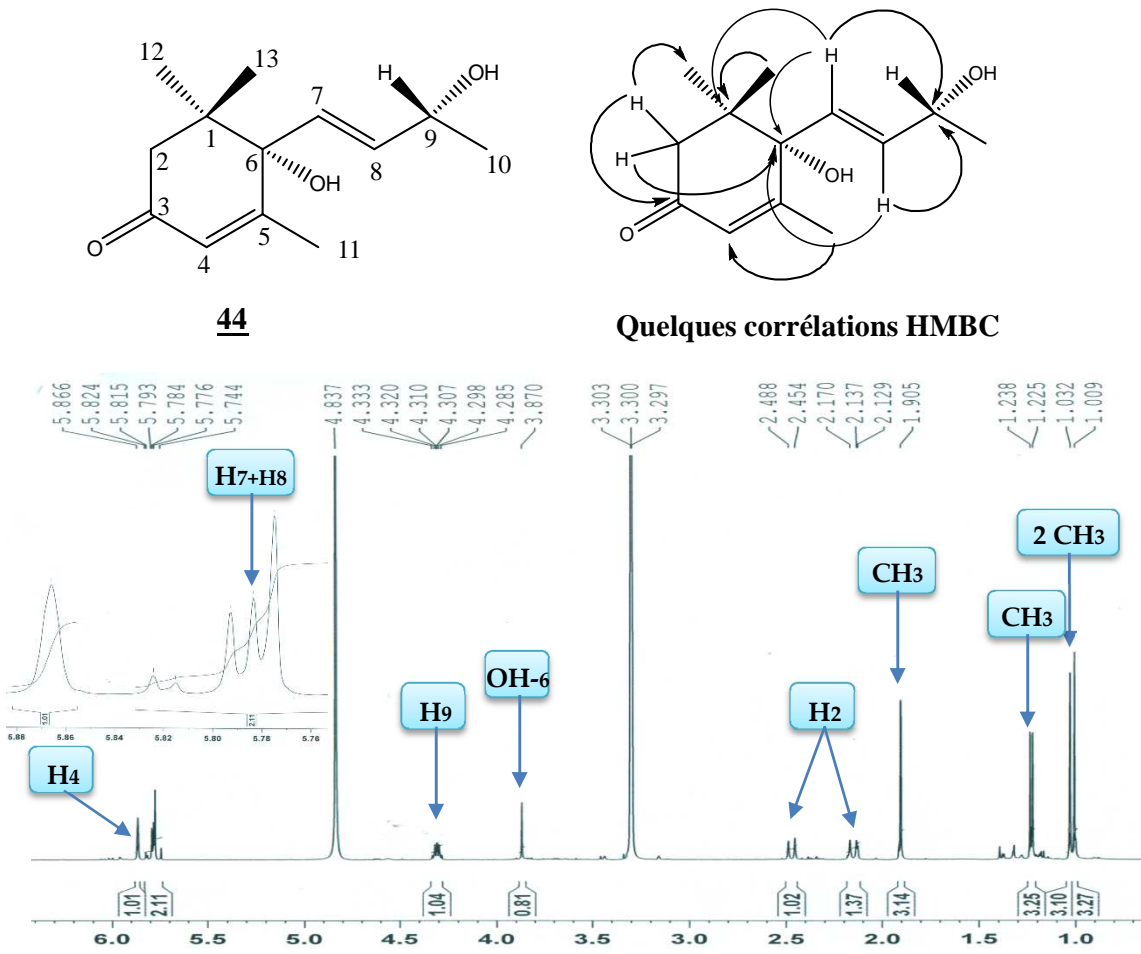
- deux singulets intégrant pour trois protons chacun à  $\delta_{\text{H}} 1,03$  (3H, s) et  $1,01$  (3H, s) attribuables à deux méthyles géminés portés par un carbone  $\text{sp}^3$ .

- une paire de protons de méthylène isolés centrés à  $\delta_{\text{H}} 2,15$  (1H, d,  $J = 16,5\text{ Hz}$ ) et  $2,47$  (1H, d,  $J = 17,0\text{ Hz}$ ).

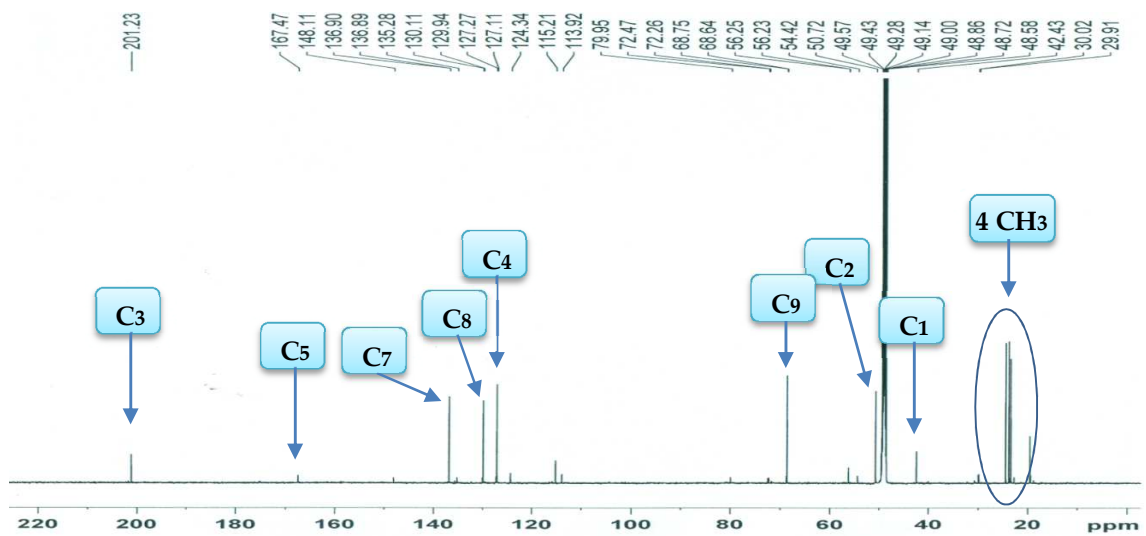
Son spectre de RMN  $^{13}\text{C}$  (Fig. 30) fait ressortir 13 signaux que l'on peut à l'aide des spectres DEPT 90 et 135 regrouper en quatre méthyles, un méthylène, quatre méthines et quatre carbones quaternaires parmi lesquels un carbonyle de cétone conjugué. Les différentes sous-structures ont été assemblées à l'aide des corrélations  $^2J$  et  $^3J$  visibles sur le spectre HMBC.

Toutes ces données, en accord avec celles décrites dans la littérature ont permis d'attribuer à FPE-22-5 la structure **44**, qui est celle du Bluménol A, isolé pour la première fois

des feuilles de *Podocarpus blumei* (Galbraith et Horn, 1972 ; Xiaoxi *et al.*, 1999 ; Fang-rong *et al.*, 2000 ) et reporté ici pour la première fois du genre *Ficus*.



**Figure 29:** Spectre de RMN  $^1\text{H}$  ( $\text{CD}_3\text{OD}$ , 500 MHz) de PFE-22-5



**Figure 30:** Spectre de RMN  $^{13}\text{C}$  ( $\text{CD}_3\text{OD}$ , 150 MHz) de PFE-22-5

**Tableau XVI:** Données de RMN  $^1\text{H}$  ( $\text{CD}_3\text{OD}$ , 500 MHz) et  $^{13}\text{C}$  ( $\text{CD}_3\text{OD}$ , 150MHz) de FPE-22-5 et du blumenol A ( $\text{CD}_3\text{Cl}$ , 500 MHz) (Xiaoxi *et al.*, 1999)

Position	FPE-22-5		Blumenol A	
	$\delta_{\text{H}}$ (m, $J$ (Hz))	$\delta_{\text{C}}$ (m)	$\delta_{\text{H}}$ (m, $J$ (Hz))	$\delta_{\text{C}}$ (m)
1	-	42,4 s	-	41,1 s
2	2,15 (1H, d, $J = 16,5$ Hz) 2,47 (1H, d, $J = 17,0$ Hz)	50,7 t	2,25 (1H, d, $J = 17,0$ Hz) 2,45 (1H, d, $J = 17,0$ Hz)	49,7 t
3	-	201,2 s	-	198,1 s
4	5,87 (1H, sl)	127,3 d	5,91 (1H, sl)	126,9 d
5	-	167,5 s	-	166,3 s
6-OH	3,87 (1H, sl)	80,0 s	-	79,0 s
7	5,79 (1H, d, $J = 16,0$ Hz)	136,9 d	5,79 (1H, d, $J = 15,5$ Hz)	135,7 d
8	5,78 (1H, dd, $J = 16,0; 6,0$ Hz)	130,0 d	5,78 (1H, dd, $J = 15,5; 6,0$ Hz)	129,1 d
9	4,31 (1H, dq, $J = 6,5 ; 6,0$ Hz)	68,6 d	4,31 (1H, m)	68,0 d
10	1,23 (3H, s)	24,5 q	1,30 (3H, s)	23,7 q
11	1,01 (3H, s)	23,5 q	1,02 (3H, s)	22,8 q
12	1,03 (3H, s)	23,8 q	1,09 (3H, s)	24,1 q
13	1,91 (3H, s)	19,5 q	1,90 (3H, s)	18,9 q

#### II.1.2.1.5- Le dérivé de l'acide benzoïque : identification de FPE-5, l'acide vanillique

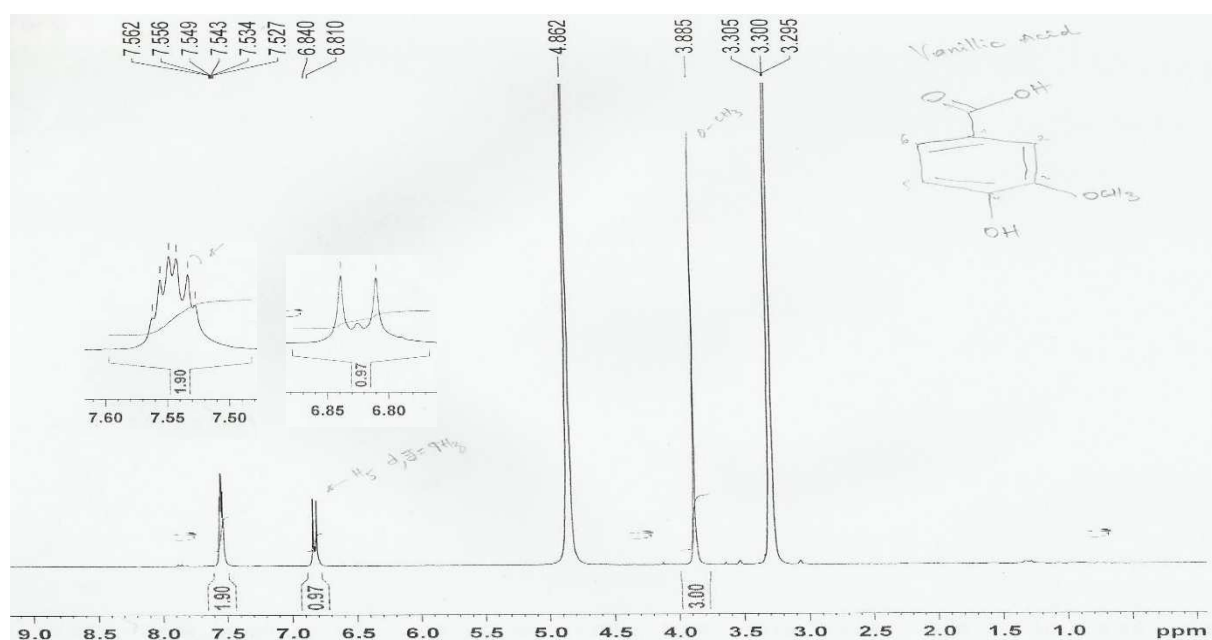
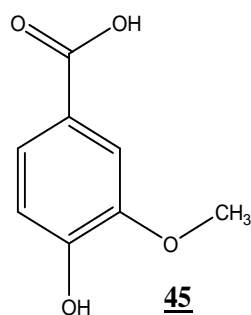
Le composé FPE-5 précipite sous forme de fines particules solides blanchâtre dans le mélange *n*-hexane/acétate d'éthyle (4 : 1). Il est soluble dans le méthanol et réagit positivement au test au  $\text{FeCl}_3$ , caractéristique des hydroxyles phénoliques.

Son spectre de masse en IE montre le pic de l'ion moléculaire  $[\text{M}]^+$  à  $m/z$  168,1, dont l'analyse à haute résolution pour le pic à  $m/z$  168,0423 lui attribue la formule brute  $\text{C}_8\text{H}_8\text{O}_4$  (calculée 168,1380 pour  $\text{C}_8\text{H}_8\text{O}_4$ ), qui renferme cinq degrés d'insaturation.

Son spectre de RMN  $^1\text{H}$  (Fig. 31) présente à  $\delta_{\text{H}}$  7,55 un multiplet de deux protons aromatiques et un doublet d'un proton aromatique à  $\delta_{\text{H}}$  6,83 (1H, d,  $J = 9,0$  Hz). De même, on observe à  $\delta_{\text{H}}$  3,89 un singulet de trois protons attribuable à un groupement méthoxyle.

Toutes les données physiques et spectroscopiques comparées à celles décrites dans la littérature, ont permis d'identifier le composé FPE-5 à l'acide 4-hydroxy-3-méthoxybenzoïque, généralement appelé acide vanillique déjà décrit par Prachayasittikul *et al.*, (2009).





**Figure 31:** Spectre de RMN  $^1\text{H}$  ( $\text{CD}_3\text{OD}$ , 300 MHz) de PFE-5

### II.1.2.2. Composés isolés de *Ficus thonningii*

Un total de 25 composés ont été isolés des figes et des racines de *F. thonningii* à raison de 13 composés de l'extrait des figes et de 12 de celui des racines. Il convient de noter que le mélange de  $\beta$ -sitostérol et de stigmastérol, en plus du glycoside de  $\beta$ -sitostérol, précédemment isolés et décrits ont également été obtenus de *F. thonningii*, et ne seront plus décrits.

#### II.1.2.2.1- Les flavonoïdes

##### II.1.2.2.1.1- Identification de FTF-19, Alpinumisoflavone

Le composé FTF-19, isolé à la fois des figes et des racines de *F. thonningii* (FTBR-2) est obtenu sous forme de fines aiguilles pointues jaunes dans le système Hex/AE (8 : 2). Il fond entre 212,1 - 213° C, et est soluble dans le DMSO. Une CCM développée dans le système toluène-acétate d'éthyle (9 : 1) sur plaque de gel de silice pulvérisée au mélange vanilline-acide sulfurique suivie d'un léger chauffage laisse apparaître une tache jaune ( $R_f$  0,6). Il répond positivement au test au chlorure ferrique ( $\text{FeCl}_3$ ) caractéristiques des hydroxyles phénoliques.

Son spectre de masse enregistré en Impact Electronique (IE) présente le pic de l'ion moléculaire  $[M^+]$  à  $m/z$  336,1 dont l'analyse à haute résolution pour le pic à  $m/z$  336,0997 permet de lui attribuer la formule brute  $C_{20}H_{16}O_5$  (calc.  $m/z$  336,3380 pour  $C_{20}H_{16}O_5$ ). FTF-46 renferme 13 degrés d'insaturation.

Son spectre de RMN  $^1H$  (Fig. 32) révèle des signaux bien résolus typiques d'un noyau d'isoflavone contenant un noyau pyranne, confirmé par son spectre IR qui révèle la présence du carbonyle  $\alpha, \beta$ -Insaturée du cycle C.

L'exploitation du spectre de RMN  $^1H$  couplé à celui de RMN  $^{13}C$  (Fig. 33) fait ressortir la présence d'un singulet d'un proton à  $\delta_H$  8,36 porté par le carbone à  $\delta_C$  154,2 ( $C_2$ ), attribuable au proton H-2 caractéristique des isoflavonoïdes.

Nous observons entre autres, un singulet d'un proton à 13,37 ppm échangeable à l'eau lourde et attribuable à l'hydrogène de l'hydroxyle chélaté en position 5 des flavonoïdes.

- un singulet de six protons à  $\delta_H$  1,42 /  $\delta_C$  27,8 correspondant au groupement *gem*-diméthyle ;
- une paire de doublets d'un proton chacun à  $\delta_H$  6,61 (1H, d,  $J = 10,0$  Hz) /  $\delta_C$  114,5 et  $\delta_H$  5,80 (1H, d,  $J = 10,5$  Hz) /  $\delta_C$  129,1 ; le tout couplé en HMBC à un atome de carbone quaternaire hybridé  $sp^3$  à  $\delta_C$  78,1 ; caractéristiques d'un groupement 2,2-diméthylchromène.

Le spectre de RMN  $^1H$  montre également une paire de doublets intégrant chacun pour deux protons, à  $\delta_H$  7,37 (2H, d,  $J = 8,5$  Hz) /  $\delta_C$  130,1 et 6,81 (2H, d,  $J = 9,0$  Hz) /  $\delta_C$  115,0 qui ont été attribués aux protons H-2'/H-6' et H-3'/H-5' du noyau aromatique paradisubstitué (cycle B) hydroxylé en position C-4'. L'existence du 4'-OH est confirmée par la présence d'un singulet large d'un proton à  $\delta_H$  9,60 (1H, s). Le signal du singulet d'un proton à  $\delta_H$  6,49 (1H, s) /  $\delta_C$  94,6 est attribuable au proton H-8.

La localisation du noyau pyranique linéaire a été faite grâce à l'analyse du spectre HMBC, qui montre les corrélations entre les protons à  $\delta_H$  6,61 (1H, d,  $J = 10,0$  Hz ; H-4'') et 5,80 (1H, d,  $J = 10,5$  Hz, H-3'') avec le carbone C-6 à  $\delta_C$  105,4, d'une part et entre le proton à  $\delta_H$  13,37 (1H ; s) et le carbone à  $\delta_C$  105,4 d'autre part, nous permettant ainsi de fixer ce noyau en position 6 et 7.

Toutes ces données, sont identiques à celles décrites dans la littérature pour l'alpinumisoflavone **46** (Martinez *et al.*, 1982 ; Rahman *et al.*, 2007 ; Hernandez *et al.*, 2000).



**Tableau XVII:** Données de RMN  $^1\text{H}$  (DMSO- $d_6$ , 500 MHz) et  $^{13}\text{C}$  (DMSO- $d_6$ , 125 MHz) de FTF-19 et de l'alpinumisoflavone ( $\text{CD}_3\text{Cl}-\text{CD}_3\text{OD}$ , 400 MHz) (Rahman *et al.*, 2007)

Position	FTF-19		Alpinumisoflavone	
	$\delta_{\text{H}}$ (m, $J$ (Hz))	$\delta_{\text{C}}$ (m)	$\delta_{\text{H}}$ (m, $J$ (Hz))	$\delta_{\text{C}}$ (m)
2	8,36 (1H, s)	154,2 d	8,36 (1H, s)	152,7 d
3	-	122,4 s	-	123,0 s
4	-	180,5 s	-	181,2 s
5-OH	13,37 (1H, s)	156,7 s	13,08 (1H, s)	157,0 s
6	-	105,4 s	-	106,8 s
7	-	158,8 s	-	157,5 s
8	6,49 (1H, s)	94,6 d	6,34 (1H, s)	95,0 d
9	-	157,5 s	-	156,2 s
10	-	104,7 s	-	105,7 s
1'	-	121,0 s	-	123,8 s
2'	7,37 (2H, d, $J = 8,5$ Hz)	130,1 d	7,39 (2H, d, $J = 8,7$ Hz)	130,4 d
3'	6,81 (2H, d, $J = 9,0$ Hz)	115,0 d	6,89 (2H, d, $J = 8,7$ Hz)	115,9 d
4'-OH	9,60 (1H, sl)	156,0 s	5,80 (1H, s)	159,7 s
5'	6,81 (2H, d, $J = 9,0$ Hz)	115,0 d	6,89 (2H, d, $J = 8,7$ Hz)	115,9 d
6'	7,37 (2H, d, $J = 8,5$ Hz)	130,1 d	7,39 (2H, d, $J = 8,7$ Hz)	130,4 d
2''	-	78,1 s	-	78,2 s
3''	5,80 (1H, d, $J = 10,5$ Hz)	129,1 d	5,63 (1H, d, $J = 10,2$ Hz)	128,3 d
4''	6,61 (1H, d, $J = 10,0$ Hz)	114,5 d	6,73 (1H, d, $J = 10,2$ Hz)	115,5 d
5''-Me	1,42 (3H, s)	27,8 q	1,47 (3H, s)	28,3 q
6''-Me	1,42 (3H, s)	27,8 q	1,47 (3H, s)	28,3 q

#### II.1.2.2.1.2- Identification de FTBR-15, Hydroxylalpinumisoflavone

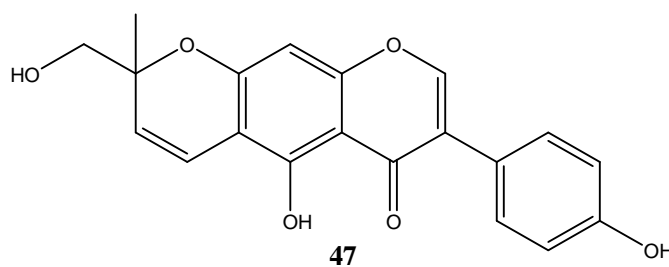
Le composé FTBR-15 a été obtenu des racines de *F. thonningii*. Il précipite sous forme de solide polymorphe jaune dans le système Hex/AE (3 : 1) et fond entre 212.1 – 213 °C, et est soluble dans le DMSO. Une CCM développée dans le système  $\text{CH}_3\text{Cl}-\text{MeOH}-\text{NH}_3$  (85: 18 :1) sur plaque de gel de silice pulvérisée au mélange vanilline-acide sulfurique suivie d'un léger chauffage, laisse apparaître une tache jaune (Rf 0,65). Il répond positivement au test au chlorure ferrique ( $\text{FeCl}_3$ ) caractéristique des hydroxyles phénoliques.

Sa formule brute C<sub>20</sub>H<sub>16</sub>O<sub>6</sub>, renfermant 13 degrés d'insaturation a été déduite de ses données de RMN et de son spectre de masse en impact électronique à haute résolution pour  $m/z$  352,0942 ([M]<sup>+</sup> calculé pour 352,0947).

La comparaison des spectres de RMN <sup>1</sup>H (Fig. 34) et <sup>13</sup>C (Fig. 35) découplé large bande de ce composé avec ceux du composé FTF-19, révèle de nombreuses similitudes, lesquelles permettent de confirmer que ce composé à l'instar de FTF-19 est un isoflavonoïde renfermant dans sa structure un cycle pyranique.

Toutefois la différence entre les deux composés réside dans le nombre de groupements méthyles, l'un des méthyles de FTBR-15 ayant été oxydé en alcool primaire. Cette hypothèse est confirmée par le spectre de masse en impact électronique qui montre les pics à  $m/z$  337 [M – CH<sub>3</sub>]<sup>+</sup> et  $m/z$  321 [M – CH<sub>2</sub>OH]<sup>+</sup>, ainsi que les fragments issus de la retro-Diels-Alder à  $m/z$  203 (cycle A) et 118 (cycle B). L'apparition sur son spectre de RMN <sup>1</sup>H d'un signal intégrant pour un proton à  $\delta_H$  5,08 (1H, t,  $J = 6,0$  Hz) attribuable à l'hydrogène d'un hydroxyle aliphatique et un doublet intégrant pour deux protons à  $\delta_H$  3,47 (2H, d,  $J = 5,5$  Hz), attribuables aux protons d'un méthylène oxygéné à  $\delta_C$  67,0 le confirme également.

Toutes ces données comparées à celles décrites dans la littérature, ont permis d'attribuer à ce FTBR-15 la structure **47**, qui est celle de l'hydroxyalpinumisoflavone, isolée de *Genista ephedroides* par Pistelli et collaborateurs, 1998.



**Tableau XVIII:** Données de RMN <sup>1</sup>H (DMSO-*d*<sub>6</sub>, 500MHz) et <sup>13</sup>C (DMSO-*d*<sub>6</sub>, 125 MHz) de FTBR-15 et hydroxyalpinumisoflavone (DMSO-*d*<sub>6</sub>) (Pistelli *et al.*, 1998)

Position	FTBR-15		Hydroxyalpinumisoflavone	
	$\delta_H$ (m, $J$ (Hz))	$\delta_C$ (m)	$\delta_H$ (m, $J$ (Hz))	$\delta_C$ (m)
2	8,35 (1H, s)	154,2 d	8,35 (1H, s)	154,2 d
3	-	122,4 s	-	122,3 s
4	-	180,4 s	-	180,4 s
5-OH	13,33 (1H, s)	155,8 s	13,08 (1H, s)	156,7 s

6	-	104,8 s	-	104,8 s
7	-	159,2 s	-	159,7 s
8	6,50 (1H, s)	94,4 d	6,45 (1H, s)	98,8 d
9	-	156,7 s	-	157,4 s
10	-	105,3 s	-	105,3 s
1'	-	121,0 s	-	121,0 s
2'	7,37 (2H, dd, $J = 6,5 ; 2,0$ Hz)	130,1 d	7,37 (2H, d, $J = 8,7$ Hz)	130,1 d
3'	6,81 (2H, dd, $J = 6,5 ; 2,0$ Hz)	115,0 d	6,85 (2H, d, $J = 8,5$ Hz)	115,1 d
4'-OH	9,58 (1H, sl)	157,4 s	9,60 (1H, sl)	155,8 s
5'	6,81 (2H, dd, $J = 6,5 ; 2,0$ Hz)	115,0 d	6,85 (2H, d, $J = 8,5$ Hz)	115,1 d
6'	7,37 (2H, dd, $J = 6,5 ; 2,0$ Hz)	130,1 d	7,39 (2H, d, $J = 8,7$ Hz)	130,1 d
2''	-	81,2 s	-	81,2 s
3''	5,73 (1H, d, $J = 10,0$ Hz)	126,2 d	5,71 (1H, d, $J = 10,2$ Hz)	126,2 d
4''	6,67 (1H, d, $J = 10,0$ Hz)	115,9 d	6,67 (1H, d, $J = 9,3$ Hz)	116,0 d
5''-OH	5,08 (1H, t, 6,0 Hz)	-	5,11 (1H, d, 5,8 Hz)	-
5''	3,47 (2H, d, $J = 5,5$ Hz)	67,0 t	3,46 (2H, d, $J = 5,8$ Hz)	67,0 t
6''-Me	1,34 (3H, s)	23,2 q	1,33 (3H, s)	23,2 q

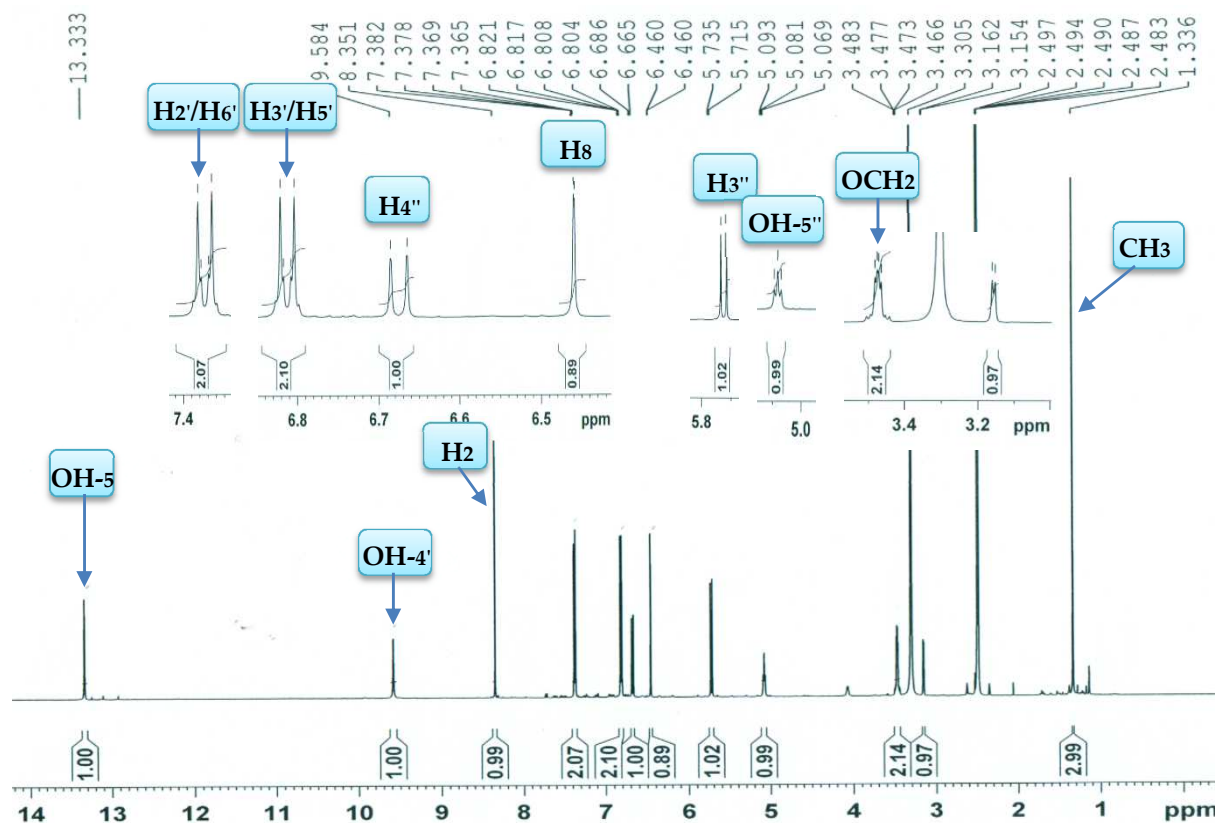


Figure 34: Spectre de RMN <sup>1</sup>H (DMSO-d<sub>6</sub>, 500 MHz) de FTBR-15

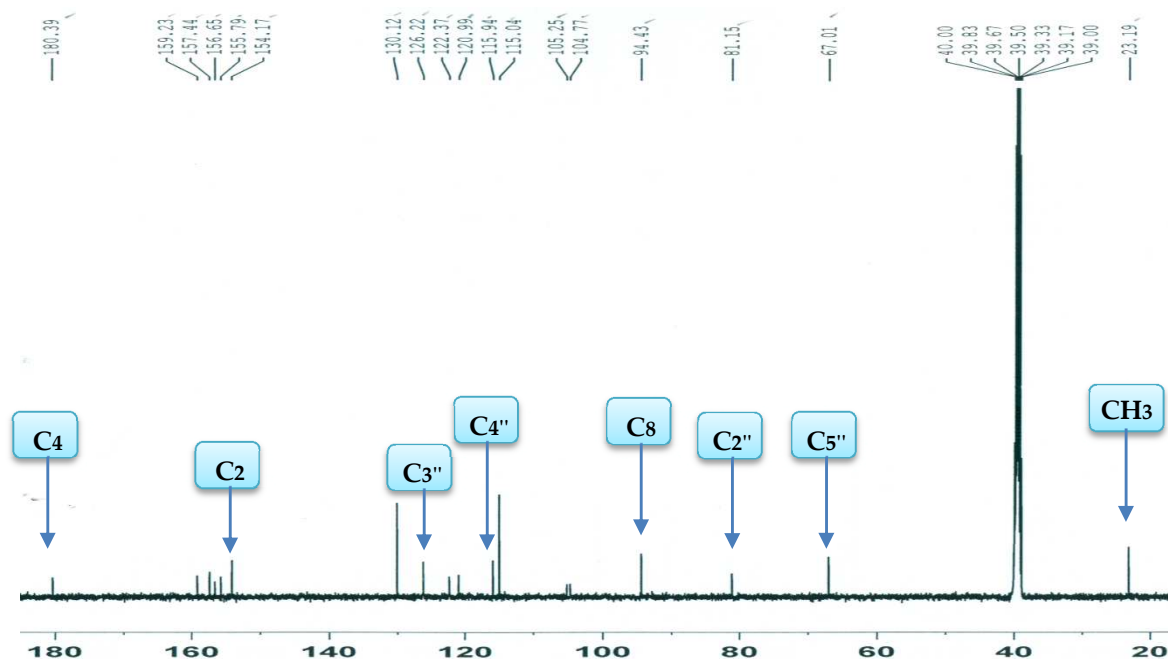


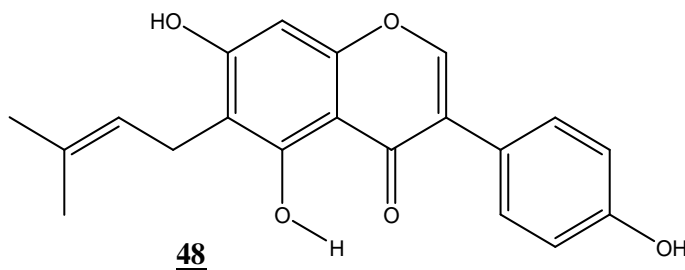
Figure 35: Spectre de RMN  $^{13}\text{C}$  (DMSO- $d_6$ , 125 MHz) de FTBR-15

#### II.1.2.2.1.3- Identification de FTF-31-FM, Wightéone

Le composé FTF-31-FM, isolé des figes de *F. thonningii* se présente sous forme d'aiguilles jaune pâle dans le mélange hexane-acétate d'éthyle (13 : 7). Il répond positivement au test au chlorure ferrique indiquant ainsi sa nature phénolique.

Sa formule brute  $\text{C}_{20}\text{H}_{18}\text{O}_5$ , renfermant douze degrés d'insaturation a été déduite de son spectre de masse haute résolution en EI, qui montre le pic de l'ion moléculaire  $\text{M}^+$  à  $m/z$  338,1146 (calculée 338,1154 pour  $\text{C}_{20}\text{H}_{18}\text{O}_5$ ).

L'interprétation de toutes les données spectroscopiques de FTF-31 a permis de lui attribuer la structure **48**.



En effet, son spectre de RMN  $^1\text{H}$  (Fig. 36) révèle la présence de:

- un singulet d'un proton à  $\delta_{\text{H}}$  13,20 attribuable à l'H d'un hydroxyle phénolique chélaté.
- un singulet large d'un proton à  $\delta_{\text{H}}$  9,55 attribuable à un hydroxyle phénolique ;

- un singulet d'un proton à  $\delta_H$  8,26 porté par le carbone à  $\delta_C$  153,6 (C-2, suite à l'analyse de son spectre HSQC), caractéristique du noyau C d'un isoflavonoïde.

- un ensemble de signaux caractéristiques d'un système AA'BB' à  $\delta_H$  7,36 (1H, d,  $J = 8,8$  Hz, H-2'/H-6') et 6,80 (1H, d,  $J = 8,4$  Hz, H-3'/H-5'), attribuable aux protons du cycle B ;

- un singulet d'un proton à  $\delta_H$  6,41 (1H, s) /  $\delta_C$  92,9 attribuable au proton H-8 ;

La présence d'une unité isopentényle de type 3,3-diméthylallyle dans la structure de FTF-31 est suggérée par l'analyse combinée des spectres de RMN  $^1H$ ,  $^{13}C$  et de masse. On observe ainsi sur les spectres de RMN  $^1H$  et  $^{13}C$  deux signaux de méthyle [ $\delta_H$  1,61 /  $\delta_C$  25,4 et  $\delta_H$  1,71 /  $\delta_C$  17,7], un doublet de deux protons [ $\delta_H$  3,22 (2H, dl,  $J = 7,2$  Hz) /  $\delta_C$  21,0 ], et un triplet d'un proton [ $\delta_H$  5,16 (1H, t,  $J = 7,2$  Hz) /  $\delta_C$  122,1], en plus des fragments prédominants à  $m/z$  295 et le pic de base à  $m/z$  283 [ $M^+ - 55$  ( $C_4H_7$ )].

Le spectre de RMN  $^{13}C$  (Fig. 37) révèle la présence de 20 signaux de carbone comme l'indique la formule brute et dont l'analyse par la technique DEPT (90 et 135), couplée à l'exploitation des spectres HSQC, permet de les regrouper en:

- dix carbones quaternaires dont un carbonyle à  $\delta_C$  180,1 (C-4) ;
- sept méthines dont quatre aromatiques oxygénés à  $\delta_C$  162,0 (C-7), 158,7 (C-5), 157,3 (C-2') et 155,3 (C-9) ;
- un méthylène à  $\delta_C$  21,0 (C-1'')
- deux méthyles à  $\delta_C$  25,4 et 17,7.

La localisation de l'unité 3,3-diméthylallyle sur le squelette s'est faite grâce aux corrélations  $J^2$  et  $J^3$  observées sur le spectre HMBC. En effet, les corrélations entre les protons du méthylène de l'unité isoprényle à  $\delta_H$  3,22 et les carbones C-5 (158,7), C-6 (111,0), C-7 (162,0) d'une part, et entre le proton H-8 et le carbone C-6, d'autre part, montrent que ce groupe est fixé sur le carbone 6.

L'ensemble de toutes ces données a permis d'assigner à FTF-31-FM la structure **48**, qui est celle de la wightéone (Agrawal, 1989 ; Kinoshita *et al.*, 1990)

**Tableau XIX:** Données de RMN  $^1H$  (DMSO- $d_6$ , 400 MHz) et  $^{13}C$  (DMSO- $d_6$ , 125 MHz) de FTF-31-FM et de la wightéone (DMSO- $d_6$ ) (Agrawal, 1989 ; Kinoshita *et al.*, 1990)

Position	FTF-31-FM		wightéone	
	$\delta_H$ (nH, m, $J$ (Hz))	$\delta_C$ (m)	$\delta_H$ (nH, m, $J$ (Hz))	$\delta_C$ (m)
2	8,26 (1H, s)	153,6 d	8,10 (1H, s)	153,7 d
3	-	122,2 s	-	123,0 s



4	-	180,1 s	-	181,2 s
5-OH	13,20 (1H, s)	158,7 s	13,08 (1H, s)	158,0 s
6	-	111,0 s	-	110,8 s
7	-	162,0 s	-	161,5 s
8	6,41 (1H, s)	92,9 d	6,49 (1H, s)	93,0 d
9	-	155,3 s	-	156,2 s
10	-	104,0 s	-	104,7 s
1'	-	121,4 s	-	123,8 s
2'	7,36 (2H, d, $J = 8,8$ Hz)	130,1 d	7,44 (2H, d, $J = 8,5$ Hz)	130,4 d
3'	6,80 (2H, d, $J = 8,4$ Hz)	115,0 d	6,89 (2H, d, $J = 8,7$ Hz)	115,9 d
4'-OH	9,55 (1H, sl)	157,3 s	-	159,7 s
5'	6,80 (2H, d, $J = 8,4$ Hz)	115,0 d	6,89 (2H, d, $J = 8,7$ Hz)	115,9 d
6'	7,36 (2H, d, $J = 8,8$ Hz)	130,1 d	7,44 (2H, d, $J = 8,5$ Hz)	130,4 d
1''	3,22 (2H, dl, $J = 7,2$ Hz)	21,0 t	3,35 (2H, dl, $J = 8,0$ Hz)	21,6 t
2''	5,16 (1H, tl, $J = 7,2$ Hz)	122,1 d	5,27 (1H, tl, $J = 8,0$ Hz)	121,6 s
3''	-	130,6 s	-	129,8 d
4''-Me	1,61 (3H, s)	17,7 q	1,66 (3H, s)	17,5 q
5''-Me	1,71 (3H, s)	25,4 q	1,78 (3H, s)	26,0 q

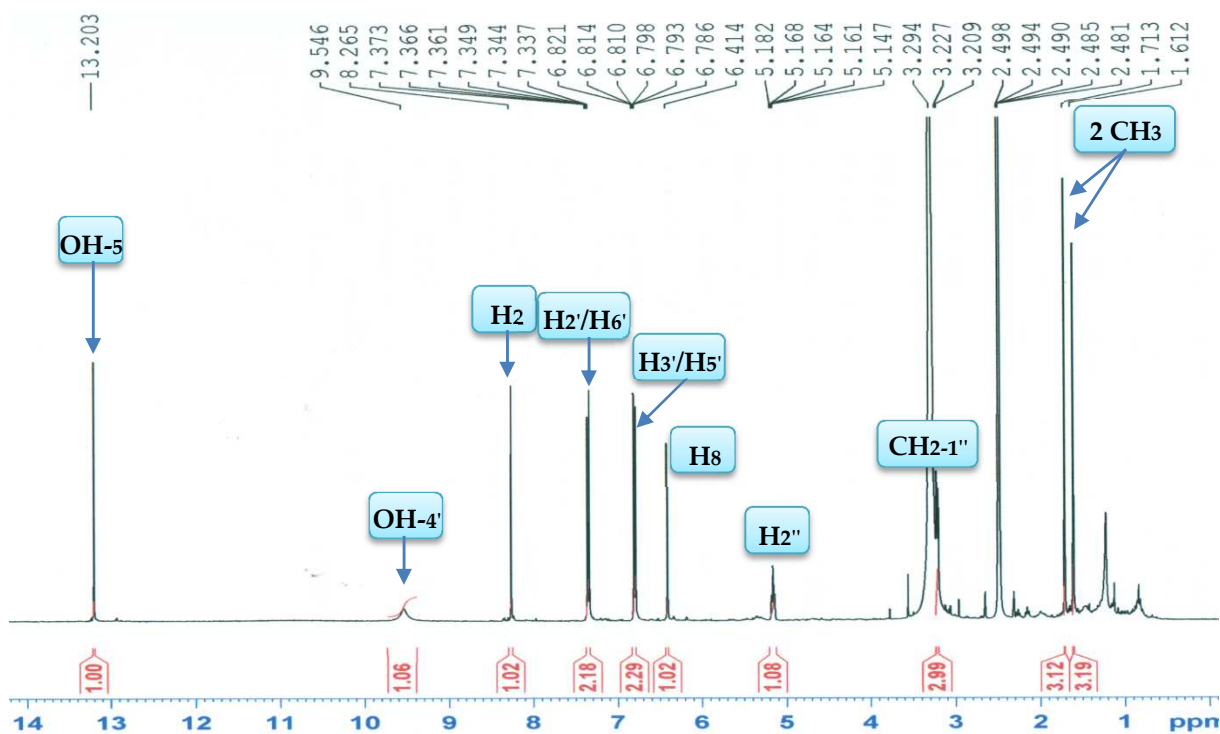
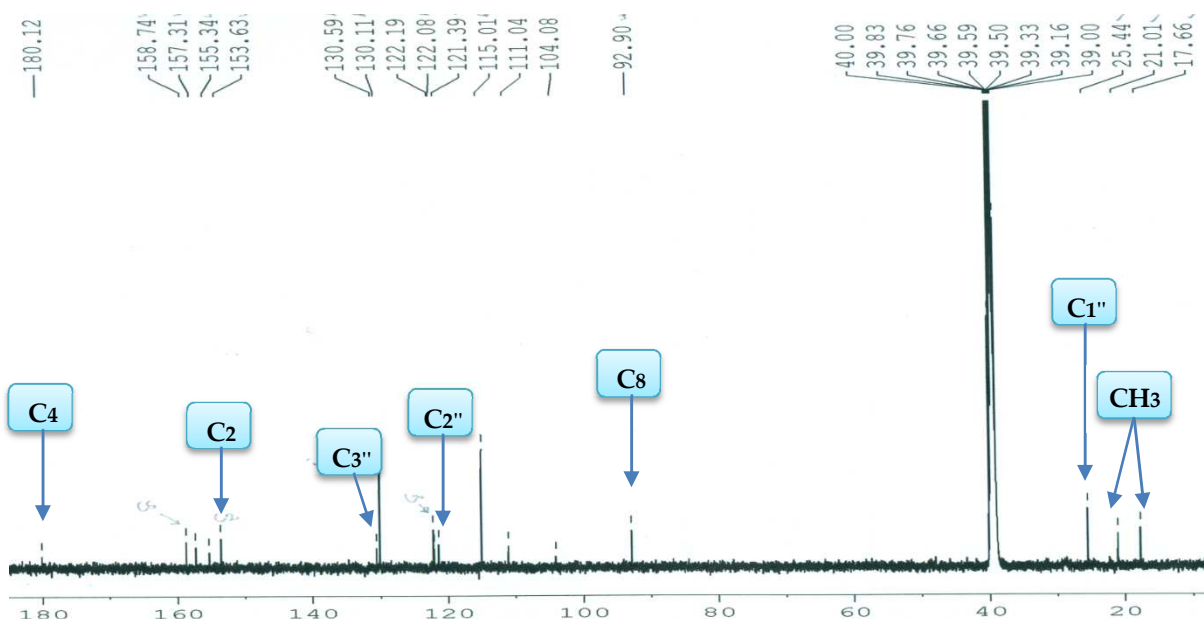


Figure 36: Spectre de RMN  $^1\text{H}$  (DMSO- $d_6$ , 400 MHz) de FTF-31-FM



**Figure 37:** Spectre de RMN  $^{13}\text{C}$  (DMSO- $d_6$ , 125 MHz) de FTF-31-FM

#### II.1.2.2.1.4- Identification de FTF-41-8, Hydrate de lupiwightéone

Le composé FTF-41-8 a été isolé sous forme d'une poudre amorphe jaune dans le mélange hexane-acétate d'éthyle (3 : 1) et présente une fluorescence à la lampe UV à 365 nm. Il répond positivement au test au chlorure ferrique, indiquant ainsi sa nature phénolique.

Les caractéristiques spectrales en UV et en IR sont semblables à ceux des isoflavones précédemment décrits. En effet, son spectre UV présente plusieurs *maxima* : 213, 261 et 267 nm, très caractéristiques des isoflavonoïdes. Son spectre IR enregistré dans le KBr, exhibe des bandes d'absorption caractéristiques des groupes hydroxyle libres ( $3446\text{ cm}^{-1}$ ), d'un carbonyle à  $1646\text{ cm}^{-1}$ ,  $1600\text{-}1542\text{ cm}^{-1}$  (doubles liaisons aromatiques), un groupe d'éther cyclique ( $1512\text{ cm}^{-1}$ ) et du groupe méthylène ( $1463\text{ cm}^{-1}$ ).

Son spectre de masse haute résolution en impact électronique présente le pic de l'ion moléculaire  $[\text{M}]^+$  à  $m/z$  356,1257 (masse calculée 356,1260, soit une formule brute  $\text{C}_{20}\text{H}_{20}\text{O}_6$ , renfermant onze degrés d'insaturation).

Sur le spectre de RMN  $^1\text{H}$  (Fig. 38), on observe :

- un signal à  $\delta_{\text{H}}$  12,90 associé à l'hydrogène d'un hydroxyle phénolique chélaté (HO-5) avec une fonction cétonique (en position 4).
- un singulet à  $\delta_{\text{H}}$  8,36 intégrant pour un proton, dont l'analyse du spectre HSQC a permis de le lier au carbone à  $\delta_{\text{C}}$  154,1, et caractéristique du proton H-2 d'un isoflavonoïde.

- deux doublets dédoublés à  $\delta_H$  6,80 (2H, dd,  $J = 9,0 ; 2,5$  Hz) et 7,37 (2H, dd,  $J = 9,0 ; 2,5$  Hz), chacun intégrant pour 2H, caractéristiques d'un système AA'BB' sur le cycle B.

- un singulet d'un proton à  $\delta_H$  6,30 porté en HSQC par le carbone à  $\delta_C$  98,5, attribuable au proton aromatique H-6 situé sur le cycle A.

Les autres signaux sont caractéristiques d'une prénylation de type 3-hydroxy-3-méthylbutyle. En effet, on remarque la présence de deux doublets de doublets dédoublés à  $\delta_H$  2,67 (2H, ddd,  $J = 8,5 ; 5,0 ; 3,5$  Hz) et 1,52 (2H, ddd,  $J = 8,5 ; 5,0 ; 3,5$  Hz) intégrant chacun pour 2H ; un singulet de six protons à  $\delta_H$  1,16 ppm correspondant à deux méthyles.

Son spectre de RMN  $^{13}C$  (Fig. 39) complètement découplé combiné aux spectres DEPT 90 et 135, révèle la présence de vingt signaux de carbone en accord avec la formule brute. On distingue :

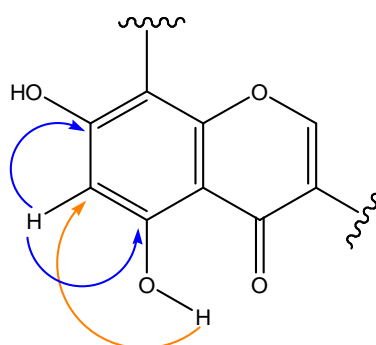
- dix signaux de carbones quaternaires dont celui d'un carbonyle conjugué à  $\delta_C$  180,6 et quatre aromatiques oxygénés à  $\delta_C$  161,8 ; 159,4 ; 157,3 et 154,9.

- quatre signaux pour six méthines à  $\delta_C$  154,1 (C-2), 130,1 (C-2/6), 115,0 (C-3/5), 98,5 (C-6).

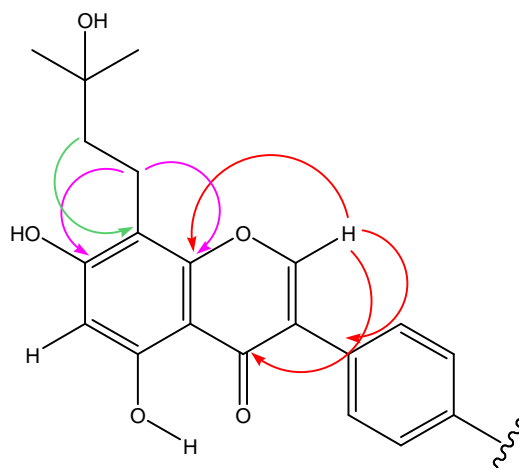
- deux signaux de méthylènes à  $\delta_C$  17,2 (C-1'') et 42,8 (C-2'').

- deux signaux de méthyles à  $\delta_C$  29,1 (C-4''/5'').

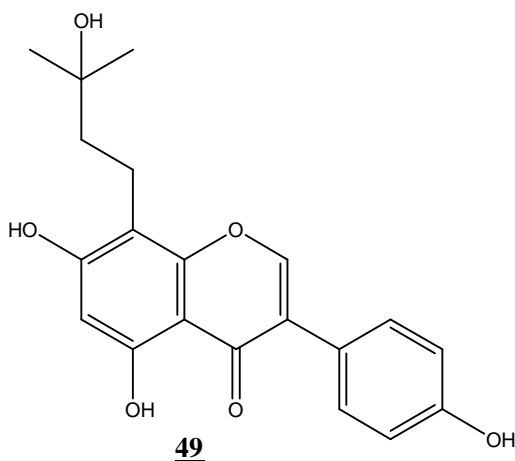
L'analyse des spectres bidimensionnels permet de positionner l'unité prénylé 3-hydroxy-3-méthylbutyle en position 8. En effet, on observe sur le spectre HMBC une corrélation entre le groupement OH en position 5 (12,90 ppm) et le carbone à  $\delta_C$  98,5 (C-6), alors qu'il n'y a pas de corrélation entre les protons à  $\delta_H$  1,52 et 2,67 et le carbone à  $\delta_C$  159,4, porteur du OH chélaté (C-5).



On y observe également les corrélations des protons à  $\delta_H$  2,67 (2H, ddd,  $J = 8,5 ; 5,0 ; 3,5$  Hz) avec les carbones à  $\delta_C$  161,8 (C-7) ; 154,9 (C-9) ainsi que celles du proton H-2 et les carbones C-9 (154,9) ; C-4 (180,6) et C-1'' (121,8).



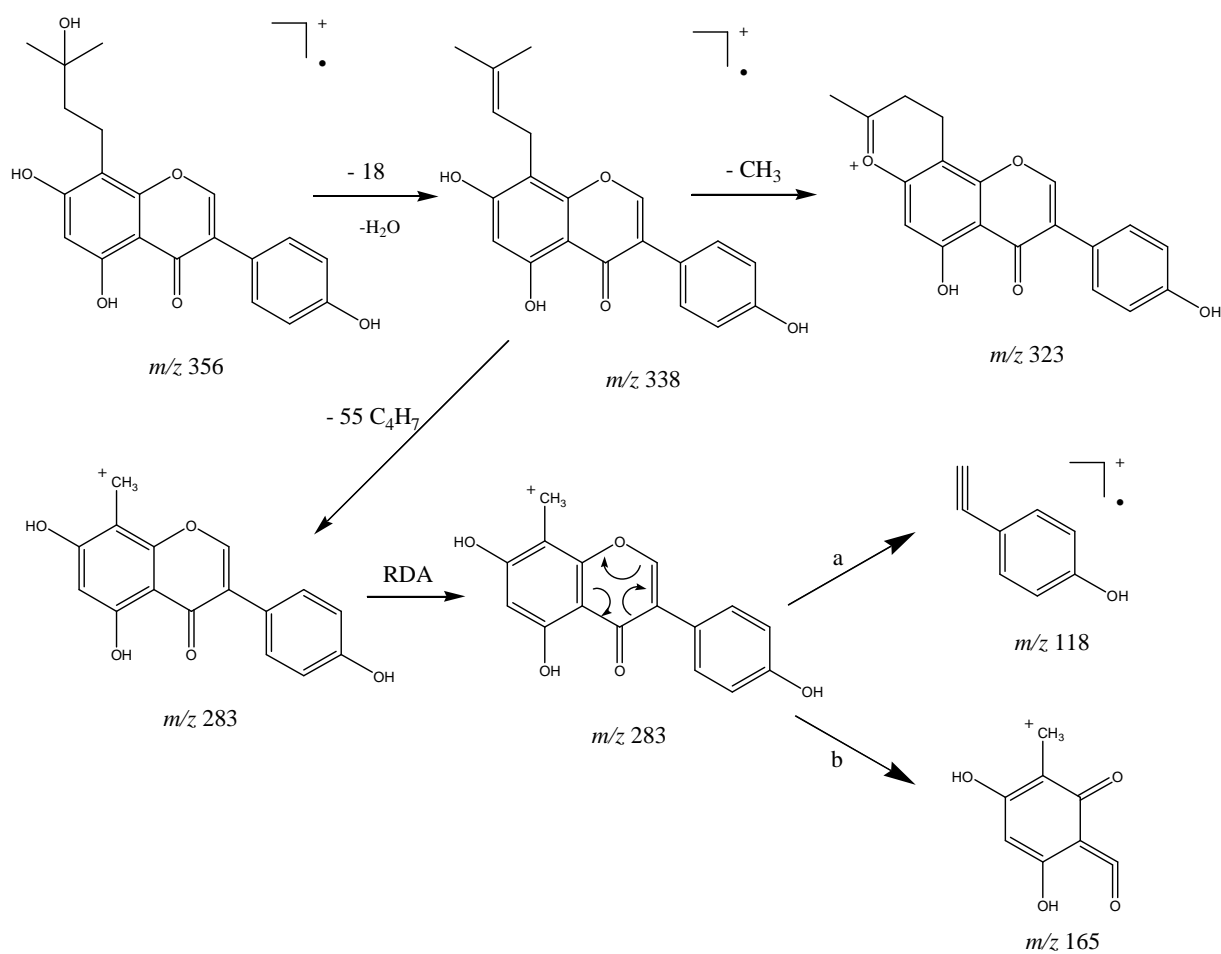
L'ensemble de toutes ces données permettent d'identifier FTF-41-8 à la 5,7,4'-trihydroxy-8-(3-hydroxy-3-méthylbutyl)isoflavone, connue sous l'appellation d'hydrate de lupiwightéone **49** isolée pour la première fois des racines de *Lupinus luteus L.* par Hashidoko et collaborateurs (1986).



**Tableau XX:** Données de RMN  $^1\text{H}$  (DMSO- $d_6$ , 500 MHz) et  $^{13}\text{C}$  (DMSO- $d_6$ , 125 MHz) de FTF-41-8 et de l'hydrate de lupiwightéone ( $\text{Ac}_2\text{O}-d_6$ , 100 MHz) (Hashidoko *et al.*, 1986)

Position	FTF-41-8	Hydrate de lupiwightéone	
	$\delta_{\text{H}}$ (nH, m, $J$ (Hz))	$\delta_{\text{C}}$ (m)	$\delta_{\text{H}}$ (nH, m, $J$ (Hz))
2	8,36 (1H, s)	154,1 d	8,26 (1H, s)
3	-	121,3 s	-
4	-	180,6 s	-
5-OH	12,90 (1H, s)	159,4 s	12,97 (1H, s)
6	6,30 (1H, s)	98,5 s	6,34 (1H, s)
7	-	161,8 s	-

8	-	107,2 s	-
9	-	154,9 s	-
10	-	104,4 s	-
1'	-	121,8 s	-
2'	7,37 (2H, dd, $J = 9,0 ; 2,5$ Hz)	130,1 d	7,48 (2H, dl, $J = 8,8$ Hz)
3'	6,80 (2H, dd, $J = 9,0 ; 2,5$ Hz)	115,0 d	6,90 (2H, dl, $J = 8,8$ Hz)
4'-OH	9,55 (1H, sl)	157,3 s	-
5'	6,80 (2H, dd, $J = 9,0 ; 2,5$ Hz)	115,0 d	6,90 (2H, dl, $J = 8,8$ Hz)
6'	7,37 (2H, dd, $J = 9,0 ; 2,5$ Hz)	130,1 d	7,48 (2H, dl, $J = 8,8$ Hz)
1''	2,67 (2H, ddd, $J = 8,5 ; 5,0 ; 3,5$ Hz)	17,2 t	2,85 (2H, m)
2''	1,52 (2H, ddd, $J = 8,5 ; 5,0 ; 3,5$ Hz)	42,8 t	1,75 (2H, m)
3''	-	68,9 s	-
4''-Me	1,16 (3H, s)	29,1 q	1,27 (3H, s)
5''-Me	1,16 (3H, s)	17,2 q	1,27 (3H, s)



**Schéma 15:** Fragmentation de l'hydrate de lupiwightone par impact électronique

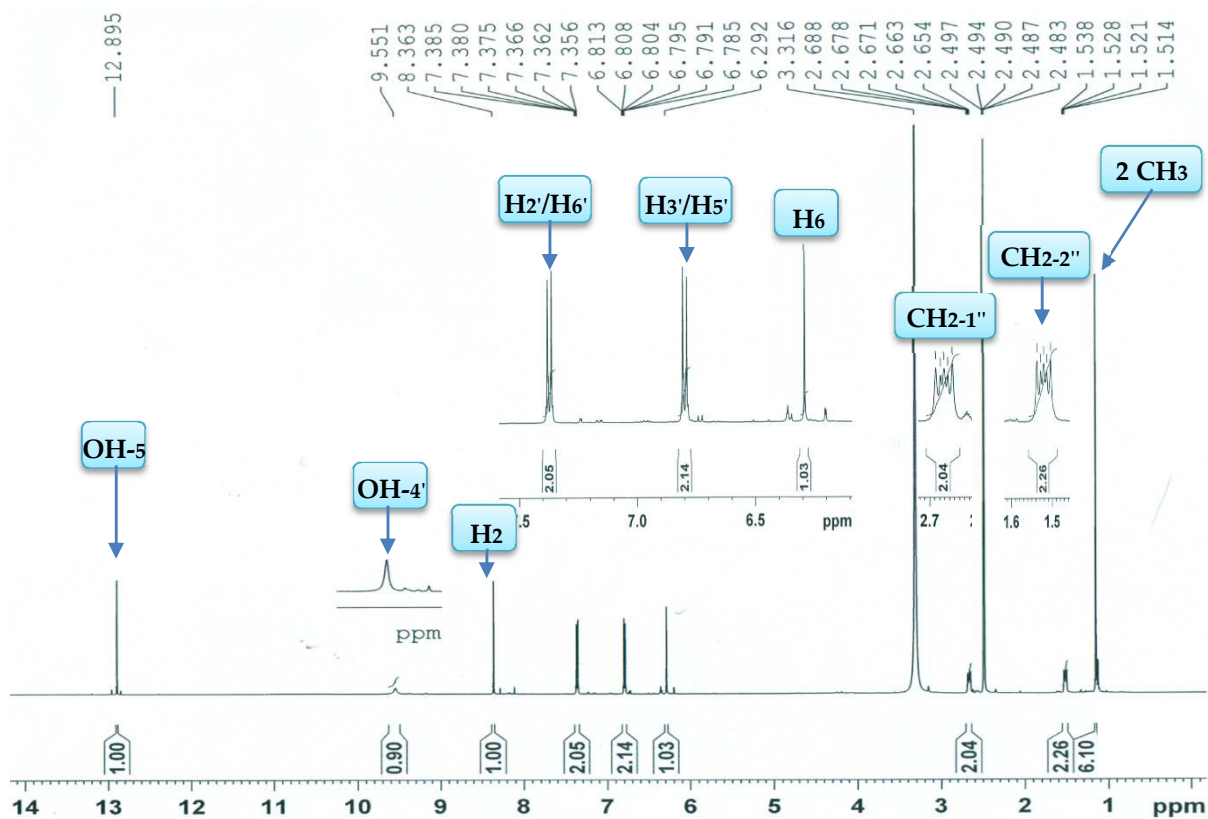


Figure 38: Spectre de RMN  $^1\text{H}$  (DMSO- $d_6$ , 500 MHz) de FTF-41-8

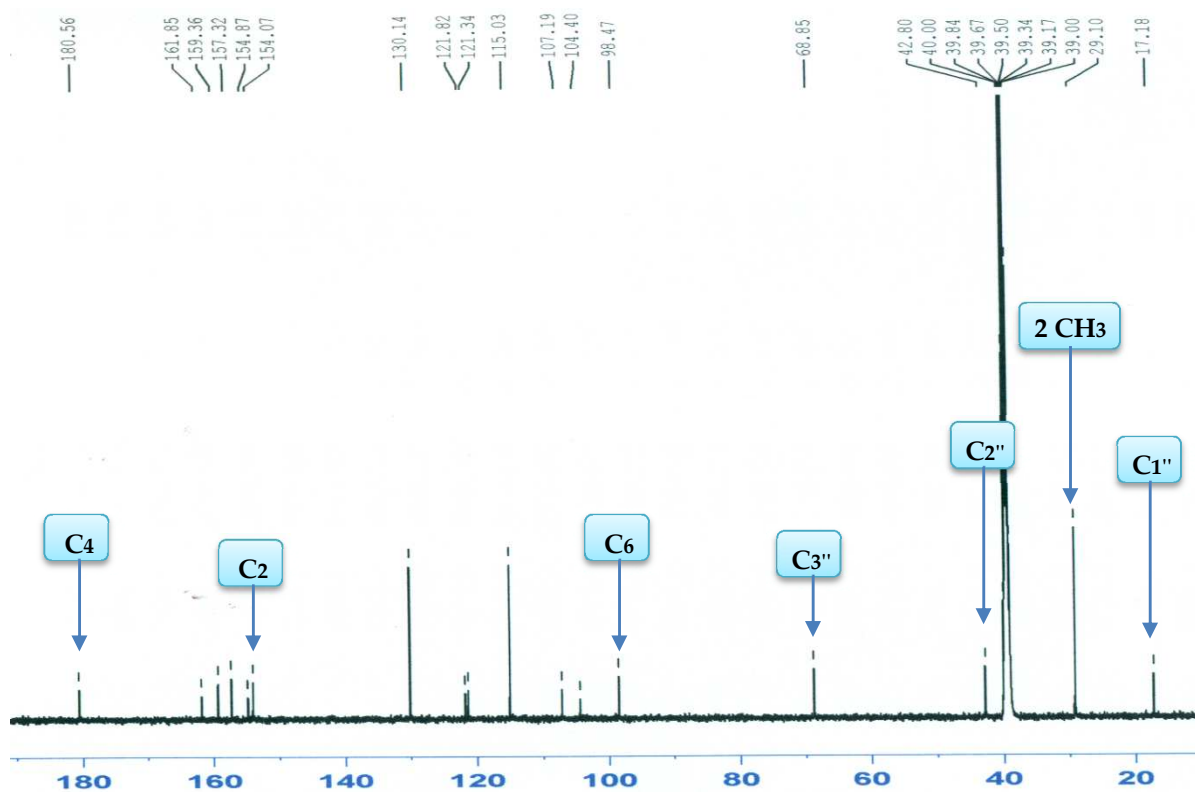


Figure 39: Spectre de RMN  $^{13}\text{C}$  (DMSO- $d_6$ , 125 MHz) de FTF-41-8

### II.1.2.2.1.5- Identification de FTF-41-3, $\beta$ -isolutéone

Le composé FTF-41-3 a été isolé sous forme de poudre amorphe jaune dans le mélange hexane-acétate d'éthyle (3 : 1) et présente une fluorescence à la lampe UV à 365 nm. Il répond positivement au test au chlorure ferrique indiquant ainsi sa nature phénolique.

Les caractéristiques spectrales en UV et en IR sont identiques à celles des isoflavones précédemment décrites. Son spectre de masse à haute résolution en impact électronique présente le pic de l'ion moléculaire  $M^+$  à  $m/z$  354,1113 (masse calculée 354,1103), soit une formule brute  $C_{20}H_{18}O_6$ , renfermant douze degrés d'insaturations.

Une étude comparative des spectres de RMN  $^1H$  (Fig. 40) du composé FTF-41-3 et de l'hydrate de lupiwightéone (composé décrit précédemment), relève de nombreuses similitudes. On observe :

- un signal à  $\delta_H$  13,19 associé à l'H d'un hydroxyle phénolique chélaté (HO-5).
- un singulet à  $\delta_H$  8,10 intégrant pour un proton, caractéristique du proton H-2.
- un singulet d'un proton à 6,40 ppm couplé en HSQC au carbone à 92,7 ppm, attribuable au proton aromatique H-8 (Marbry *et al.*, 1970).

Les autres signaux sont caractéristiques d'une prénylation de type 2,2-diméthyl-3,4-dihydropyrano (DMDHP). En effet, on remarque la présence de deux doublets de doublets dédoublés à  $\delta_H$  2,57 (2H, ddd,  $J = 8,5 ; 5,0 ; 3,5$  Hz) et 1,50 (2H, ddd,  $J = 8,5 ; 5,0 ; 3,5$  Hz) intégrant chacun pour 2H ; un singulet de six protons à 1,13 ppm correspondant à deux méthyles.

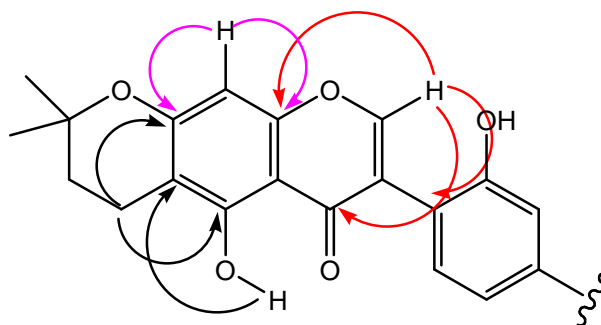
On note également sur ce même spectre la présence d'un système ABX constitué de deux doublets d'un proton chacun à  $\delta_H$  6,95 (1H, d,  $J = 8,5$  Hz) ; 6,35 (1H, d,  $J = 2,5$  Hz) et d'un doublet dédoublé d'un proton à  $\delta_H$  6,25 (1H, dd,  $J = 8,5 ; 2,5$  Hz), avec des couplages clairement observables sur le spectre COSY. Ils sont probablement ceux du cycle B.

Son spectre de RMN  $^{13}C$  complètement découplé (Fig. 41) combiné aux spectres DEPT 90 et 135, révèle la présence de vingt signaux de carbone en accord avec la formule brute.

On distingue :

- onze carbones quaternaires dont celui d'un carbonyle conjugué à  $\delta_C$  180,6 ;
- cinq méthines dont celui à  $\delta_C$  154,1 (C-2) ;
- deux méthylènes à  $\delta_C$  17,2 (C-1''), 42,3 (C-2'') ;
- deux méthyles à  $\delta_C$  29,0 (C-4''/5'') ;

L'analyse des spectres bidimensionnels permet de positionner le cycle 2,2-diméthyl-3,4-dihydropyrano en position 6,7. En effet, on observe sur le spectre HMBC une corrélation entre le groupement OH en position 5 ( $\delta_H$  13,20) et le carbone à  $\delta_C$  112,3 (C-6). On y observe également les corrélations des protons à  $\delta_H$  2,57 (2H, ddd,  $J = 8,5 ; 5,0 ; 3,5$  Hz) avec les carbones à  $\delta_C$  161,8 (C-7) ; 112,3 (C-6), ainsi que celles du proton H-2 avec les carbones C-9 (154,9), C-4 (180,6) et C-1'' (121,8).



L'ensemble de toutes ces données permettent d'identifier FTF-41-3 à la  $\beta$ -isolutéone (**50**), obtenue par hémisynthèse à partir de la lutéone, par Fukui et collaborateurs (1973). Ce composé est isolé ici pour la première fois de source naturelle.

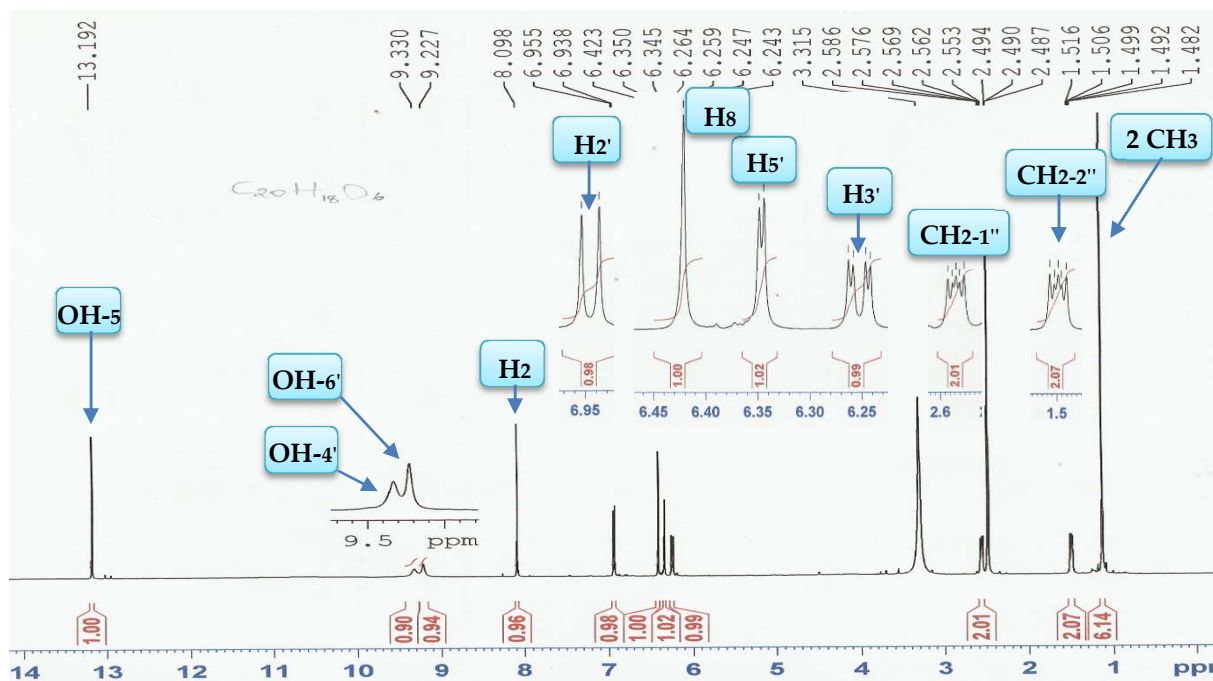
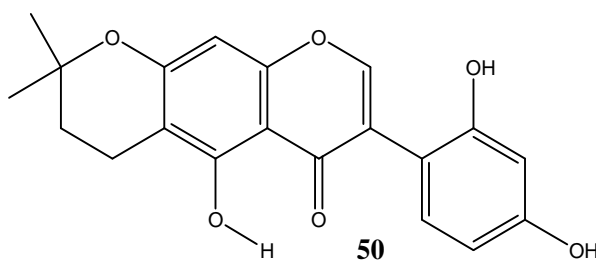
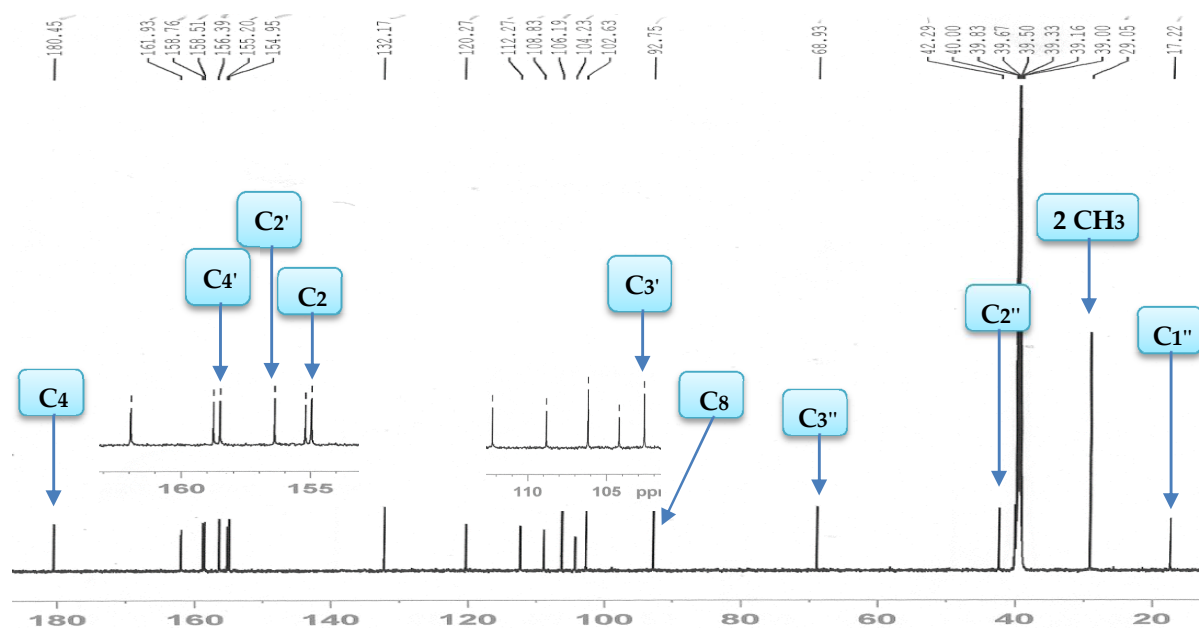


Figure 40: Spectre de RMN  $^1H$  (DMSO- $d_6$ , 500 MHz) de FTF-41-3





**Figure 41:** Spectre de RMN  $^{13}\text{C}$  (DMSO- $d_6$ , 125 MHz) de FTF-41-3

**Tableau XXI:** Données de RMN  $^1\text{H}$  (DMSO- $d_6$ , 500 MHz) et  $^{13}\text{C}$  (DMSO- $d_6$ , 125 MHz) de FTF-41-3 et de la  $\beta$ -isolutéone (pyridine- $d_5$ , 100 MHz) (Fukui *et al.*, 1973)

Position	FTF- 41-3		$\beta$ -isolutéone
	$\delta_{\text{H}}$ (nH, m, $J$ (Hz))	$\delta_{\text{C}}$ (m)	$\delta_{\text{H}}$ (nH, m, $J$ (Hz))
2	8,36 (1H, s)	154,9 d	8,28 (1H, s)
3	-	120,3 s	-
4	-	180,5 s	-
5-OH	13,20 (1H, s)	158,8 s	13,88 (1H, s)
6	-	112,3 s	6,68 (1H, s)
7	-	161,9 s	-
8	6,40 (1H, s)	92,7 d	-
9	-	155,2 s	-
10	-	104,2 s	-
1'	-	108,8 s	-
2'-OH	9,23 (1H, sl)	156,4 s	-
3'	6,35 (1H, d, $J = 2,5$ Hz)	102,6 d	6,94 (1H, d, $J = 2,6$ Hz)
4'-OH	9,33 (1H, sl)	158,5 s	-
5'	6,25 (1H, dd, $J = 8,5 ; 2,5$ Hz)	106,2 d	6,81 (1H, dd, $J = 8,8 ; 2,6$ Hz)
6'	6,95 (1H, d, $J = 8,5$ Hz)	132,2 d	7,65 (1H, d, $J = 8,8$ Hz)

1''	2,57 (2H, ddd, $J = 8,5 ; 5,0 ; 3,5$ Hz)	17,2 t	2,73 (2H, t, $J = 7,0$ Hz)
2''	1,50 (2H, ddd, $J = 8,5 ; 5,0 ; 3,5$ Hz)	42,3 t	1,71 (2H, t, $J = 7,0$ Hz)
3''	-	68,9 s	-
4''-Me	1,16 (3H, s)	29,0 q	1,30 (3H, s)
5''-Me	1,16 (3H, s)	29,0 q	1,30 (3H, s)

#### II.1.2.2.1.6- Identification de FTF-31-L, Déhydroferreirine

Le composé FTF-31-L a été obtenu sous forme de fines particules solides blanches dans le mélange hexane-acétate d'éthyle (7 : 3). Comme les composés précédents, Il répond positivement au test au chlorure ferrique dans le méthanol, caractéristique des phénols (Bruneton, 1993).

Il fond entre 252 – 253 °C, et est soluble dans le DMSO.

Sa formule moléculaire a été établie comme étant  $C_{16}H_{12}O_6$  par analyse de son spectre de masse à haute résolution pour le pic à  $m/z$  300,0634 (calc. 300,1843 pour  $C_{16}H_{12}O_6$ ), impliquant 11 degrés d'insaturation, en faveur d'une structure hautement aromatique.

Le spectre RMN  $^1H$  (Fig. 42) fait ressortir des signaux à :

- $\delta_H$  12,92 (1H, s, OH-5) attribuable à l'hydrogène d'un hydroxyle chélaté.
- $\delta_H$  8,17 (1H, s, H-2) /  $\delta_C$  155,4 attribuable au proton H-2 ;
- deux doublets intégrant chacun pour un proton à  $\delta_H$  6,22 (1H, d,  $J = 2,5$  Hz, H-6) et 6,38 (1H, d,  $J = 2,4$  Hz, H-8), attribuables aux protons en position *mé*ta d'un noyau aromatique. Cet ensemble de signaux est caractéristique d'une structure de type 5,7-dihydroxyisoflavone (Agrawal, 1989). L'examen du spectre UV avec deux maxima à  $\lambda_{max}$  (MeOH) 267 et 330 nm, caractéristiques des isoflavones, corrobore cette hypothèse. On observe en outre sur ce même spectre :

- un ensemble des trois signaux dans la zone des protons aromatiques intégrant chacun pour un proton à  $\delta_H$  6,43 (1H, dd,  $J = 8,8 ; 2,4$  Hz), 6,22 (1H, d,  $J = 2,4$  Hz), et 7,09 (1H, d,  $J = 8,4$  Hz), caractéristique d'un système ABX sur le cycle B.

- deux singulets larges d'un proton chacun à  $\delta_H$  9,46 et 10,85 échangeables à l'eau lourde et attribuables à deux hydroxyles phénoliques.

- un singulet de trois protons à  $\delta_H$  3,72 caractéristique d'un méthoxyle.

Les substitutions du noyau B ont ensuite été déduites du spectre HMBC. Le groupement méthoxyl ( $\delta_H$  3,72 /  $\delta_C$  55,0) a été localisé en 4' suite à la corrélation HMBC observée entre les protons à  $\delta_H$  3,72 et le carbone à  $\delta_C$  160,4 (C-4').

Toutes ces informations comparées à celles de la littérature ont permis d'attribuer au composé FTF-31-L la structure **51** qui est celle de la 5,7,2'-trihydroxy-4'-méthoxyisoflavone ou dehydroferreirine, ou encore 2'-hydroxybiochanine A (Ko *et al.*, 1999).

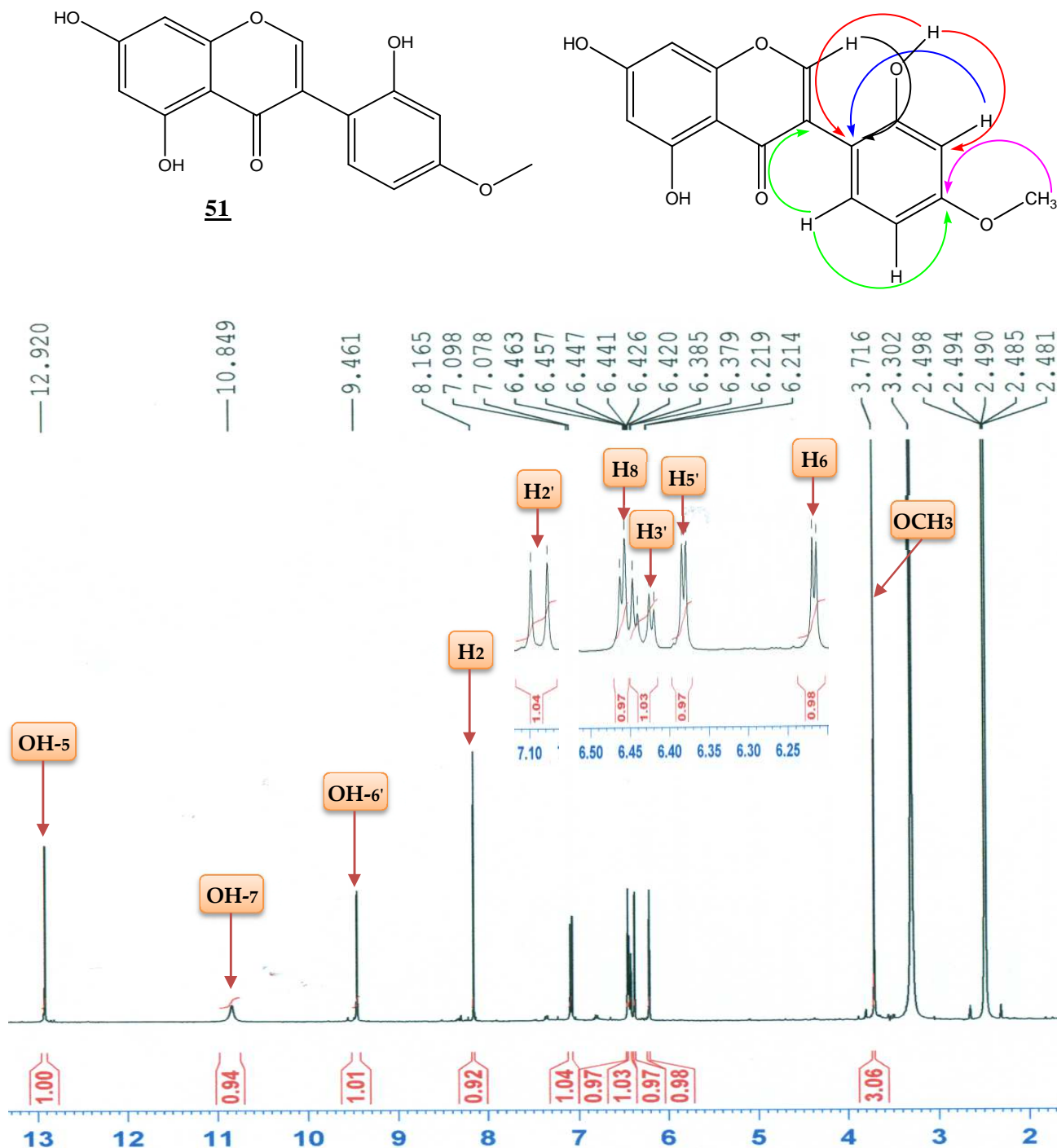
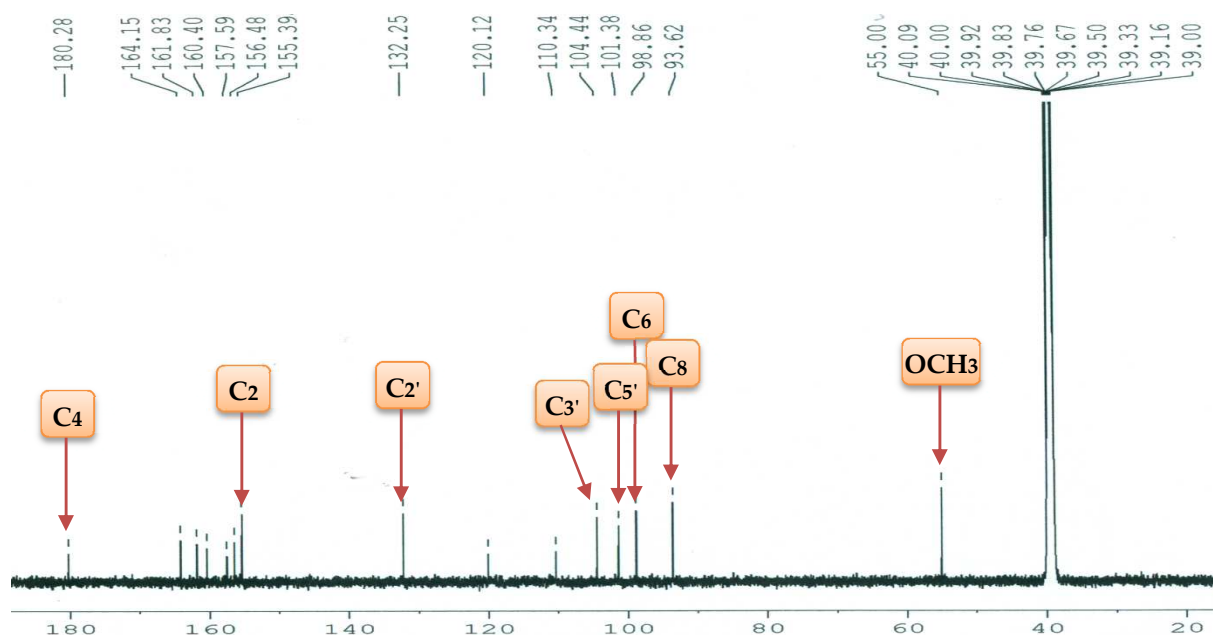


Figure 42: Spectre de RMN  $^1\text{H}$  (DMSO- $d_6$ , 300 MHz) de FTF-31-L



**Figure 43:** Spectre de RMN  $^{13}\text{C}$  (DMSO- $d_6$ , 125 MHz) de FTF-31-L

**Tableau XXII:** Données de RMN  $^1\text{H}$  (DMSO- $d_6$ , 500 MHz) et  $^{13}\text{C}$  (DMSO- $d_6$ , 125 MHz) de FTF-31-L et de la dehydroferreirine (DMSO- $d_6$ , 200 MHz) (Ko *et al.*, 1999)

Position	FTF-31-L		Dehydroferreirine	
	$\delta_{\text{H}}$ (m, $J$ (Hz))	$\delta_{\text{C}}$ (m)	$\delta_{\text{H}}$ (m, $J$ (Hz))	$\delta_{\text{C}}$ (m)
2	8,17 (1H, s)	155,4 d	8,29 (1H, s)	
3	-	120,1 s	-	
4	-	180,2 s	-	
5-OH	12,92 (1H, s)	161,8 s	-	
6	6,22 (1H, d, $J = 2,5$ Hz)	98,9 d	6,90 (1H, d, $J = 2,1$ Hz)	
7-OH	10,85 (1H, sl)	164,1 s	-	
8	6,38 (1H, d, $J = 2,4$ Hz)	93,6 d	6,85 (1H, d, $J = 2,1$ Hz)	
9	-	160,4 s	-	
10	-	110,3 s	-	
1'	-	110,3 s	-	
2'	7,09 (1H, d, $J = 8,4$ Hz)	132,3 d	7,96 (1H, d, $J = 8,8$ Hz)	
3'	6,43 (1H, dd, $J = 8,8 ; 2,4$ Hz)	104,4 d	7,01 (1H, m)	
4'	-	156,5 s	-	
4'-OMe	3,72 (3H, s)	55.0 q	3,78 (3H, s)	
5'	6,22 (1H, d, $J = 2,4$ Hz)	101,4 d	7,01 (1H, m)	
6'-OH	9,46 (1H, sl)	157,6 s		

### II.1.2.2.1.7- Détermination structurale de FTF-41-6, Thonningiisoflavone

Le composé FTF-41-6 a été isolé sous forme de fines particules solides de couleur jaune dans le mélange hexane-acétate d'éthyle (3 : 2), et présente une fluorescence à la lampe UV à 365nm. Il répond positivement au test au chlorure ferrique indiquant sa nature phénolique. Il fond entre 153,4 – 154,1 °C.

Les caractéristiques spectrales en UV et en IR sont identiques à celles des isoflavones précédemment décrites. En effet, son spectre IR enregistré dans KBr, exhibe des bandes d'absorption caractéristiques des groupes hydroxyles libres (3440  $\text{cm}^{-1}$ ), d'un carbonyle conjugué à 1651  $\text{cm}^{-1}$ , 1609-1542  $\text{cm}^{-1}$  (C=C aromatiques). Son spectre UV présente plusieurs *maxima* : 218, 222 et 261 nm, très caractéristiques des isoflavonoïdes.

Le spectre de masse à haute résolution en impact électronique présente le pic de l'ion moléculaire  $M^+$  à  $m/z$  372,1228 (masse calculée 372,1209), soit une formule brute  $\text{C}_{20}\text{H}_{20}\text{O}_7$ , renfermant onze degrés d'insaturation. Ce haut degré d'insaturation plaide pour une structure fortement aromatique.

Le spectre de RMN  $^1\text{H}$  (Fig. 45 et 45a) exhibe :

- un singulet intégrant pour un proton à  $\delta_{\text{H}}$  12,80 attribuable à l'H d'un hydroxyle chélaté ;
- un singulet d'un proton à 9,17 ppm attribuable à l'H d'un hydroxyle phénolique libre ;
- un signal à  $\delta_{\text{H}}$  8,09 (1H, s) attribuable au proton éthylénique H-2 des isoflavonoïdes;
- deux doublets d'un proton chacun à  $\delta_{\text{H}}$  6,74 (1H, d,  $J = 8,5$  Hz) et 6,35 (1H, d,  $J = 8,5$  Hz), attribuables à deux protons en position *ortho* d'un noyau aromatique tétra-substitué appartenant probablement au cycle B.

- deux singulets larges d'un proton chacun à  $\delta_{\text{H}}$  6,30 (1H, sl) et 6,14 ppm (1H, sl), attribuables à deux protons *méta* couplés ;

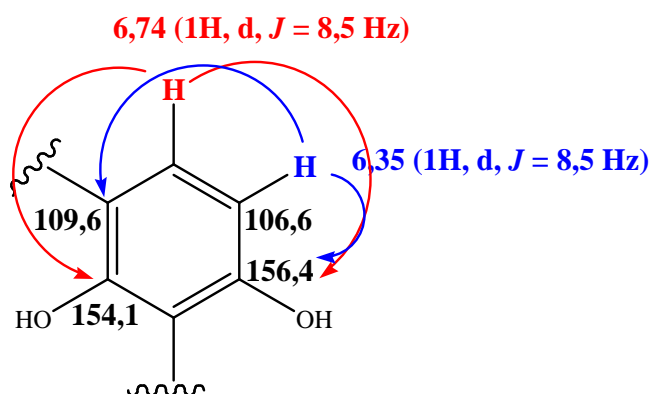
- un ensemble de signaux caractéristiques d'une prénylation de type 3-hydroxy-3-méthylbutyle. En effet, on remarque la présence d'un singulet à 4,23 ppm (1H, s), attribuable à l'Hydrogène d'un hydroxyle libre ; deux doublets dédoublés dédoublés à  $\delta_{\text{H}}$  2,57 (2H, ddd,  $J = 8,0 ; 5,0 ; 3,5$  Hz) et 1,51 (2H, ddd,  $J = 8,0 ; 5,0 ; 3,5$  Hz), intégrant chacun pour deux protons ; et d'un singulet de six protons à 1,13 ppm correspondant à deux méthyles.

L'analyse de son spectre de RMN  $^{13}\text{C}$  complètement découplé (Fig. 46) combinée aux spectres DEPT 90 et 135, révèle la présence de vingt signaux de carbone en accord avec la formule brute. On distingue :

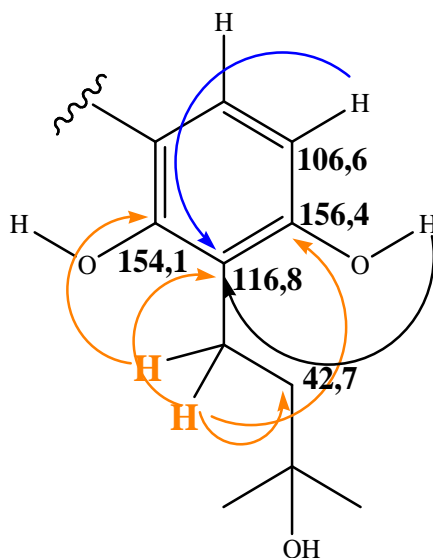
- dix carbones quaternaires dont un carbonyle conjugué à  $\delta_{\text{C}}$  180,7 et cinq aromatiques oxygénés à  $\delta_{\text{C}}$  164,9 ; 161,8 ; 157,8 ; 156,4 et 154,1.

- six méthines ;
- deux méthylènes à  $\delta_C$  18,5 (C-1''), 42,7 (C-2'') ;
- deux méthyles à  $\delta_C$  29,2 (C-4''/5'') ;

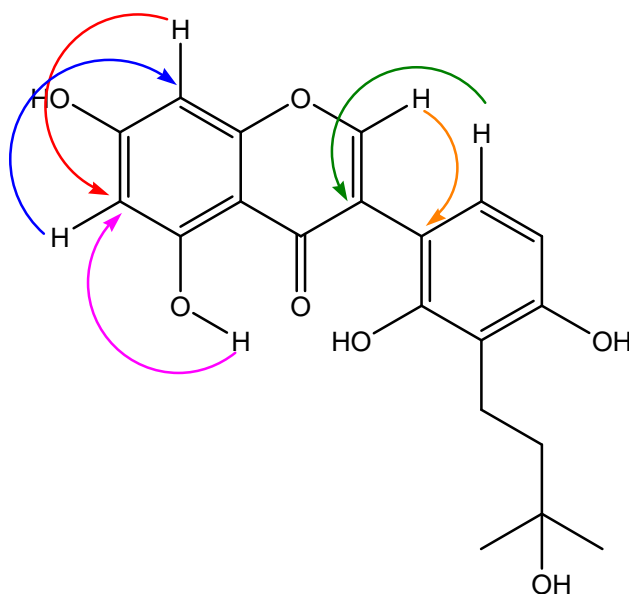
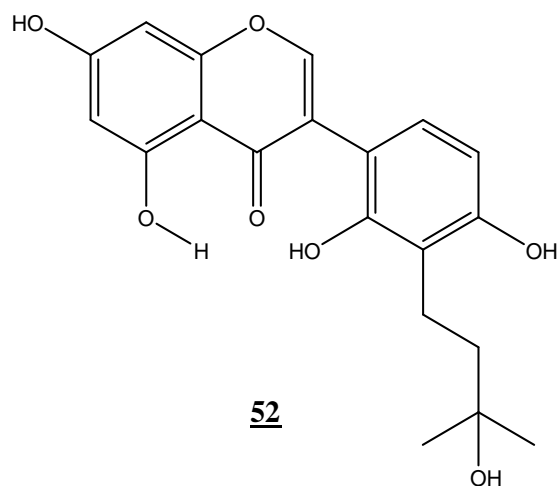
Grâce aux taches de corrélations  $J^2$  et  $J^3$  observables sur le spectre HMBC, l'unité isoprényle a été localisée en position 3' du cycle B. En effet, on observe sur ce spectre des taches de corrélations entre le proton aromatique à  $\delta_H$  6,74 (1H, d,  $J = 8,5$  Hz) du cycle B et les carbones aromatiques oxygénés à  $\delta_C$  154,1 (C-2') et 156,4 (C-4') et entre le proton à  $\delta_H$  6,35 (1H, d,  $J = 8,5$  Hz) et les carbones C-1' (109,6) et C-4' (156,4).



Sur le même spectre, on observe des corrélations entre les protons à  $\delta_H$  6,35 (1H, d,  $J = 8,5$  Hz ; H-5') ; 9,17 (1H, s, OH-2'/4') et 2,57 (2H, ddd,  $J = 8,0$  ; 5,0 ; 3,5 Hz ; H<sub>2</sub>-1'') et le carbone à  $\delta_C$  116,8 (C-3'), localisant ainsi le groupe 3-hydroxy-3-méthylbutyle en position C-3'.



Ceci nous permet d'établir la structure 52



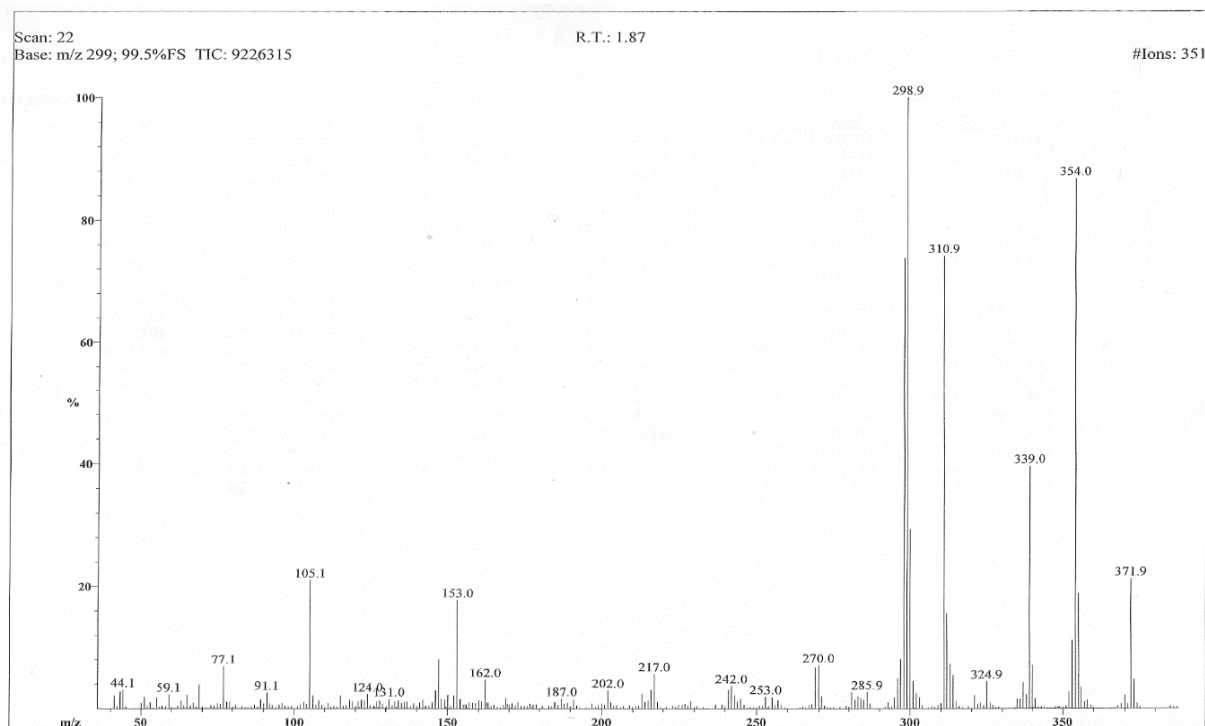
### Quelques corrélations HMBC du composé FTF-41-6

Il s'agit de la 5,7,2',4'-tétrahydroxy-3'-(3-hydroxy-3-méthylbutyl)isoflavone, un dérivé d'isoflavonoïde nouveau, décrit pour la première fois, et auquel nous avons donné le nom trivial de thonningiisoflavone.

**Tableau XXIII:** Données de RMN  $^1\text{H}$  (DMSO- $d_6$ , 500 MHz) et  $^{13}\text{C}$  (DMSO- $d_6$ , 125 MHz) de FTF-41-6, thonningiisoflavone

Position	FTF-41-6	
	$\delta_{\text{H}}$ (nH, m, $J$ (Hz))	$\delta_{\text{C}}$ (m)
2	8,09 (1H, s)	155,4 d
3	-	121,2 s
4	-	180,7 s

5-OH	12,80 (1H, s)	161,8 s
6	6,10 (1H, s)	99,2 s
7-OH	8,30 (1H, s)	164,9 s
8	6,30 (1H, s)	93,8 d
9	-	157,8 s
10	-	104,0 s
1'	-	109,6 s
2'-OH	9,17 (1H, sl)	154,1 s
3'	-	116,8 s
4'-OH	9,17 (1H, sl)	156,4 s
5'	6,35 (1H, d, $J = 8,5$ Hz)	106,6 d
6'	6,74 (1H, d, $J = 8,5$ Hz)	128,4 d
1''	2,57 (2H, ddd, $J = 8,0 ; 5,0 ; 3,5$ Hz)	18,5 t
2''	1,51 (2H, ddd, $J = 8,0 ; 5,0 ; 3,5$ Hz)	42,7 t
3''	-	69,2 s
3''-OH	4,23 (1H, sl)	-
4''-Me	1,13 (3H, s)	29,2 q
5''-Me	1,13 (3H, s)	29,2 q



**Figure 44:** Spectre de masse en EI de FTF-41-6



355.1120	0.7	355.1123	-0.8	-0.3	20.5	$C_{27}H_{15}O_1$
		355.1182	-17.3	-6.1	11.5	$C_{20}H_{19}O_6$
355.9875	0.2	355.9898	-6.7	-2.4	28.0	$C_{27}O_2$
366.9792	0.8					
368.9752	0.6	368.9824	-19.6	-7.2	24.5	$C_{24}H_1O_5$
<u>372.1228</u>	<u>0.3</u>	<u>372.1209</u>	<u>5.1</u>	<u>1.9</u>	<u>11.0</u>	$C_{20}H_{20}O_7$ ✓
373.9725	0.3					
378.9800	0.4					
380.9760	2.7	380.9824	-16.7	-6.4	25.5	$C_{25}H_1O_5$

Figure 44a: Spectre de masse en HR de FTF-41-6

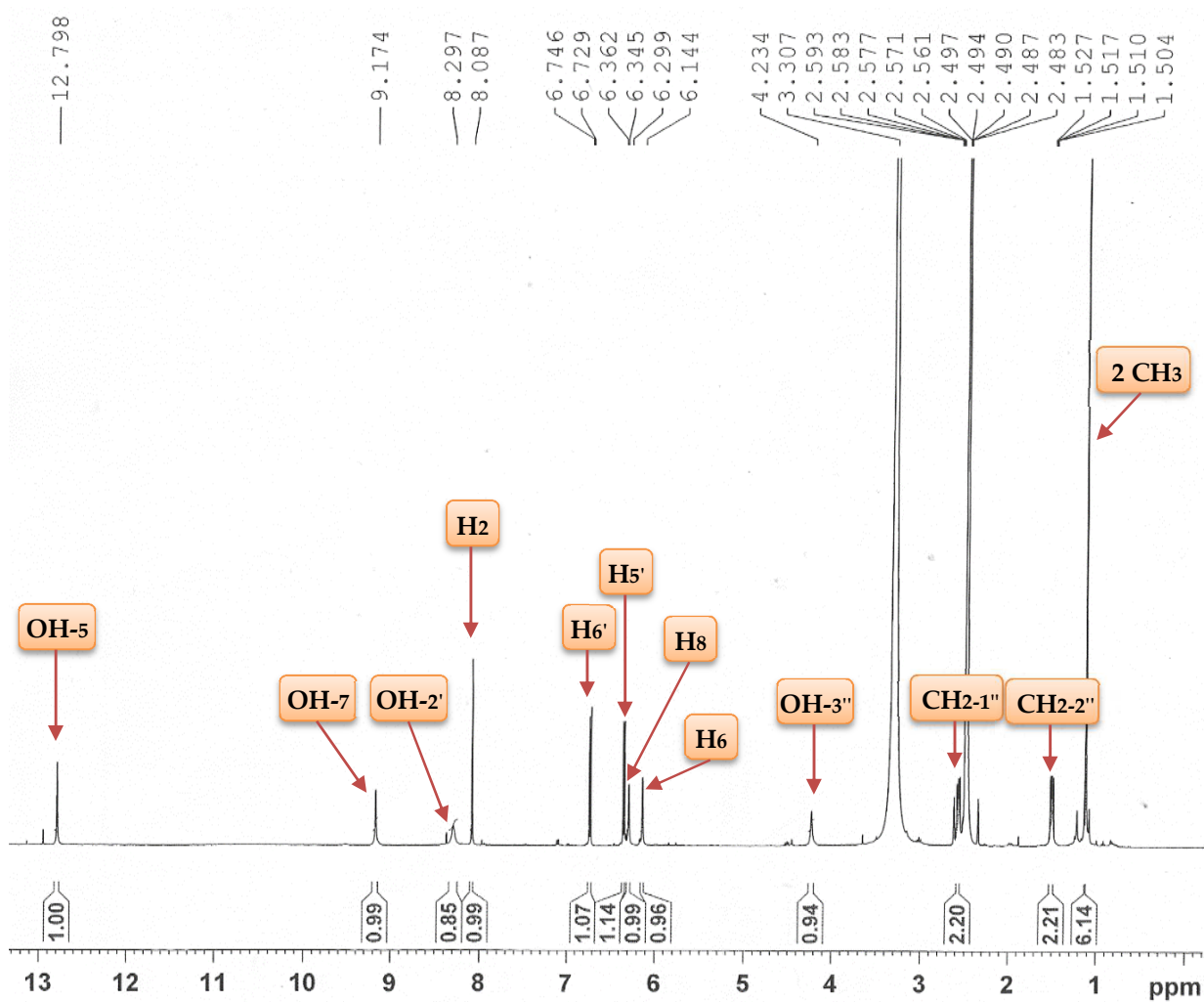
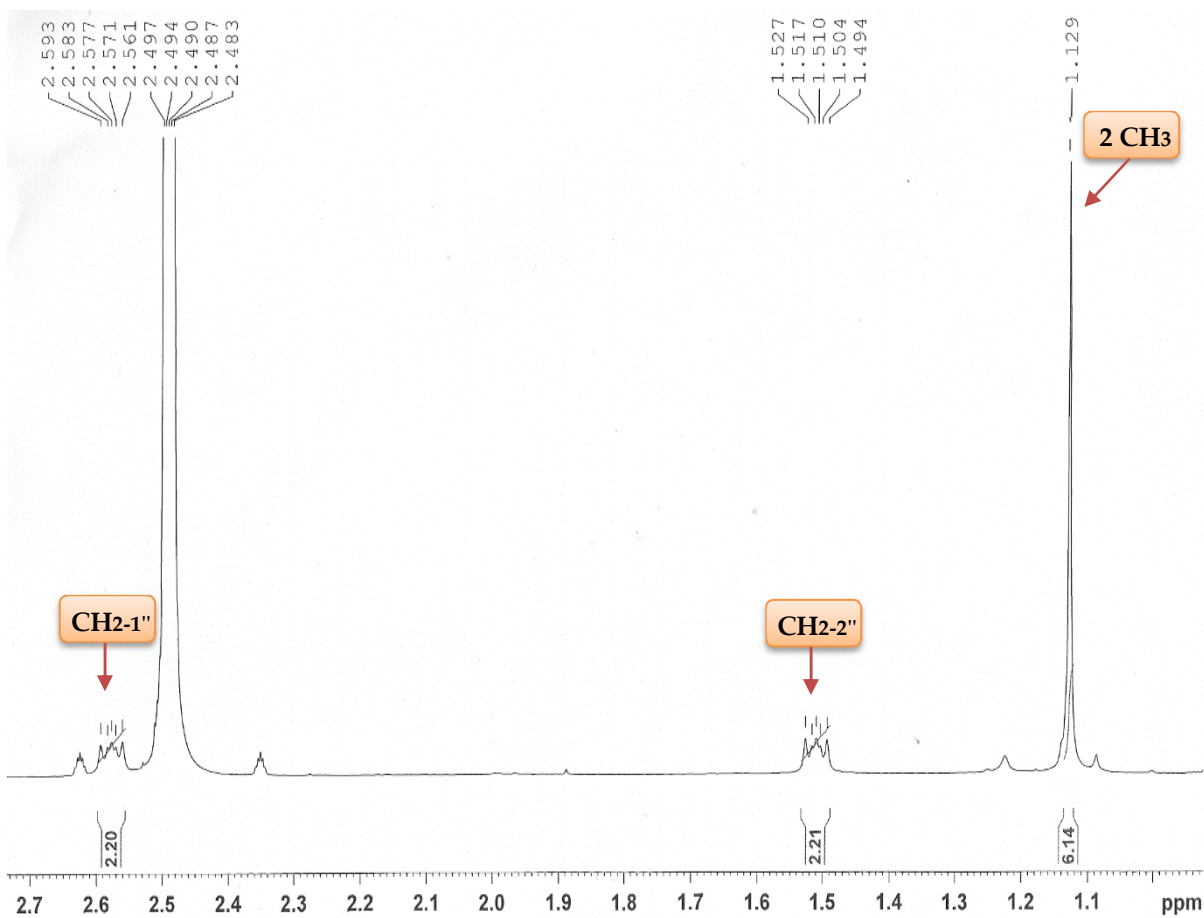
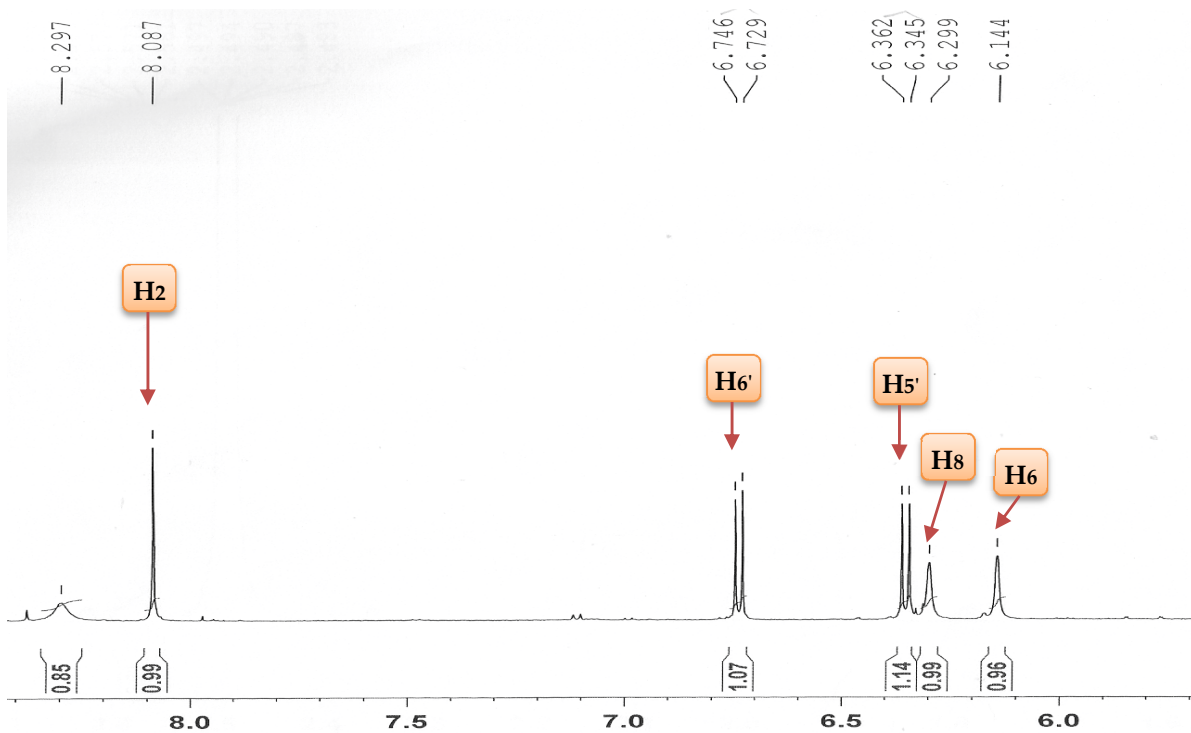


Figure 45: Spectre de RMN  $^1H$  (DMSO- $d_6$ , 500 MHz) de FTF-41-6



**Figure 45a:** Spectres de RMN  $^1\text{H}$  élargis (DMSO- $d_6$ , 500 MHz) de FTF-41-6

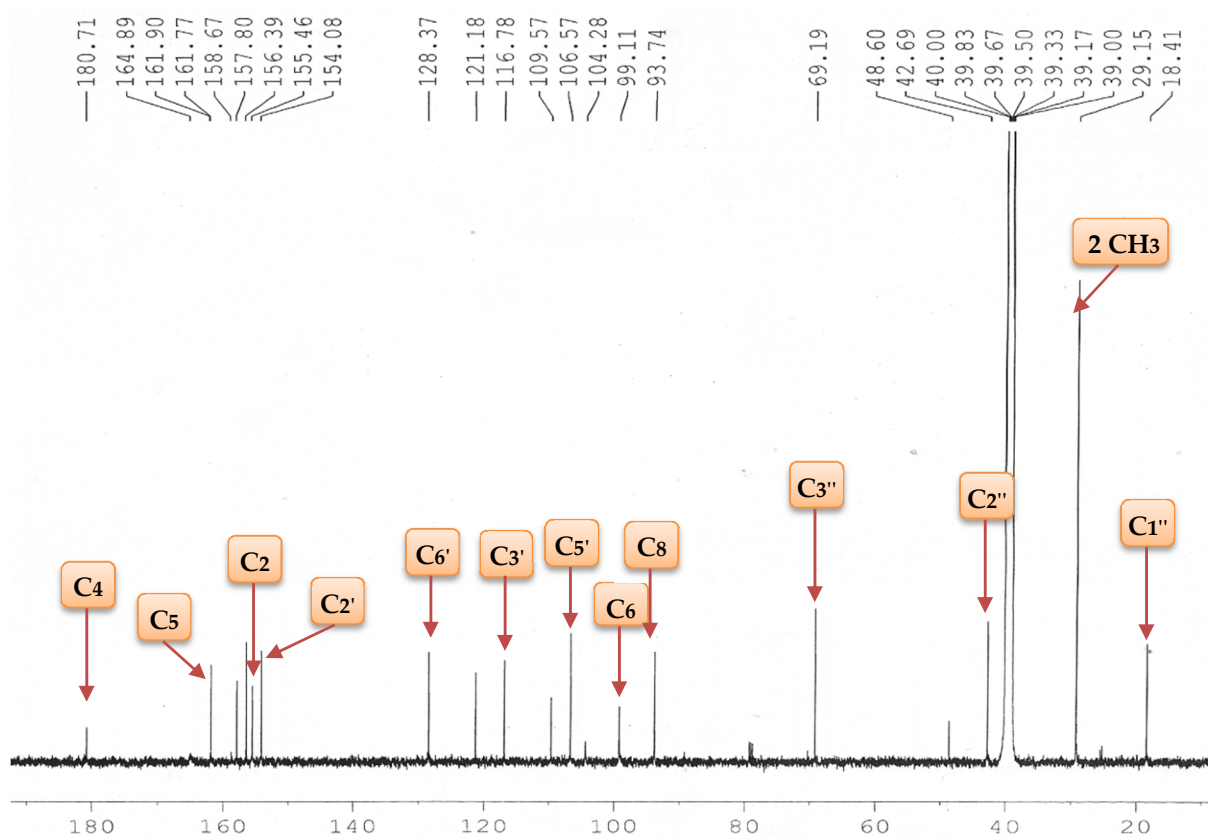


Figure 46: Spectre de RMN  $^{13}\text{C}$  ( $\text{CDCl}_3$ , 125 MHz) de FTF-41-6

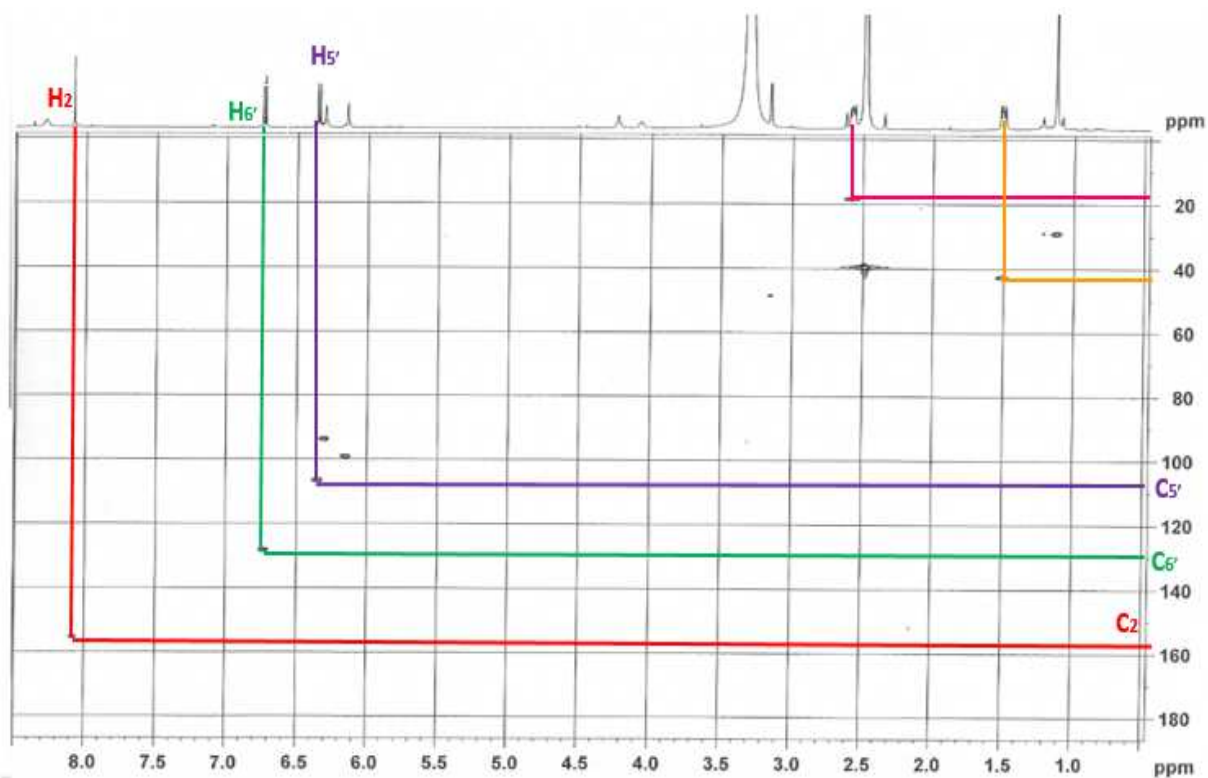
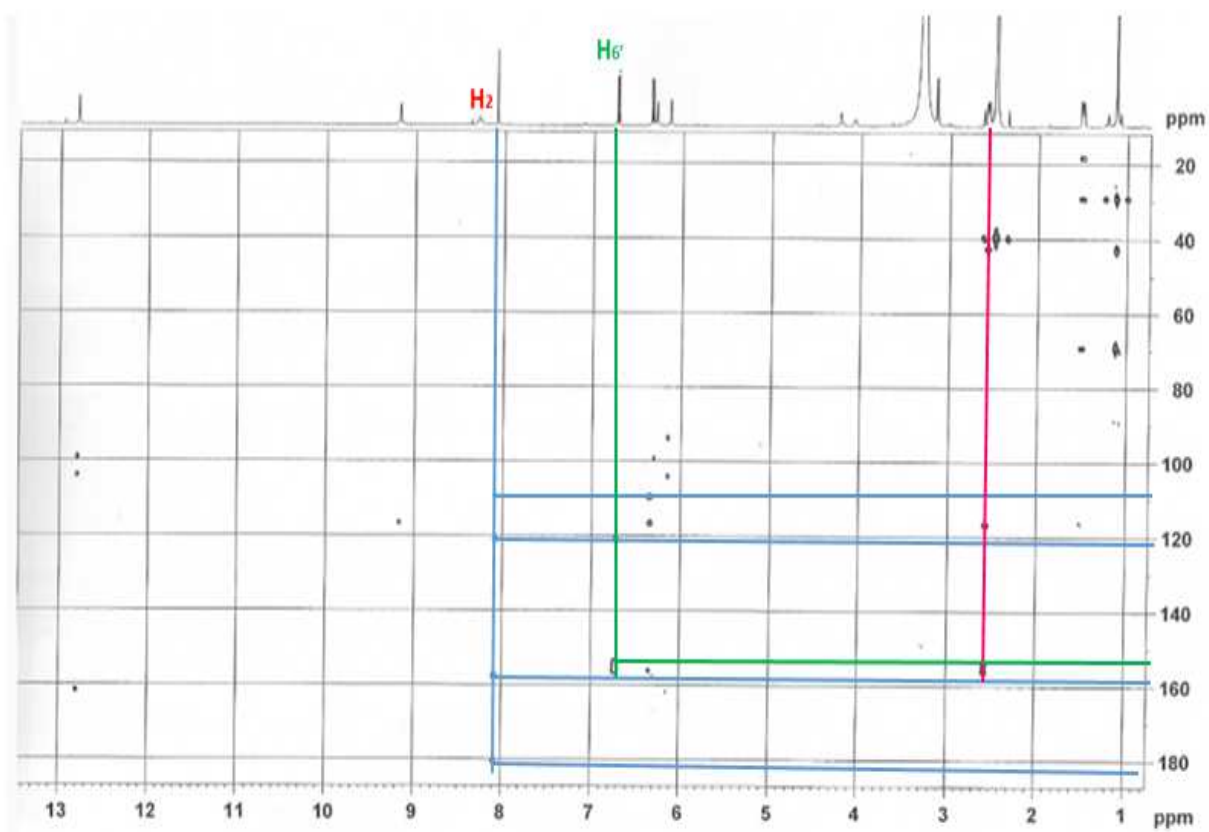


Figure 47: Spectre HSQC de FTF-41-6



**Figure 48:** Spectre HMBC de FTF-41-6

#### II.1.2.2.1.8- Identification de FTBR-11, Lutéone

Le composé FTBR-11, isolé de l'extrait méthanolique des racines de *F. thoningii* se présente sous forme de poudre amorphe jaune pâle dans le mélange hexane-acétate d'éthyle (7 : 3). Il répond positivement au test au chlorure ferrique indiquant sa nature phénolique.

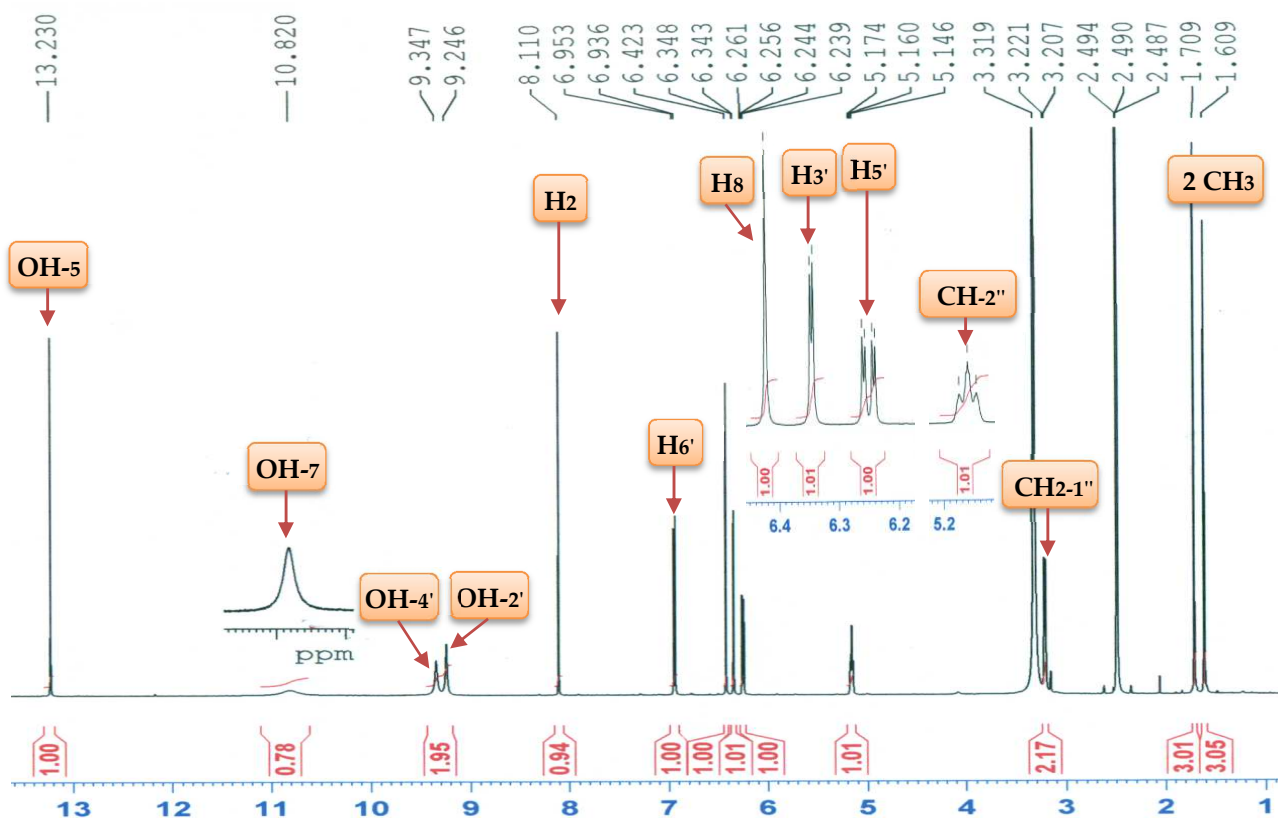
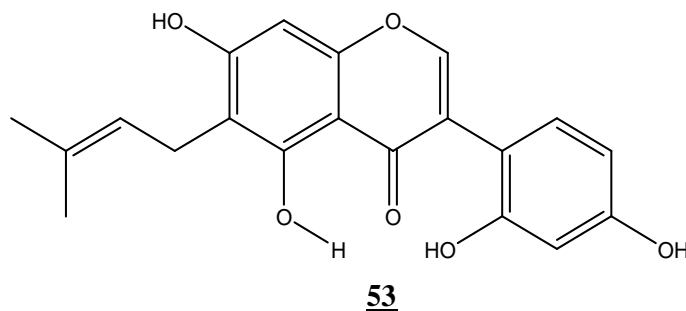
Sa formule brute  $C_{20}H_{18}O_6$ , renfermant douze degrés d'insaturation a été déduite de son spectre de masse à haute résolution en impact électronique, qui montre le pic de l'ion moléculaire  $[M]^+$  à  $m/z$  354,1112 (calculée 354,1103 pour  $C_{20}H_{18}O_6$ ), soit un atome d'oxygène en plus que la molécule de wightéone décrite précédemment.

L'analyse par RMN  $^1H$ , réalisée dans le  $DMSO-d_6$  (Fig. 49), permet de relever de nombreuses similitudes avec celui de la wightéone, notamment en ce qui concerne tout le squelette isoflavonoïde. La seule et unique différence entre les deux composés réside au niveau de la nature du cycle B.

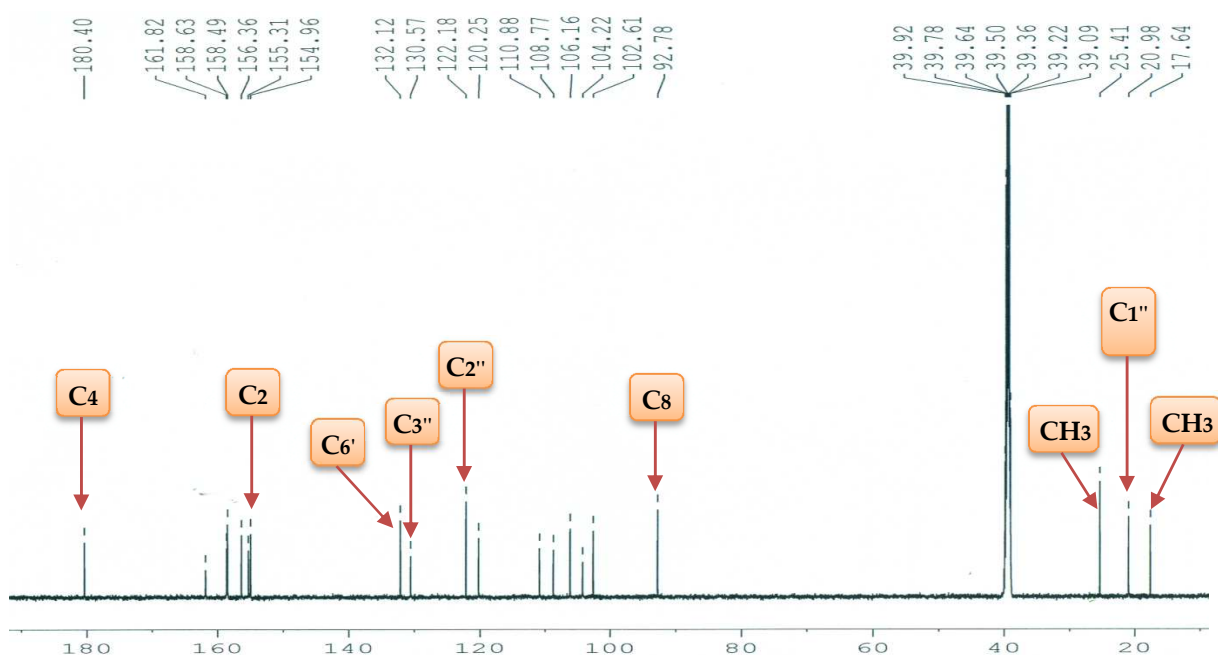
En effet, dans le cas de la wightéone nous avons un système AA'BB' qui est remplacé ici par un système ABX constitué d'un doublet dédoublé d'un proton à  $\delta_H$  6,25 (1H, dd,  $J = 8,5 ; 2,5$  Hz) et de deux doublets d'un proton chacun à  $\delta_H$  6,35 (1H, d,  $J = 2,5$  Hz) et 6,94 (1H, d,  $J = 8,5$  Hz).

De plus sur le spectre de RMN  $^{13}C$  de FTBR-11 (Fig. 50), un des quatre méthines aromatiques du cycle B de la wightéone est remplacé par un carbone quaternaire oxygéné à  $\delta_C$  156,3 (C-2') dans la structure de la lutéone. Les trois autres méthines de ce cycle à  $\delta_C$  106,0 (C-3'), 102,4 (C-5') et 132,6 (C-6') confirment le système ABX.

Sur la base de toutes ces données, la structure **53** de la lutéone, a été attribuée au composé FTBR-11. C'est un isoflavonoïde connu qui a été isolé pour la première fois des jeunes fruits de *Lupinus luteus* L. en 1973 par Fukui et collaborateurs.



**Figure 49:** Spectre de RMN  $^1\text{H}$  (DMSO- $d_6$ , 500 MHz) de FTBR-11



**Figure 50:** Spectre de RMN  $^{13}\text{C}$  (DMSO- $d_6$ , 125 MHz) de FTBR-11

**Tableau XXIV:** Données de RMN  $^1\text{H}$  (DMSO- $d_6$ , 500 MHz) et  $^{13}\text{C}$  (DMSO- $d_6$ , 125 MHz) de FTBR-11 et de la lutéone (acetone- $d_6$ , 100 MHz) (Ingham *et al.*, 1983 )

Position	FTBR-11		Lutéone	
	$\delta_{\text{H}}$ (nH, m, $J$ (Hz))	$\delta_{\text{C}}$ (m)	$\delta_{\text{H}}$ (nH, m, $J$ (Hz))	$\delta_{\text{C}}$ (m)
2	8,11 (1H, s)	155,0 d	8,14 (1H, s)	154,7 d
3	-	120,3 s	-	121,0 s
4	-	180,4 s	-	180,2 s
5-OH	13,23 (1H, sl)	158,6 s	13,05 (1H, s)	158,3 s
6	-	110,9 s	-	110,8 s
7-OH	10,82 (1H, sl)	161,8 s	-	161,4 s
8	6,42 (1H, s)	92,6 d	6,35 (1H, s)	93,1 d
9	-	155,3 s	-	156,2 s
10	-	104,2 s	-	104,7 s
1'	-	108,8 s	-	104,4 s
2'-OH	9,25 (1H, sl)	156,3 s	-	157,0 d
3'	6,35 (1H, d, $J = 2,5$ Hz)	102,4 d	6,48 (1H, d, $J = 2,4$ Hz)	103,1 d
4'-OH	9,35 (1H, sl)	158,5 s	-	159,1 s

5'	6,25 (1H,dd, $J=8,5; 2,5\text{Hz}$ )	106,0 d	6,44 (1H,dd, $J = 8,9; 2,4\text{Hz}$ )	107,0 d
6'	6,94 (1H, d, $J = 8,5 \text{ Hz}$ )	132,6 d	7,12 (1H, d, $J = 8,9 \text{ Hz}$ )	133,0 d
1''	3,21 (2H, dl, $J = 7,0 \text{ Hz}$ )	21,0 t	3,37 (2H, dl, $J = 7,3 \text{ Hz}$ )	21,2 t
2''	5,16 (1H, tl, $J = 7,0 \text{ Hz}$ )	122,1 d	5,28 (1H, tl, $J = 7,3 \text{ Hz}$ )	121,6 d
3''	-	130,6 s	-	129,8 s
4''-Me	1,61 (3H, s)	17,6 q	1,65 (3H, s)	17,6 q
5''-Me	1,71 (3H, s)	25,4 q	1,78 (3H, s)	25,9 q

### II.1.2.2.1.9- Identification de FTBR-9, (+)-Aromadendrine

Soluble dans le DMSO, ce composé a été obtenu sous forme de fines aiguilles pointues jaune pâle dans le mélange hexane-acétate d'éthyle (13 : 07). Il répond positivement au test au chlorure ferrique dans le méthanol (couleur vert olive), caractéristique des phénols et au test de Shinoda, caractéristique des flavonoïdes (Bruneton, 1993). Il fond entre 165 -167 °C.

Sa formule brute renfermant dix degrés d'insaturation, a été déduite de son spectre de masse en impact électronique, faisant ressortir le pic de l'ion moléculaire  $[M]^+$  à  $m/z$  288,1 dont l'analyse haute résolution pour le pic à  $m/z$  288,0961 lui attribue la formule  $C_{15}H_{12}O_6$  (calc.  $m/z$  288,3734 pour  $C_{15}H_{12}O_6$ ). Outre le pic de l'ion moléculaire, on observe sur ce spectre, un pic important à  $m/z$  270 (M-H<sub>2</sub>O) suggérant la présence d'un groupement hydroxyle d'alcool dans FTBR-9. Cette hypothèse est renforcée en IR par la présence de la bande d'adsorption à 3260  $\text{cm}^{-1}$ , et une autre à 3480  $\text{cm}^{-1}$  pour un hydroxyle chélaté.

L'analyse de son spectre de RMN <sup>1</sup>H (Fig. 51) confirme la présence du cycle C d'un dihydroflavonol avec les signaux de trois protons à  $\delta_H$  4,57 (1H, dd,  $J = 11,5 ; 4,0 ; \text{H-3}$ ), 5,03 (1H, d,  $J = 11,5 \text{ Hz} ; \text{H-2}$ ), et 5,74 (1H, d,  $J = 5,0 \text{ Hz} ; \text{OH-3}$ ).

On observe également sur ce spectre:

- deux doublets *mé*ta couplés d'un proton chacun à  $\delta_H$  5,89 (1H, d,  $J = 2,0 \text{ Hz}$ ), et 5,84 (1H, d,  $J = 2,0 \text{ Hz}$ ) sur un noyau aromatique *té*tra-substitué et attribuables aux protons H-6 et H-8 respectivement ;

- un système AA'BB' *para*-disubstitué de deux doublets de deux protons chacun à  $\delta_H$  7,30 (2H, d,  $J = 8,5 \text{ Hz}$ ) et 6,77 (2H, d,  $J = 8,5 \text{ Hz}$ ), attribuable au cycle B, qui est 4'-hydroxyl *para*-disubstitué ;

- trois singulets d'un proton chacun à  $\delta_H$  9,55, 10,80 et 11,90 attribuables à trois hydrogènes de trois hydroxyles phénoliques dont le dernier chélaté.

Son spectre de RMN  $^{13}\text{C}$  (Fig. 52) complètement découplé exhibe treize signaux, en accord avec la présence du système AA'BB' *para*-disubstitué. Combiné aux spectres DEPT 90 et 135, l'analyse de ce spectre a permis de distinguer :

- sept carbones quaternaires dont un carbonyle de cétone à  $\delta_{\text{C}}$  197,5 ;
- huit méthines, dont six aromatiques ;

Son spectre de dichroïsme circulaire (CD) montre un effet Cotton négatif à 297 nm ( $\Delta\epsilon + 0,11$ ), indiquant alors sa configuration absolue (2*R*,3*R*), (Slade *et al.*, 2005).

L'ensemble de toutes ces données spectrales, comparé à celles décrites dans la littérature, permet d'identifier FTBR-9 à la (2*R*,3*R*)-3,4'-5,7-tétrahydroxyflavanone ou dihydrokaempférol, plus connu sous le nom de (+)-Aromadendrine (Bachheti *et al.*, 2011 ; Venditti *et al.*, 2013 ; Lee *et al.*, 2011).

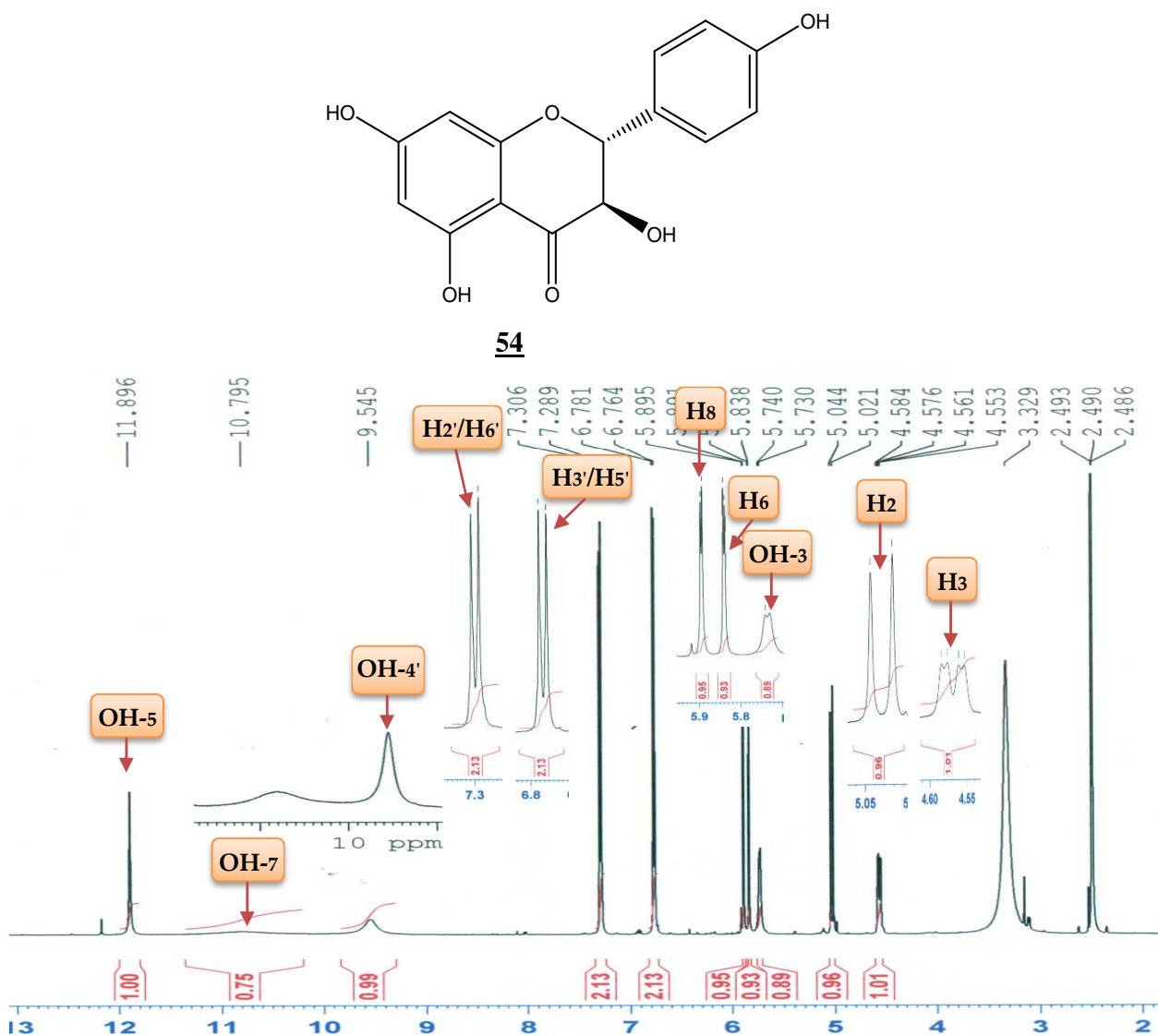
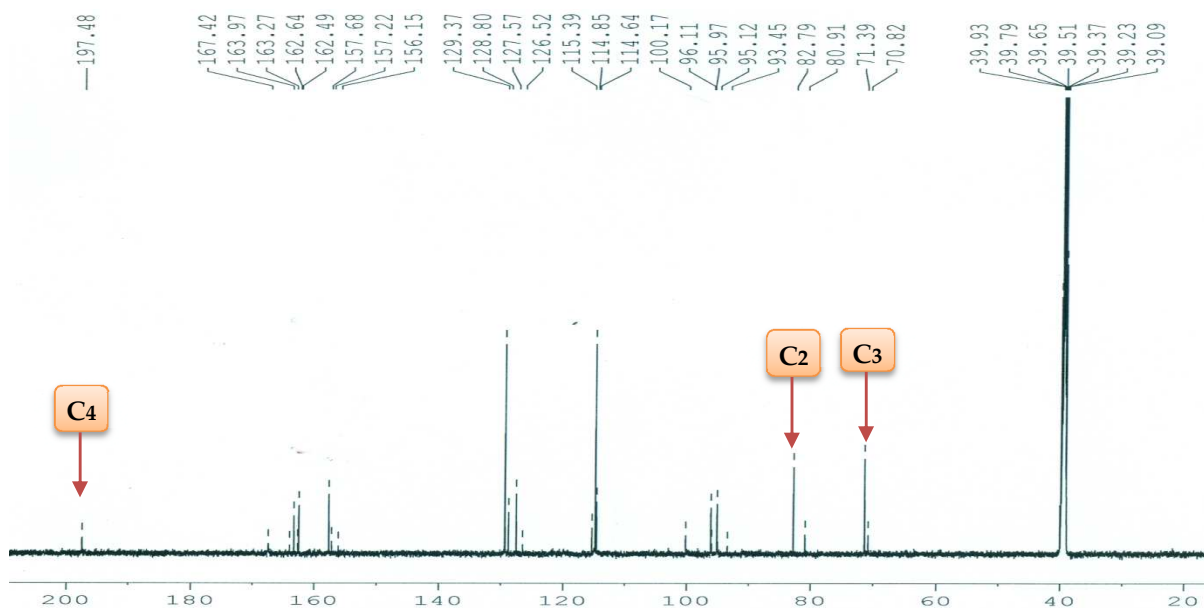


Figure 51: Spectre de RMN  $^1\text{H}$  ( $\text{DMSO-}d_6$ , 500 MHz) de FTBR-9





**Figure 52:** Spectre de RMN <sup>13</sup>C (DMSO-*d*<sub>6</sub>, 125 MHz) de FTBR-9

**Tableau XXV:** Données de RMN <sup>1</sup>H (DMSO-*d*<sub>6</sub>, 500 MHz) et <sup>13</sup>C (DMSO-*d*<sub>6</sub>, 125 MHz) de FTBR-9 et de la (+)-aromadendrine (Pyridine-*d*<sub>5</sub>, 500 MHz) (Bachheti *et al.*, 2011)

Position	FTBR- 9		(+) -Aromadendrine	
	$\delta_H$ (m, <i>J</i> (Hz))	$\delta_C$ (m)	$\delta_H$ (m, <i>J</i> (Hz))	$\delta_C$ (m)
2	5,03 (1H, d, <i>J</i> = 11,5 Hz)	82,8 d	5,42 (1H, d, <i>J</i> = 11,5 Hz)	84,5 d
3	4,57 (1H, dd, <i>J</i> = 11,5 ; 4,0)	71,4 d	5,02 (1H, d, <i>J</i> = 11,5 Hz)	73,2 d
3-OH	5,74 (1H, d, <i>J</i> = 5,0 Hz)			
4	-	197,5 s	-	198,7 s
5-OH	11,90 (1H, s)	163,3 s	-	165,0 s
6	5,89 (1H, d, <i>J</i> = 2,0 Hz),	96,1 d	6,49 (1H, d, <i>J</i> = 2,0 Hz)	97,4 d
7-OH	10,80 (1H, sl)	167,4 s	-	168,7 s
8	5,84 (1H, d, <i>J</i> = 2,0 Hz),	95,1 d	6,49 (1H, d, <i>J</i> = 2,0 Hz)	96,2 d
9	-	162,5 s	-	163,8 s
10	-	100,2 s	-	101,6 s
1'	-	127,6 s	-	128,8 s
2'	7,30 (1H, d, <i>J</i> = 8,5 Hz)	129,4 d	7,73 (1H, d, <i>J</i> = 8,5 Hz)	130,2 d
3'	6,77 (1H, d, <i>J</i> = 8,5 Hz)	114,9 d	7,23 (1H, d, <i>J</i> = 8,5 Hz)	116,2 d
4'-OH	9,55 (1H, sl)	157,7 s	-	159,5 s
5'	6,77 (1H, d, <i>J</i> = 8,5 Hz)	114,9 d	7,23 (1H, d, <i>J</i> = 8,5 Hz)	116,2 d
6'	7,30 (1H, d, <i>J</i> = 8,5 Hz)	129,4 d	7,73 (1H, d, <i>J</i> = 8,5 Hz)	130,2 d

### II.1.2.2.1.10- Identification de FTBR-10, (+)-Shutérine

Le composé FTBR-10 a été obtenu des racines de *F. thonningii* sous forme de fines particules solides jaunes dans le mélange de solvants hexane-acétate d'éthyle (3 : 2). Il fond entre 181,2 -181,8 °C, et est soluble dans le DMSO. Il répond positivement au test au chlorure ferrique dans le méthanol (couleur vert olive), et au test de Shinoda, indiquant respectivement sa nature phénolique et flavonoïdique (Bruneton, 1993). La valeur du pouvoir rotatoire observée est  $[\alpha]_D^{29} + 23,7$  (MeOH,  $c = 0,9$ ).

Sa formule brute  $C_{20}H_{20}O_6$  renfermant onze degrés d'insaturation, a été obtenue de son spectre de masse en impact électronique, qui exhibe le pic de l'ion moléculaire  $[M^+]$  à  $m/z$  356,1260 (calculée pour  $m/z$  356,0998 pour  $C_{20}H_{20}O_6$ ). Outre le pic de l'ion moléculaire, on observe sur ce spectre, un pic important à  $m/z$  338  $[M-H_2O]$ , suggérant la présence au sein de la molécule d'un groupement hydroxyle d'alcool.

On observe sur son spectre UV des bandes d'absorption à 343, 297, 243 et 205 nm. Son spectre IR exhibe des bandes d'absorption caractéristiques à  $3480\text{ cm}^{-1}$ ,  $3321\text{ cm}^{-1}$ ,  $1728$  et  $1608\text{ cm}^{-1}$ , correspondant respectivement à un hydroxyle chélaté, des hydroxyles libres, un carbonyle, et à des doubles liaisons aromatiques.

Son spectre de RMN  $^1\text{H}$  (Fig. 53) fait ressortir :

- trois singulets d'un proton chacun à  $\delta_H$  12,17, 10,77 et 9,53 attribuables à trois groupements hydroxyles phénoliques dont deux libres et un chélaté à  $\delta_H$  12,17 ppm;

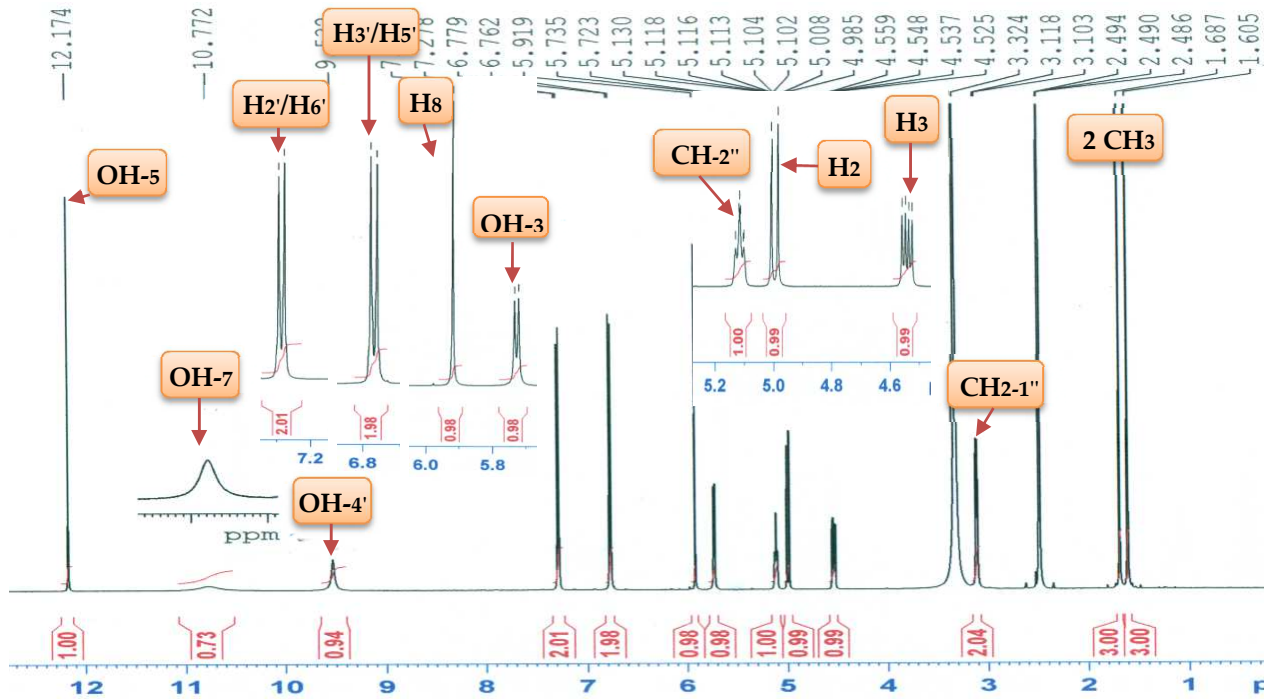
- un système aromatique *para*-disubstitué (AA'BB') de deux doublets de deux protons chacun à  $\delta_H$  7,29 (2H, d,  $J = 8,5$  Hz, H-2' ; H-6') et 6,70 (2H, d,  $J = 8,5$  Hz, H-3' ; H-5') attribuable au cycle B ;

- un singulet d'un proton aromatique à  $\delta_H$  5,92 (1H, s), attribuable au proton H-8 d'un noyau aromatique *penta*-substitué (cycle A) ;

- un ensemble de trois signaux intégrant chacun pour un proton à  $\delta_H$  5,73 (1H, d,  $J = 6,0$  Hz, HO-3) ; 5,00 (1H, d,  $J = 11,5$  Hz, H-2) et 4,54 (1H, dd,  $J = 11,5 ; 6,0$  Hz, H-3), tous caractéristiques d'un squelette de type dihydroflavonol de configuration relative *trans* et attribuables aux protons H-2 et H-3 du cycle C (Lôbo *et al.*, 2009).

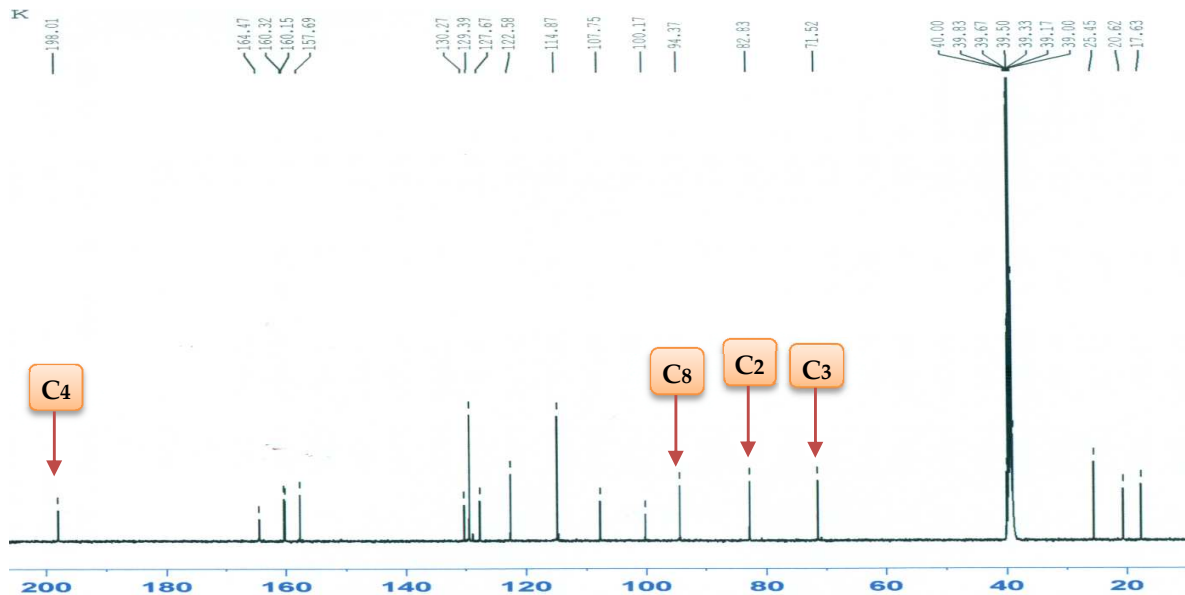
La présence d'une unité isopentényle de type 3,3-diméthylallyle dans la structure a été mise en évidence grâce à l'analyse combinée des spectres de RMN  $^1\text{H}$ ,  $^{13}\text{C}$ , et de masse, qui permettent d'observer deux singulets de trois protons chacun [ $\delta_H$  1,61 /  $\delta_C$  25,5 et  $\delta_H$  1,69 /  $\delta_C$  17,6], un doublet de deux protons [ $\delta_H$  3,11 (2H, d,  $J = 7$  Hz) /  $\delta_C$  20,6 ], un triplet d'un proton [ $\delta_H$  5,07

(1H, t, J = 7 Hz) /  $\delta_C$  122,6], et plus des fragments proéminents à  $m/z$  295 [ $M^+ - H_2O - 43$  ( $C_3H_7$ )], et  $m/z$  283 [ $M^+ - H_2O - 55$  ( $C_4H_5$ )] (Ingham *et al.*, 1986).



**Figure 53:** Spectre de RMN  $^1H$  (DMSO- $d_6$ , 500 MHz) de FTBR-10

Son spectre de RMN  $^{13}C$  (Fig. 54) complètement découplé combiné aux spectres DEPT 90 et 135, révèle la présence de vingt carbones, répartis en :



**Figure 54:** Spectre de RMN  $^{13}C$  (DMSO- $d_6$ , 125 MHz) de FTBR-10

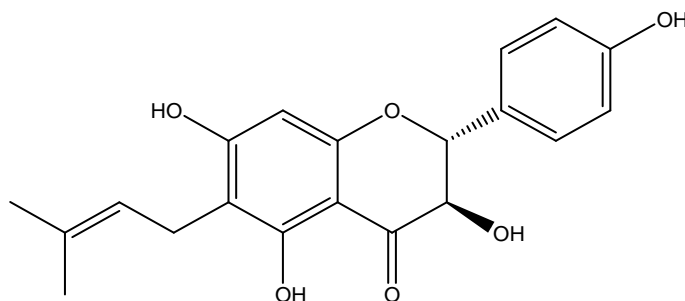
- deux méthyles ;
- un méthylène à  $\delta_C$  20,6 ;

- huit méthines parmi lesquels deux oxyméthines à  $\delta_C$  71,5 et 82,8 ;
- neuf carbones quaternaires dont un carbonyle des dihydroflavonols à  $\delta_C$  198,0.

La chaîne 3,3-diméthylallyle a été localisée en position 6 grâce aux corrélations observables sur son spectre HMBC. En effet, les protons H-1'' [ $\delta_H$  3,11(2H, d,  $J = 7$  Hz)] corrélient avec les carbones à  $\delta_C$  107,8 (C<sub>6</sub>), 122,6 (C<sub>2''</sub>), 130,3 (C<sub>3''</sub>), 160,3 (C<sub>7</sub>) et 164,5 (C<sub>5</sub>).

Son spectre de dichroïsme circulaire (CD) montre un effet cotton négatif à 288 nm (-33,425 mdeg), et une bande d'adsorption positive (effet Cotton positif) entre 330-340 nm indiquant alors sa configuration absolue (2*R*, 3*R*), (Slade *et al.*, 2005).

L'ensemble de toutes ces données spectrales, comparées à celles décrites dans la littérature, permet d'identifier FTBR-10 à la (2*R*, 3*R*)-3,5,7,4'-tétrahydroxy-6-(3,3-diméthylallyl)flavanone plus connue sous le nom de shuterine, isolé de *Shuteria vestita* (Ingham *et al.*, 1986).



### 55

**Tableau XXVI:** Données de RMN <sup>1</sup>H (DMSO-*d*<sub>6</sub>, 500 MHz) et <sup>13</sup>C (DMSO-*d*<sub>6</sub>, 125 MHz) de FTBR -10 et de la shuterine (Me<sub>2</sub>CO-*d*<sub>6</sub>, 100 MHz) (Ingham *et al.*, 1986)

Position	FTBR- 10		Shuterine
	$\delta_H$ (nH, m, $J$ (Hz))	$\delta_C$ (m)	$\delta_H$ (nH, m, $J$ (Hz))
2	5,00 (1H, d, $J = 11,5$ Hz)	82,8 d	4,97 (1H, d, $J = 11,5$ Hz)
3	4,54 (1H, dd, $J = 11,5 ; 6,0$ )	71,5 d	4,53 (1H, d, $J = 11,5$ Hz)
3-OH	5,73 (1H, d, $J = 6,0$ Hz)		-
4	-	198,0 s	-
5-OH	12,17 (1H, s)	164,5 s	-
6	-	107,8 s	-
7-OH	10,72 (1H, sl)	160,3 s	-
8	5,92 (1H, s)	94,4 d	5,99 (1H, s)
9	-	160,2 s	-
10	-	100,2 s	-
1'	-	127,7 s	-

2'	7,29 (2H, d, $J = 8,5$ Hz)	129,4 d	7,40 (2H, d, $J = 8,5$ Hz)
3'	6,70 (2H, d, $J = 8,5$ Hz)	114,9 d	6,87 (2H, d, $J = 8,5$ Hz)
4'-OH	9,53 (1H, sl)	157,7 s	-
5'	6,70 (2H, d, $J = 8,5$ Hz)	114,9 d	6,87 (2H, d, $J = 8,5$ Hz)
6'	7,29 (2H, d, $J = 8,5$ Hz)	129,4 d	7,40 (2H, d, $J = 8,5$ Hz)
1''	3,11 (2H, t, $J = 7,5$ Hz)	20,6 t	3,25 (2H, dl, $J = 7,3$ Hz)
2''	5,12 (1H, t, $J = 7,0$ Hz)	122,6 d	5,26 (1H, tl, $J = 7,3$ Hz)
3''	-	130,3 s	-
4''	1,69 (3H, s)	17,6 q	1,75 (3H, s)
5''	1,61 (3H, s)	25,5 q	1,61 (3H, s)

#### II.1.2.2.1.11- Identification de FTBR-7, Conrauiflavonol

Le composé FTBR-7 a été obtenu sous forme de solides polymorphes jaunes dans le mélange de solvants hexane-acétate d'éthyle (3 : 2). Il fond entre 191,6 -192,2 °C, et est soluble dans le DMSO. Il répond positivement au test au chlorure ferrique dans le méthanol, et au test de Shinoda, indiquant respectivement sa nature phénolique et flavonoïde (Bruneton, 1993). La valeur du pouvoir rotatoire observée est  $[\alpha]_D^{29} + 2,61$  (CHCl<sub>3</sub>,  $c = 0,003$ ).

Sa formule brute C<sub>20</sub>H<sub>18</sub>O<sub>6</sub> renfermant douze degrés d'insaturation, a été obtenue de son spectre de masse à haute résolution en impact électronique, qui exhibe le pic de l'ion moléculaire [M]<sup>+</sup> à  $m/z$  354,1103 (calculée pour  $m/z$  354,3533 pour C<sub>20</sub>H<sub>18</sub>O<sub>6</sub>).

On observe sur son spectre UV des bandes d'absorption à 309, 296, 268, 261 et 229 nm. Son spectre IR exhibe des bandes d'absorption caractéristiques à 3403 cm<sup>-1</sup>, 3321 cm<sup>-1</sup>, 1742, 1642 et 1608 cm<sup>-1</sup> correspondant respectivement à un hydroxyle chélaté, des hydroxyles libres, un carbonyle de cétone et à des doubles liaisons aromatiques.

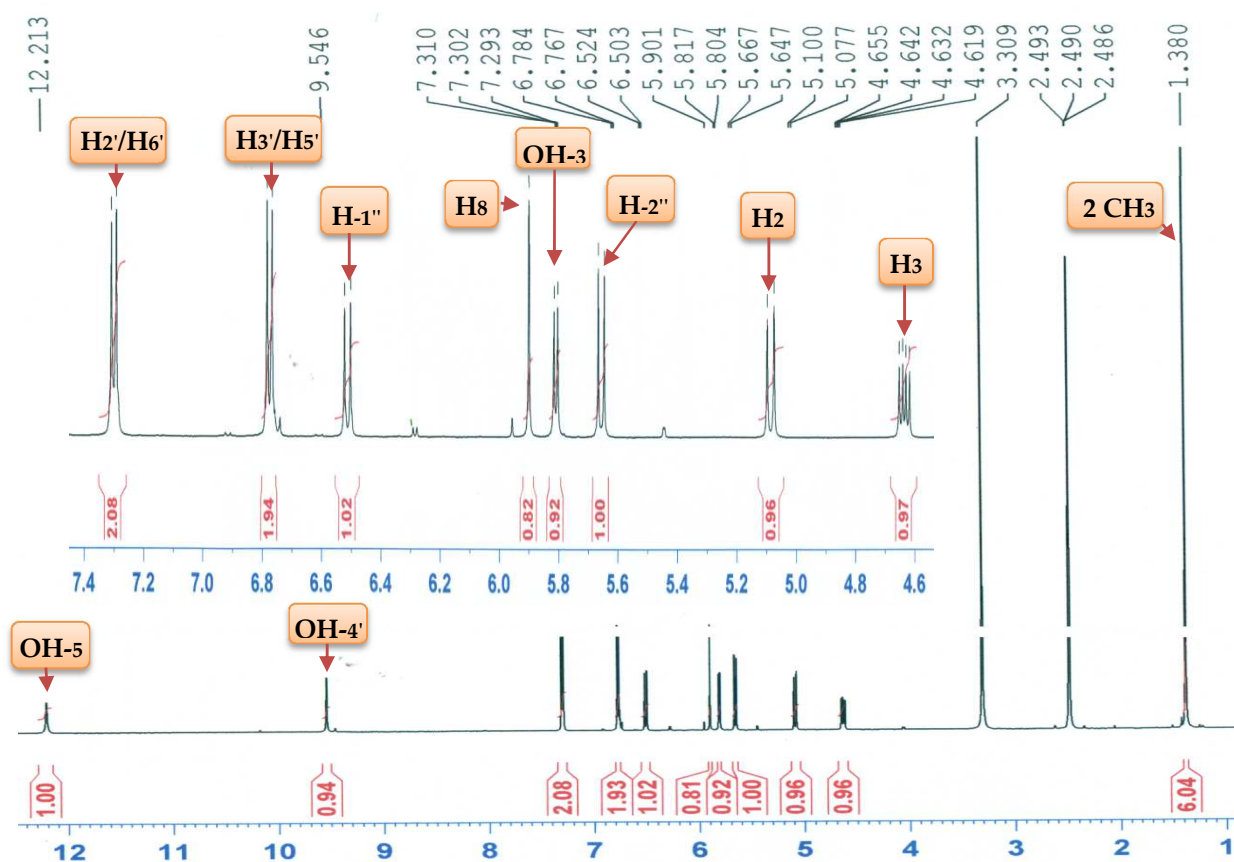
L'analyse des spectres de RMN <sup>1</sup>H de FTBR-10 (Fig. 53) et FTBR-7 (Fig. 55) révèlent de nombreuses similitudes, indiquant que FTBR-7 comme FTBR-10 est un flavanonol.

Cependant, comme éléments de différence observés sur les spectres de RMN <sup>1</sup>H (Fig. 55) et <sup>13</sup>C (Fig. 56) de FTBR-7, on note une modification sur l'unité isopentényle de type 3,3-diméthylallyle qui se serait cyclisée en 2,2-diméthyl-pyrano.

En effet, on observe :

- la disparition du doublet de deux protons [ $\delta_H$  3,11 (2H, d,  $J = 7$  Hz) /  $\delta_C$  20,6], et du triplet d'un proton [ $\delta_H$  5,07 (1H, t,  $J = 7$  Hz) /  $\delta_C$  122,6] d'une part ;

- et l'apparition de deux signaux de méthyle ( $\delta_H$  1,38 (6H, s) /  $\delta_C$  27,9); et de deux doublets d'un proton chacun [ $\delta_H$  6,51 (1H, d,  $J = 10,5$  Hz) /  $\delta_C$  114,5 et 5,66 (1H, d,  $J = 10,0$  Hz) /  $\delta_C$  127,1] d'autre part.

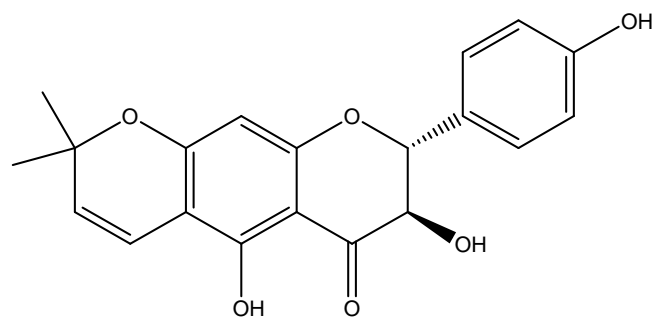


**Figure 55:** Spectre de RMN  $^1\text{H}$  (DMSO- $d_6$ , 500 MHz) de FTBR-7

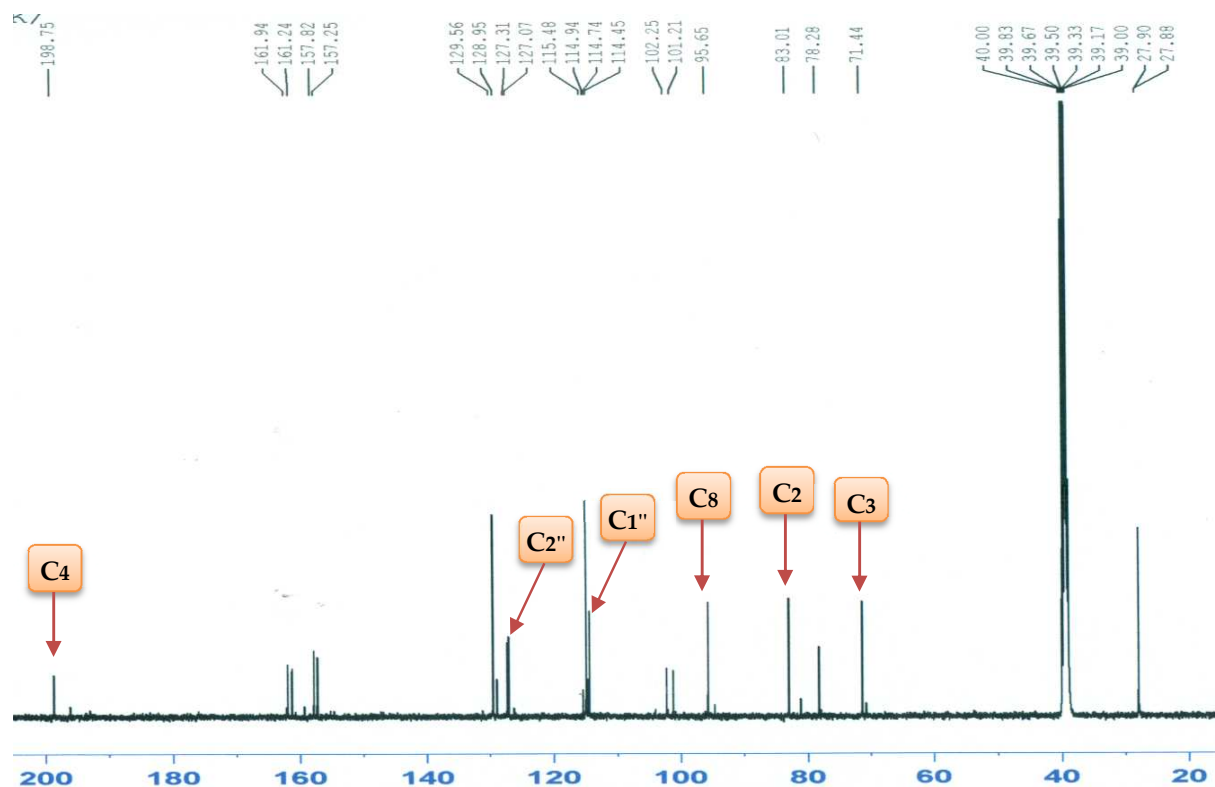
Le cycle 2,2-diméthylpyrano a été localisé en position 6,7 grâce aux corrélations observables sur le spectre HMBC. En effet, les protons H-5'' [ $\delta_H$  5,66 (1H, d,  $J = 10,5$  Hz)] et H-8 [ $\delta_H$  5,90 (1H, s)] corrélient avec le carbone à  $\delta_C$  102,3 (C-6).

Son spectre de dichroïsme circulaire (CD) montre un effet Cotton négatif à 264 nm (-11,7555 mdeg) et 236 nm (-3,77508), et deux bandes d'adsorption positives (effet Cotton positif) entre 330-340 nm, indiquant alors sa configuration absolue (2*R*, 3*R*), (Slade *et al.*, 2005).

L'ensemble de toutes ces données spectrales, comparées à celles décrites dans la littérature, permet d'identifier FTBR-7 à la (2*R*, 3*R*) 6,7-(2'',2''-diméthylpyrano)-3,5,4'-trihydroxyflavanone, connue sous les noms de conrauiflavonol (Kengap *et al.*, 2011) et afzelin A (Awantu *et al.*, 2011).



**56**



**Figure 56:** Spectre de RMN  $^{13}\text{C}$  (DMSO- $d_6$ , 125 MHz) de FTBR-7

**Tableau XXVII:** Données de RMN  $^1\text{H}$  (DMSO- $d_6$ , 500 MHz) et  $^{13}\text{C}$  (DMSO- $d_6$ , 125 MHz) de FTBR-7 et de la conrauilavonol (DMSO- $d_6$ ) (Awantu *et al.*, 2011)

Position	FTBR- 10		Conrauilavonol	
	$\delta_{\text{H}}$ (nH, m, $J$ (Hz))	$\delta_{\text{C}}$ (m)	$\delta_{\text{H}}$ (nH, m, $J$ (Hz))	$\delta_{\text{C}}$ (m)
2	5,09 (1H, d, $J = 11,5$ Hz)	83,0 d	5,11 (1H, d, $J = 11,5$ Hz)	83,0 d
3	4,64 (1H, dd, $J = 11,5 ; 6,5$ Hz)	71,4 d	4,67(1H, dd, $J = 11,0; 6,0$ Hz)	71,5 d
3-OH	5,81 (1H, d, $J = 6,5$ Hz)		5,85 (1H, d, $J = 6,0$ Hz)	-
4	-	198,8 s	-	198,9 s
5-OH	12,21 (1H, s)	157,8 s	12,23 (1H, s)	157,9 s

6	-	102,3 d	-	102,3 d
7	-	161,9 s	-	162,0 s
8	5,90 (1H, s)	95,6 d	5,91 (1H, s)	95,7 d
9	-	161,2 s	-	161,3 s
10	-	101,3 s	-	101,3 s
1'	-	127,3 s	-	127,4 s
2'	7,31 (2H, d, $J = 8,5$ Hz)	129,6 d	7,32 (2H, d, $J = 8,5$ Hz)	129,6 d
3'	6,76 (2H, d, $J = 8,5$ Hz)	114,9 d	6,79 (2H, d, $J = 8,5$ Hz)	115,0 d
4'-OH	9,55 (1H, sl)	157,8 s	9,58 (1H, s)	157,3 s
5'	6,76 (2H, d, $J = 8,5$ Hz)	114,9 d	6,79 (2H, d, $J = 8,5$ Hz)	115,0 d
6'	7,31 (2H, d, $J = 8,5$ Hz)	129,6 d	7,32 (2H, d, $J = 8,5$ Hz)	129,6 d
1''	6,51 (1H, d, $J = 10,0$ Hz)	114,4 q	6,53 (1H, d, $J = 10,0$ Hz)	114,5 d
2''	5,66 (1H, d, $J = 10,0$ Hz)	127,1 d	5,67 (1H, d, $J = 10,0$ Hz)	127,1 d
3''	-	78,3 s	-	78,3 s
4''	1,38 (3H, s)	27,9 q	1,39 (3H, s)	27,9 q
5''	1,38 (3H, s)	27,9 q	1,39 (3H, s)	27,9 q

#### II.1.2.2.1.12- Détermination structurale de FTBR-8, Thonningiol

Le composé FTBR- 8 a été obtenu de l'extrait méthanolique des racines de *F. thonningii* sous forme de fines particules solides de couleur jaune clair dans le mélange de solvants hexane-acétate d'éthyle (7 : 3). Il fond entre 188,5 -189,1 °C, et est soluble dans le DMSO. Il répond positivement au test au chlorure ferrique dans le méthanol, (couleur vert olive), et au test de Shinoda, indiquant respectivement sa nature phénolique et flavonoïdique (Bruneton, 1993).

Ce composé est optiquement actif, avec une valeur du pouvoir rotatoire observée  $[\alpha]_D^{29} + 17,3$  (MeOH,  $c = 0,0032$ ).

Son spectre de masse à haute résolution en impact électronique exhibe le pic de l'ion moléculaire  $[M^+]$  à  $m/z$  370,1424 (calculée pour  $m/z$  370,1416 pour  $C_{21}H_{22}O_6$ ). Outre ce pic, on observe sur ce spectre, un pic important à  $m/z$  352,1  $[M-H_2O]$ , suggérant la présence d'un groupement hydroxyle d'alcool dans la molécule.

On observe sur son spectre UV des bandes d'absorption caractéristiques à 343, 297, 243 et 205 nm. Son spectre IR exhibe des bandes d'absorption caractéristiques à  $3447\text{ cm}^{-1}$ ,  $3327\text{ cm}^{-1}$



<sup>1</sup>, 1728, 1643 cm<sup>-1</sup>, correspondant respectivement à un hydroxyle chélaté, des hydroxyles libres, un carbonyle et à des doubles liaisons aromatiques.

Les spectres de RMN <sup>1</sup>H des composés FTBR-8 (Fig. 57) et FTBR-10 (Fig. 53) révèlent de nombreuses similitudes, suggérant que FTBR-8 serait ainsi un flavanonol.

En effet, on observe sur ce spectre :

- un singulet intégrant pour un proton à  $\delta_H$  12,00 attribuable à l'hydrogène d'un hydroxyle phénolique chélaté ;
- deux doublets à  $\delta_H$  7,31 et 6,78 intégrant pour deux protons chacun et couplant entre eux ( $J = 9,0$  Hz) sur le spectre COSY (Fig. 59), correspondant à un système AA'BB' (cycle B).
- un singulet à  $\delta_H$  6,19 (1H, s) correspondant à un proton aromatique (cycle A *penta*-substitué).
- un doublet d'un proton à  $\delta_H$  5,79 (1H, d,  $J = 6,5$  Hz), attribuable à l'hydrogène d'un hydroxyle libre, probablement celui en position 3 des flavanonols ;
- un système AB à  $\delta_H$  5,07 (1H, d,  $J = 11,5$  Hz) et à  $\delta_H$  4,62 (1H, dd,  $J = 11,5 ; 6,5$  Hz) attribuables respectivement, aux protons H-2 et H-3 d'un flavanonol (Agrawal, 1989; Mabry *et al.*, 1970) ;
- les signaux caractéristiques d'une unité isopentényle de type 3,3-diméthylallyle [ $\delta_H$  5,07 (1H, t,  $J = 6,5$  Hz) ; 3,13 (2H, d,  $J = 7,0$  Hz) ; 1,69 (3H, s) et 1,60 (3H, s)].

En revanche, comme éléments de différence nous pouvons observer :

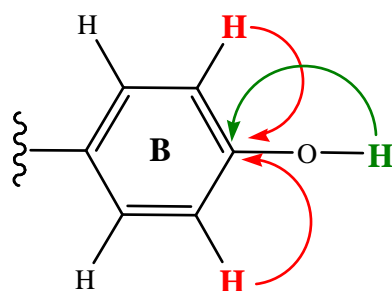
- la disparition du signal à  $\delta_H$  10,72 (sur le spectre de RMN <sup>1</sup>H du composé FTBR-10) attribuable à l'hydrogène d'un hydroxyle phénolique situé sur le carbone C-7,
- et l'apparition d'un singulet de trois protons à  $\delta_H$  3,80, attribuable à un groupement méthoxyle.

Son spectre de RMN <sup>13</sup>C complètement découplé (Fig. 58) combiné aux spectres DEPT 90 et 135, révèle la présence de vingt carbones, en accord avec la formule brute, et répartis en:

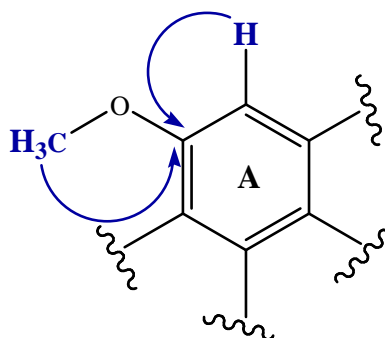
- trois méthyles dont un méthoxyle à  $\delta_C$  56,2 ;
- un méthylène à  $\delta_C$  20,6 ;
- huit méthines parmi lesquels deux oxyméthines à  $\delta_C$  71,6 et 83,0 ;
- neuf carbones quaternaires dont un carbonyle caractéristique des dihydroflavonols à  $\delta_C$  198,8.

La localisation des groupements hydroxyle, méthoxyle, et 3,3-diméthylallyle sur le squelette flavanonol a été possible suite à l'examen du spectre HMBC (Fig. 61), qui montre

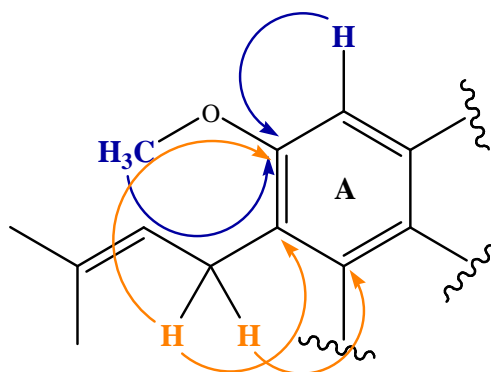
- une tache de corrélation entre le carbone à  $\delta_C$  157,7 (C-4') et les protons à  $\delta_H$  6,78 (2H, d,  $J = 9,0$  Hz ; H-3'/H-5') du cycle B et 9,54 (1H, s, OH-4').



- une tache de corrélation entre le carbone à  $\delta_C$  165,1 (C-7) et les protons H-8 [ $\delta_H$  6,20 (1H, s)] et le méthoxyle ( $\delta_H$  3,80), permettant de localiser le méthoxyle en C-7.

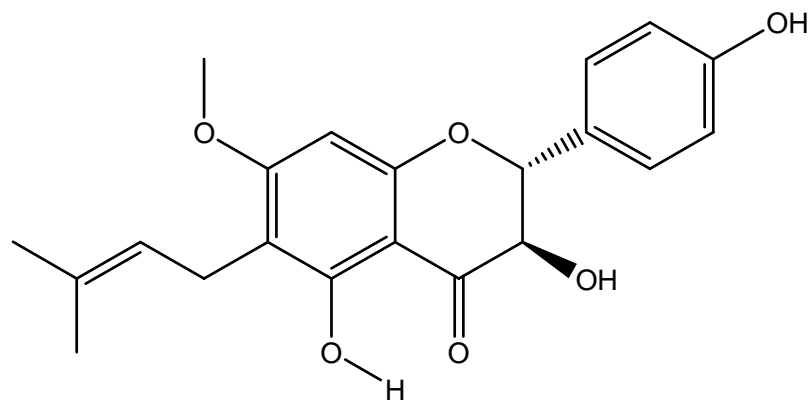


- trois taches de corrélation entre les protons du méthylène à  $\delta_H$  3,13 (2H, t,  $J = 6,5$  Hz ; H-1'') et les carbonnes C-5 ( $\delta_C$  159,0), C-6 ( $\delta_C$  108,5) et C-7 ( $\delta_C$  165,1), localisant l'unité 3,3-diméthylallyle en position 6.

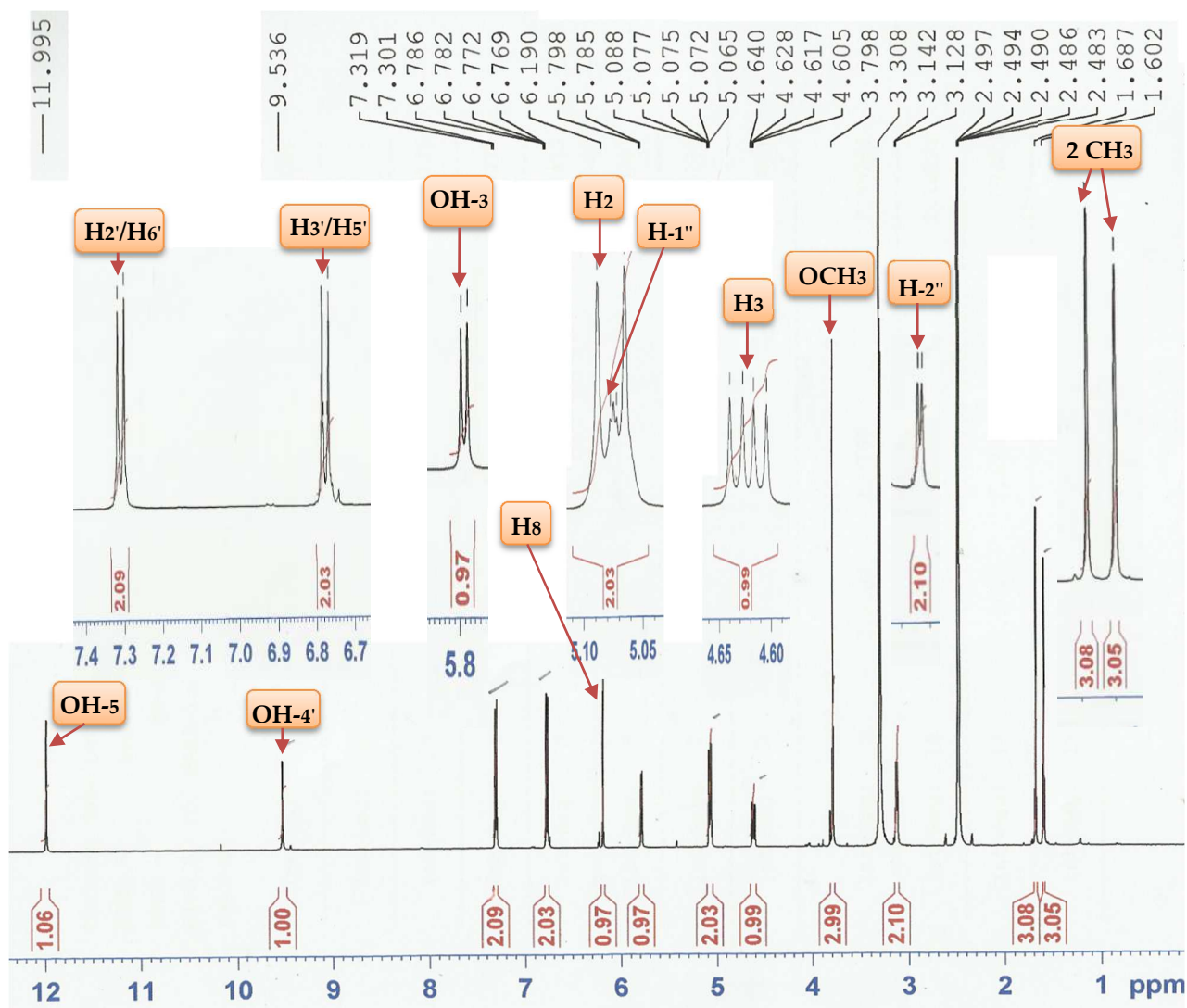


Sur la base de la grande constante de couplage des protons H-2 et H-3 ( $J = 11,5$  Hz), la configuration relative en C-2 et C-3 a été déduite comme étant *trans-diaxiale* avec une rotation optique positive [ $\alpha$ ]<sub>D</sub><sup>29</sup> + 17 (Gaffield, 1970 ; Korver et Wilkins, 1971). Quant à sa configuration absolue, elle a été obtenue de son spectre de DC, qui montre un effet Cotton positif dans la région de 336 nm et un effet Cotton négatif à 276 nm, en accord avec l'établissement de la configuration *R* en C-2 (Slade *et al.*, 2005 ; Gaffield, 1970 ; Ingham *et al.*, 1986).

Sur la base de toutes ces données, la structure du composé FTBR-8 est le (2*R*, 3*R*)-3,5,4'-trihydroxy-7-méthoxy-6-(3,3-diméthylallyl)-dihydroflavonol (**57**), dérivé nouveau de flavonoïde, auquel nous avons attribué le nom trivial thonningiol.



**57**



**Figure 57:** Spectre de RMN <sup>1</sup>H (DMSO-*d*<sub>6</sub>, 500 MHz) de FTBR-8

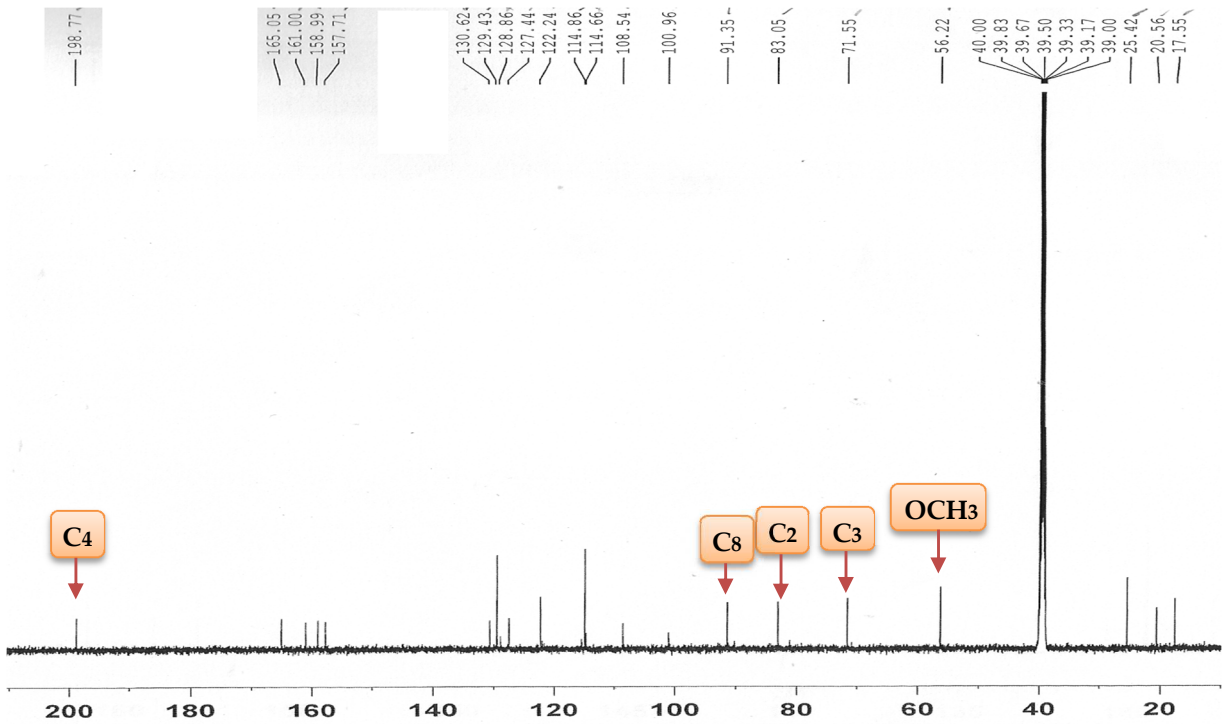


Figure 58: Spectre de RMN  $^{13}\text{C}$  (DMSO- $d_6$ , 125 MHz) de FTBR-8

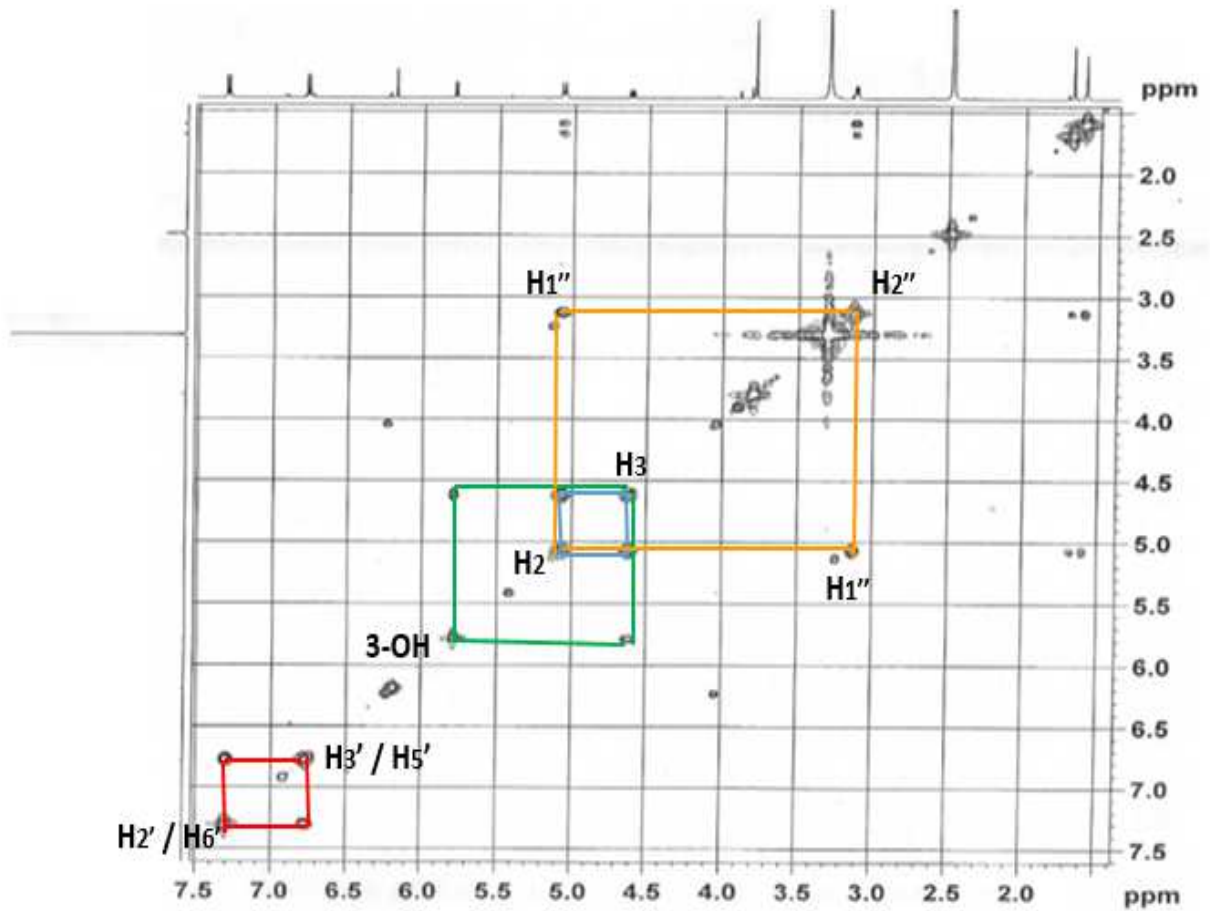


Figure 59: Spectre COSY (DMSO- $d_6$ , 500 MHz) de FTBR-8

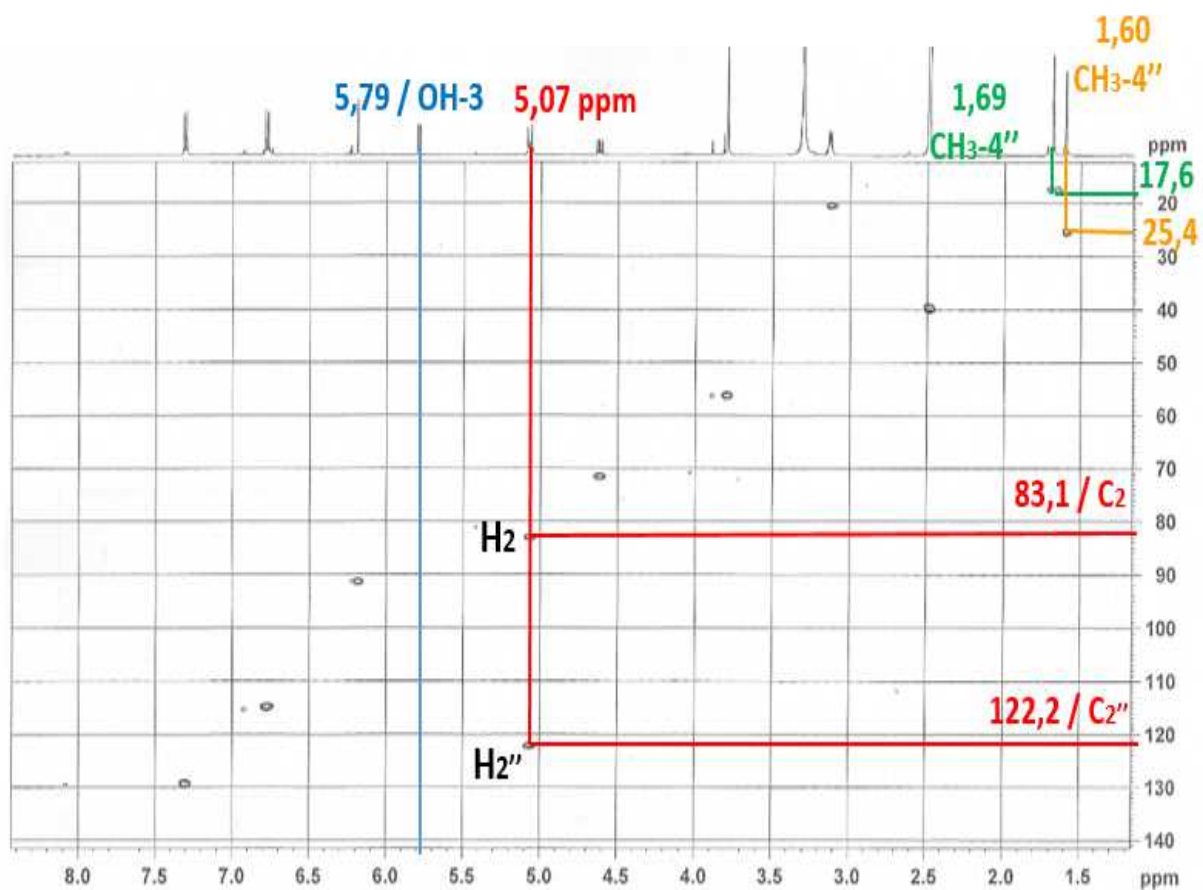


Figure 60: Spectre HSQC (DMSO-*d*<sub>6</sub>) de FTBR-8

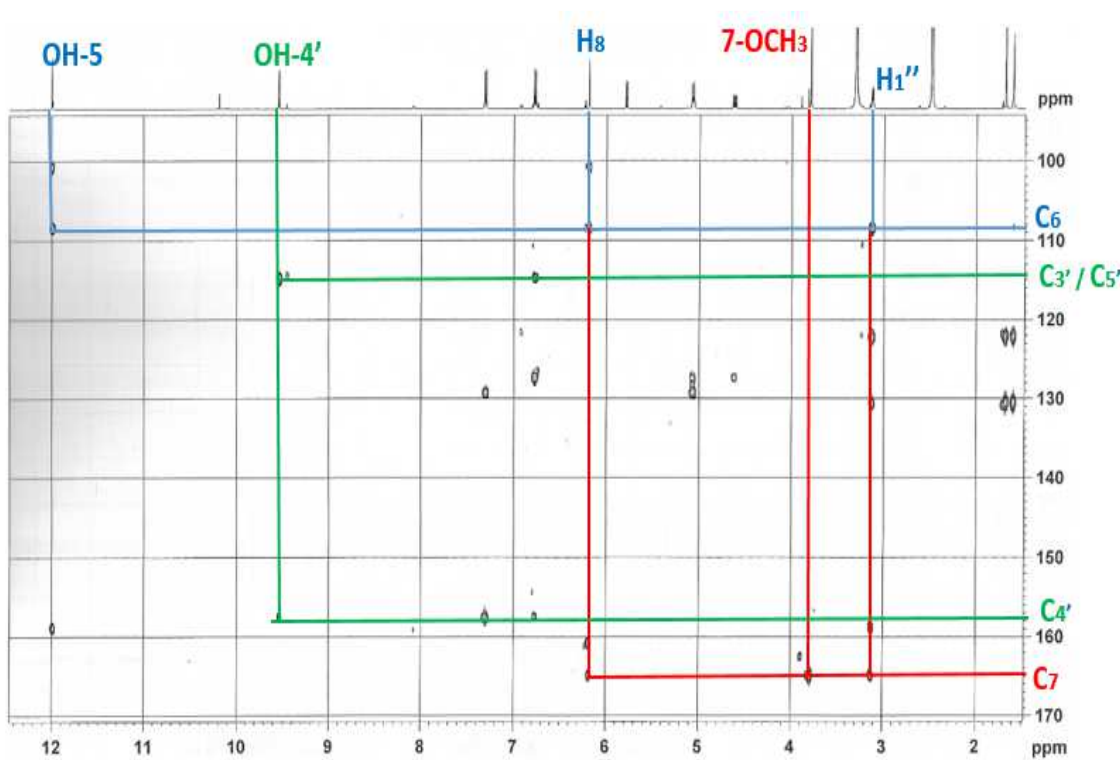


Figure 61: Spectre HMBC (DMSO-*d*<sub>6</sub>) de FTBR-8

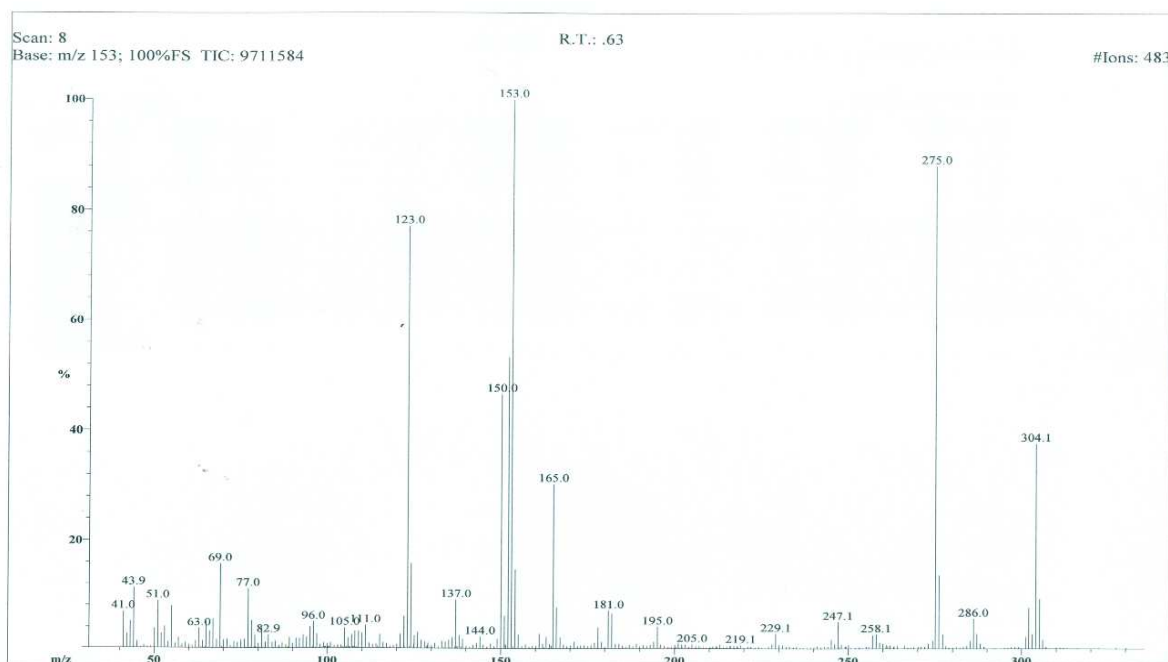
**Tableau XXVIII:** Données de RMN  $^1\text{H}$  (DMSO- $d_6$ , 500 MHz) et  $^{13}\text{C}$  (DMSO- $d_6$ , 125 MHz) du composé FTBR-8

Position	FTBR- 8	
	$\delta_{\text{H}}$ (nH, m, $J$ (Hz))	$\delta_{\text{C}}$ (m)
2	5,07 (1H, d, $J = 11,5$ Hz)	83,1 d
3	4,62 (1H, dd, $J = 11,5 ; 6,5$ Hz)	71,6 d
3-OH	5,79 (1H, d, $J = 6,5$ Hz)	
4	-	198,8 s
5-OH	12,00 (1H, s)	159,0 s
6	-	108,5 s
7	-	165,1 s
7-OCH <sub>3</sub>	3,79 (3H, s)	56,2 s
8	6,20 (1H, s)	91,4 d
9	-	161,0 s
10	-	101,0 s
1'	-	128,8 s
2'	7,31 (2H, d, $J = 9,0$ Hz)	129,4 d
3'	6,78 (2H, d, $J = 9,0$ Hz)	114,9 d
4'-OH	9,54 (1H, sl)	157,7 s
5'	6,78 (2H, d, $J = 9,0$ Hz)	114,9 d
6'	7,31 (2H, d, $J = 9,0$ Hz)	129,4 d
1''	3,13 (2H, t, $J = 6,5$ Hz)	20,6 t
2''	5,07 (1H, t, $J = 7,0$ Hz)	122,2 d
3''	-	130,6 s
4''	1,69 (3H, s)	17,6 q
5''	1,60 (3H, s)	25,4 q

#### II.1.2.2.1.13- Identification de FTF-41-5, Dihydroquercétine

Soluble dans le méthanol, ce composé a été isolé à la fois des figues et des racines de *F. thonningii*, sous forme de poudre amorphe jaune dans le mélange hexane-acétate d'éthyle (1 : 1). Il répond positivement au test au chlorure ferrique caractéristique des phénols et au test de Shinoda, caractéristique des flavonoïdes (Bruneton, 1993).

Sa formule brute  $C_{15}H_{12}O_7$ , renfermant dix degrés d'insaturation, a été déduite de son spectre de masse en impact électronique (Fig. 62), sur lequel apparaît le pic de l'ion moléculaire  $[M]^+$  à  $m/z$  304,1 dont l'analyse haute résolution pour le pic à  $m/z$  304,0686 lui attribue la formule brute  $C_{15}H_{12}O_7$  (calc.  $m/z$  304,2713 pour  $C_{15}H_{12}O_7$ ). Cette formule brute, comparée à celle du composé FTBR-9 ((+)-Aromadendrine,  $C_{15}H_{12}O_6$ ), montre que ce dernier possède un atome d'oxygène en plus.

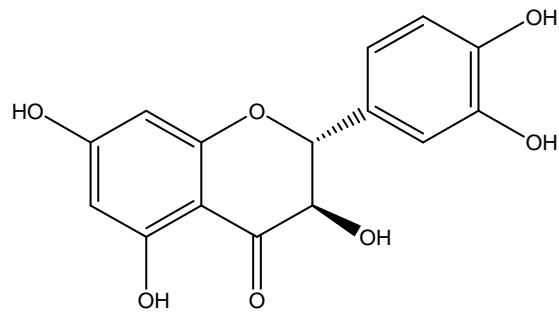


**Figure 62:** Spectre de masse en Impact Electronique de FTF-41-5

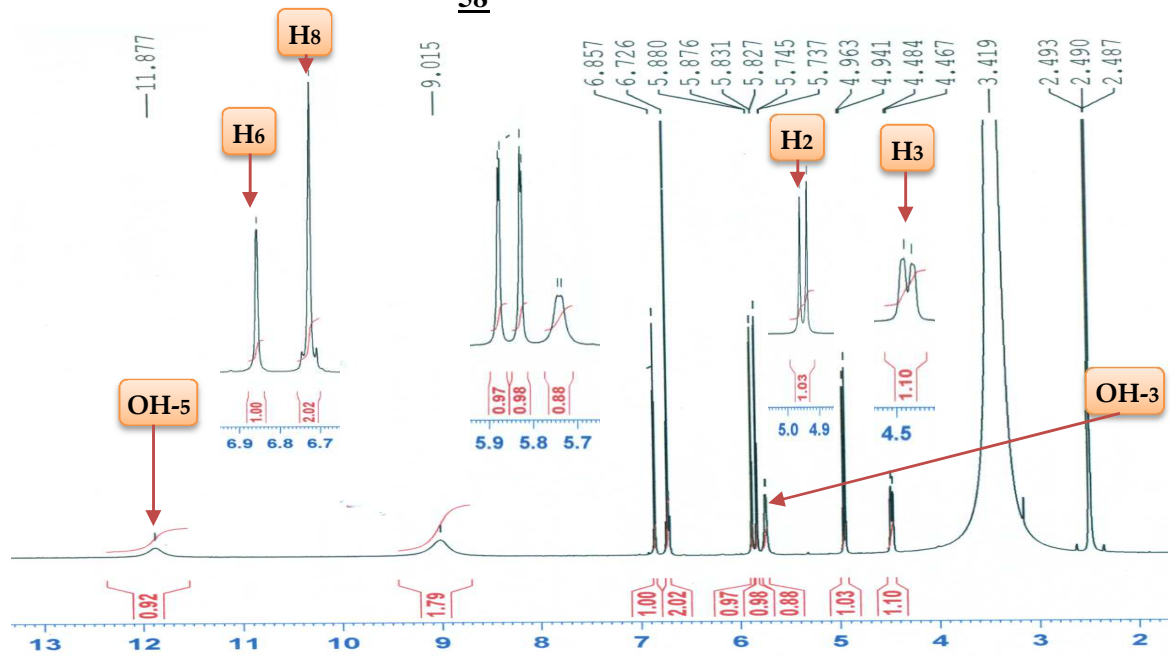
Une étude comparative de leurs spectres de RMN  $^1H$  permet de déceler de nombreuses similitudes ayant trait à la présence d'un squelette de flavonoïde de type dihydroflavanol. Toutefois, on note sur le spectre de RMN  $^1H$  de FTF-41-5 la disparition des signaux du système  $A_2B_2$  para-substitué (deux doublets de deux protons chacun) à  $\delta_H$  7,30 (2H, d,  $J = 8,5$  Hz) et 6,77 (2H, d,  $J = 8,5$  Hz) attribuable au cycle B 4'-hydroxyl-para-disubstitué ; et l'apparition dans la zone des protons aromatiques, de trois singulets d'un proton chacun à  $\delta_H$  6,86(1H, s), 6,73(1H, s), et 6,73 (1H, s), caractéristique d'un système ABX.

L'analyse des spectres de RMN  $^{13}C$  (Fig. 64) complètement découplé, HSQC et DEPT (90 et 135) permet de mettre en évidence la présence de quinze signaux dont huit quaternaires et sept méthines.

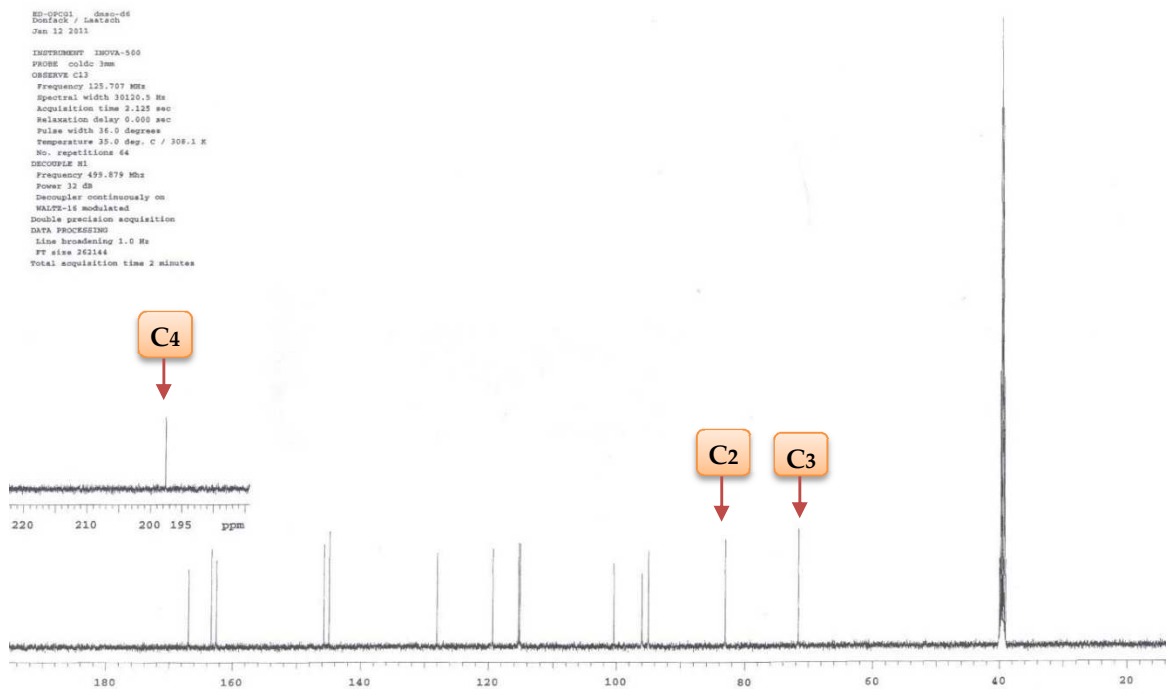
L'ensemble de toutes ces données spectrales, comparées à celles décrites dans la littérature, a permis d'attribuer au composé FTF-41-5, la structure **58**, qui est celle de la (2R,3R)-3,3',4',5,7-pentahydroxyflavanone ou dihydroquercétine, plus connue sous le nom de (+) taxifoline (Braune *et al.*, 2001 ; Gaggeri *et al.*, 2012 ; Lee *et al.*, 2011).



**58**



**Figure 63:** Spectre de RMN  $^1\text{H}$  (500 MHz,  $\text{DMSO-}d_6$ ) de FTF-41-5



**Figure 64:** Spectre de RMN  $^{13}\text{C}$  (125 MHz,  $\text{DMSO-}d_6$ ) de FTF-41-5



**Tableau XXIX:** Données de RMN  $^1\text{H}$  (DMSO- $d_6$ , 500 MHz) et  $^{13}\text{C}$  (DMSO- $d_6$ , 125 MHz) de FTF-41-5 et de la (+)-dihydroquercétine ( $\text{CD}_3\text{OD}$ , 600 MHz) (Lee *et al.*, 2011)

Position	FTF-41-5		(+) -Dihydroquercétine	
	$\delta_{\text{H}}$ (m, $J$ (Hz))	$\delta_{\text{C}}$ (m)	$\delta_{\text{H}}$ (m, $J$ (Hz))	$\delta_{\text{C}}$ (m)
2	4,95 (1H, d, $J = 11,0$ Hz)	83,0 d	4,90 (1H, d, $J = 11,4$ Hz)	84,1 d
3	4,48 (1H, dl, $J = 8,5$ Hz)	71,5 d	4,49 (1H, d, $J = 11,4$ Hz)	73,7 d
3-OH	5,74 (1H, d, $J = 4,0$ Hz)			
4	-	197,7 s	-	198,4 s
5-OH	11,88 (1H, s)	163,4 s	-	165,3 s
6	5,88 (1H, d, $J = 2,0$ Hz)	96,0 d	5,91 (1H, d, $J = 2,4$ Hz)	96,3 d
7-OH	9,02 (1H, sl)	167,0 s	-	168,8 s
8	5,83 (1H, d, $J = 2,0$ Hz)	95,1 d	5,88 (1H, d, $J = 2,4$ Hz)	96,3 d
9	-	162,5 s	-	164,5 s
10	-	100,4 s	-	101,8 s
1'	-	128,1 s	-	129,9 s
2'	6,73 (1H, sl)	115,4 d	6,84 (1H, dd, $J = 8,4; 1,8$ Hz)	116,1 d
3'-OH	9,02 (1H, sl)	144,9 s	-	146,3 s
4'-OH	9,02 (1H, sl)	145,8 s	-	147,2 s
5'	6,86 (1H, sl)	115,1 d	6,79 (1H, d, $J = 8,4$ Hz)	115,9 d
6'	6,73 (1H, sl)	119,3 d	6,95 (1H, d, $J = 1,8$ Hz)	120,9 d

## II.1.2.2.2- Les triterpènes

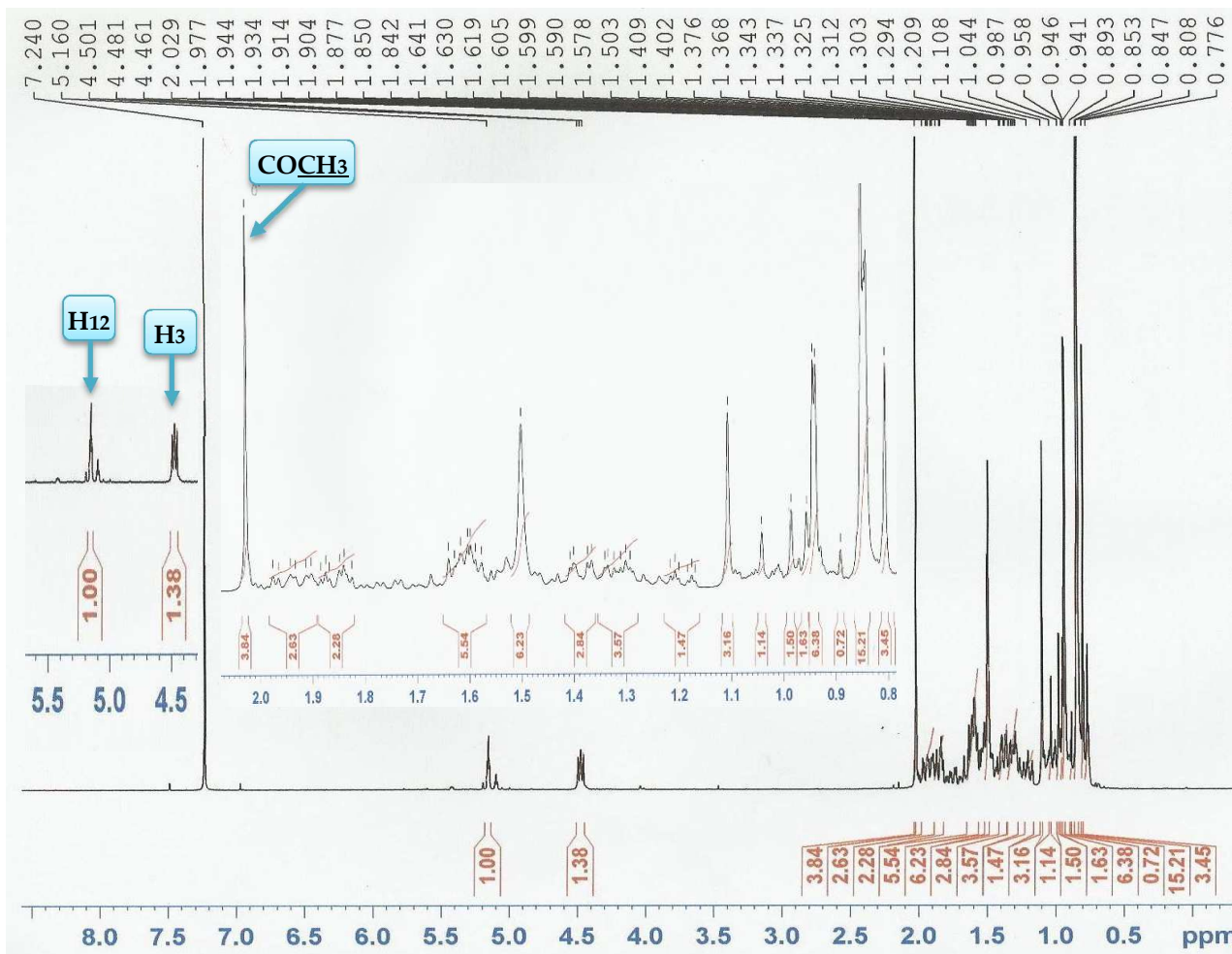
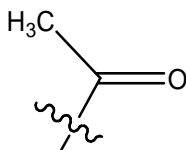
### II.1.2.2.2.1- Identification de FTF-6, Acétate de $\beta$ -amyrine

Obtenu sous forme de fines particules blanche dans le mélange Hex/AE (49 : 01), ce composé est soluble dans le dichlorométhane et fond entre 262 et 263 °C. Il répond positivement au test de Libermann-Burchard (coloration rouge violacé), caractéristique des triterpènes.

Son spectre de masse en impact électronique présente le pic de l'ion moléculaire à  $m/z$  468,1 dont l'analyse à haute résolution du pic à  $m/z$  468,07211 permet de lui attribuer la formule brute  $\text{C}_{32}\text{H}_{52}\text{O}_2$  renfermant sept insaturations.

Sur son spectre de RMN  $^1\text{H}$  (Fig. 65), outre le triplet d'un proton à 5,16 ppm (1H, t,  $J = 3,6$  Hz), correspondant au proton vinylique H-12, on observe un autre triplet intégrant pour un proton à  $\delta_{\text{H}}$  4,48 ( $J = 8,0$  Hz ; H-3), attribuable à un proton situé en alpha d'un hétéroatome

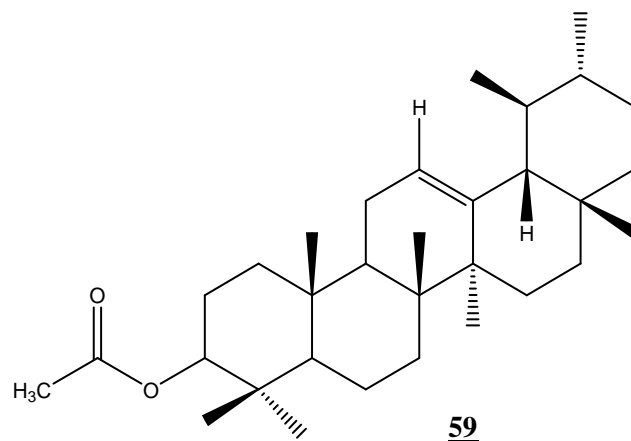
(oxygène, porté par le carbone C-3). On observe également un singulet de trois protons à  $\delta_H$  2,03 (3H, s), caractéristique d'un groupement acétyle.



**Figure 65:** Spectre de RMN  $^1\text{H}$  ( $\text{CDCl}_3$ , 500 MHz) de FTF-6

On observe aussi entre 1,95 – 1,10 ppm des signaux dus aux protons des méthylènes. Entre 1,05 – 0,80 ppm apparaissent les signaux de 08 groupements méthyles à  $\delta_H$  1,11 (3H, s,  $\text{CH}_3$ -27) ; 0,95 (3H, s,  $\text{CH}_3$ -25) ; 0,94 (3H, s,  $\text{CH}_3$ -26) ; 0,85 (6H, s,  $\text{CH}_3$ -23 /  $\text{CH}_3$ -24) ; 0,84 (6H, s,  $\text{CH}_3$ -29 /  $\text{CH}_3$ -30) et 0,81 (3H, s,  $\text{CH}_3$ -28).

Toutes ces données, en accord avec celles décrites dans la littérature permettent d'assigner au composé FTF-6 la structure **59** qui est celle de l' $\alpha$ -acétylamyrine ou acétate de  $\beta$ -amyrine (Du *et al.*, 2003).



#### II.1.2.2.2- Identification de FTF-7A, Friedéline

Le composé FTF- 7A a été obtenu sous forme d'aiguilles blanches dans le système Hex/AE (49 : 01). Il est soluble dans le chlorure de méthylène et fond entre 258,7 et 260,0 °C. Il répond positivement au test de Liebermann-Burchard en donnant une coloration rouge violacé caractéristique des triterpènes.

Sur son spectre de masse en impact électronique, on observe le pic de l'ion moléculaire  $[M]^+$  à  $m/z$  426,3. Les données de ce spectre, combinées à celles de RMN  $^1H$  et  $^{13}C$  permettent d'attribuer à FTF-7A la formule brute  $C_{30}H_{50}O$ , comportant six insaturations.

Son spectre de RMN  $^1H$  réalisé dans  $CDCl_3$  (Fig. 66) fait ressortir huit signaux de méthyles entre  $\delta_H$  0,70 et 1,16 dont celui d'un doublet à  $\delta_H$  0,86 ( $J = 6,5$  Hz), qui fait penser au méthyle 23 des triterpènes pentacycliques de la série friedelane; Cette assertion est renforcée par la présence d'un carré parfait sur le spectre COSY (Fig. 67) entre le signal d'un doublet de trois protons à  $\delta_H$  0,86 (3H, d,  $J = 6,5$  Hz ;  $CH_3$ -23) et celui d'un quadruplet d'un proton à  $\delta_H$  2,23 (1H; q;  $J = 6,5$  Hz, H-4).

On observe entre 1,18 et 2,40 ppm des signaux attribuables à des méthylènes, dont celui à  $\delta_H$  2,37 (1H, dq,  $J = 8,5 ; 3,5$  Hz) attribuable au proton H-2a. Un multiplet intégrant pour un proton à  $\delta_H$  2,28 attribuable au proton H-2b.

L'analyse de son spectre de RMN  $^{13}C$  (Fig. 68) couplé aux spectres DEPT 90 et 135 fait ressortir trente signaux de carbone regroupés en :

- sept carbones quaternaires dont un carbonyle de cétone à  $\delta_C$  213,3 ;
- quatre méthines tous hybridés  $sp^3$  ;
- onze méthylènes tous hybridés  $sp^3$  ;
- huit méthyles dont celui à  $\delta_C$  6,8 (caractéristique du méthyle 23 de la série friedelane (Mahato et Kundu, 1994)).

Toutes ces données comparées à celles de la littérature permettent d'attribuer à FTF- 7A la structure (**60**), qui est celle de la friedéline, (Klass *et al.*, 1992 ; Sousa *et al.*, 2012).

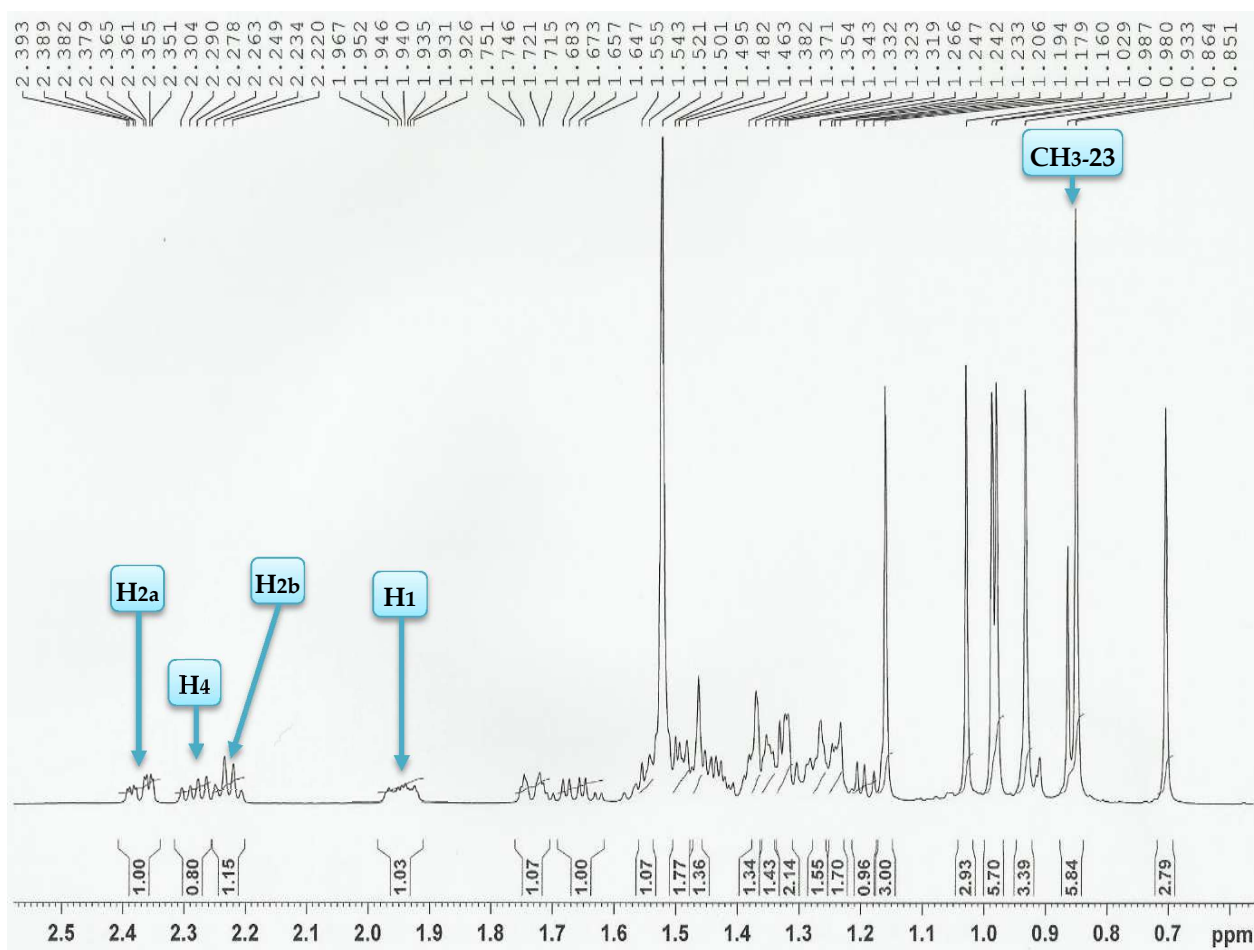
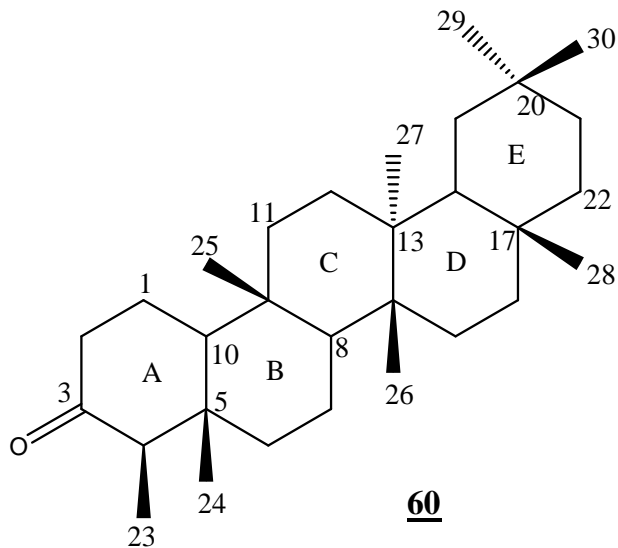


Figure 66: Spectre de RMN <sup>1</sup>H (CDCl<sub>3</sub>, 500 MHz) de FTF-7A



Figure 67: Spectre COSY ( $\text{CDCl}_3$ , 500 MHz) de FTF-7A

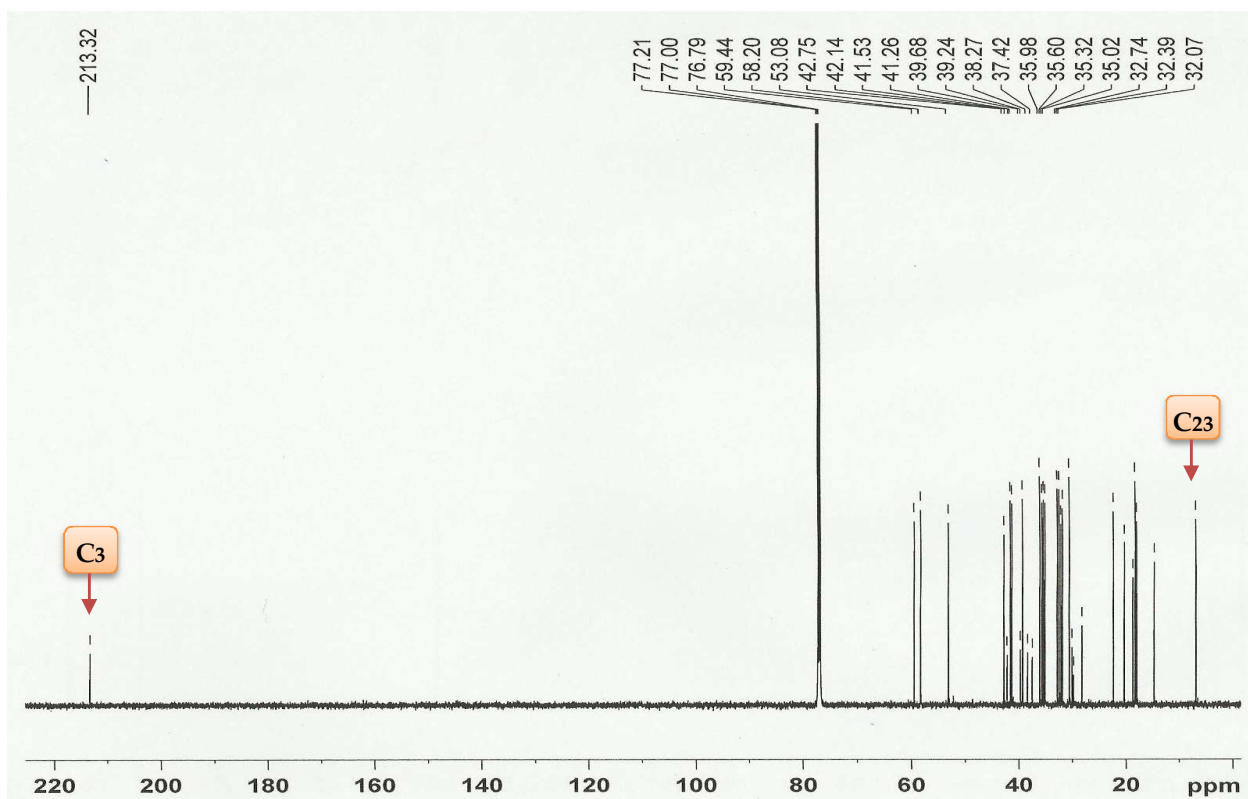


Figure 68: Spectre de RMN  $^{13}\text{C}$  ( $\text{CDCl}_3$ , 125 MHz) de FTF-7A

**Tableau XXX:** Données de RMN  $^1\text{H}$  ( $\text{CDCl}_3$ , 500 MHz) et  $^{13}\text{C}$  ( $\text{CDCl}_3$ , 125 MHz) de FTF-7A et de la friedéline ( $\text{CDCl}_3$ , 400 MHz) (Sousa *et al.*, 2012)

Position	FTF-7A		Friedéline	
	$\delta_{\text{H}}$ (m, $J$ (Hz))	$\delta_{\text{C}}$ (m)	$\delta_{\text{H}}$ (m, $J$ (Hz))	$\delta_{\text{C}}$ (m)
1	1,94 (1H, m) / 1,66 (1H, m)	22,3 t	1,90 (1H, m) / 1,65 (1H, m)	22,3 t
2a	2,37 (1H, dq, $J = 8,5 ; 3,5$ Hz)	41,5 t	2,38 (1H, d, $J = 7,4$ Hz)	41,5 t
2b	2,36 (1H, m)		2,22 (1H, m)	
3	-	213,3 s	-	212,9 s
4	2,23 (1H, q, $J = 6,5$ Hz)	58,2 d	2,18 (1H, q, $J = 6,5$ Hz)	58,3 d
5	-	42,1 s	-	42,8 s
6	1,75 (1H, m) / 1,19 (1H, m)	41,3 t	1,66 (1H, m) / 1,21 (1H, m)	41,3 t
7	1,46 (1H, m) / 1,32 (1H, m)	18,2 t	1,45 (1H, m) / 1,35 (1H, m)	18,3 t
8	1,32 (1H, m)	53,1 d	1,35 (1H, m)	52,9 d
9	-	37,4 s	-	37,5 s
10	1,50 (1H, m)	59,4 d	1,48 (1H, m)	59,5 d
11	1,37 (1H, m) / 1,20 (1H, m)	35,6 t	1,38 (1H, m) / 1,19 (1H, m)	35,7 t
12	1,27 (1H, m) / 1,26 (1H, m)	30,5 t	1,31 (1H, m) / 1,24 (1H, m)	30,5 t
13	-	39,7 s	-	39,7 s
14	-	38,3 s	-	38,3 s
15	1,24 (1H, m) / 1,46 (1H, m)	32,7 t	1,49 (1H, m) / 1,27 (1H, m)	32,4 t
16	1,50 (1H, m) / 1,25 (1H, m)	36,0 t	1,50 (1H, m) / 1,28 (1H, m)	36,0 t
17	-	30,0 s	-	30,0 s
18	1,56 (1H, m)	42,8 d	1,51 (1H, m)	42,9 d
19	1,33 (1H, m) / 1,18 (1H, m)	35,3 t	1,31 (1H, m) / 1,14 (1H, m)	35,3 t
20	-	28,1 s	-	28,2 s
21	1,46 (1H, m) / 1,33 (1H, m)	32,4 t	1,42 (1H, m) / 1,37 (1H, m)	32,7 t
22	1,44 (1H, m) / 0,93 (1H, m)	39,2 t	1,41 (1H, m) / 0,90 (1H, m)	39,2 t
23	0,86 (3H, d, $J = 6,5$ Hz)	6,8 q	0,88 (3H, d, $J = 6,6$ Hz)	6,8 q
24	0,71 (3H, s)	14,7 q	0,72 (3H, s)	14,7 q
25	0,85 (3H, s)	14,9 q	0,87 (3H, s)	17,9 q
26	0,93 (3H, s)	20,3 q	1,01 (3H, s)	20,2 q
27	1,03 (3H, s)	18,7 q	1,05 (3H, s)	18,7 q

28	1,16 (3H, s)	35,3 q	1,18 (3H, s)	31,9 q
29	0,98 (3H, s)	32,1 q	0,95 (3H, s)	35,0 q
30	0,99 (3H, s)	31,8 q	1,00 (3H, s)	31,7 q

### II.1.2.2.3- Identification de FTF-18, Acétate de lupéol

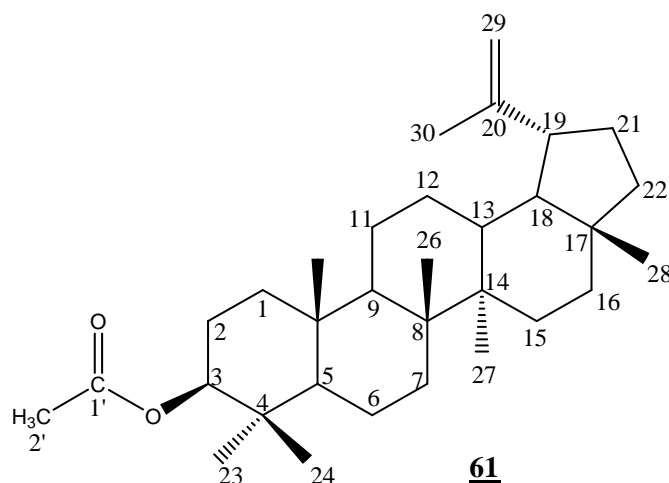
Le composé FTF-18 a été obtenu sous forme de paillettes blanches dans le mélange Hex/AE (19 : 1) et purifié dans le mélange hexane - diéther (49 : 01). Il est soluble dans le chlorure de méthylène et répond positivement au test de Libermann-Burchard, caractéristique des triterpènes.

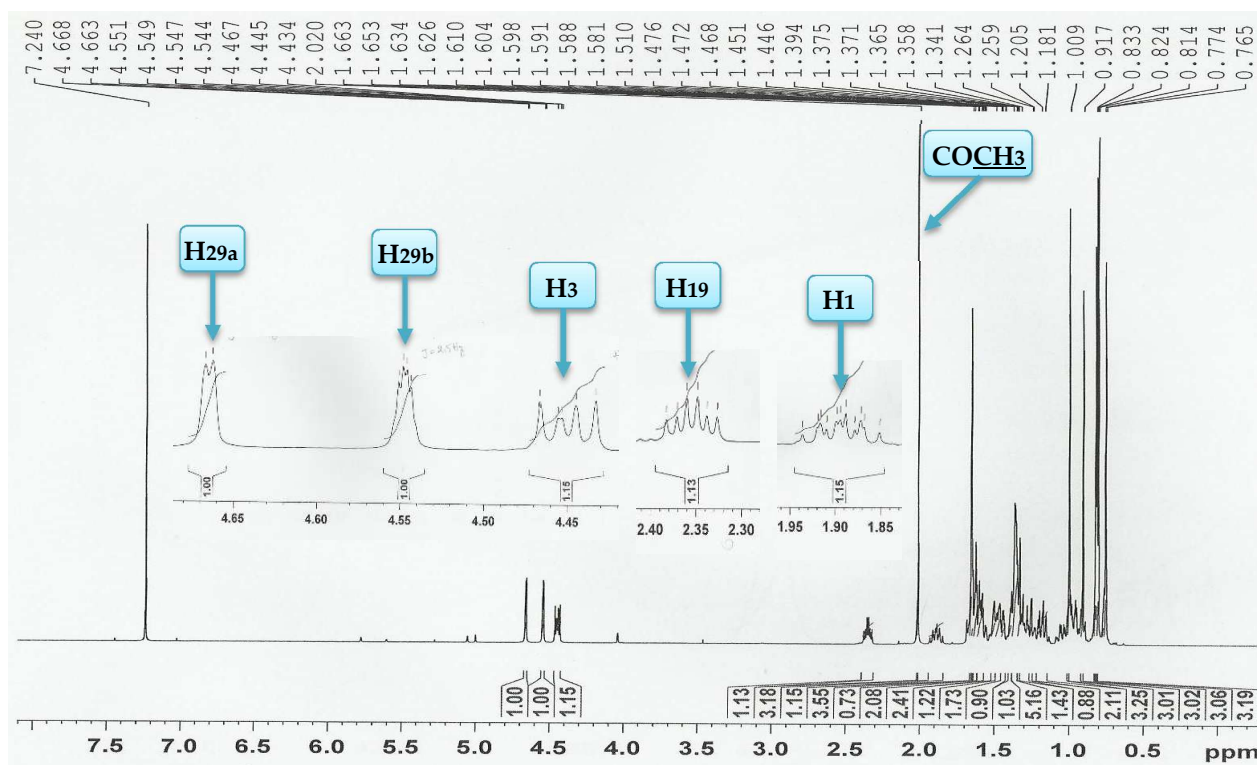
Son spectre de masse en impact électronique à haute résolution montre le pic de l'ion moléculaire  $[M]^+$  à  $m/z$  468,3748, compatible avec la formule brute  $C_{32}H_{52}O_2$ , comportant sept insaturations.

Sur son spectre de RMN  $^1H$  (Fig. 69), on observe deux signaux de protons oléfiniques intégrant pour un proton chacun à  $\delta_H$  4,67 (1H, dl,  $J = 2,5$  Hz) et 4,55 (1H, dl,  $J = 2,5$  Hz) caractéristiques d'un groupe isoprényle terminal, et attribuables aux protons H-29a et H-29b de la double liaison en 29 des triterpènes de la série lup-20(29)-ène (Jamal *et al.*, 2008).

On observe également sur ce spectre un doublet dédoublé d'un proton à  $\delta_H$  4,45 (1H, dd,  $J = 10,1 ; 5,5$  Hz), attribuable au proton de l'oxyméthine H-3, un multiplet d'un proton à  $\delta_H$  2,34 caractéristique du proton H-19, un singulet de trois protons à  $\delta_H$  2,02 (3H, s), attribuable à un groupement acétyle, et la présence de sept groupements méthyles à  $\delta_H$  1,66 (3H, s, CH<sub>3</sub>-30), 1,01 (3H, s, CH<sub>3</sub>-25), 0,92 (3H, s, CH<sub>3</sub>-28), 0,83 (3H, s, CH<sub>3</sub>-23), 0,82 (3H, s, CH<sub>3</sub>-24), 0,81 (3H, s, CH<sub>3</sub>-26) et 0,77 (3H, s, CH<sub>3</sub>-27).

Ces informations, comparées à celles de la littérature (Jamal *et al.*, 2008 ; Lee *et al.*, 2001), permettent d'attribuer à FTF-18 la structure (**61**), qui est celle de l'acétate de lupéol.





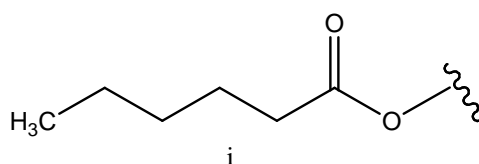
**Figure 69:** Spectre de RMN  $^1\text{H}$  ( $\text{CDCl}_3$ , 500 MHz) de FTF-18

#### II.1.2.2.4- Identification de FTF-17, Hexanoate de lupéol

Le composé FTF-17 a été obtenu sous forme de paillettes blanches dans le mélange Hex/AE (49 : 01). Il est soluble dans le chlorure de méthylène et répond positivement au test de Libermann-Burchard, caractéristique des triterpènes.

Son spectre de masse en impact électronique à haute résolution montre le pic de l'ion moléculaire  $[\text{M}]^+$  à  $m/z$  524,4602, compatible avec la formule brute  $\text{C}_{36}\text{H}_{60}\text{O}_2$ , comportant sept insaturations. Cette formule montre une différence de 56 u.m.a, soit  $\text{C}_4\text{H}_8$  (4  $\text{CH}_2$ ) avec la formule brute de l'acétate de lupéol décrite précédemment.

Sur son spectre de RMN  $^1\text{H}$  (Fig. 70), on observe entre 1,40 – 1,20 ppm des signaux d'une longue chaîne de méthylène. Un triplet intégrant pour deux protons à 2,27 ppm (2H, t,  $J = 7,5$  Hz), attribuable à un méthylène voisin d'un autre et lui-même lié à un groupement carbonyle (vu la valeur du déplacement chimique). On a également un triplet de trois protons à  $\delta_{\text{H}}$  0,87 (3H, t,  $J = 7,0$  Hz) que l'on attribuerait à un méthyle voisin d'un méthylène. Ces informations plaident à la faveur de la sous-structure i.





Les autres signaux sont identiques à ceux de l'acétate de lupéol. On peut alors à ce stade de la description, conclure que le groupement acétyle a été remplacé par le groupement hexanoate (sous-structure i).

Ces informations, comparées à celles de la littérature (Brum *et al.*, 1998 ; Fotié *et al.*, 2006), permettent d'attribuer à FTF-17, la structure (62) qui est celle de l'hexanoate de lupéol.

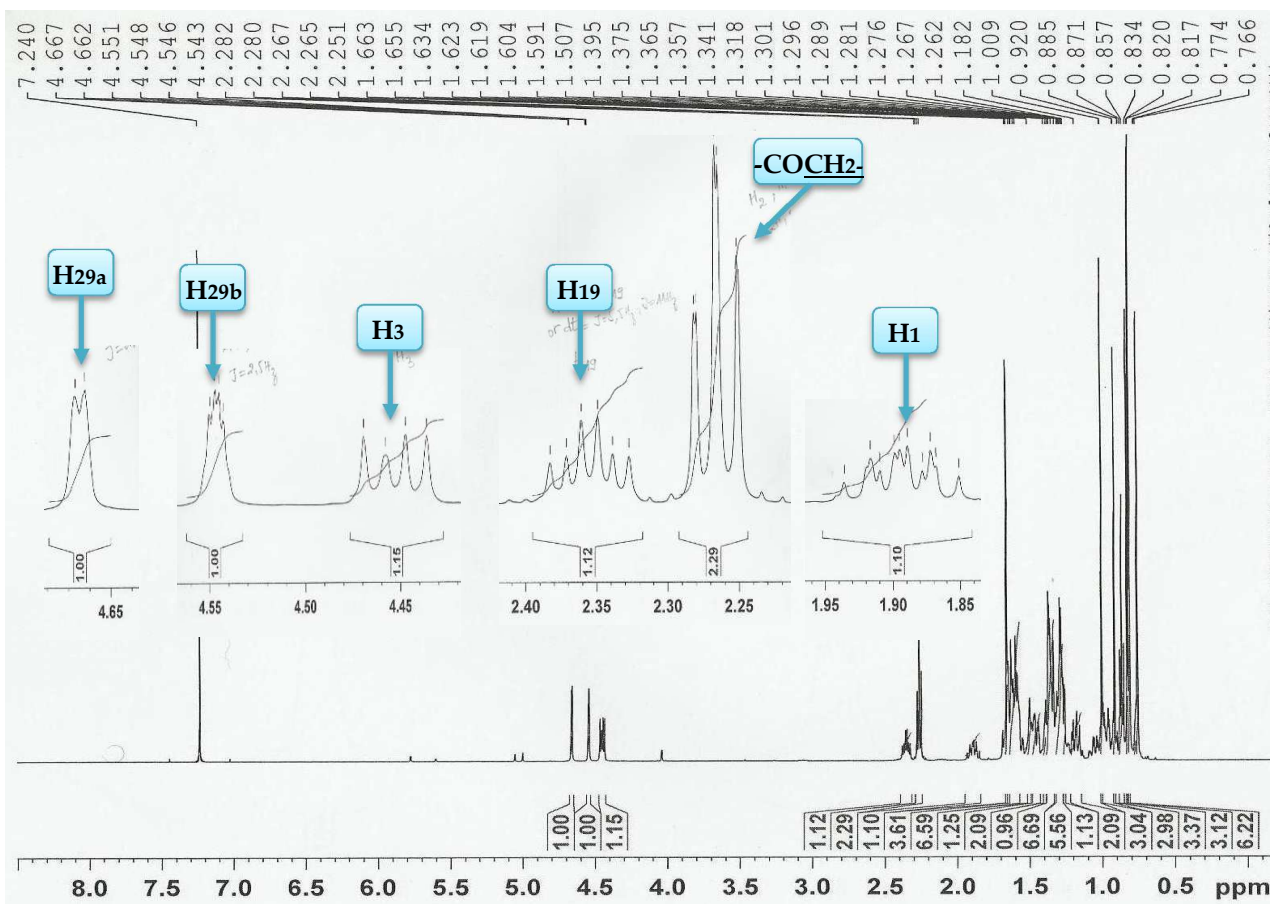
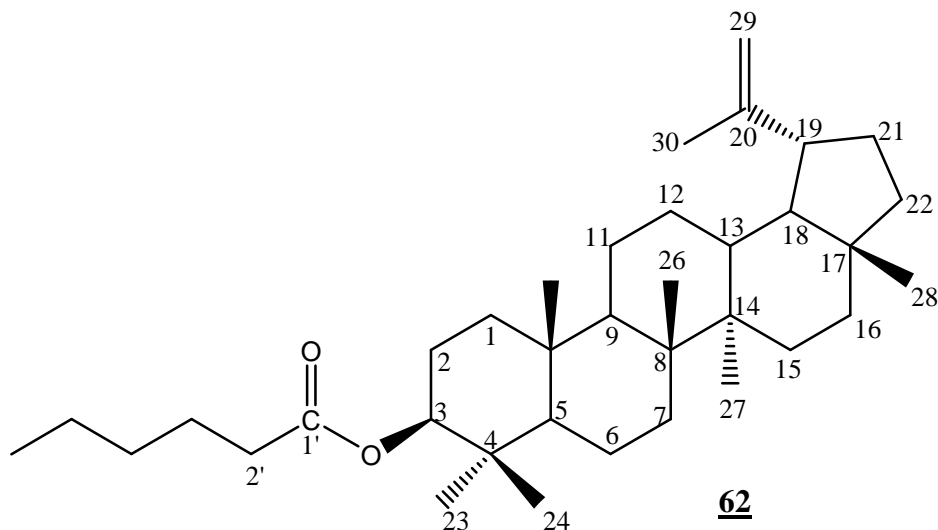


Figure 70: Spectre de RMN  $^1\text{H}$  ( $\text{CDCl}_3$ , 500 MHz) de FTF-17

### II.1.2.2.3- Un monoterpène : identification de FTBR-3, *p*-menthane-3,6-diol

Le composé FTBR-3 a été obtenu sous forme d'huile incolore après évaporation du solvant [mélange Hex/A.E (4 : 1)]. Il est soluble dans le méthanol. Son spectre de masse à haute résolution en impact électronique présente l'ion moléculaire  $[M]^+$  à  $m/z$  170,0590 dont l'analyse haute résolution lui attribue la formule brute  $C_{10}H_{18}O_2$  (calculée  $m/z$  170,1307 pour  $C_{10}H_{18}O_2$ ). On observe aussi sur ce spectre, des pics importants à  $m/z$  169.1 ( $[M-H]^+$ ),  $m/z$  153 ( $[M-OH]^+$ ),  $m/z$  127 ( $[M-isopropyl]^+$ ),  $m/z$  109 ( $[M-H_2O-isopropyl]^+$ ). Le spectre IR présente une bande d'adsorption caractéristique des hydroxyles libres à  $3420\text{ cm}^{-1}$ .

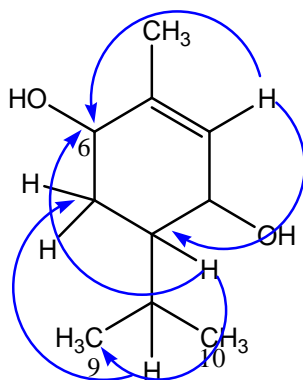
L'analyse des spectres de RMN  $^1H$  (Fig. 71) et COSY (Fig. 72) de FTBR-3 fait ressortir :

- un triplet large intégrant pour un proton  $\delta_H$  5,46 (1H, tl,  $J = 1,5\text{ Hz}$ ), attribuable à un proton vinylique établissant un couplage à longue distance ( $^3J$ ) avec un triplet de trois protons à  $\delta_H$  1,76 (3H, t,  $J = 1,5\text{ Hz}$ ) ;
- un doublet large d'un proton à  $\delta_H$  3,84 ( $J = 9,0\text{ Hz}$ ) et un singulet large d'un proton à  $\delta_H$  3,91 (1H, sl) attribuables tous deux à des protons liés à des oxyméthines hybridés  $sp^3$  ;
- un doublet de triplet d'un proton à  $\delta_H$  1,72 ( $J = 13,5 ; 2,5\text{ Hz}$ ) et un triplet de doublet d'un proton à  $\delta_H$  1,38 ( $J = 13,5 ; 4,0\text{ Hz}$ ), attribuables à deux protons énantiotopiques ;
- deux multiplet d'un proton chacun à  $\delta_H$  2,10 et 1,59 ;

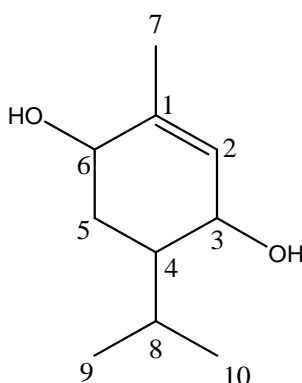
L'analyse de son spectre de RMN  $^{13}C$  (Fig. 73), couplé aux spectres DEPT (90 et 135), révèle la présence de dix carbones répartis en :

- un carbone quaternaire à  $\delta_C$  137,4 attribuable à un carbone hybridé  $sp^2$  ;
- cinq méthines répartis en deux oxyméthines ( $\delta_C$  68,4 et 70,0), un méthine vinylique à  $\delta_C$  131,0 et deux méthines  $sp^3$  ( $\delta_C$  42,8 et 27,0) ;
- un méthylène ( $\delta_C$  30,9) ;
- trois méthyles à  $\delta_C$  21,4 ; 20,8 et 17,1.

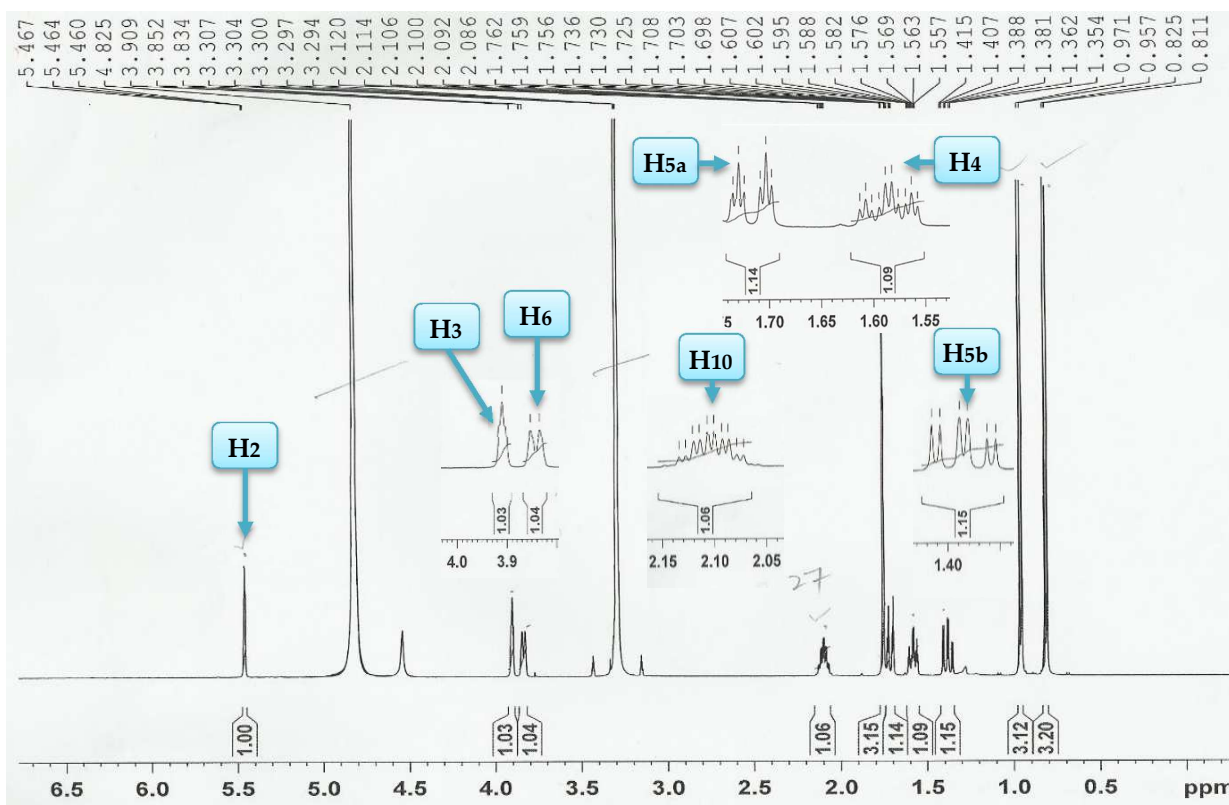
Ces données montrent que FTBR-3 est un monoterpène dérivé du menthane et possédant deux groupements hydroxyles. La position de ces groupements hydroxyles a été déterminée grâce aux corrélations observées sur le spectre HMBC entre les protons des oxyméthines et les carbones qui leur sont voisins.



L'ensemble de ces données spectrales, comparées à celles de la littérature, permettent d'attribuer à FTBR-3 la structure (**63**), qui est celle de la *p*-menthane-3,6-diol (Zellagui *et al.*, 2011 ).



**63**



**Figure 71:** Spectre de RMN  $^1\text{H}$  ( $\text{CDCl}_3$ , 500 MHz) de FTBR-3

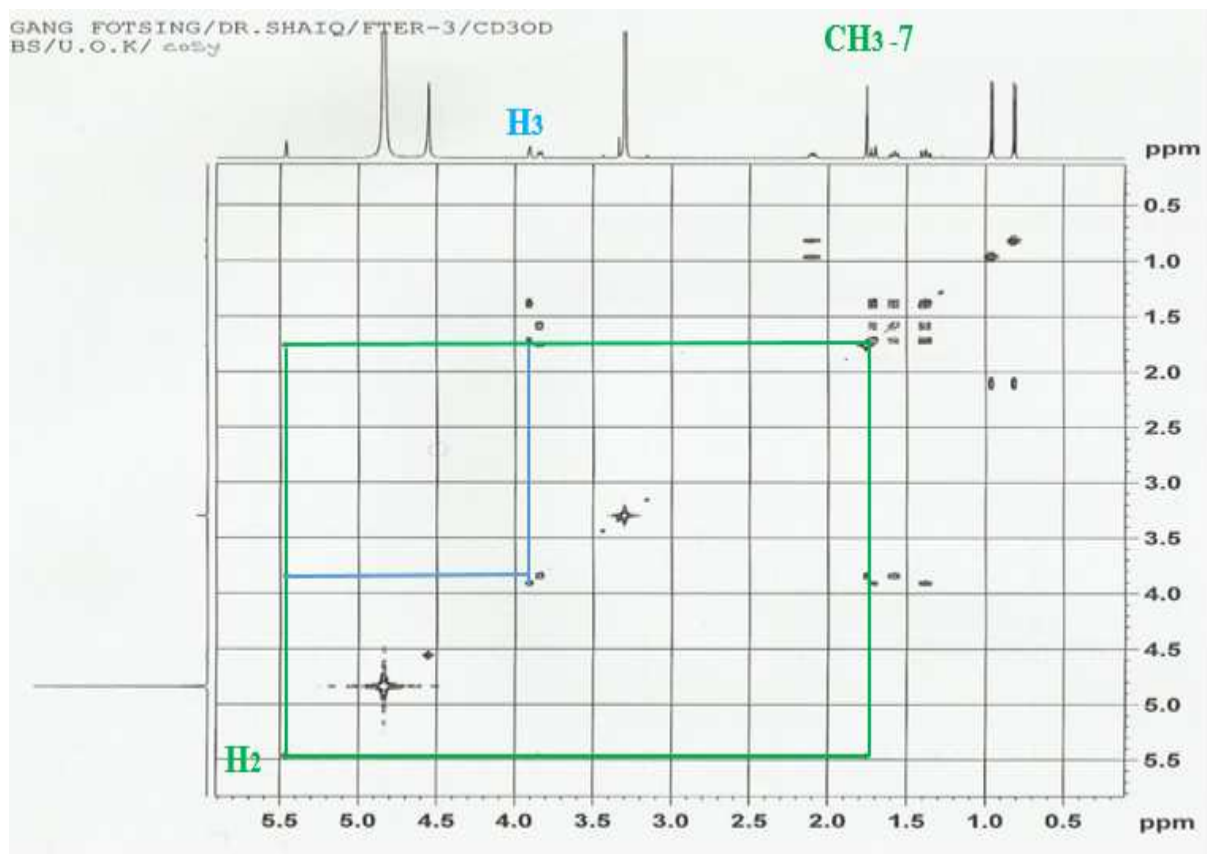


Figure 72: Spectre COSY (CDCl<sub>3</sub>, 500 MHz) de FTBR-3

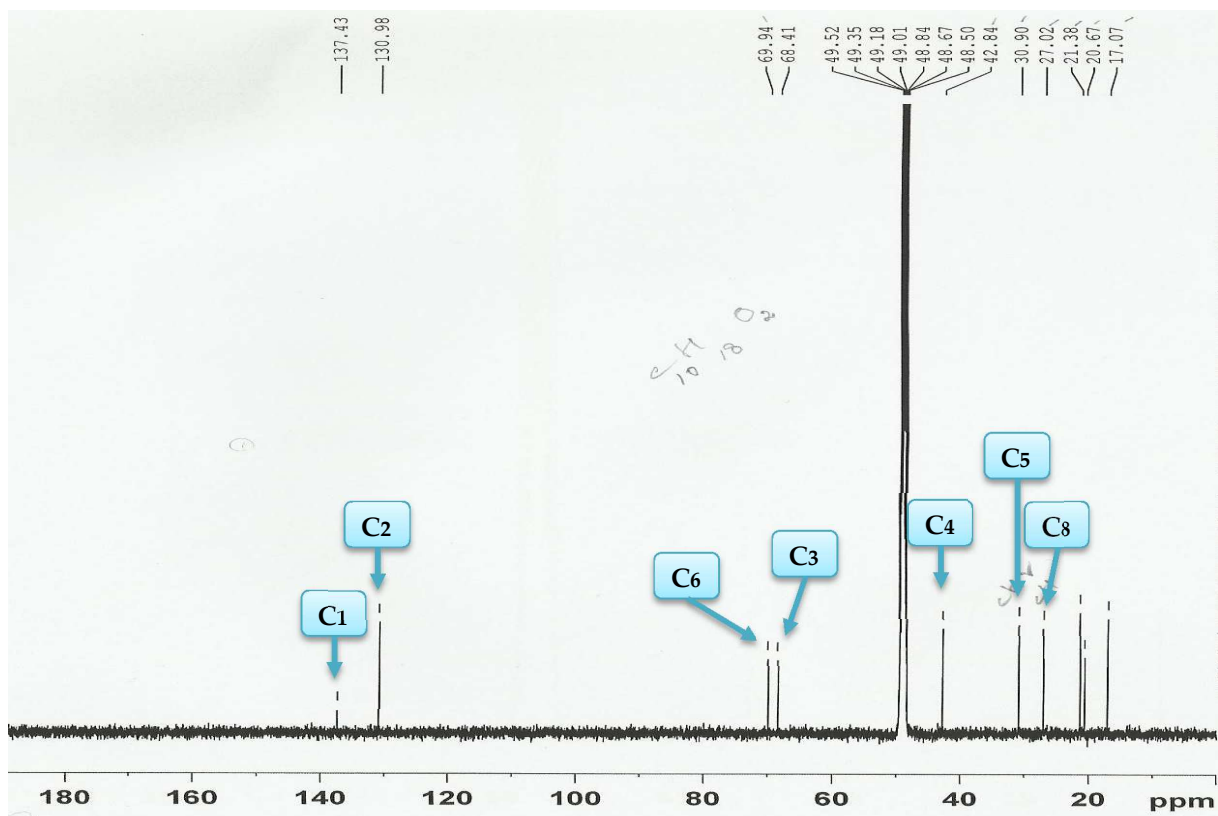


Figure 73: Spectre de RMN <sup>13</sup>C (CDCl<sub>3</sub>, 125 MHz) de FTBR-3

**Tableau XXXI:** Données de RMN  $^1\text{H}$  ( $\text{CD}_3\text{OD}$ , 500 MHz) et  $^{13}\text{C}$  ( $\text{CD}_3\text{OD}$ , 125 MHz) de FTBR-3 et de la *p*-menthane-3,6-diol ( $\text{CD}_3\text{Cl}$ , 500 MHz) (Zellagui *et al.*, 2011)

Position	FTBR-3		<i>p</i> -menthane-3,6-diol	
	$\delta_{\text{H}}$ (m, $J$ (Hz))	$\delta_{\text{C}}$ (m)	$\delta_{\text{H}}$ (m, $J$ (Hz))	$\delta_{\text{C}}$ (m)
1	-	137,4 s	-	139,1 s
2	5,46 (1H, t, $J = 1,5$ Hz)	131,0 d	5,46 (1H, d, $J = 1,5$ Hz)	128,8 d
3	3,91 (1H, sl)	68,4 d	4,08 (1H, dd, $J = 9,0; 2,0$ Hz)	60,4 d
4	1,59 (1H, m)	42,8 d	1,40 (1H, m)	48,1 d
5	1,72 (1H, dt, $J = 13,5; 2,5$ Hz) 1,38 (1H, td, $J = 13,5; 4,0$ Hz)	30,9 t	2,01 (1H, dd, $J = 5,5; 2,5$ Hz) 1,21 (1H, dd, $J = 13,0; 3,0$ Hz)	31,8 t
6	3,84 (1H, dl, $J = 9,0$ Hz)	69,9 d	3,80 (1H, dd, $J = 8,0 ; 3,0$ Hz)	71,1 d
7-Me	1,76 (3H, t, $J = 1,5$ Hz)	20,7 q	1,80 (3H, s)	21,0 q
8	2,10 (1H, m)	27,0 d	2,13 (1H, m)	26,4 d
9-Me	0,82 (3H, d, $J = 7,0$ Hz)	17,0 q	0,90 (3H, d, $J = 7,0$ Hz)	16,6 q
10-Me	0,96 (3H, d, $J = 7,0$ Hz)	21,4 q	0,99 (3H, d, $J = 7,0$ Hz)	19,9 q

## II.2- TRANSFORMATIONS CHIMIQUES SUR QUELQUES COMPOSES ISOLES

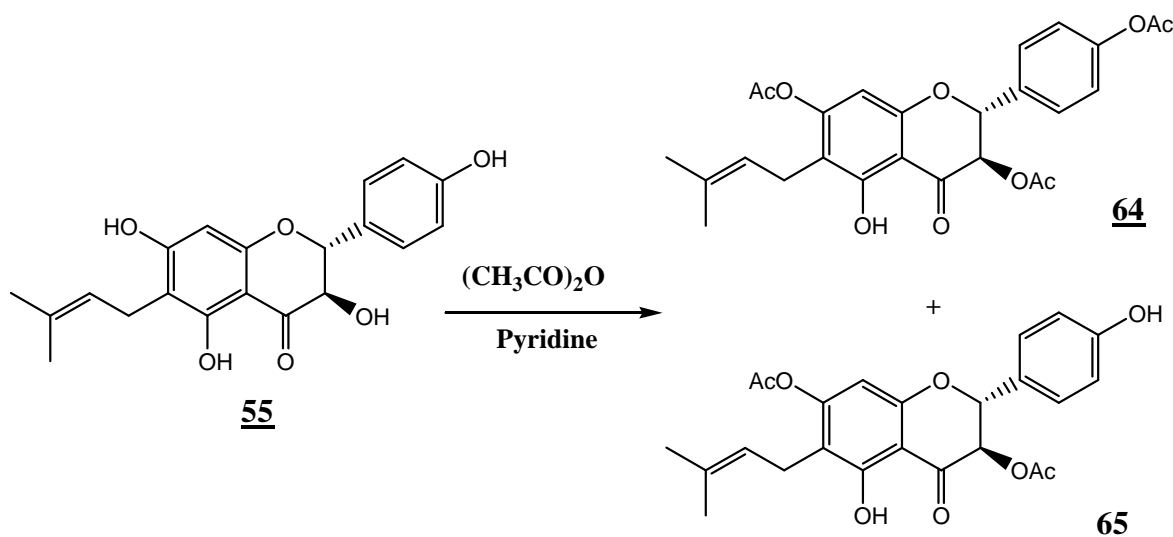
Compte tenu des résultats des tests d'activités biologiques présentés par ces composés, il nous a paru intéressant d'envisager les transformations chimiques sur certains de ces composés. Le but essentiel étant d'une part d'identifier les sites pharmacologiques des molécules étudiées afin d'établir la corrélation structure chimique-activité biologique, mais d'autre part d'augmenter la stabilité et de faciliter la solubilisation de ces molécules. Nous avons décidé d'entreprendre des transformations chimiques sur quelques-uns des composés ayant été isolés en quantité appréciable notamment la catéchine, la dihydroquercétine, et la shutérine.

En effet, ces composés possèdent dans leurs structures des groupements hydroxyles (sites réactionnels) en position C-3, C-5, C-7, C-3' et C-4' pour la plupart, en plus d'une unité 3,3-diméthylallyle dans le cas de la shutérine.

### II.2.1- Réactions d'estérification

#### II.2.1.1- Acétylation de FTBR-10

L'acétylation s'est faite en présence de l'anhydride acétique et de la pyridine, à température ambiante et pendant 2 heures, et a conduit non seulement à un dérivé triacétylé (**64**), mais également à un dérivé diacétylé (**65**), tous deux nouveaux. Les rendements sont de l'ordre de 35 et 30 % respectivement.

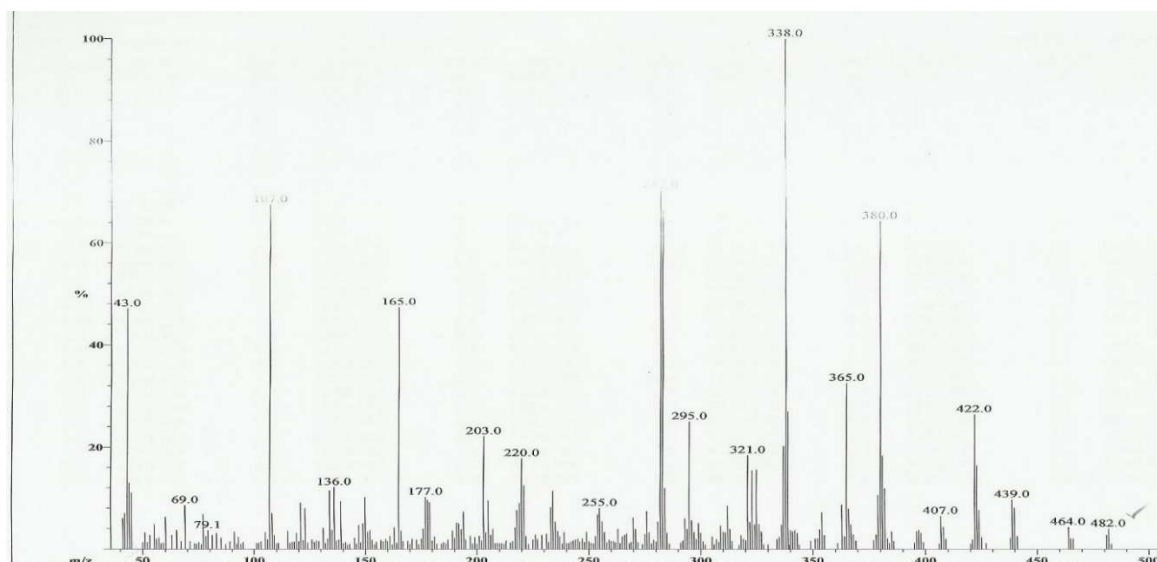


Les produits obtenus se présentent chacun sous forme de gomme blanche et sont tous deux solubles dans le chloroforme après séparation du mélange par chromatographie sur colonne ouverte. Ils ont été entièrement caractérisés à partir de leurs spectres de RMN et de masse.

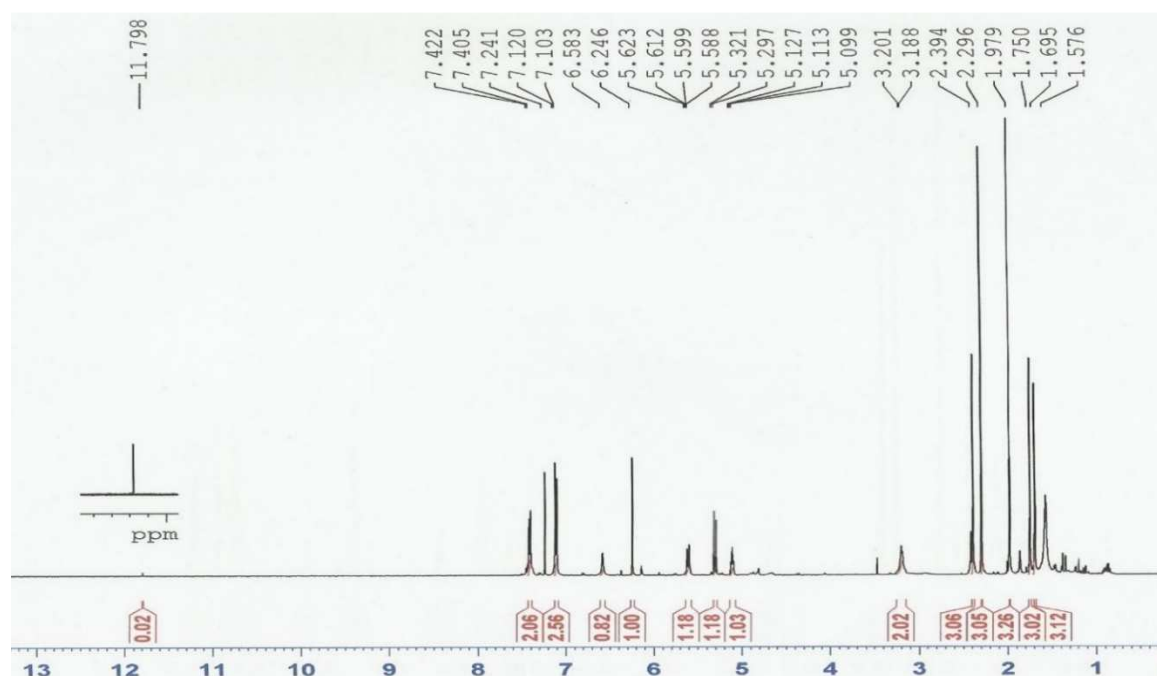
Le spectre de masse IE de **64** (Fig. 74) présente le pic de l'ion moléculaire à  $m/z$  482,0 auquel l'analyse haute résolution attribue la formule brute C<sub>26</sub>H<sub>26</sub>O<sub>9</sub>.

Sur son spectre de RMN  $^1\text{H}$  (Fig. 75), nous observons entre 1,98 et 2,39 ppm trois singulets de trois protons chacun tous caractéristiques de trois méthyles des groupements acétyles ; et la disparition des signaux des hydroxyles phénoliques visibles sur le spectre de RMN  $^1\text{H}$  de FTBR-10 (Fig. 53).

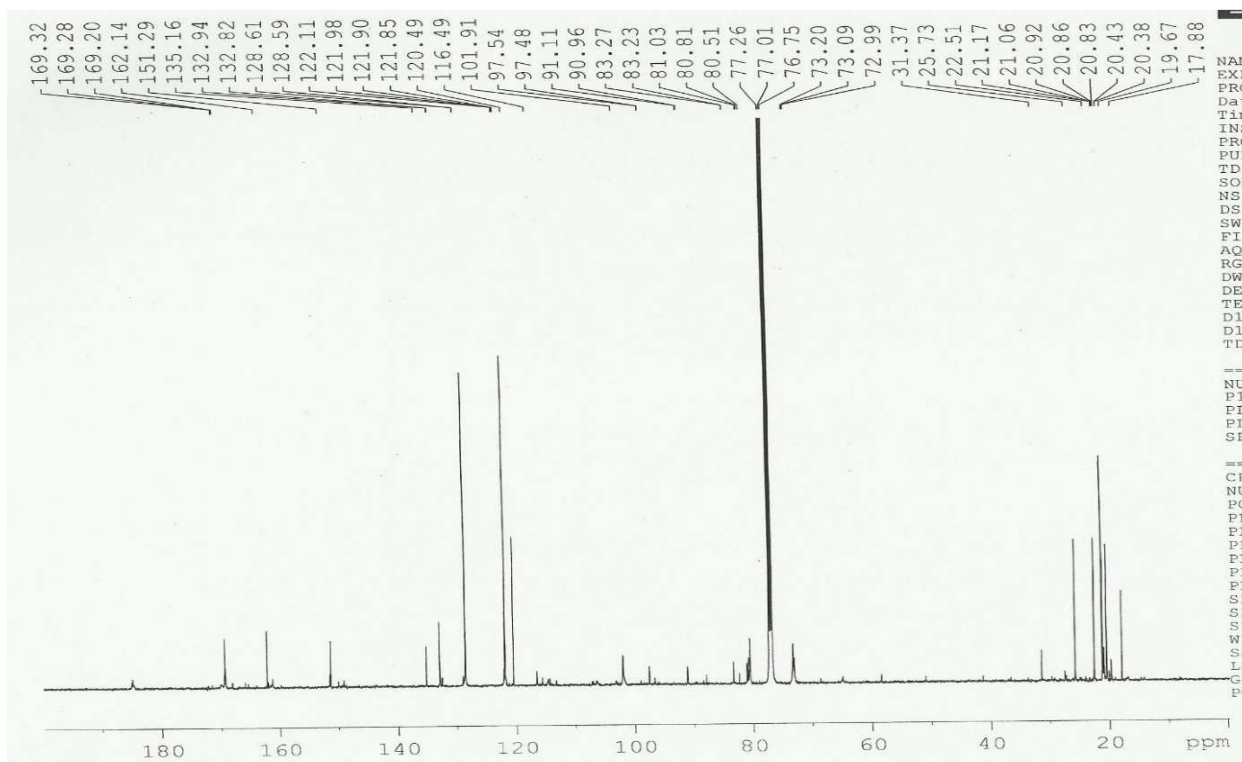
La présence sur le spectre de RMN  $^{13}\text{C}$  (Fig. 76) de trois signaux de carbonyles supplémentaires à  $\delta_{\text{C}}$  169,3, 169,3, et 169,2, confirme la fixation de trois groupes acétates.



**Figure 74** : Spectre de masse IE du composé **64** (FTBR-10-A2)

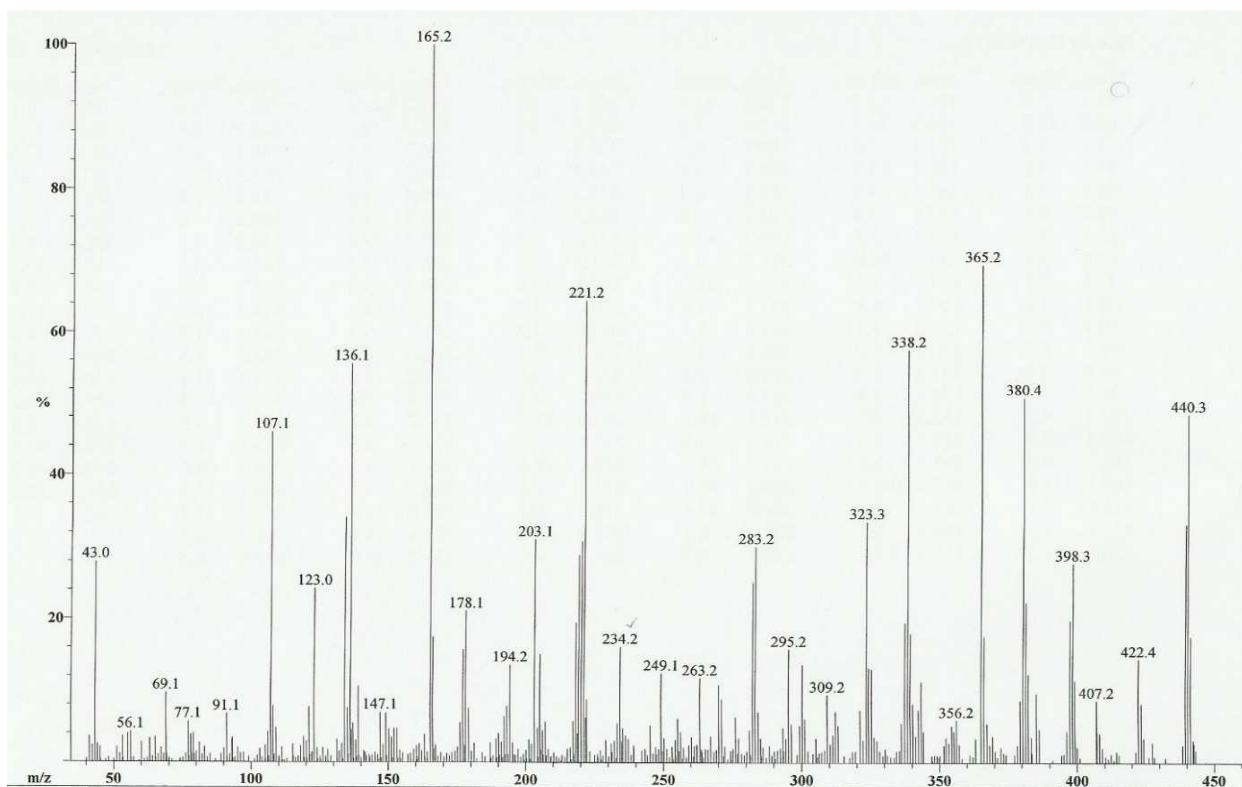


**Figure 75** : Spectre de RMN  $^1\text{H}$  ( $\text{CDCl}_3$ , 500 MHz) du composé **64** (FTBR-10-A2)



**Figure 76** : Spectre de RMN  $^{13}\text{C}$  ( $\text{CDCl}_3$ , 500 MHz) du composé **64** (FTBR-10-A2)

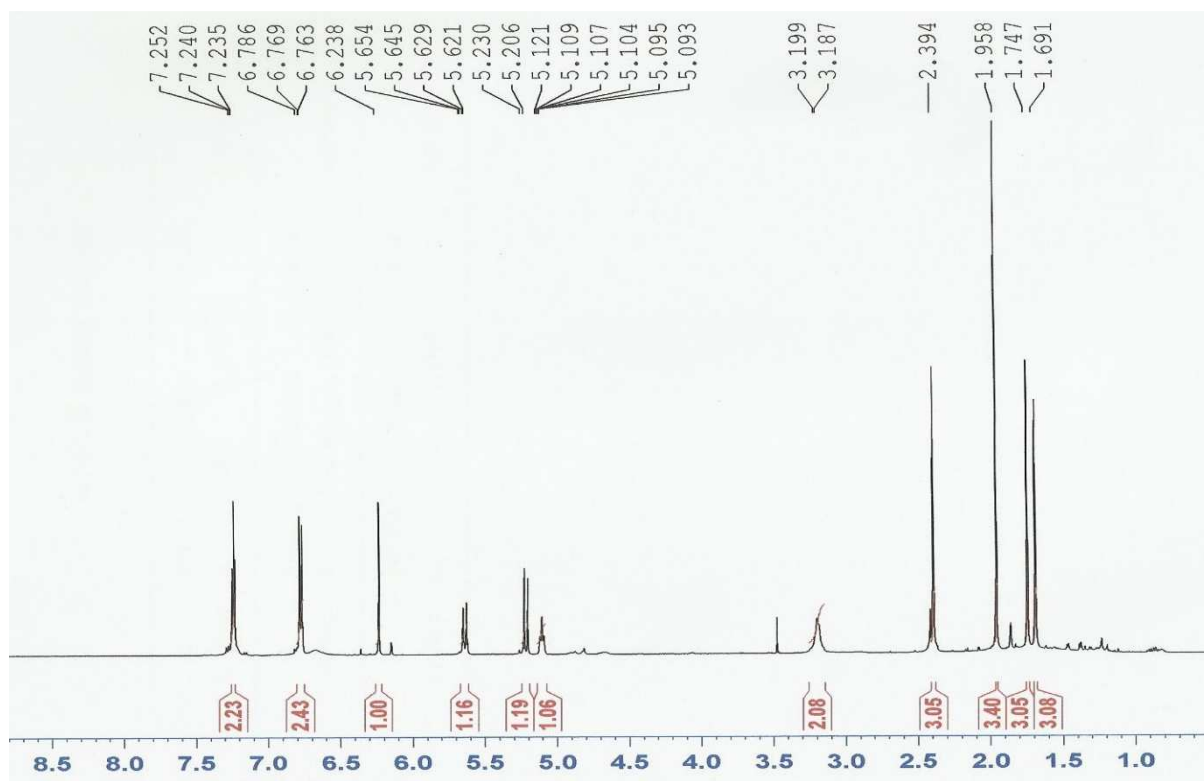
De même, le spectre de masse IE de **65** (Fig. 76) présente de pic de l'ion moléculaire à  $m/z$  440,3 auquel l'analyse haute résolution attribue la formule brute  $\text{C}_{24}\text{H}_{24}\text{O}_8$ .



**Figure 77** : Spectre de masse IE du composé **65** (FTBR-10-A3)



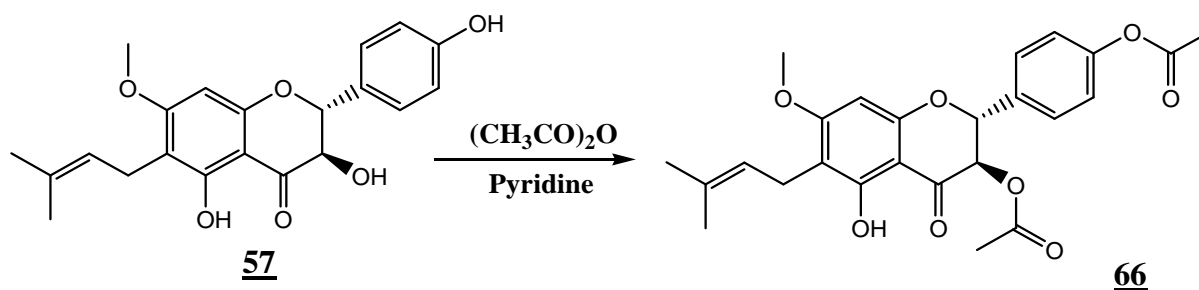
Sur son spectre de RMN  $^1\text{H}$  (Fig. 78), nous observons à  $\delta_{\text{H}}$  2,39 et 1,96 deux singulets de trois protons chacun caractéristiques de deux méthyles des groupements acétyles ;



**Figure 78** : Spectre de RMN  $^1\text{H}$  ( $\text{CDCl}_3$ , 500 MHz) du composé **65** (FTBR-10-A3)

### II.2.1.2. Acétylation du thonningiol (**57**), FTBR-8

Traiter par l'anhydride acétique dans la pyridine pendant 5 heures, le thonningiol (**57**) qui renferme dans sa structure trois groupements hydroxyles conduit au dérivé diacétylé (dérivé nouveau) avec un rendement de 63 %. Il résulterait de l'acétylation des deux hydroxyles en position C-3 et C-4' du substrat de départ, celui en position C-5 étant chélaté.



Son spectre de masse IE présente de pic de l'ion moléculaire à  $m/z$  454,1 auquel l'analyse haute résolution attribue la formule brute  $\text{C}_{25}\text{H}_{26}\text{O}_8$ .

Sur son spectre de RMN  $^1\text{H}$  (Fig. 78), nous observons à  $\delta_{\text{H}}$  2,30 et 2,03 deux singulets de trois protons chacun caractéristiques de deux groupements acétyles ;

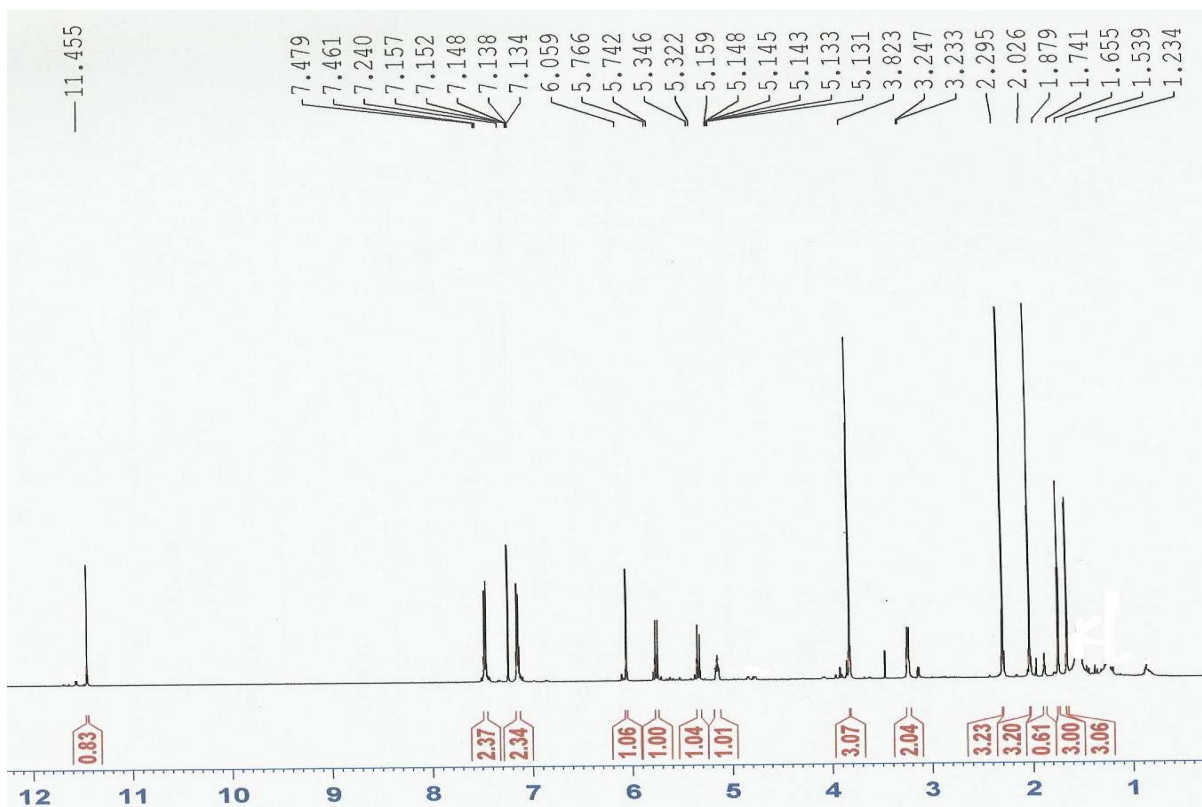


Figure 79 : Spectre de RMN  $^1\text{H}$  ( $\text{CDCl}_3$ , 500 MHz) du composé **66** (FTBR-8-A)

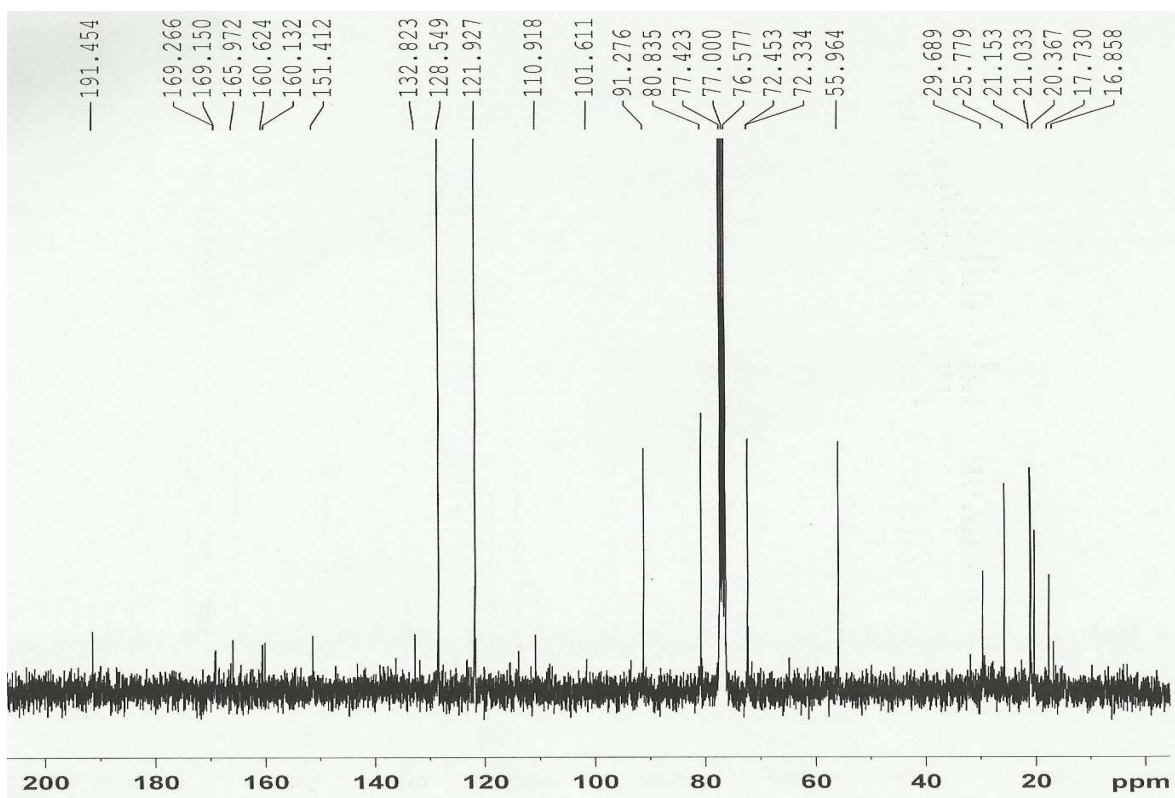


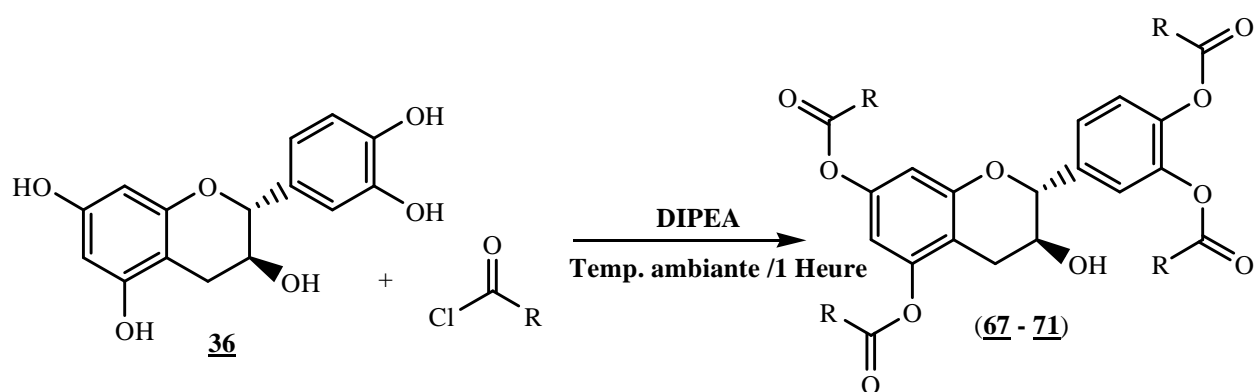
Figure 80 : Spectre de RMN  $^{13}\text{C}$  ( $\text{CDCl}_3$ , 500 MHz) du composé **66** (FTBR-8-A)

### II.2.1.3. Estérfication de la catéchine

L'estérfication d'un composé par un chlorure d'acyle est une méthode pouvant impliquer la totalité ou une partie des groupements hydroxyle du composé, elle a fait l'objet de nombreuses études.

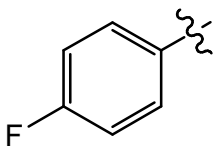
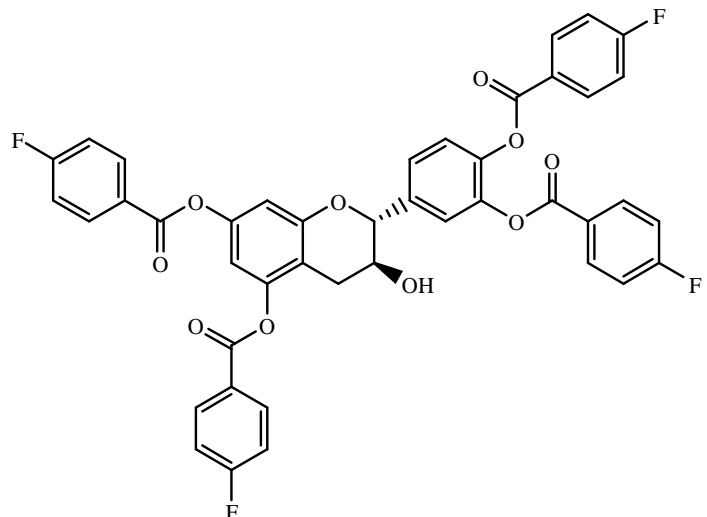
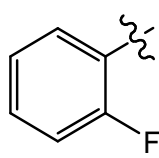
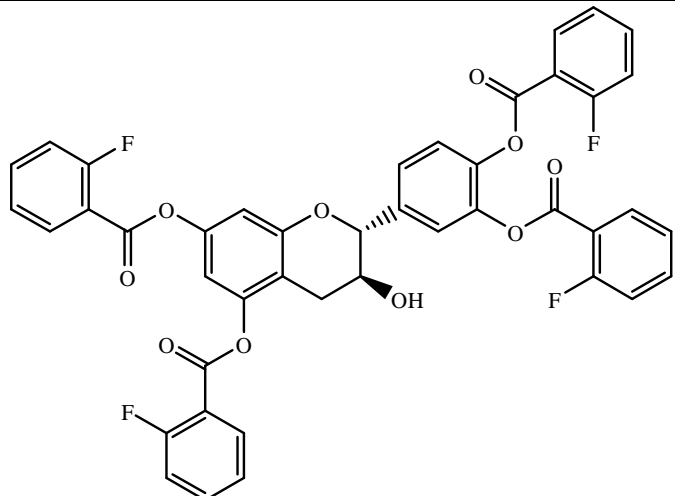
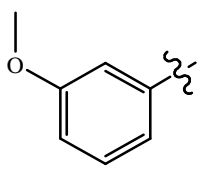
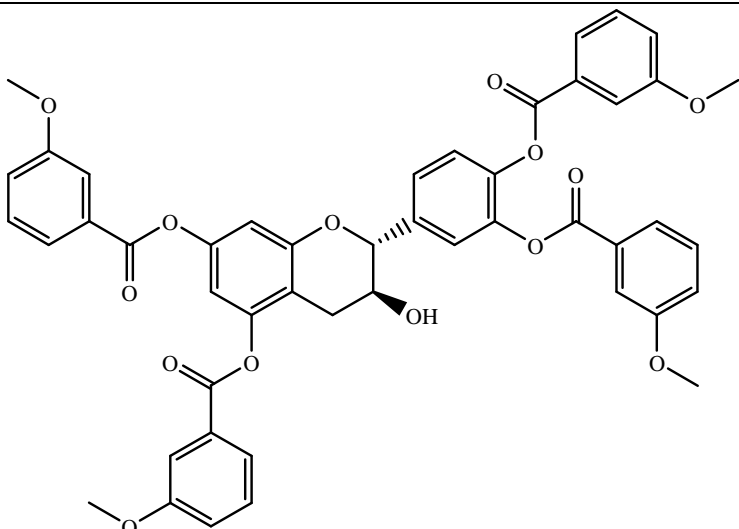
Une série de cinq réactions d'estérfication a été faite sur la catéchine avec divers chlorures d'acyles à température ambiante, catalysée en milieu basique par la N,N-diisopropyléthylamine (DIPEA).

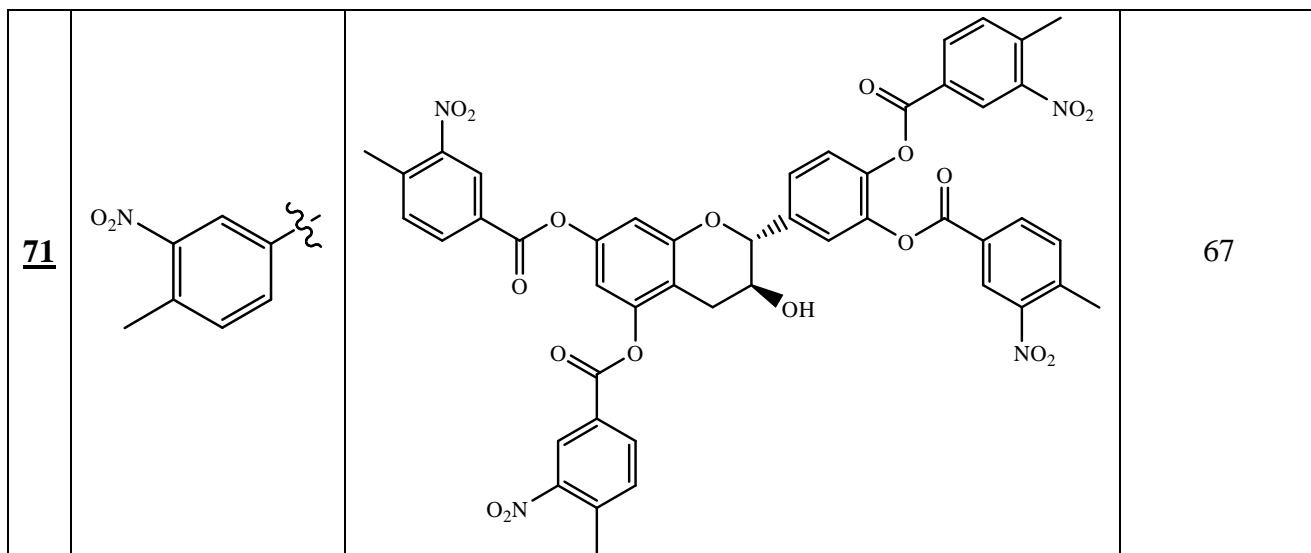
L'équation bilan de la réaction est la suivante :



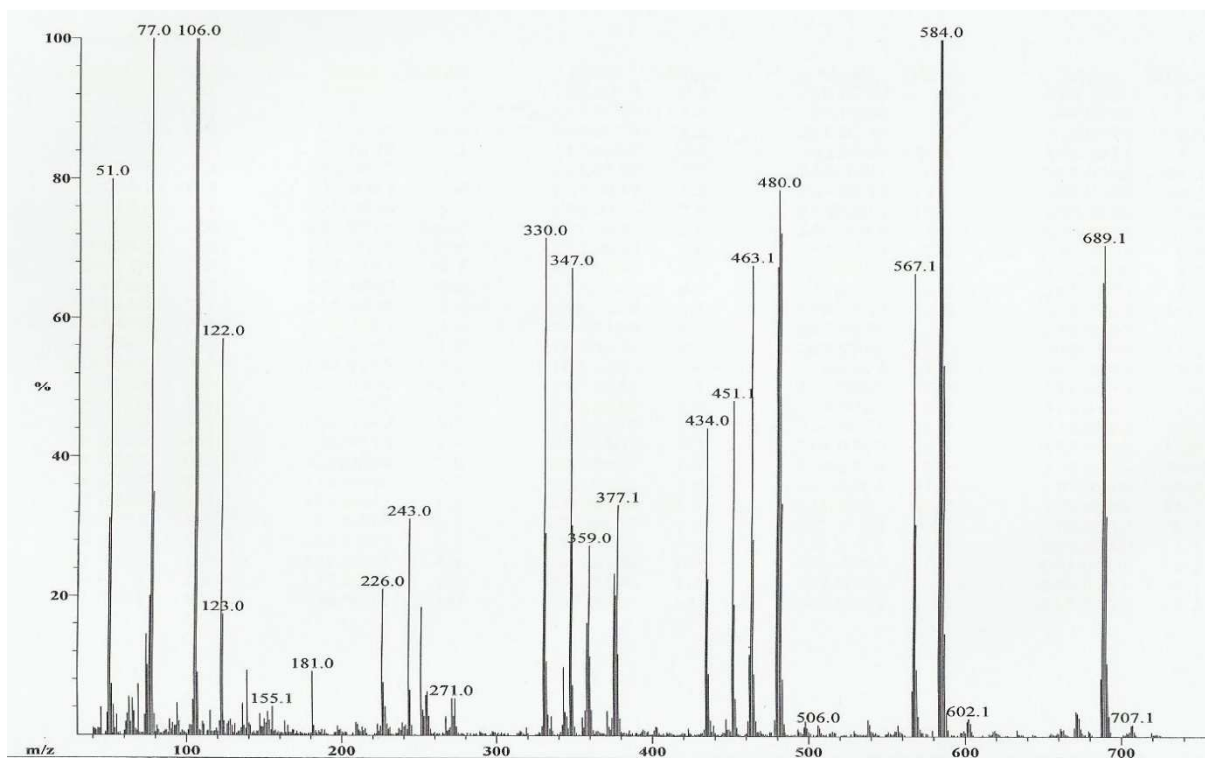
**Tableau XXXII** : Structures des esters de catéchine

N°	Entrées (R)	Produits	Rendements (%)
<u>67</u>			78

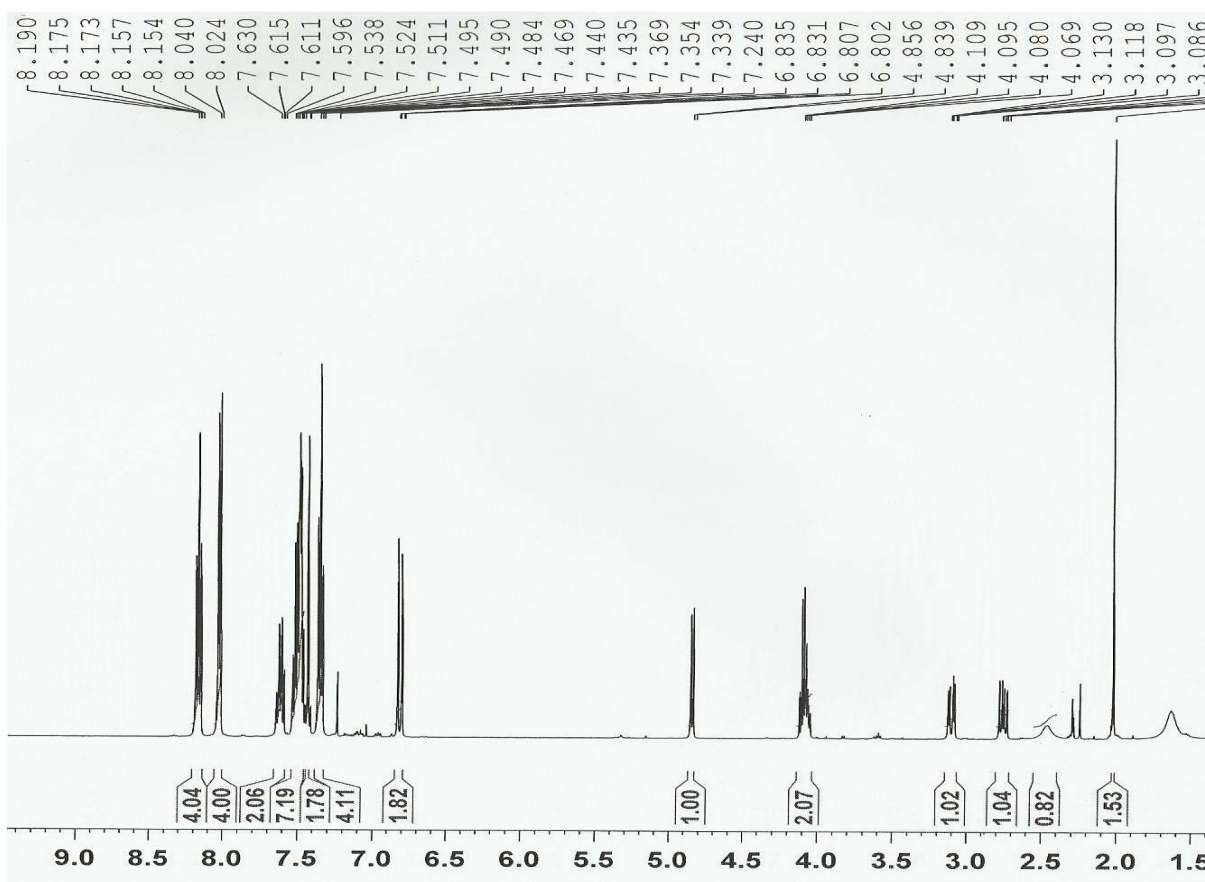
<p><b>68</b></p>			<p>71</p>
<p><b>69</b></p>			<p>73</p>
<p><b>70</b></p>			<p>82</p>



Les solvants utilisés dependent de la nature du flavonoïde, dans le présent travail nous avons utilisé un mélange de dichlorométhane - méthanol (9 :1).



**Figure 81** : Spectre de masse IE du composé **67**



**Figure 82** : Spectre de RMN <sup>1</sup>H (CDCl<sub>3</sub>, 500 MHz) du composé **67**



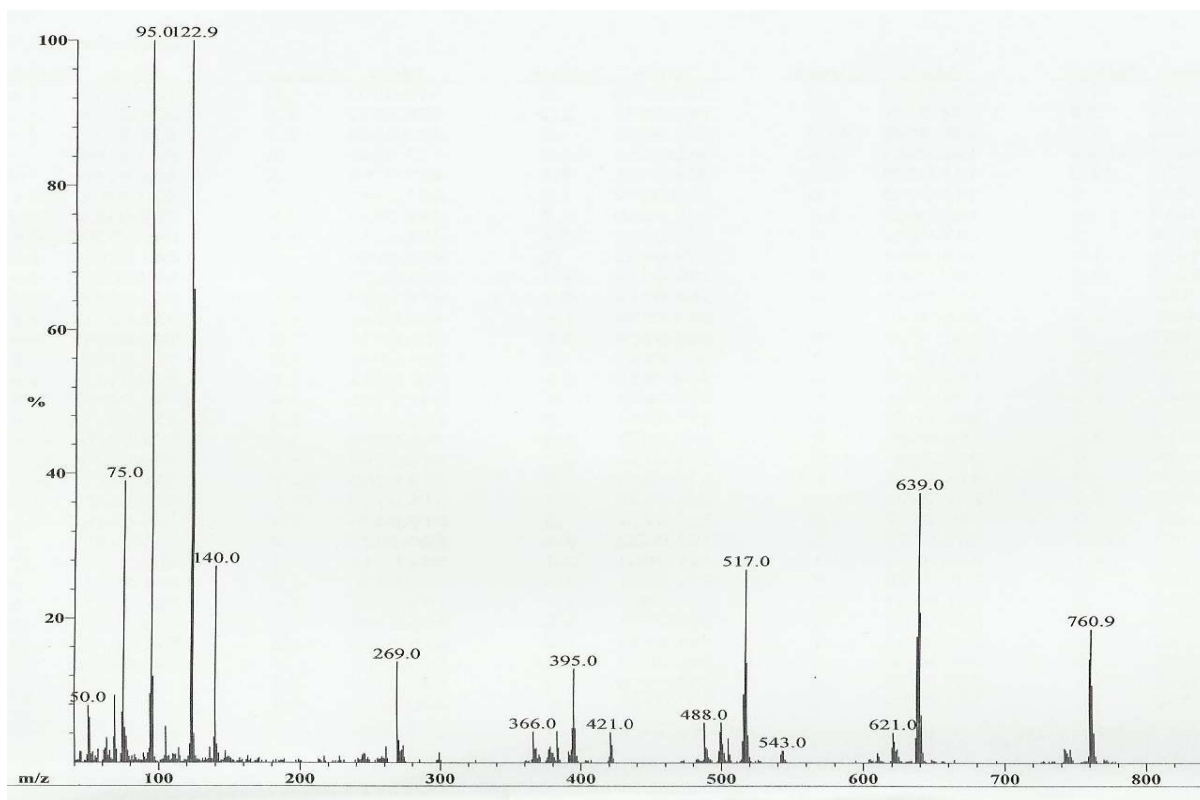


Figure 85 : Spectre de masse IE du composé **69** (perte d'une molécule de H<sub>2</sub>O)

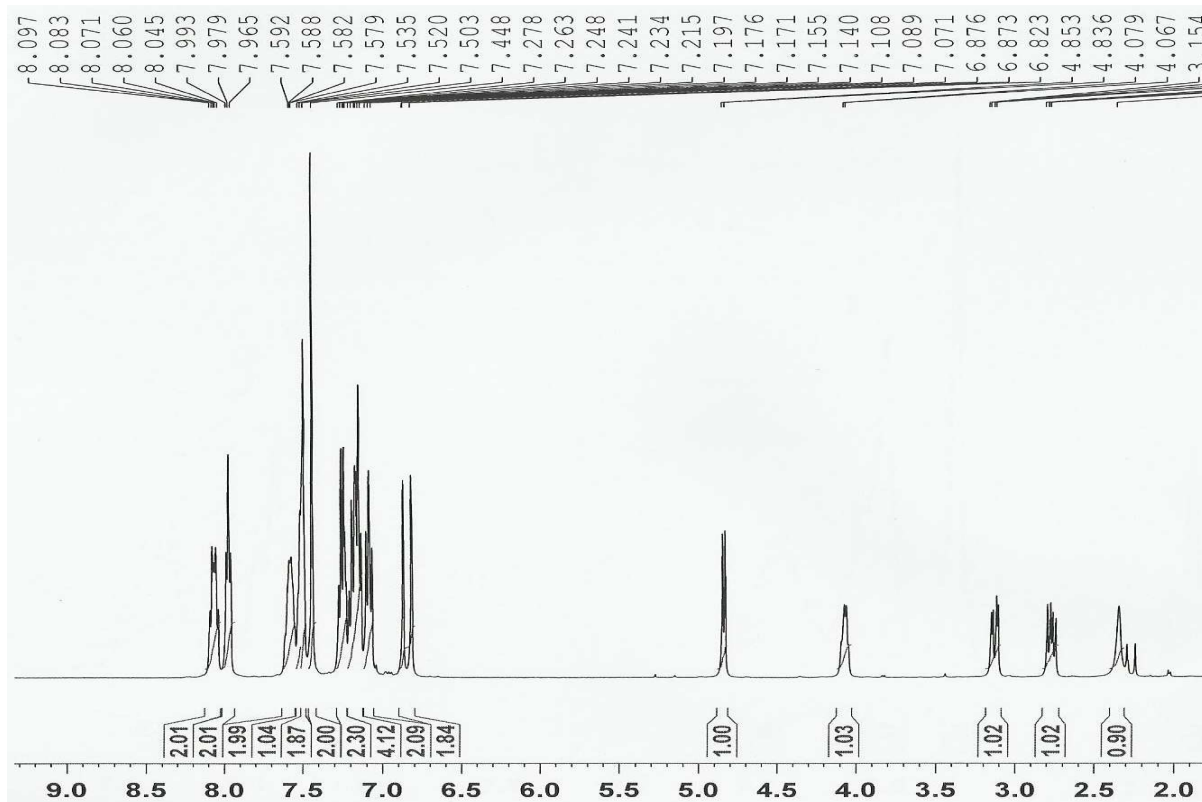
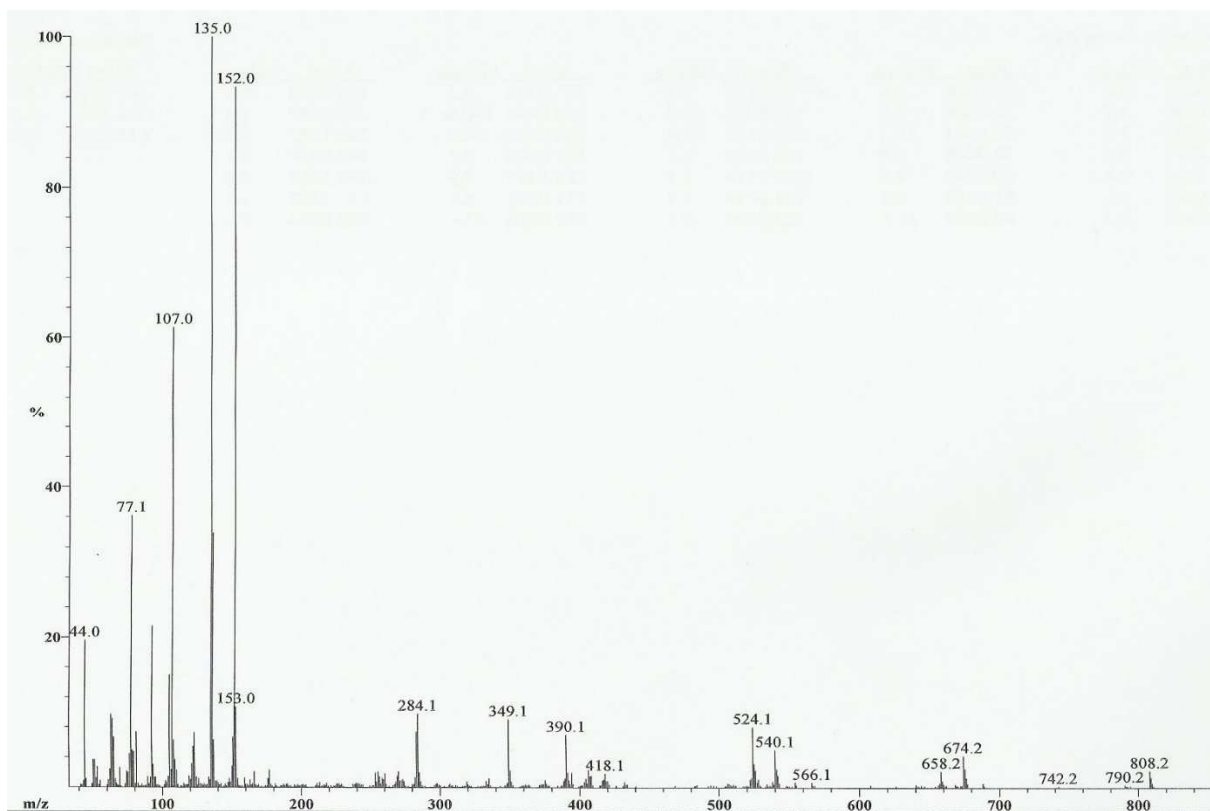
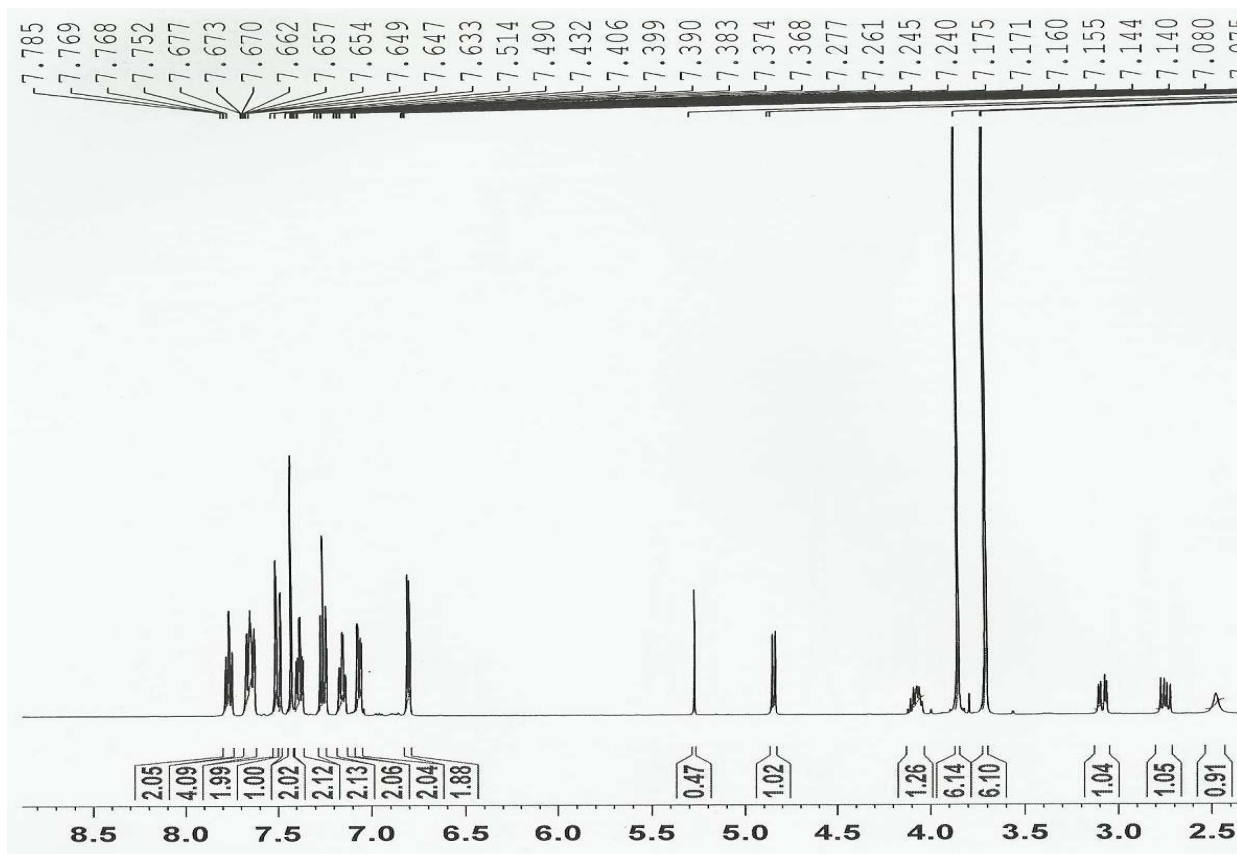


Figure 86 : Spectre de RMN <sup>1</sup>H (CDCl<sub>3</sub>, 500 MHz) du composé **69**

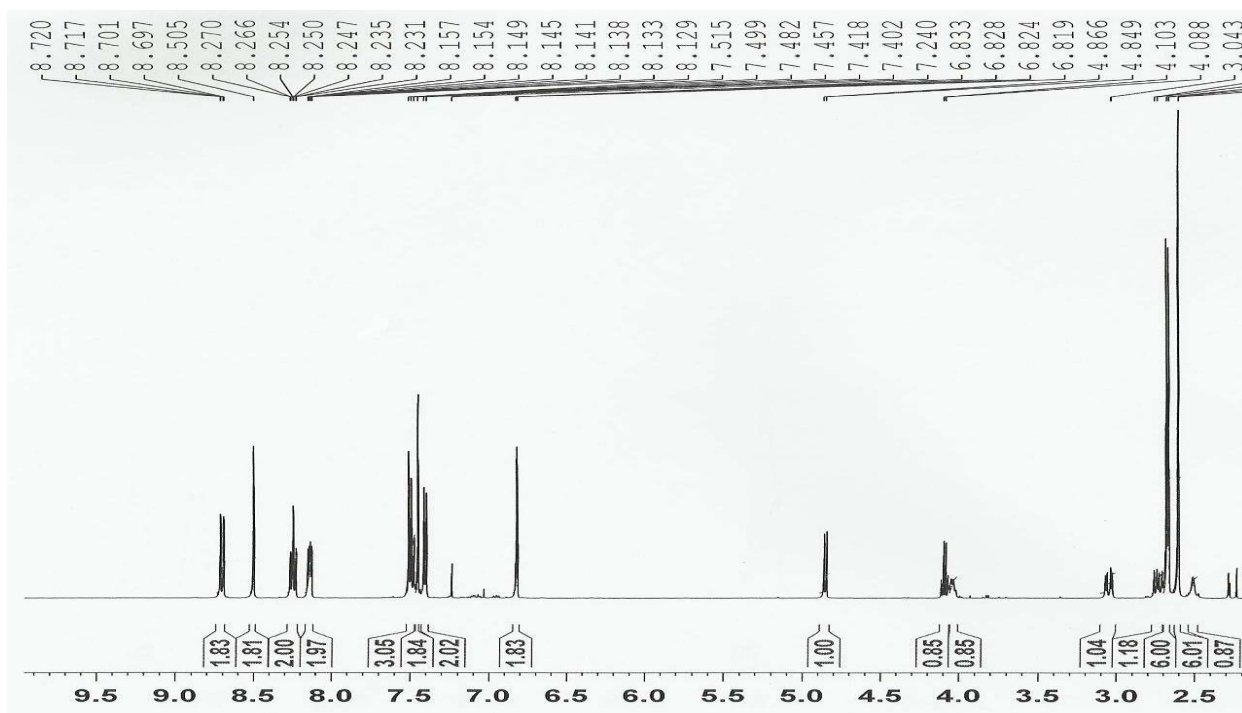




**Figure 87** : Spectre de masse IE du composé **70** (perte d'une molécule de H<sub>2</sub>O)



**Figure 88** : Spectre de RMN <sup>1</sup>H (CDCl<sub>3</sub>, 500 MHz) du composé **70**

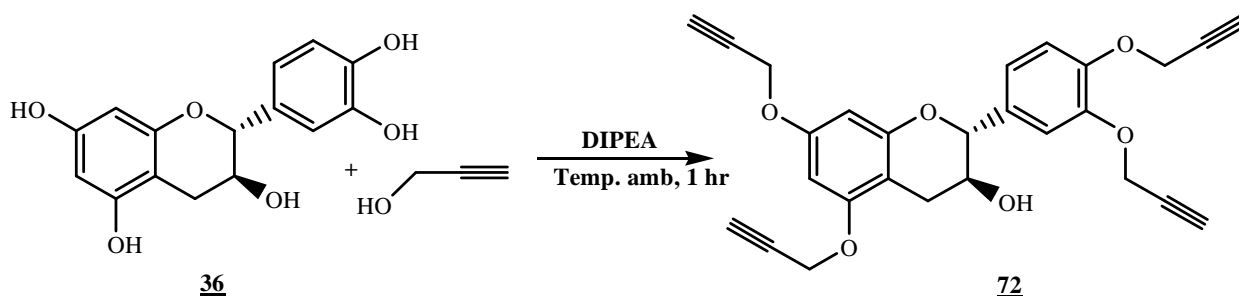


**Figure 89** : Spectre de RMN  $^1\text{H}$  ( $\text{CDCl}_3$ , 500 MHz) du composé **71**

## II.2.2- Réactions d'éthérisation

Tout comme les réactions d'estérification, les réactions d'éthérisation chimiques de flavonoïdes sont réalisées par des méthodes classiques déjà appliquées à d'autres composés polyhydroxylés. Elles s'effectuent dans des conditions de catalyse basique ou acide, et reposent sur des séquences réactionnelles délicates, intégrant des étapes de protection/déprotection des différents groupements hydroxyles.

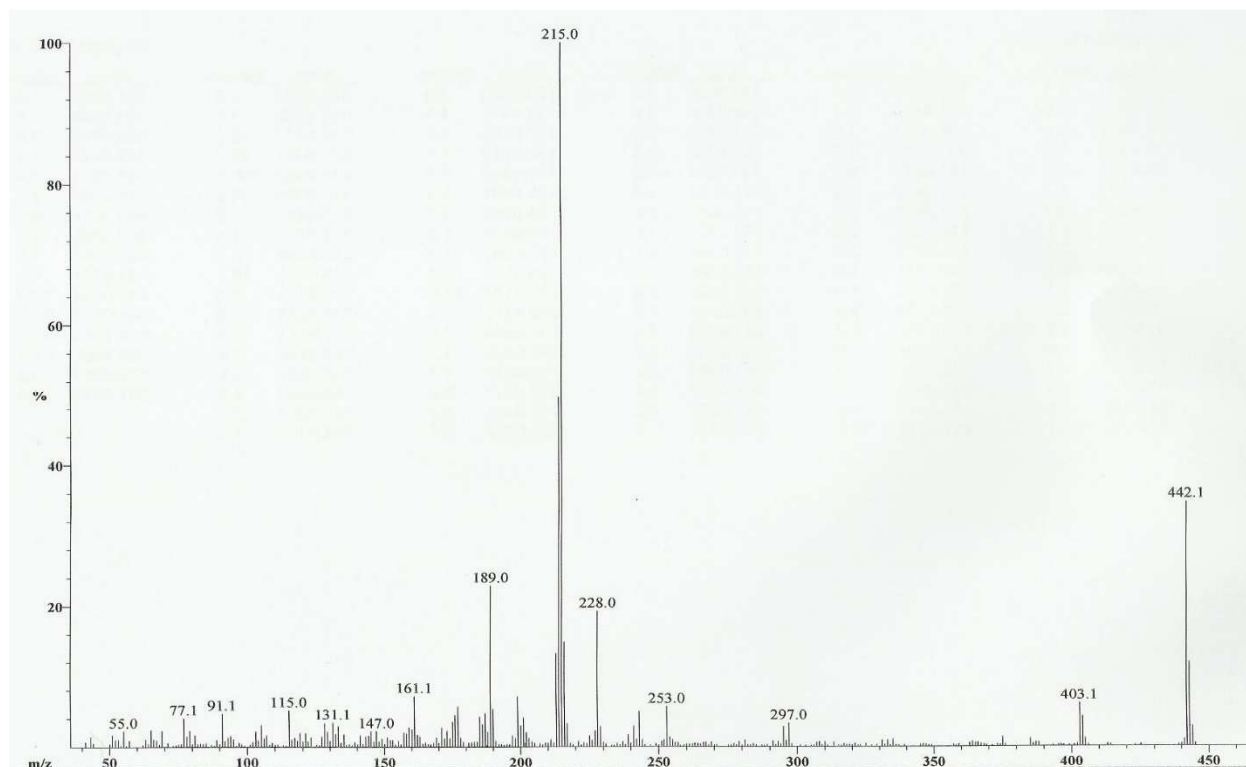
L'éthérisation de FPE – 10 en présence de l'alcool propargylique et de la N,N-dipropyléthylamine dans l'acétonitrile a conduit au composé **72** Avec un rendement de 81 %.



Bien que cette réaction ait un bon rendement, elle n'est pas sélective et on éthérifie tous les groupes hydroxyles phénoliques.

Lorsque nous n'avons entrepris d'éthérifié indifféremment un seul hydroxyle phénolique, nous y sommes tout de même parvenus. Mais le produit de la réaction était un mélange très complexe de composés difficile a séparé.

Son spectre de masse IE (Fig. 89) présente le pic de l'ion moléculaire à  $m/z$  442,1 auquel l'analyse haute résolution attribue la formule brute  $C_{27}H_{22}O_6$  conformément à nos attentes.



**Figure 90** : Spectre de masse IE du composé **72**

Sur son spectre de RMN  $^1H$  (Fig. 90), on observe entre 3,08 et 3,02 ppm trois signaux intégrant pour un total de quatre protons répartis comme suit :  $\delta_H$  3,08 (1H ; t ;  $J = 2,5$  Hz) ; 3,05 (2H ; t ;  $J = 2,5$  Hz) et 3,02 (1H ; t ;  $J = 2,5$  Hz) tous attribuables à quatre protons acides d'alcyne, caractéristiques de quatre groupes alcynes vrais.

On observe également trois signaux de huit protons répartis comme suit :  $\delta_H$  4,80 (2H ; d ;  $J = 2,5$  Hz), 4,78 (4H ; d ;  $J = 2,0$  Hz) et 4,73 (2H ; d ;  $J = 2,5$  Hz), tous attribuables à quatre méthylènes en alpha d'une triple liaison carbone - carbone.

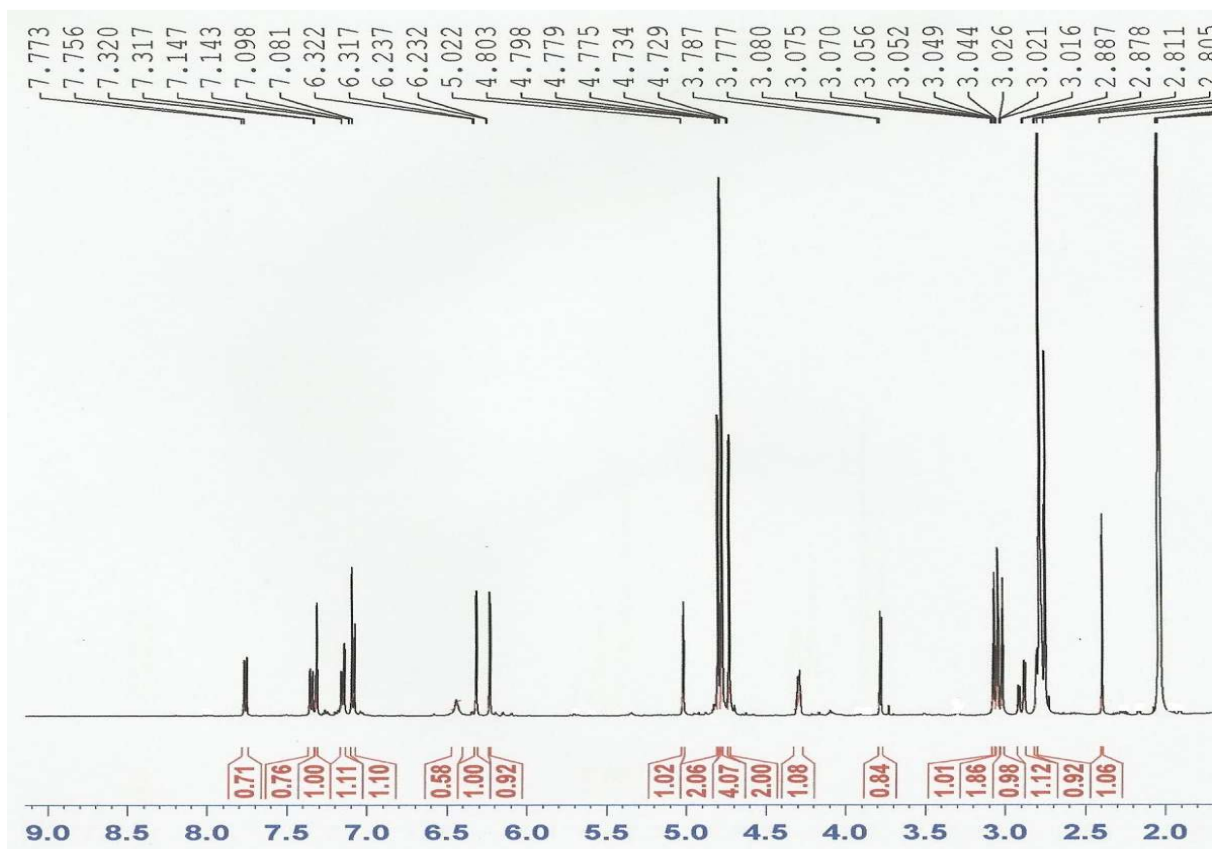
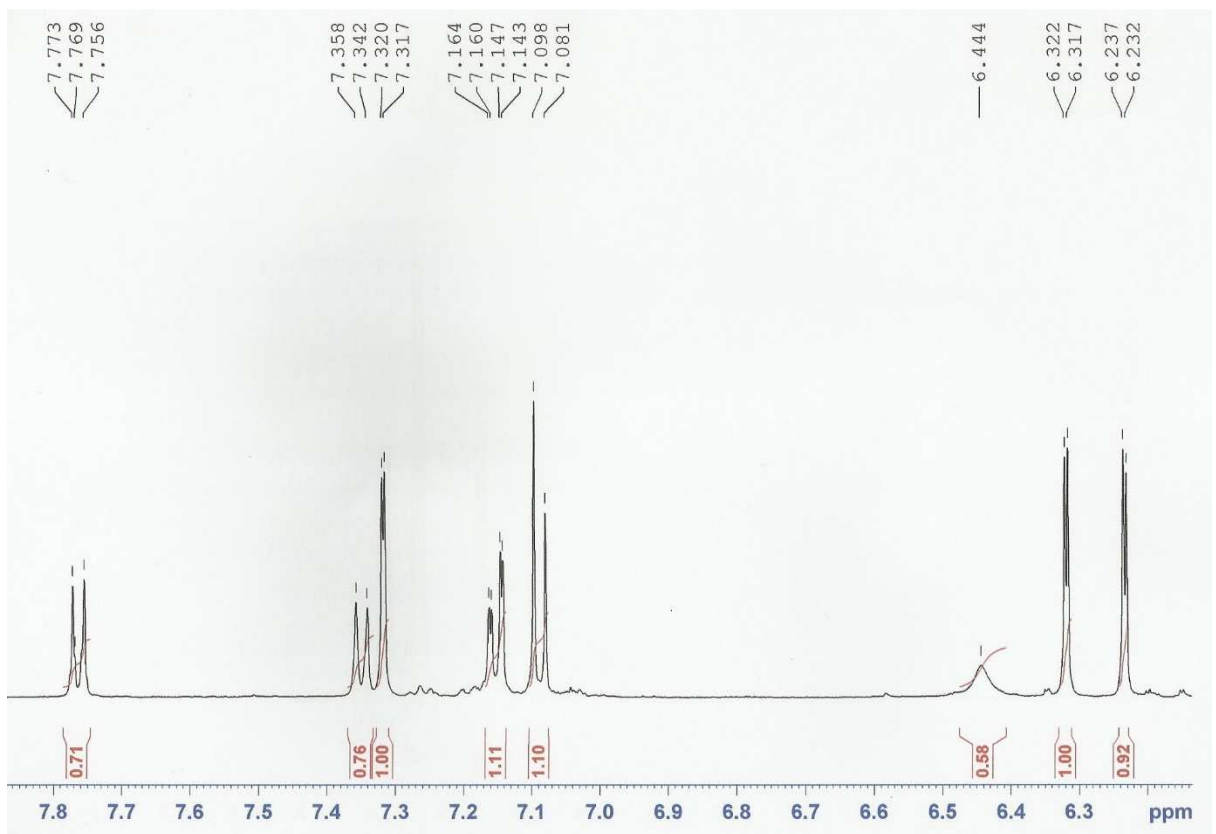
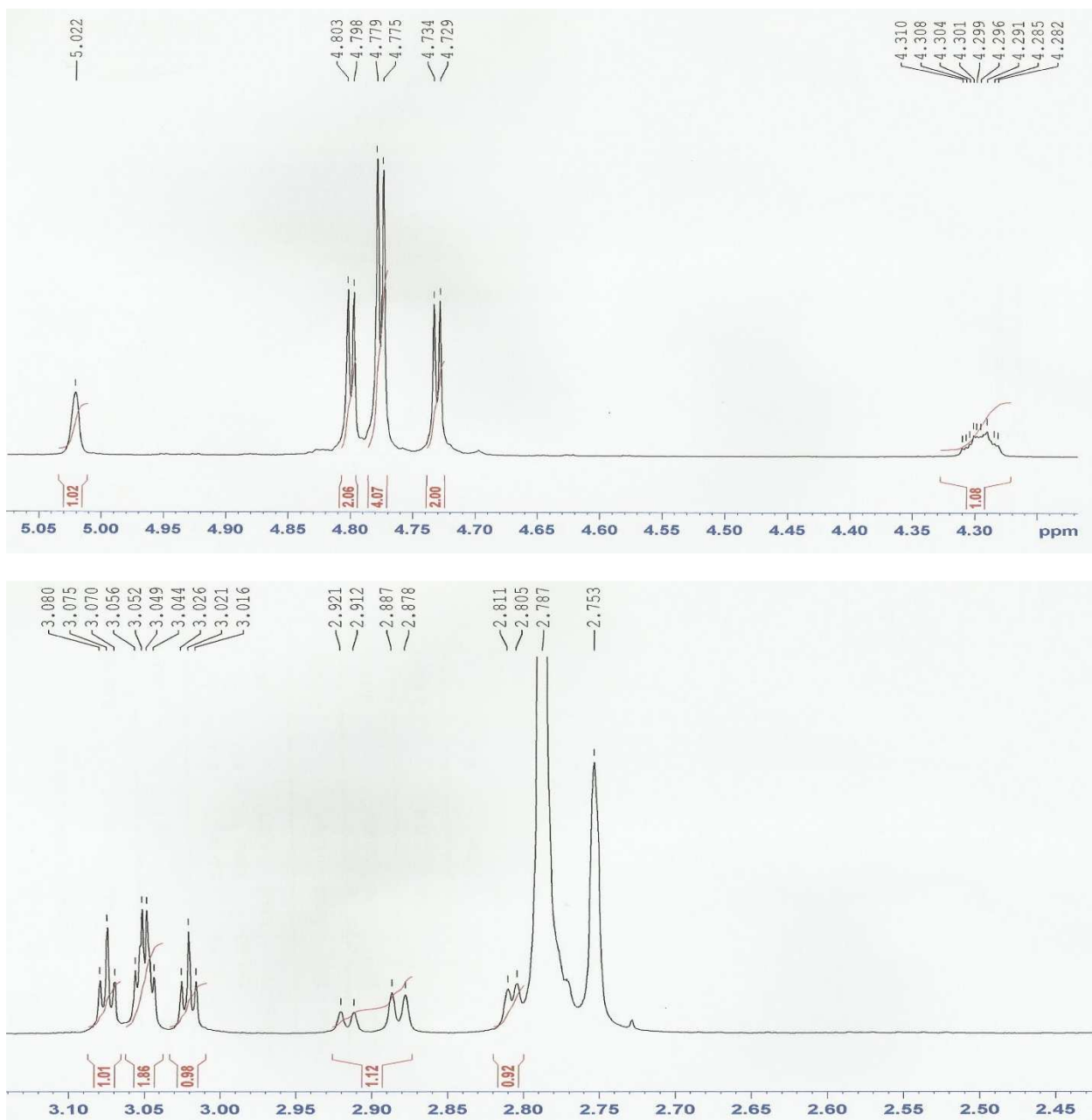


Figure 91: Spectre de RMN  $^1\text{H}$  ( $\text{CDCl}_3$ , 500 MHz) du composé 72





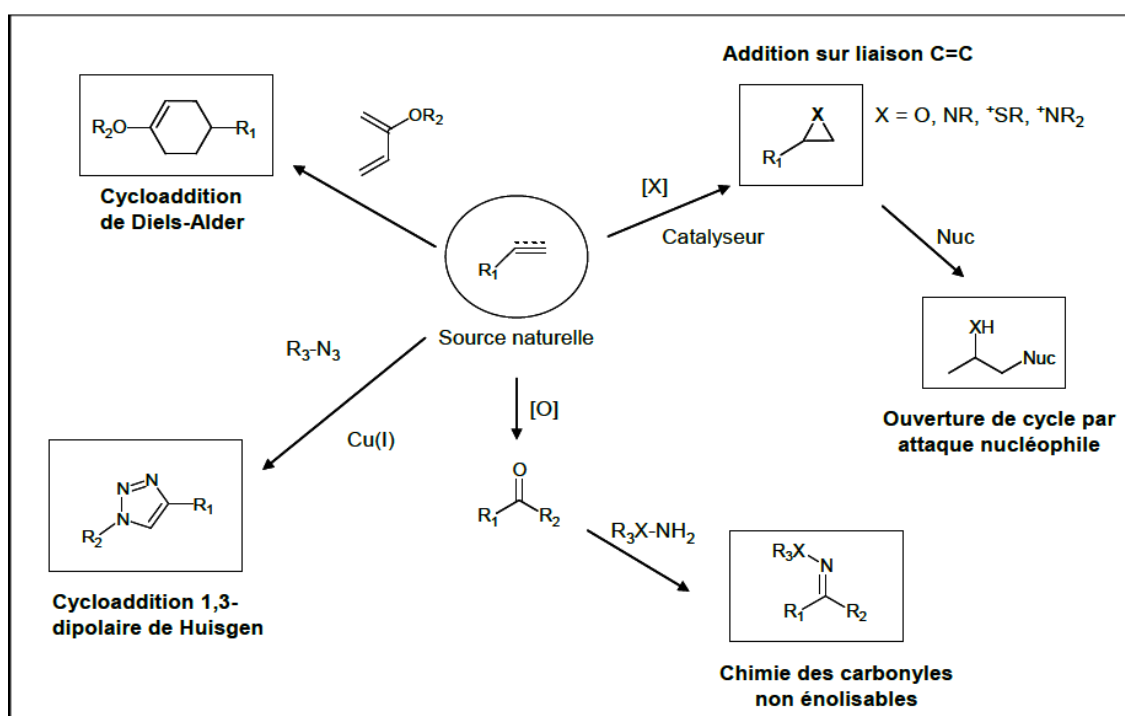
**Figure 92:** Spectres élargis de RMN  $^1\text{H}$  ( $\text{CDCl}_3$ , 500 MHz) du composé **72**

### II.2.3- Le concept de « Chimie click »

En 2001, Barry Sharpless (qui partage le prix Nobel de chimie en 2001) proposait un nouveau concept en chimie organique : la « click-chemistry » (Kolb *et al.*, 2001), que l'on devrait plutôt traduire en français par « chimie clip ». Il définit un groupe de réactions chimiques quasi parfaites, variées et simples pour « clipper » deux molécules, et fabriquer ainsi un lien robuste. Les quatre classes majeures de transformations sont les suivantes (schéma 16):

- Les cycloadditions d'espèces insaturées, particulièrement les réactions de cycloaddition 1,3-dipolaire Azoture-Alcyne et de Diels-Alder.

- Les substitutions nucléophiles, particulièrement les réactions d'ouverture d'hétérocycles contraints comme les époxydes, aziridines, sulfates cycliques, sulfamides cycliques et les ions aziridinium et épisulfonium.
- La chimie des carbonyles non énolisables, comme la formation d'urées, de thiourées, d'hétérocycles aromatiques, d'oximes et de leurs éthers, d'hydrazones et d'amides.
- Les additions sur des liaisons multiples carbone-carbone, c'est-à-dire les réactions d'oxydation telles que les époxydations, les dihydroxylations, les aziridinations et certaines additions de Michaël.

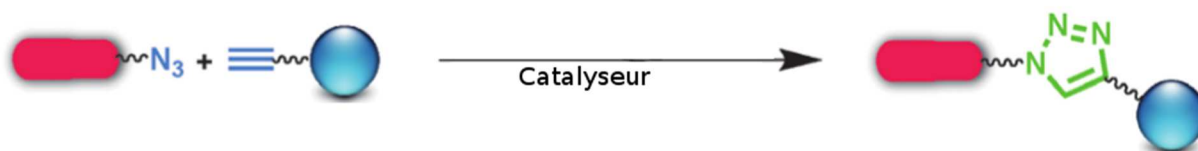


**Schéma 16** : Présentation de l'ensemble des réactions de « Chimie clip »

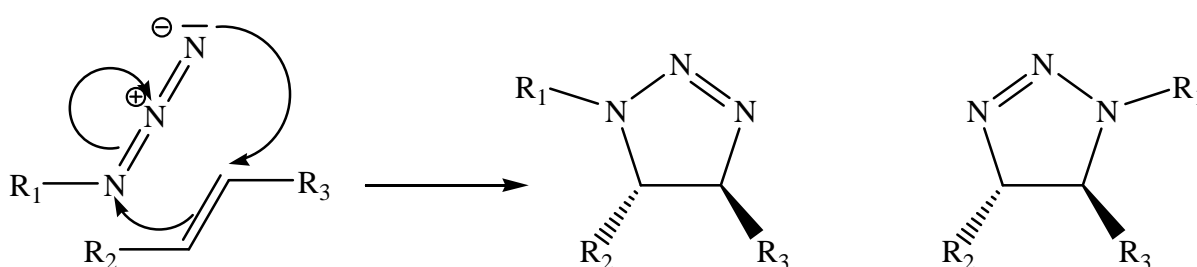
Pour qu'une réaction puisse être considérée comme « click », celle-ci doit répondre à un certain nombre de critères :

- La réaction doit être modulable et doit s'appliquer à un large spectre de substrats.
- La réaction doit être efficace et donner de bons rendements.
- Elle ne doit pas fournir de sous-produits, ou seulement des sous-produits inoffensifs et facilement séparables.
- Si la molécule possède des stéréocentres, la réaction doit être stéréospécifique.
- Le chimiste doit avoir facilement accès au matériel de départ.
- Les réactions doivent être menées sans solvant ou avec un solvant bénin.
- Les techniques de purification doivent être simples.

Cette méthode a été très utilisée ces dernières années, et est souvent synonyme d'une réaction simple catalysée par du cuivre. Les cycloadditions de Huisgen demeurent à ce jour les réactions les plus étudiées. Elles regroupent les réactions d'un dipolarophile (alcène, alcyne, carbonyle ou nitrile...) avec un composé 1,3-dipolaire (azoture, oxyde de nitrile, diazo-alcane) qui conduisent à la formation d'un hétérocycle à cinq chaînons.

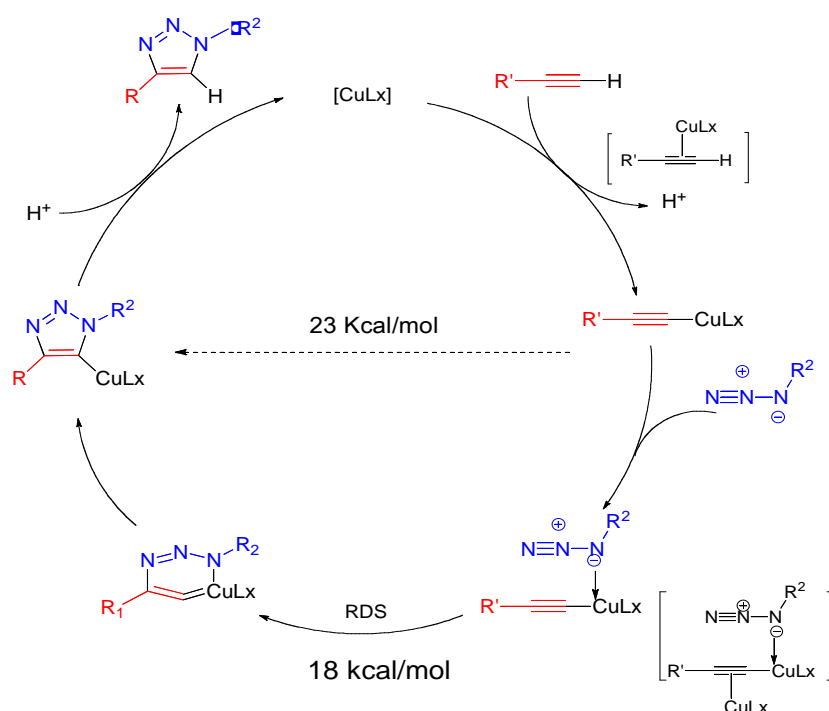


Le mécanisme réactionnel de cette cycloaddition est le suivant :



**Schéma 17:** Mécanisme de la cycloaddition de Huisgen

Le cuivre (I) est reconnu comme le métal de choix pour catalyser cette cycloaddition. Le mécanisme commence par la formation d'un complexe Cu-acétylure. Le mécanisme global est le suivant :

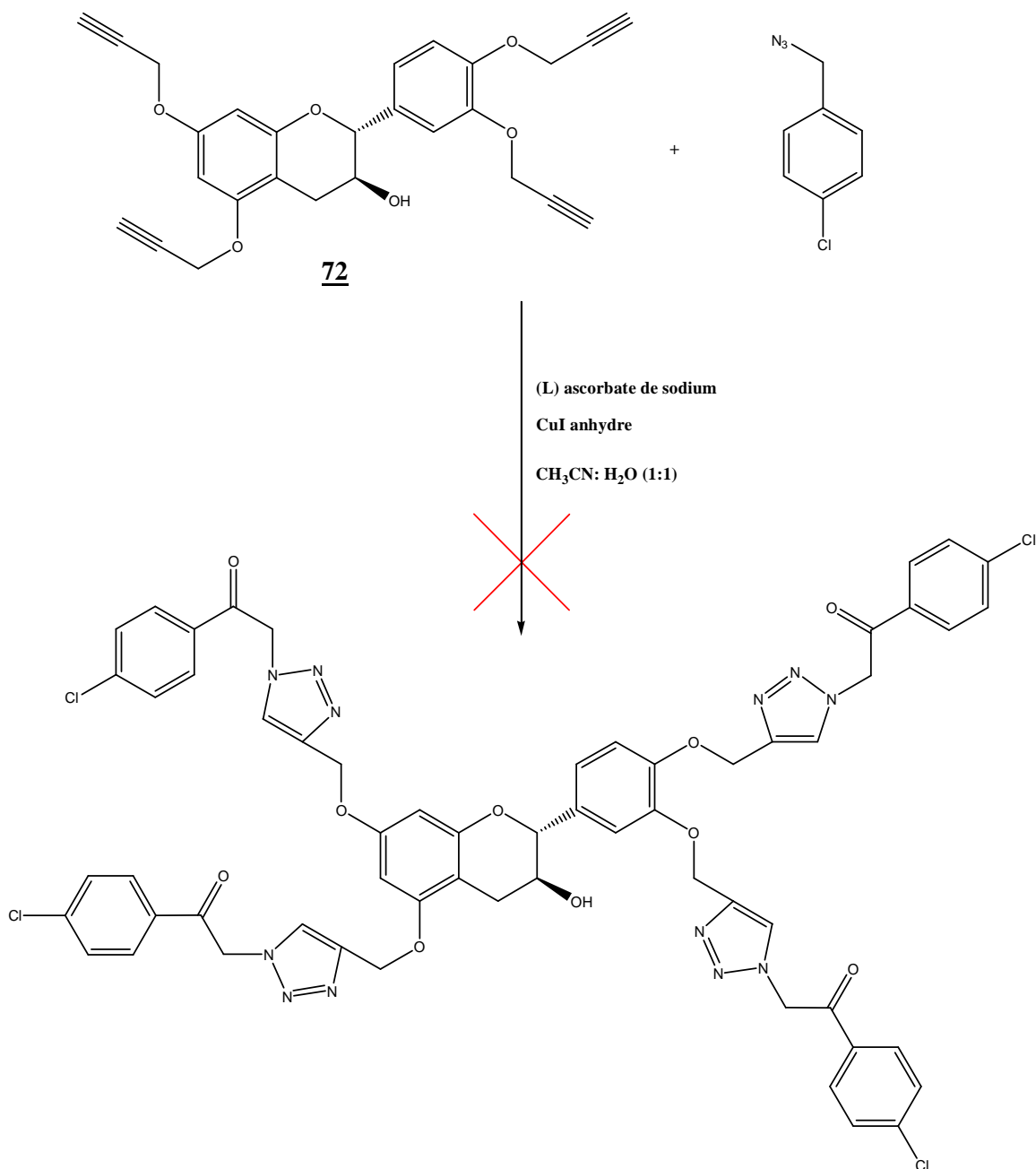


**Schéma 18:** Mécanisme de la catalyse de la CuAAC proposé par Sharpless *et al.*

C'est cette méthode que nous avons voulu appliquer, prenant comme substrat le composé **72**. Le dérivé obtenu pourrait induire, si possible, une des activités de FPE- 10 ((+)-Catéchine).

- **Tentative de « Chimie click » sur le composé 72**

Le composé a été préparé pour servir d'alkyne dans la cycloaddition de Huisgen. La réaction de **72** avec le 2-azido-1-(4-chlorophenyl)éthanone en présence du L-ascorbate de sodium, et l'iodure de cuivre n'a pas été concluante.



Cette réaction n'a pas eu lieu au bout de 48 heures.

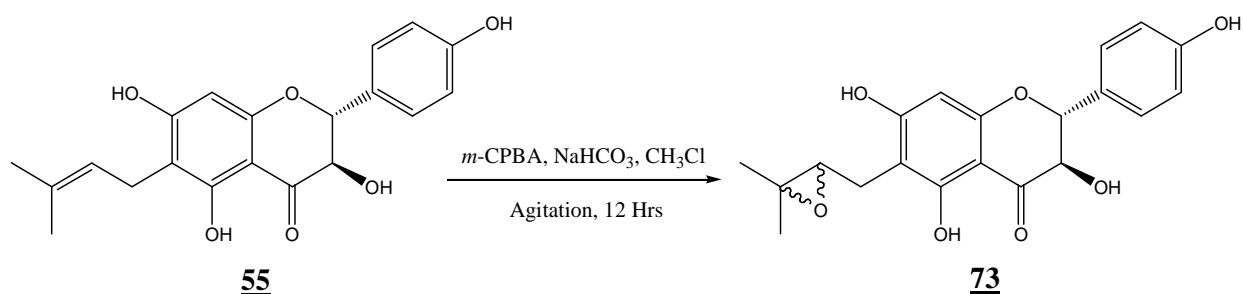


## II.2.4- Epoxydation

L'époxydation est une réaction d'addition qui conduit à la formation d'oxacycloalcanes (nomenclature systématique) plus souvent abrégé en oxirane (oxocyclopropane) à partir des alcènes en présence de peracide. Les peracides couramment utilisés sont : l'acide *mé*ta-chloroperbenzoïque, l'acide trifluoroperacétique, parce que très stables et facilement manipulables.

### II.2.4.1- Époxydation du composé FTBR-10 (shutérine)

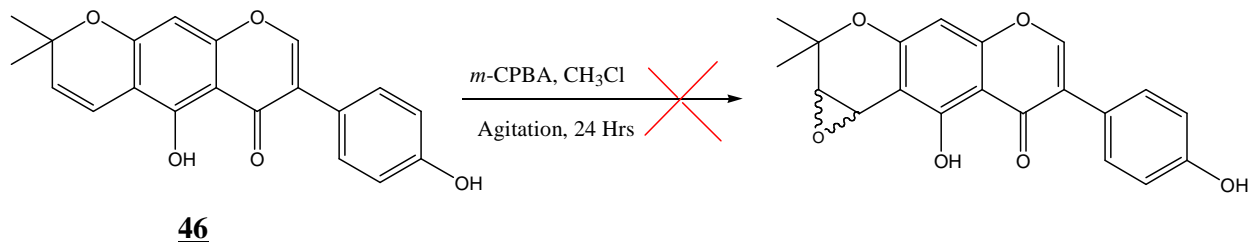
Le siège de la réaction d'époxydation est la double liaison  $\Delta^{2''-3''}$ . Le composé **56** traité avec le *m*-CPBA, en présence du bicarbonate de sodium dans le dichlorométhane a conduit à la formation d'un mélange équimolaire de deux oxiranes stéréo-isomères, mélange que nous n'avons pas pu séparer.



La formation du dérivé époxyde a été confirmée par la disparition sur le spectre de RMN  $^1\text{H}$  du composé **55** du signal du proton oléfinique [ $\delta_{\text{H}}$  5,12 (1H, t,  $J = 7,0$  Hz)] et l'apparition d'un signal additionnel du proton d'oxyméthine à  $\delta_{\text{H}}$  2,81 (1H, t).

### II.2.4.2- Tentative d'époxydation du composé FTF-19 (Alpinumisoflavone)

Traiter dans les mêmes conditions que la shutérine (**55**), la réaction d'époxydation n'a pas eu lieu avec l'alpinumisoflavone (**46**).



## II.3. ACTIVITES BIOLOGIQUES DES EXTRAITS ET DE QUELQUES COMPOSES PURS ISOLES

### II.3.1- Introduction

Les maladies infectieuses constituent un véritable problème de santé publique, elles représentent la principale cause des taux de mortalité élevés enregistrés dans les pays en développement où la majeure partie de la population a un accès très limité aux soins de santé adéquats ; alors, que dans les pays industrialisés, les résistances aux antibiotiques existants se développent de façon alarmante (OMS, 2014). Ces situations engendrent un besoin sans cesse croissant de trouver de nouveaux remèdes pouvant agir soit directement en tuant les agents pathogènes ou en inhibant leur croissance, soit indirectement en inhibant les mécanismes de résistance, augmentant, voire restaurant ainsi l'activité des antibiotiques. Face à ce problème, la recherche perpétuelle de nouveaux antibiotiques devient une priorité pour les chercheurs, dans l'espoir de trouver de nouvelles drogues efficaces susceptibles de remplacer celles contre lesquelles les phénomènes de résistances pourraient être complètement bannis. Les plantes médicinales constituent une source potentielle de ce type de composés.

C'est dans cette optique que, nous avons évalué les propriétés antimicrobiennes, antioxydantes et antibutyrylcholinestérases des extraits et des composés purs isolés de *Ficus thonningii* et *Ficus pumila*, dans le double but de confirmer leur grande utilisation thérapeutique et de mettre en exergue de nouvelles vertus potentielles.

### II.3.2- Résultats et discussion

Certains des composés isolés ont fait l'objet d'études concernant leurs activités biologiques. Comme cela a été décrit dans la partie bibliographique, les flavonoïdes au sens large possèdent de nombreuses activités dues en particulier à leur potentiel antioxydant, à leurs éventuelles propriétés estrogéniques, ainsi qu'à leur rôle de phytoalexines chez les plantes. Ces études présentées ici reflètent assez bien cette diversité et permettent de dresser un bilan des activités déjà connues des composés isolés, avant de poursuivre sur l'évaluation biologique de ceux-ci isolés lors de ce travail de thèse

Le tableau XXXIII liste les activités pharmacologiques qui ont été démontrées jusqu'à présent. Ces études ont démontré une activité anti-inflammatoire, antitumorale, anticancéreuse, antioxydante entre autres.

**Tableau XXXIII:** Quelques propriétés biologiques répertoriées des composés isolés connus

Composés (num)	Activités biologiques évaluées	IC <sub>50</sub>	Références
<b>Coumarines</b>			
Aviprine (40)	Antioxydante Antiproliférative Antibactérienne	0,54 mg/mL 0,4 mg/mL 0,270 mg/mL	Zahri <i>et al.</i> , 2012 Razavi et Zarrini, 2010
Psoralène (39)	Antiinflammatoire	COX-2 (88%)	Kim <i>et al.</i> , 2006
<b>Flavonoïdes</b>			
Afzélechine (35)	Antibactérienne	1 – 2,5 mg / mL	Awolola <i>et al.</i> , 2014
Alpinumisoflavone (46)	Oestrogénique Antioxydante	- 8,3 ± 1,4 µg/mL	Magne <i>et al.</i> , 2012 Rahman <i>et al.</i> , 2010
Aromadendrine (54)	Antiinflammatoire	107,3 ± 1 µg/mL	Vendetti <i>et al.</i> , 2013
Catéchine (36)	Antifeedante	30,9 %	Qi <i>et al.</i> , 2003
Conrauiflavonol (56)	Antimicrobienne	≤ 128 mg/mL LD <sub>50</sub> 45,1 µg/mL	Kengap <i>et al.</i> , 2011 Awantu <i>et al.</i> , 2011
Dihydroquercétine (58)	Inhibitrice de la lipase pancréatique Antileishmaniose	15,4 ± 0,8 µM 11.80 µM	
Hydrate de lupiwightéone (49)	Antiplasmodiale	248,3 ± 0,7 µM	Bankeu <i>et al.</i> , 2011
Lutéone (53)	Antifongique		Tahara <i>et al.</i> , 1984
Naringénine (34)	Antimycobactérienne Antivirale	≤ 2,8 µg/mL ≥1000 µg/mL	Li-Wen <i>et al.</i> , 2010 Kevian <i>et al.</i> , 2011
Rutine (37)	Antivirale Antioxydante Antiinflammatoire Antioedémateuse Antithrombotique Antihypotensive Spasmolytique Antihémorragique	CC <sub>50</sub> 83 µg/mL 19,1 ± 0,90 µM 62,4 %	Kevian <i>et al.</i> , 2011 Nawal <i>et al.</i> , 2011
Wightéone (48)	Antiplasmodiale Antifongique	58,95 ± 0,5 µM 198,15 ± 0,7µM	Bankeu <i>et al.</i> , 2011 Shaopeng <i>et al.</i> , 2012
<b>Ionone</b>			
Bluménol A (44)	Antitumorale	11,3 - 24,3 µg/mL	Xiaoxi <i>et al.</i> , 1999
<b>Dérivé de l'acide benzoïque</b>			
Acide vanilique (45)	Antiulcéreuse	-	Su-jin <i>et al.</i> , 2010
<b>Monoterpène</b>			
<i>p</i> -menthane-3,6-diol (63)			
<b>Triterpènes</b>			
Acétate de lupéol (61)	Antiinflammatoire Antioxydante	36,1 ± 2,2 µg/mL 3,1 ± 0,4 µg/mL	Lucetti <i>et al.</i> 2010
Friedéline (60)	Antimycobactérienne Cytotoxique	MIC 4,9 µg/mL LC50 5,8 µg/mL	Abdullahi <i>et al.</i> , 2011

En corrélation avec ces différents usages traditionnels, les classes et les structures des métabolites secondaires isolés, nous avons entrepris d'évaluer le potentiel antioxydant, antimicrobien et l'inhibition des cholinestérases.

### II.3.2.1- Activité antimicrobienne

On désigne par agent antimicrobien tout agent chimique, physique ou biologique inhibant la croissance et/ou la survie des micro-organismes (Asada *et al.*, 1998). Ces substances ayant une affinité pour les cellules des parasites et un pouvoir de les tuer plus fort que les dommages qu'elles causent à l'organisme, avec pour conséquence possible la destruction des parasites sans perturbation sérieuse de l'organisme (Perry *et al.*, 2002).

Pour agir, ces substances peuvent soit inhiber la synthèse de la paroi bactérienne (les pénicillines), soit inhiber la synthèse protéique (Gentamicine), soit influencer sur les acides nucléiques (les sulfamides) ou sur la fonction membranaire (les polymyxines) (Meli, 2004 ; Tangmouo, 2006).

Cependant, une étude a montré que les microorganismes développent des résistances contre ces substances, et sous plusieurs formes entre autre :

- la destruction ou l'inactivation enzymatique de l'antibiotique (lactamase) ;
- la modification des structures cibles (erythromycine) ;
- l'émergence d'un cycle métabolique nouveau ou de nouvelles enzymes (sulfamides) ;
- le changement de la para mobilité des parois (tétracyclines) (Meli, 2004 ; Tangmouo, 2006).

Six espèces de microorganismes pathogènes "modèles" comme témoins d'efficacité constitués de cinq bactéries aérobies facultatives dont une Gram négative (*Staphylococcus aureus*, isolée d'échantillons d'urine et de pus provenant de patients de l'Hôpital de la *Cameroon Development Corporation* de Tiko) et quatre Gram positives (*Escherichia coli*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Providencia stuartii*, et *Proteus vulgaris*) toutes obtenues à partir d'échantillons d'urine et de selles recueillies auprès de patients de l'Hôpital de la *Cameroon Development Corporation* de Tiko), et une levure (*Candida albicans* isolée à partir du frottis vaginal).

L'activité antimicrobienne du genre *Ficus* est bien documenté (Kuete *et al.*, 2008; Kuete *et al.*, 2009; Mandal *et al.*, 2000). Les extraits au méthanol de diverses parties de *F. thonningii* et *F. pumila*, certains composés isolés, ainsi que les produits d'hémisynthèse ont été évalués *in vitro* contre les souches de parasites ci-dessus citées. Les résultats sont consignés dans le tableau ci-dessous.

**Tableau XXXIV:** Activités antimicrobiennes des extraits et de quelques composés isolés

	CMI et CMB (mg/ml)											
	<i>Escherichia coli</i>		<i>Proteus vulgaris</i>		<i>Providencia stuartii</i>		<i>Pseudomonas aeruginosa</i>		<i>Staphylococcus aureus</i>		<i>Candida albicans</i>	
<b>Extraits</b>												
<b>FTEF</b>	31,25	62,5	31,25	62,5	125	125	31,25	62,5	31,25	31,25	31,25	62,5
<b>FTBR</b>	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
<b>FPEF</b>	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
<b>FPEfe</b>	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
<b>FPE</b>	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
<b>Composés purs</b>												
<b>DHQ</b>	0,625	1,25	0,625	1,25	0,625	1,25	-	-	0,625	1,25	0,625	1,25
<b>Conrauflavonol (56)</b>	0,625	1,25	0,312	1,25	-	-	0,312	0,625	0,625	1,25	-	-
<b>Shutérine (55)</b>	0,625	1,25	0,312	1,25	-	-	0,312	0,625	0,625	0,625	-	-
Gentamicine <sup>a</sup>	0,00078	0,00078	0,00156	0,00156	0,025	0,05	0,00625	0,00625	0,00312	0,00312		
Fluconazole <sup>a</sup>											0,025	0,025

<sup>a</sup> Molécule de référence ■

Molécules actives ■

FTEF : *F. thonningii* extrait de figes

FTBR : *F. thonningii* extrait du bois des racines

FPEF : *F. pumila* extrait de figes

FPEfe : *F. pumila* extrait des feuilles

FPE : *F. pumila* extrait des lianes

CMI : Concentration Minimale Inhibitrice

CMB : Concentration Minimale Bactéricide

(n.t) : non testé ; (n.d) : non déterminé

(-) : pas actif □ (+) : actif ■

L'activité antimicrobienne de l'extrait éthanolique des feuilles (CMI 23 - 94 µg/mL) et celle de l'extrait aqueux des écorces du tronc (CMI 1,25 mg/mL) de *F. thonningii* ont été évaluées précédemment respectivement par Kone *et al.* (2004) et Usman *et al.*, (2009) sur des souches similaires. A notre connaissance celles des extraits méthanoliques des racines et des figes sont reportées ici pour la toute première fois.

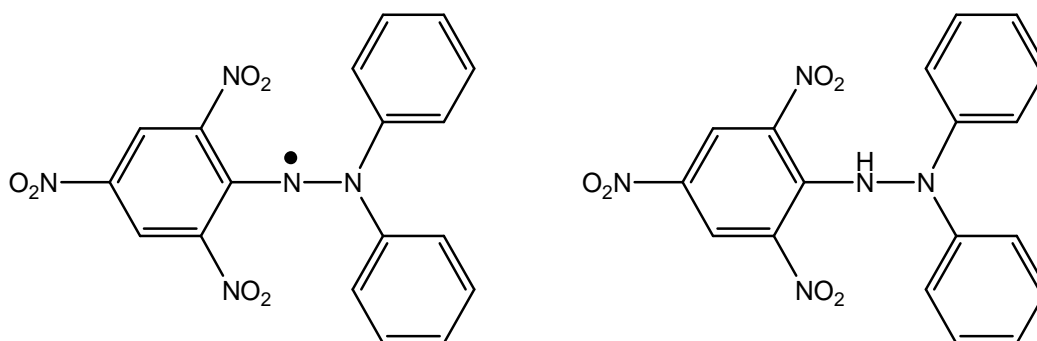
Il ressort du tableau XXXIII que l'extrait méthanolique de figes de *F. thonningii* est actif contre *Escherichia coli*, *Proteus vulgaris*, *Providencia stuartii*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Staphylococcus aureus* et *Candida albicans* avec une concentration minimale bactéricide variant de 31,3 à 125 mg/ml alors que l'extrait de racines est inactif.

Trois des composés isolés à savoir **55** (shutérine), **56** (conrauflavonol) et **58** (taxifoline) sont actifs avec des CMI variant entre 0,31 à 1,25 mg/mL sur les micro-organismes testés.

Cependant, *Providencia stuartii* et *Candida albicans* sont résistants à la conrauiflavonol (**56**) et à la shutérine (**55**), tandis que *Pseudomonas aeruginosa* est résistant à la taxifoline (**58**). La concentration microbicide minimale (CMM) déterminée sur les mêmes souches est soit égale, soit double de la CMI indiquant un mode d'action des molécules microbicide. Comparativement aux molécules de référence (gentamicine et nystatine), nous pouvons considérer les activités obtenues comme modérées, car elles sont environ 10 à 100 fois inférieures aux standards. Cette activité est cependant très intéressante compte tenu de la nature de la résistance des micro-organismes testés. *Providencia stuartii* est réputé causer des infections urinaires nosocomiales, les infections et les blessures des voies respiratoires; tandis que *P. aeruginosa* est généralement responsable de la gastro-entérite, pulmonaire, et des infections des voies urinaires (Dangarembizi *et al.*, 2013).

### II.3.2.2- Activité antioxydante ou antiradicalaire

Le radical DPPH est un radical organique libre et stable, avec une bande maximale d'absorption entre 515-528 nm. Dans cet essai les antioxydants réduisent et décolorent le radical DPPH, en un composé jaune le diphényl picryl hydrazine, l'ampleur de la réaction dépendra de la capacité des antioxydants à donner des atomes d'hydrogène (Ardestani et Yazdanparast, 2007).



Diphénylpicrylhydrazyl (radical libre)

Diphénylpicrylhydrazyl (non radical)

**Schéma 19:** Forme libre et réduite du DPPH

Les résultats peuvent être exprimés soit comme pourcentage de l'activité antiradicalaire, soit en pourcentage de DPPH restant, ou également exprimés en utilisant le paramètre  $CI_{50}$ , qui est défini comme la concentration du substrat qui cause une perte de 50% de l'activité de DPPH (Markowicz *et al.*, 2007). Les résultats sont consignés dans le tableau XXXV.

**Tableau XXXV:** Activité antiradicalaire des extraits et de quelques composés isolés

Codes	DPPH, Activité antiradicalaire (% d'inhibition)		
	1 %	0.5 %	0.1 %
<b>FTEF</b>	90,63 ± 0,23	45,21 ± 0,14	33,60 ± 0,11
<b>FTER</b>	81,26 ± 0,14	75,20 ± 0,21	68,30 ± 0,34
<b>FTBR</b>	74,60 ± 0,19	37,10 ± 0,14	26,10 ± 0,12
<b>FTET</b>	63,30 ± 0,18	51,20 ± 0,39	30,10 ± 0,21
<b>FTBT</b>	64,70 ± 0,15	45,90 ± 0,15	30,20 ± 0,19
<b>FPF<sub>e</sub></b>	93,82 ± 0,26	81,20 ± 0,51	70,32 ± 0,40
<b>FPEF</b>	59,22 ± 0,31	29,50 ± 0,14	(-)
<b>FPE</b>	82,30 ± 0,32	70,10 ± 0,81	66,39 ± 0,15
Codes	DPPH, Activité antiradicalaire CI <sub>50</sub> (µM)		
<b>Afzélechine (35)</b>	38,84 ± 0,43		
<b>Catéchine (36)</b>	49,30 ± 0,52		
<b>β-isolutéone (50)</b>	8,81 ± 0,19		
<b>Rutine (37)</b>	37,2 ± 0,21		
<b>Taxifoline (58)</b>	48,7 ± 0,21		
<b>Thonningiisoflavone (52)</b>	65,50 ± 0,442		
<b>Hydroxyalpinumisoflavone (47)</b>	68,20 ± 0,21		
<b>BHA<sup>a</sup></b>	44,20 ± 0,32		

<sup>a</sup> Molécule de référence ■

Molécules actives ■

FTEF : *F. thonningii* extrait de figes

FTBR : *F. thonningii* extrait du bois des racines

FPEF : *F. pumila* extrait de figes

FPE<sub>e</sub> : *F. pumila* extrait des feuilles

FPE : *F. pumila* extrait des lianes

FTER : *F. thonningii* extrait écorces des racines

FTBT : *F. thonningii* extrait du bois du tronc

FTET : *F. thonningii* extrait des écorces du tronc

(n.t) : non testé ; (n.d) : non déterminé

(-) : pas actif  (+) : actif

Tous les extraits testés ont montré une bonne activité antiradicalaire en piégeant les radicaux DPPH avec des pourcentages d'inhibition variant entre 26,10 ± 0,12 et 93,82 ± 0,26 %. L'extrait des feuilles de *F. pumila* a montré l'activité la plus élevée aux trois concentrations différentes, suivi de l'extrait des figes de *F. thonningii*, contrairement à l'extrait méthanolique des figes de *F. pumila* qui s'est révélée être le moins actif. L'activité antioxydante observée chez ces extraits pourrait expliquer leurs usages traditionnels dans le traitement des plaies. En

effet, les espèces réactives de l'oxygène, produites notamment au niveau des sites inflammatoires, sont connues pour retarder la guérison des plaies par leurs effets néfastes sur les cellules et les tissus. Il a été démontré que l'application locale de composés capteurs de radicaux libres améliore significativement la guérison des plaies en protégeant les tissus des dommages oxydatifs. Cette activité serait due aux taux élevés de flavonoïdes et stilbènes que contiennent les extraits des plantes du genre *Ficus* (Ronsted *et al.*, 2008 ; Usman *et al.*, 2009 ; Dangarembizi *et al.*, 2013).

De tous les composés soumis à ce test, seuls les flavonoïdes ont montré une activité antiradicalaire. L'afzélechine (FPE-9,  $CI_{50} = 38,84 \pm 0,43 \mu M$ ), la rutine (FPFE-5,  $CI_{50} = 37,2 \pm 0,21 \mu M$ ), la catéchine (FPE-10,  $CI_{50} = 49,30 \pm 0,52 \mu M$ ), et la dihydroquercétine (FTF-41-5,  $CI_{50} = 48,7 \pm 0,21 \mu M$ ) ont développé une activité antioxydante proche de celle de la référence, le BHA ( $CI_{50} = 44,20 \pm 0,32 \mu M$ ). Le composé le plus actif de cette série est le  $\beta$ -isolutéone (FTF-41-3) isolé pour la première fois de source naturelle, avec une  $CI_{50} = 8,81 \pm 0,19 \mu M$ , est six fois plus actif que la référence. Cette valeur élevée est due à la présence au sein de sa structure d'un groupe cétonique chélaté, des hydroxyles phénoliques et de la double liaison 2-3 dans le cycle C du noyau isoflavone, ce qui accroît l'activité antioxydante en accord avec la relation structure-activité (Afanas'ev *et al.*, 2001 ; Sroka *et al.*, 2005 ; Khlebnikov, 2007 ; Mercader *et al.*, 2008 ; Wolfe et Liu, 2008).

Ces résultats révèlent que tous les extraits testés ainsi que quelques composés isolés sont des composés anti-radicalaires.

### **II.3.2.3- Activité anticholinestérase (acétylcholinestérase et butyrylcholinestérase)**

Dans la perspective de découvrir de nouveaux composés pouvant trouver une application notamment dans le traitement de la maladie d'Alzheimer (MA), nous avons réalisé les tests d'activité anticholinestérase (AChE) et antibutyrylcholinestérase (BChE) sur les extraits méthanoliques des organes (feuilles, figes, racines et écorces de tronc) de *F. thonningii* et de *F. pumila*, ainsi que sur une dizaine de composés isolés de ces extraits. L'ésérine et la galantamine ont été utilisés comme contrôles positifs dans le test d'inhibition des cholinestérases. L'action thérapeutique des inhibiteurs des cholinestérases est essentiellement due à l'inhibition de l'acétylcholinestérase au niveau central du cerveau. Les résultats obtenus sont consignés dans le tableau XXXVI.



**Tableau XXXVI:** Activité anticholinestérase des extraits et de quelques composés isolés (100  $\mu$ M)

Composés	CI <sub>50</sub> $\pm$ SEM <sup>a</sup> ( $\mu$ M)	
	AChE	BChE
<b>FTEF</b>	-	-
<b>FTER</b>	-	-
<b>FTBR</b>	-	-
<b>FTET</b>	-	-
<b>FTBT</b>	-	-
<b>FPF<sub>e</sub></b>	-	-
<b>FPEF</b>	-	-
<b>FPE</b>	-	-
Alpinumisoflavone ( <b>46</b> )	-	34,1 $\pm$ 0,2
Aviprine ( <b>40</b> )	-	53,5 $\pm$ 0,9
Lupiwitheone hydrate ( <b>49</b> )	-	82,3 $\pm$ 0,6
Eserine <sup>b</sup>	0,04 $\pm$ 0,0001	0,82 $\pm$ 0,001
Galantamine <sup>b</sup>	81,4 $\pm$ 1,0	75,5 $\pm$ 1,1

<sup>a</sup> Erreur moyenne calculée sur cinq essais    <sup>b</sup> Molécule de référence ■    Molecules actives ■

FTEF : *F. thonningii* extrait de figues

FTBR : *F. thonningii* extrait du bois des racines

FPEF : *F. pumila* extrait de figues

FPE<sub>e</sub> : *F. pumila* extrait des feuilles

FPE : *F. pumila* extrait des lianes

FTER : *F. thonningii* extrait des écorces des racines

FTBT : *F. thonningii* extrait du bois du tronc    FTET : *F. thonningii* extrait des écorces du tronc

(n.t) : non testé ;    (n.d) : non déterminé ;    (-) : pas actif     (+) : actif

Il ressort du tableau XXXV que tous les extraits testés n'inhibent pas les cholinestérases. Néanmoins, trois des composés isolés de ces extraits ont une bonne activité inhibitrice de la butyrylcholinestérase mais pas contre l'acétylcholinestérase. Les composés (**46**, alpinumisoflavone) et (**49**, hydrate de lupiwightéone) sont des isoflavonoïdes isolés des figues de *F. thonningii*, et le composé (**40**, aviprine) une coumarine isolée des lianes de *F. pumila*.

Mukherjee *et al.* (2007) ont rapporté une bonne activité anticholinestérasique de *Cynanchum atratum* (Asclepiadaceae) et *Origanum majorana* (Lamiaceae) due respectivement aux glycosides et aux flavonoïdes. Certains travaux scientifiques citent les alcaloïdes, terpènes,

glycosides, les composés phénoliques et coumarines comme des composés pourvus de propriétés anticholinestérasiques (Koné, 2009 ; Ibrahim *et al.*, 2013 ; kang *et al.*, 2001 ; Karami *et al.*, 2010 ; Anand *et al.*, 2012).

Malgré le fait que la revue bibliographique ne confirme pas l'utilisation de *Ficus thonningii*, encore moins celle d'autres plantes du genre dans le traitement de la maladie d'Alzheimer (MA), les résultats obtenus sont très encourageants et pourraient constituer une base dans la recherche de phytomédicaments contre cette maladie.

---

## **CONCLUSION ET PERSPECTIVES**

---

Le présent travail avait pour objectif l'étude phytochimique et l'évaluation de l'activité antimicrobienne, antioxydante, et l'inhibition des cholinestérases aussi bien des extraits totaux, que ceux des métabolites secondaires de *F. pumila* Linn et *F. thonningii* Blume, deux plantes médicinales camerounaises de la famille des Moraceae. Ces plantes ont été choisies d'une part en raison de leurs divers usages en médecine conventionnelle, et sur les données chimio-taxonomiques existantes sur le genre *Ficus*.

Cette étude a abouti du point de vue phytochimique, à l'isolement, la purification de vingt-neuf composés entièrement caractérisés. Ils appartiennent à sept classes principales de métabolites secondaires à savoir:

- ✓ Dix-sept flavonoïdes parmi lesquels deux dérivés nouveaux auxquels les noms triviaux de thonningiol et thonningiisoflavone ont été assignés. Les quinze autres sont connus, il s'agit de : l'afzéléchine, l'alpinumisoflavone, l'aromadendrine, la  $\beta$ -isolutéone (isolée pour la première fois de source naturelle), la catéchine, le conraui flavonol, la dehydroferreirine, la dihydroquercétine, l'hydrate de lupiwightéone, l'hydroxyalpinumisoflavone, la lutéone, la naringénine, la shutérine, la quercétine-3-rutinoside et la wightéone.

- ✓ Quatre triterpènes pentacycliques (04) : l'acétate de  $\beta$ -amyrine, l'acétate de lupéol, la friedéline et l'hexanoate de lupéol.

- ✓ Trois coumarines (03) : l'aviprine, le bergaptène et le psoralène.

- ✓ Deux phytostérols (02) : le mélange de  $\beta$ -sitostérol et de stigmastérol, et le 3 $\beta$ -O-glucopyranoside.

- ✓ Un monoterpène : le *p*-menthane-3,6-diol.

- ✓ Une ionone : le blumenol A.

- ✓ Un dérivé de l'acide benzoïque : l'acide vanillique.

Du point de vue de l'hémisynthèse, dans le but d'initier, et/ou de confirmer la relation structure-activité, des dérivés ont été préparés par modification structurale de certains composés isolés. La shutérine a conduit par acétylation à la formation de deux dérivés nouveaux respectivement di- et triacétylés. Une réaction d'époxydation sur le même composé a conduit à l'obtention d'un mélange de stéréoisomères nouveaux d'époxydes. Cinq esters et un tétraallyle de catéchine tous nouveaux, ont également été préparés par réactions chimiques.

La détermination de structures de tous ces composés a été rendue possible grâce à une analyse de leurs données spectrales (RMN 1- et 2-D, masse).

Du point de vue biologique, tous les extraits, certains des composés isolés ainsi que les produits de réaction ont été évalués *in vitro*, pour leur potentiel antimicrobien sur six souches

de microorganismes (modèles pathogènes), pour leur pouvoir antioxydant, ainsi que pour leurs inhibitions des cholinestérases.

✓ L'extrait méthanolique des figes de *F. thonningii* a été actif contre *Escherichia coli*, *Proteus vulgaris*, *Providencia stuartii*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Staphylococcus aureus* et *Candida albicans* avec une concentration minimale bactéricide variant de 31,3 à 125 mg/ml. De plus trois des composés isolés à savoir **55** (shutérine), **56** (conrauiflavonol) et **58** (taxifoline) sont actifs avec des CMI variant entre 0,31 à 1,25 mg/mL sur les micro-organismes testés.

✓ Tous les extraits testés ont été piégés le DPPH avec des pourcentages d'inhibition variant entre  $26,10 \pm 0,12$  et  $93,82 \pm 0,26$  %. L'extrait des feuilles de *F. pumila* a montré l'activité la plus élevée aux trois concentrations différentes, suivie de l'extrait des figes de *F. thonningii*, contrairement à l'extrait méthanolique des figes de *F. pumila* qui s'est révélé être la moins active. Quatre flavonoïdes à savoir **35** [afzélechine ( $38,84 \pm 0,43$   $\mu\text{M}$ )], **37** [rutine ( $37,2 \pm 0,21$   $\mu\text{M}$ )], **36** [catéchine ( $49,30 \pm 0,52$   $\mu\text{M}$ )], et **58** [taxifoline ( $48,7 \pm 0,21$   $\mu\text{M}$ )] ont présenté une activité antiradicalaire modérée, proche de celle de la référence, le BHA ( $44,20 \pm 0,32$   $\mu\text{M}$ ). Le composé le plus actif de cette série est le  $\beta$ -isolutéone (**50**) isolé pour la première fois de source naturelle, avec une  $\text{CI}_{50} = 8,81 \pm 0,19$   $\mu\text{M}$ , six fois plus active que la référence.

✓ Tous les extraits testés n'inhibent pas les cholinestérases. Néanmoins, trois des composés [**46** (alpinumisoflavone) et **49** (lupiwitheone hydrate) tous deux des isoflavonoïdes isolés des figes de *F. thonningii*, et le composé **40** (aviprine) une coumarine isolée des lianes de *F. pumila*] ont une bonne activité inhibitrice contre la butyrylcholinestérase mais pas contre l'acétylcholinestérase.

Il ressort de ces travaux qu'au delà de leurs usages reportés par nos travaux et ceux qui précèdent, que *F. pumila* et *F. thonningii* largement utilisés dans le traitement de maladies infectieuses et métaboliques, seraient dues à la présence dans ces espèces de flavonoïdes et de coumarines doués d'activités biologiques intéressantes.

De plus, malgré le fait que la littérature ne mentionne pas l'utilisation de *F. thonningii*, et encore moins celle d'autres espèces du genre dans le traitement de la maladie d'Alzheimer (MA), les résultats obtenus sont encourageants et pourraient constituer une base dans la recherche de phytomédicaments contre cette maladie.

Au vu des résultats obtenus dans ce travail, nous pouvons estimer que les objectifs que nous nous sommes assignés ont été globalement atteints.

Nous envisageons dans nos futures investigations de :

- ✓ Poursuivre l'élucidation structurale des trois autres composés isolés encore à l'étude ;
- ✓ Soumettre les composés isolés à d'autres tests biologiques ;
- ✓ Procéder à l'étude de la relation structure activité des métabolites de même classe pour une même activité biologique ;
- ✓ Etudier la cytotoxicité des tous les extraits ainsi que celle des composés isolés ;
- ✓ Poursuivre l'étude phytochimique sur les feuilles et les figes de *F. pumila*, puis sur les feuilles de *F. thonningii* ;
- ✓ Poursuivre les tests biologiques sur les composés issus de l'hémisynthèse en relation avec leur caractère lipophile.
- ✓ Parcourir la littérature et élaborer un nouveau schéma d'hémisynthèse, des macromolécules de thiazoles (thiazoles à base de flavonoïdes), à partir des flavonoïdes naturels, compte tenu des diverses activités biologiques reconnues aux thiazoles.



**CHAPITRE III- MATERIELS ET  
METHODES**



### **III.1- GENERALITES**

#### **III.1.1- Techniques chromatographiques**

L'obtention des composés s'est faite grâce aux techniques chromatographiques, à savoir : la chromatographie flash, la chromatographie sur colonne et la CCM.

##### **III.1.1.1- Chromatographie sur couche mince**

Les chromatographies analytiques sur couche mince ont été effectuées sur des plaques de gel de silice 60 F<sub>254</sub> (Merck, 20 cm × 20 cm) sur feuilles d'aluminium de 0,2 mm d'épaisseur, ou SIL G/UV<sub>254</sub> (POLYGRAM, 40 x 80 mm) sur feuilles de plastique de 0,2 mm d'épaisseur. Les plaques de CCM ont été révélées, soit par utilisation de la lumière ultra violette (254 et 366 nm), soit par traitement (pulvérisation) avec une solution du révélateur, qui peut être soit une solution d'acide sulfurique diluée à 50 % ou une solution d'anisaldéhyde sulfurique [(H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>-MeOH-H<sub>2</sub>O, 1:85:14) et 4-méthoxybenzaldéhyde], 99:1}, ou encore une solution de sulfate de cérium [Solution saturée de sulfate de cérium (10 %) dans l'acide sulfurique (15 %) et 75 % (eau + glace)], de vanilline (1g de vanilline en poudre dissous dans 100 ml d'éthanol, y ajouter goutte à goutte 2 ml d'acide sulfurique concentré), une solution du réactif de Neu (flavonoïdes) suivi d'un chauffage à l'étuve.

##### **III.1.1.2 Chromatographie sur colonne**

Pour les chromatographies flash et sur colonne, le gel de silice de granulométrie 70 - 230  $\mu\text{m}$  ou 230 - 400  $\mu\text{m}$  (Merck) a été utilisé comme phase stationnaire. Le diamètre de la colonne et la hauteur de la silice ont été choisis en fonction de la quantité d'extrait ou de produit à traiter.

##### **III.1.1.3 Chromatographie préparative sur plaque de verre**

Elle a été faite sur des plaques commerciales Merck 60 F<sub>254</sub> en verre (épaisseur de silice 0,25 mm). Afin de séparer les mélanges, ces plaques ont été correctement séchées à l'étuve à 110 °C pendant une heure. Le mélange de produit a été déposé sur les plaques, puis élué dans le système de solvant approprié. Les bandes renfermant les produits et les composés ont ensuite été grattées, et dissoutes dans le solvant requis. La solution a été ensuite filtrée et chromatographiée pour éliminer la silice.

#### **III.1.2- Méthodes physico-chimiques et appareillage**

##### **III.1.2.1- Spectres de masse**

Les spectres de masse en impact électronique (énergie d'ionisation : 70 eV) basse et haute résolution ont été obtenus sur des spectromètres de types JOEL JMS-600H.



### **III.1.2.2- Résonance Magnétique Nucléaire (RMN)**

Les spectres de RMN  $^1\text{H}$  et  $^{13}\text{C}$  ont été enregistrés sur des appareils Bruker Avance AV-500 MHz opérant à 500 MHz ( $^1\text{H}$ ) et 125 MHz ( $^{13}\text{C}$ ), Bruker Avance AV-600 MHz à 600 MHz ( $^1\text{H}$ ) et à 150 MHz ( $^{13}\text{C}$ ). Les produits ont été dissous dans du chloroforme, du méthanol, du diméthylsulfoxyde ou de la pyridine deutériés. Les déplacements chimiques  $\delta$  sont exprimés en ppm en prenant comme référence interne dans tous les cas, le tétraméthylsilane (TMS). Les constantes de couplage ( $J$ ) sont exprimées en Hertz (Hz).

### **III.1.2.3- Spectrométrie infrarouge**

Les spectres infrarouges ont été enregistrés sur un spectromètre de type Bruker-Vector 22 FTIR spectrophotometer ( $\nu_{\text{max}}$  en  $\text{cm}^{-1}$ ) en utilisant des disques de KBr.

### **III.1.2.4- Spectrométrie ultraviolette.**

Les spectres ultraviolets ont été enregistrés sur un spectrophotomètre de type Thermo Scientific Evolution 300 ( $\lambda_{\text{max}}$  en nm) en utilisant le méthanol ou le chloroforme comme solvants.

### **III.1.2.5- Pouvoir rotatoire.**

L'activité optique des composés a été mesurée sur des polarimètres JASCO J-810 CD spectrophotometer en solubilisant le produit dans le chloroforme ou le méthanol.

### **III.1.2.6- Point de fusion**

Les points de fusion ont été mesurés à l'aide de l'appareil Büchi (Büchi melting point M-560).

## **III.1.3- Tests de caractérisation chimique**

### **III.1.3.1- Test de Shinoda**

À une solution alcoolique de l'échantillon, ajouter quelques gouttes d'acide chlorhydrique concentré, puis quelques copeaux de magnésium. La présence des flavonoïdes se manifeste par une effervescence, suivie d'un changement de coloration qui peut être violette ou rouge brique.

### **III.1.3.2- Test au chlorure ferrique**

À une solution méthanolique de produit, ajouter quelques gouttes d'une solution de chlorure ferrique. La présence des phénols se manifeste par un changement de coloration suite à la formation d'un ion complexe  $[\text{Fe}(\text{ArO})_6]^{3-}$  de couleur violette ou bleue.

### **III.1.3.3- Test de Liebermann-Burchard**

Quelques milligrammes de produit sont dissous dans le dichlorométhane (1 mL) et à la solution obtenue, on ajoute quelques gouttes d'anhydride acétique, puis d'acide sulfurique concentré. Les terpénoïdes se manifestent par une coloration rouge violacé et les stérols donnent une coloration vert bleuâtre.

### **III.1.3.4- Test de Molish**

Dans un tube à essai, dissoudre quelques milligrammes de produit à l'aide d'une solution d'éthanol- $\alpha$ -naphtol 1 %. Laisser ensuite couler sur les parois du tube quelques gouttes d'acide sulfurique concentré. La présence des sucres se manifeste par l'apparition d'un anneau rouge violacé à l'interphase.

## **III.2- EXTRACTION ET ISOLEMENT DES COMPOSES**

### **III.2.1- Matériel végétal**

Les différentes parties (feuilles, lianes et fruits) de *Ficus pumila* ont été récoltées en août 2012 sur la barrière du lycée de Ngoa Ekélé, à Ngoa-Ekélé (Yaoundé, Région du Centre Cameroun). Celles de *F. thonningii* (écorces, bois du tronc, racines et figes) ont été récoltées en août 2012 à mile 05 Nkwen Bamenda (Région du Nord-Ouest Cameroun).

Les récoltes des plantes ont été faites par le Dr Banken Kezetas Jean Jules et moi-même, et les identifications par M. Nana Victor, botaniste à l'Herbier National du Cameroun où des spécimens ont été conservés et enregistrés sous les numéros suivants : HNC 49523 (*Ficus pumila*) et HNC 44042 (*Ficus thonningii*).

### **III.2.2- Extraction**

#### **III.2.2.1- Préparation des extraits de *Ficus pumila* Linn**

Les lianes, les feuilles et les figes de la plante ont été découpées, séchées puis broyées. Les poudres obtenues (2,6 kg des lianes, 3,6 kg des feuilles et 2,1 kg de figes) ont été extraites séparément au MeOH (2 x 5 L pour les lianes, 2 x 5 L pour les feuilles et 2 x 3L pour les figes) à température ambiante pendant 72 h. Après évaporation à l'évaporateur rotatif des différents filtrats, nous avons obtenu respectivement 284,6 g, 418,2 g et 208,6 g d'extraits (schéma 12).

#### **III.2.2.2- Préparation des extraits de *F. thonningii* Blume**

Les figes, les racines, les écorces et bois du tronc ont été découpées, séchées puis broyées. Les poudres obtenues (3,8 Kg de figes ; 2,3 Kg de racines ; 1,8 Kg d'écorces du tronc, et 3,2 Kg de bois du tronc) ont été extraites à température ambiante au MeOH (2 x 5L) pendant

72 heures. Les filtrats des différentes extractions ont été évaporés à l'évaporateur rotatif sous pression réduite, conduisant respectivement à 426,4 g ; 161,6 g ; 86,4 g ; et 124,6 g d'extrait (schéma 13 et 14) respectivement.

### III.2.3- Isolement des composés

#### III.2.3.1- Isolement des composés de l'extrait au méthanol des lianes de *F. pumila*.

L'extrait au méthanol des lianes (175,0 g) a subi un fractionnement par chromatographie flash en utilisant comme éluants des mélanges Hex / AE et AE / MeOH de polarités croissantes. 96 fractions de 500 mL chacune ont été collectées et regroupées sur la base des CCM analytiques en 7 grandes fractions indexées de F<sub>1</sub> à F<sub>7</sub>. L'étude des différentes fractions a conduit à l'isolement de 10 composés (Tableau XXXVII).

**Tableau XXXVII:** Chromatogramme de l'extrait au méthanol des lianes de *F. pumila*.

Eluant	Fractions	Remarques	Regroupement
Hex	1-11	Mélange de produits huileux	F <sub>1</sub> (5,14 g)
Hex-AE (3 : 1)	12-20	Mélange d'au moins 10 produits dont 3 fluorescents	F <sub>2</sub> (12,8 g)
Hex-AE (1 : 1)	21-26	Mélange d'au moins 8 produits dont 3 fluorescents	
	27-30	Mélange d'au moins 6 produits	F <sub>3</sub> (5,7 g)
Hex-AE (1 : 3)	31-32	Mélange d'au moins 6 produits	
	33-45	Mélange d'au moins 8 produits	F <sub>4</sub> (16,3 g)
AE	46-52	Mélange d'au moins 10 produits	
	53-60	Mélange complexe	F <sub>5</sub> (31,2 g)
AE-MeOH (9 : 1)	61-65	Mélange de composés complexe dont 2 fluorescents	
	66-70	Mélange de composés complexe dont 1 fluorescent	F <sub>6</sub> (27,7 g)
AE-MeOH (4 : 1)	71-75	Mélange d'au moins 7 produits	
	76-80	Mélange complexe + traînée	
	81-84	Mélange complexe + traînée	
MeOH	85-88	Mélange complexe	F <sub>7</sub> (42,4 g)
	89-92	Mélange complexe	
	92-96	Mélange complexe	

### III.2.3.1.1- Chromatographie de la fraction F<sub>1</sub>

La fraction F<sub>1</sub> a été dissoute dans un minimum de dichlorométhane et fixée sur la silice. Après évaporation complète du solvant, la poudre obtenue a été chromatographiée sur colonne de gel de silice. Les fractions de 50 mL recueillies, par élution au système Hex-AE de gradient de polarité croissante, ont été concentrées et regroupées sur la base des CCM analytiques. Les résultats sont consignés dans le tableau XXXVIII.

**Tableau XXXVIII:** Chromatogramme de la fraction F<sub>1</sub>.

Eluant	Fractions	Remarques
Hex	1-13	Mélange d'huiles
	14-26	Mélange d'huiles
	27-33	Mélange d'huiles + 2 produits fluorescents
Hex-AE (49:01cac)	34-41	Mélange d'au moins 3 produits dont 1 fluorescent
	42-46	Mélange d'environ 4 produits + traînées
	47-53	Mélange de 3 produits + traînées
	54-61	Mélange de 4 produits + traînées
	62-68	Mélange de 3 produits dont <b>FPE<sub>1</sub></b> qui cristallise + traînées
Hex-AE (24:01)	69-77	Mélange de 3 produits dont <b>FPE<sub>1</sub></b> qui cristallise + traînées
	78-86	Mélange de 5 produits dont <b>FPE<sub>1</sub></b> qui cristallise + traînées
	87-95	Mélange d'au moins 3 produits + traînées
	96-107	Mélange de 4 produits dont <b>FPE<sub>2</sub></b> qui cristallise + traînées
Hex-AE (93:07)	108-116	Mélange de plusieurs produits dont <b>FPE<sub>2</sub></b> qui cristallise + traînées
	117-126	Mélange de 4 produits + traînées
Hex-AE (9 : 1)	127-132	Mélange de plusieurs produits + traînées
	133-138	Mélange de plusieurs produits + traînées
Hex-AE (17 : 3)	139-146	Mélange de plusieurs produits dont <b>FPE<sub>4</sub></b> + traînées
	147-158	Mélange de 3 produits dont <b>FPE<sub>4</sub></b> + traînées
Hex-AE (4 : 1)	159-165	Mélange de plusieurs produits dont 2 fluorescents + traînées
	166-174	Mélange de plusieurs produits

Par filtration simple et purification:

- le composé FPE-1 (16 mg) a précipité sous forme d'aiguilles blanches dans les sous-fractions 67-77 et 78-86.

- Le composé FPE-2 (7 mg) a été obtenu sous forme de cristaux blancs des sous fractions 96-107 et 108-116, puis purifié sur colonne de gel de silice au mélange de solvant Hex-AE (24 : 01).
- Le composé FPE-4, aiguilles blanches (37 mg), a été filtré des sous-fractions 139-146 et 147-158.

### III.2.3.1.2- Purification de la fraction F<sub>2</sub>

La fraction F<sub>2</sub> a été dissoute dans de l'acétate d'éthyle et fixée sur la silice. Après évaporation complète du solvant, la poudre résultante est chromatographiée sur colonne de gel de silice. L'élution est faite avec le mélange Hex-AE de polarité croissante. Au terme de cette élution, un produit indexé FPE-5 (8 mg) a été obtenu par filtration simple. Il se présente sous forme de poudre blanchâtre dans le mélange Hex-AE (4 : 1). En plus des composés FPE-1 et FPE-4 obtenues précédemment de la fraction F<sub>1</sub>.

### III.2.3.1.3- Purification de la fraction F<sub>3</sub>

La fraction F<sub>3</sub> a été dissoute dans de l'acétate d'éthyle et fixée sur la silice. Après évaporation complète du solvant, la poudre résultante est chromatographiée sur colonne de gel de silice. Les fractions de 50 mL recueillies, par élution au système Hex-AE de gradient de polarité croissante, ont été concentrées et regroupées sur la base des CCM analytiques (tableau XXXIX).

**Tableau XXXIX:** Chromatogramme de la fraction F<sub>3</sub>.

Eluant	Fractions	Remarques
Hex-AE (4 : 1)	1-8	Mélange d'au moins 3 produits dont 1 fluorescent
	9-17	Mélange d'environ 4 produits dont 1 fluorescent
	18-23	Mélange de 4 produits dont <b>FPE-7</b> qui cristallise
Hex-AE (3 : 1)	24-28	Mélange de 3 produits dont 1 fluorescent
	29-38	Mélange de 5 produits dont 1 fluorescent
	39-51	Mélange de 5 produits dont 1 fluorescent + traînées
Hex-AE (13:7)	52-61	Mélange de 3 produits + traînées
	62-73	Mélange de plusieurs produits dont 1 fluorescent + traînées
Hex-AE (3 : 2)	74-78	Mélange de 4 produits dont <b>FPE-9</b> + traînées
	79-83	Mélange d'environ 5 produits + traînées
	84-91	Mélange de plusieurs produits + traînées

Hex-AE (1 : 1)	92-97	Mélange de plusieurs produits dont <b>FPE-10</b> + traînées
	98-103	Mélange de 3 produits dont <b>FPE-10</b> + traînées
Hex-AE (2 : 3)	104-109	Mélange de plusieurs produits dont 2 fluorescents + traînées
	110-116	Mélange de plusieurs produits

#### III.2.3.1.4- Purification de la fraction F<sub>4</sub>

La fraction F<sub>4</sub> a été dissoute dans le méthanol et fixée sur la silice. Après évaporation complète du solvant, la poudre résultante est chromatographiée sur colonne de gel de silice. Les fractions de 50 mL recueillies par élution au système Hex-AE de gradient de polarité croissante, ont été concentrées et regroupées sur la base des CCM analytiques (tableau XXXX).

**Tableau XXXX:** Chromatogramme de la fraction F<sub>4</sub>.

Eluant	Fractions	Remarques
Hex-AE (4 : 1)	1-12	Mélange de 3 produits dont 1 fluorescent
	13-21	Mélange de 5 produits dont 1 fluorescent
Hex-AE (3 : 1)	22-28	Mélange de 5 produits dont 1 fluorescent + <b>FPE-22-5</b>
	29-34	Mélange de 5 produits dont 1 fluorescent
	35-42	Mélange de 3 produits dont 1 fluorescent
Hex-AE (3 : 2)	43-48	Mélange de 4 produits dont 2 fluorescents
	49-55	Mélange de 5 produits dont 2 fluorescents
	56-63	Mélange de 3 produits dont 1 fluorescent + <b>FPE-22-5-10</b>
Hex-AE (1 : 1)	64-70	Mélange de plusieurs produits + traînées
	71-77	Mélange de plusieurs produits dont <b>FPE-10</b> + traînées
	78-83	Mélange de 5 produits dont 1 fluorescent + traînées
Hex-AE (2 : 3)	84-88	Mélange de plusieurs produits dont 1 fluorescent + traînées
	89-93	Mélange de 4 produits dont <b>FPE-11</b> + traînées
Hex-AE (3 : 7)	94-97	Mélange de 4 produits dont <b>FPE-11</b> + traînées

Les fractions [22-28], [56-63] sur la base de leur CCM ont été rechromatographiées.

##### - **Traitement de la fraction [22 - 28]**

La fraction [22 - 28] a été fixée sur de la silice et chromatographiée avec le système Hex-AcOEt (75:25) pour donner le composé FPE-22-5 (9 mg).

##### - **Traitement de la fraction [56 - 63]**

La fraction [56 - 63] a été fixée sur de la silice et chromatographiée avec le système Hex-AcOEt (13 : 07) pour donner FPE-22-10 (6 mg).

### III.2.3.2- Isolement des composés de l'extrait au méthanol des figes de *F. thonningii*.

420,0 g de l'extrait au méthanol des figes de *F. thonningii* ont été fixés sur la silice et fractionnés par chromatographie flash. L'élution s'est faite avec les mélanges Hex-DCM, puis DCM-MeOH de polarités croissantes. Un total de 160 fractions de 500 mL chacune ont été recueillies et regroupées sur la base de la CCM analytique (Tableau XXXXI) pour donner 8 fractions principales indexées de F<sub>1</sub> à F<sub>8</sub>.

**Tableau XXXXI:** Chromatogramme de l'extrait des figes de *F. thonningii*

Eluant	Fractions	Remarques	Regroupement
Hex	1-18	Mélange d'huiles	F <sub>1</sub> (10,6 g)
	19-32	Mélange d'huiles + traînées en fuseaux	
Hex-DCM (3 : 1)	33-56	Mélange d'au moins 10 produits dont 3 fluorescents	F <sub>2</sub> (6,8 g)
Hex-DCM (1 : 1)	57-70	Mélange d'au moins 5 produits dont 2 fluorescents	F <sub>3</sub> (11,2 g)
Hex-DCM (1 : 3)	71-86	Mélange d'au moins 7 produits + traînées	F <sub>4</sub> (14,3 g)
DCM	87-100	Mélange d'au moins 6 produits	F <sub>5</sub> (12,7 g)
DCM-MeOH (9 : 1)	100-109	Mélange d'au moins 7 produits	F <sub>6</sub> (24,4 g)
	110-120	Mélange d'au moins 7 produits	
DCM-MeOH (4 : 1)	130-140	Mélange complexe	F <sub>7</sub> (42,4 g)
	141-150	Mélange complexe	
DCM-MeOH (7 : 3)	151-160	Mélange complexe	F <sub>8</sub> (90,1 g)
MeOH	161-170	Mélange complexe	Lavage

#### III.2.3.2.1- Purification de la fraction F<sub>2</sub>

La fraction F<sub>2</sub> a été dissoute dans le méthanol et fixée sur la silice. Après évaporation complète du solvant, la poudre résultante est chromatographiée sur colonne de gel de silice. Les fractions de 50 mL recueillies, par élution au système Hex-AE de gradient de polarité croissante, ont été concentrées et regroupées sur la base des CCM analytiques puis consignées dans le chromatogramme ci-après.

**Tableau XXXXII:** Chromatogramme de la fraction F<sub>2</sub>

Eluants	Fractions	Remarques
Hex	1-14	Mélange d'huiles
Hex-AE (49:01)	15-35	Mélange d'huiles + 3 produits qui cristallisent
	36-56	Mélange de 3 produits qui cristallisent dans un mélange d'huile
Hex-AE (24:01)	57-68	Mélange d'huiles + 3 produits qui cristallisent
	69-81	Mélange de 3 produits qui cristallisent dans un mélange d'huile
Hex-AE (93:07)	57-72	Mélange d'huiles + traînée
Hex-AE (9 : 1)	73-86	Mélange d'huiles + traînée

**- Traitement du mélange des fractions [15-35], [36-56], [57-68] et [69-81].**

Ces quatre fractions ont été rassemblées, puis filtrées sous pression atmosphérique pour enlever un excès d'huile. Les cristaux recueillis ont été dissous dans le dichlorométhane et fixés sur de la silice, puis rechromatographiés deux fois avec le système Hex-AE (49 : 01) pour donner FTF-6 (20 mg), FTF-7A (12 mg) et FTF-17 (11 mg).

**III.2.3.2.2- Purification de la fraction F<sub>3</sub>**

Cette fraction a été traitée similairement à la fraction F<sub>1</sub>, et a donné en plus des produits précédemment obtenus, le composé FTF-18 (47 mg).

**III.2.3.2.3- Purification de la fraction F<sub>4</sub>**

La fraction F<sub>4</sub> a été dissoute dans un minimum de dichlorométhane et fixée sur la silice. Après évaporation complète du solvant, la poudre obtenue a été chromatographiée sur colonne de gel de silice. Les fractions de 50 mL recueillies, par élution avec le système Hex-AE de gradient de polarité, ont été concentrées et regroupées sur la base des CCM analytiques (tableau XXXXIII).

**Tableau XXXXIII:** Chromatogramme de la fraction F<sub>4</sub>

Eluant	Fractions	Remarques
Hex-AE (19 : 1)	1-18	Mélange d'au moins 5 produits
	19-32	Mélange d'au moins 3 produits dont <b>FTF-18</b>
Hex-AE (9 : 1)	33-51	Mélange d'au moins 3 produits
Hex-AE (17 : 3)	52-75	Mélange d'au moins 4 produits dont <b>FTF-4</b>
Hex-AE (4 : 1)	76-92	Mélange d'au moins 3 produits
Hex-AE (3 : 1)	93-107	Mélange d'au moins 4 produits dont <b>FTF-41-8</b>



Hex-AE (7 : 3)	108-121	Mélange d'au moins 3 produits dont 2 fluorescents
Hex-AE (13 : 1)	122-135	Mélange d'au moins 4 produits + traînées
Hex-AE (3 : 2)	136-152	Mélange d'au moins 4 produits + traînées

Les composés indexés FTF-3 (cristaux blancs, 18,3 mg) et FTF-41-3 (fines particules solides de couleur jaune, 8,7 mg) ont été obtenus par filtration simple des sous-fractions 52-75 et 93-107, respectivement.

#### III.2.3.2.4- Purification de la fraction F<sub>5</sub>

La fraction F<sub>5</sub> a été dissoute dans un minimum de dichlorométhane-Méthanol et fixée sur la silice. Après évaporation complète du solvant, la poudre obtenue a été chromatographiée sur colonne de gel de silice. Les fractions de 50 mL recueillies par élution avec le système Hex-AE de gradient de polarité, ont été concentrées et regroupées sur la base des CCM analytiques (tableau XXXXIV).

**Tableau XXXXIV:** Chromatogramme de la fraction F<sub>5</sub>

Eluant	Fractions	Remarques
Hex-AE (19 : 1)	1-15	Mélange d'au moins 5 produits
	16-27	Mélange d'au moins 3 produits dont <b>FTF-18</b>
Hex-AE (9 : 1)	28-41	Mélange d'au moins 3 produits
Hex-AE (17 : 03)	42-53	Mélange d'au moins 4 produits dont <b>FTF-4</b>
Hex-AE (4 : 1)	54-62	Mélange d'au moins 3 produits
Hex-AE (3 : 1)	63-86	Mélange d'au moins 4 produits dont <b>FTF-41-8</b>
Hex-AE (13 : 07)	87-98	Mélange d'au moins 3 produits dont 2 fluorescents
Hex-AE (1 : 1)	99-112	Mélange d'au moins 4 produits + traînées
Hex-AE (2 : 3)	113-147	Mélange d'au moins 4 produits + traînées

#### - Traitement de la sous-fraction [63 - 86]

La fraction [63 - 86] a été fixée sur la silice et chromatographiée avec le système Hex-AE (3 : 1) pour donner un mélange de trois composés. Par double migration sur plaque de verre, nous obtiendrons le composé FTF-41-8 (8 mg).

#### III.2.3.2.5- Purification de la fraction F<sub>6</sub>

La fraction F<sub>6</sub> a été dissoute dans un minimum de méthanol puis fixée sur la silice. Après évaporation complète du solvant, la poudre obtenue a été chromatographiée dans une

colonne de silice. L'élution a été faite avec le mélange Hexane-AcOEt à polarité croissante et les fractions de 50 mL ont recueillies. Ces différentes fractions, regroupées sur la base de leur profil chromatographique, sont consignées dans le chromatogramme ci-dessous.

**Tableau XXXXV** : Chromatogramme de la fraction F<sub>6</sub>

Eluant	Fractions	Remarques
Hex-AE (7 : 3)	1 - 8	Mélange de 4 produits dont 1 fluorescent
Hex-AE (13 : 07)	9 - 17	Mélange de 3 produits dont 1 fluorescent
	18 - 29	Mélange de 3 produits dont <b>FTF-31-L</b> qui cristallise
	30 - 45	Mélange de 2 produits qui cristallisent ensemble
Hex-AE (1 : 1)	46 - 52	Mélange de 3 produits + traînées
Hex-AE (2 : 3)	53 - 64	Mélange de 3 produits dont 1 fluorescent + traînées
Hex-AE (3 : 1)	65 - 78	Mélange de 4 produits dont 2 fluorescents + traînées
Hex-AE (03 : 17)	79 - 88	Mélange de 3 produits + traînées
Hex-AE (0 : 1)	89 - 96	Mélange complexe

- **Traitement de la sous-fraction [18 - 29]**

La sous-fraction [18 - 39] a été dissoute dans un minimum de méthanol, et rechromatographiée isochratiquement au méthanol sur une colonne de séphadex LH-20 pour donner le composé FTF-31-L (7 mg).

- **Traitement de la sous-fraction [30 - 45]**

La sous-fraction [30 - 45] constituée de deux produits est dissoute dans le mélange chlorure de méthylène/méthanol, puis fixée sur la silice et chromatographiée dans une colonne de gel de silice avec le mélange Hex-AE (13 : 07). Au terme de cette élution, deux produits FTF-31-L (6 mg) et FTF-31-F (13 mg) ont été obtenus.

**III.2.3.2.6- Purification de la fraction F<sub>7</sub>**

La fraction F<sub>7</sub> est dissoute dans un minimum de méthanol et fixée sur la silice. Après évaporation complète du solvant, la poudre résultante est chromatographiée sur colonne de gel de silice. L'élution est faite avec le mélange Hex-AE de polarité croissante, et des fractions de 50 mL ont été collectées. Ces fractions ont été concentrées et regroupées sur la base de la CCM analytique (Tableau XXXXVI).

**Tableau XXXXVI:** Chromatogramme de la fraction F<sub>7</sub>

Eluant	Fractions	Remarques
Hex-AE (7 : 3)	1 - 13	Mélange de 3 produits dont 1 fluorescent
Hex-AE (13 : 07)	14 - 26	Mélange de 4 produits dont 1 fluorescent + traînées
Hex-AE (3: 2)	27 - 31	Mélange de 2 produits dont 1 fluorescent + traînées
	32 - 38	Mélange de 3 produits dont <b>FTF-41-6</b> qui cristallise
	39 - 45	Mélange de 2 produits dont 1 fluorescent + traînées
Hex-AE (1 : 1)	46 - 52	Mélange de 3 produits dont <b>FTF-41-5</b> + traînées
	53 - 58	Mélange de 4 produits dont <b>FTF-41-5</b> + traînées
	59 - 64	Mélange de 3 produits dont <b>FTF-41-5</b> + traînées
Hex-AE (2 : 3)	65 - 69	Mélange de 3 produits dont 1 fluorescent + traînées
Hex-AE (1 : 3)	70 - 76	Mélange complexe + traînées
Hex-AE (03 : 17)	77 - 83	Mélange très complexe + traînées
Hex-AE (0 : 1)	84 - 96	Traînées

- **Traitement de la sous-fraction [32 - 38]**

Les cristaux filtrés de cette sous-fraction ont été dissous dans un minimum de méthanol et purifiés au méthanol sur une colonne de séphadex LH-20 pour obtenir le composé FTF-41-6 (7 mg).

- **Traitement du mélange des sous-fractions [46 - 52], [53 - 58] et [59 - 64]**

La purification du mélange des sous-fractions 46 - 52, 53 - 58 et 59 - 64 sur colonne de gel de silice avec le mélange Hex-AE (1 : 1) a permis d'obtenir le composé FTF-41-5 (135 mg).

### III.2.3.3- Isolement des composés des racines de *F. thonningii* Blume

L'extrait des racines (150,0 g) de *F. thonningii* a été dissous dans le méthanol et fixé sur la silice. Après évaporation complète du solvant, la poudre résultante est chromatographiée sur colonne de gel de silice. L'élution a été faite au système dichlorométhane-méthanol de polarité croissante. Des fractions de 500 mL (96 au total) ont été recueillies et regroupées sur la base des CCM analytiques en cinq séries indexés A (5,8 g), B (14,2 g), C (16,3g), D (31,7 g), et E (40,4 g), (tableau XXXXVII).

**Tableau XXXXVII:** Chromatogramme de l'extrait des racines de *F. thonningii*

Eluant	Fractions	Série	Remarques
HEX-AE (17 : 3)	1 - 23	A (5,8 g)	Mélange d'huiles + au moins 3 produits + traînée
	18 - 29		Mélange d'au moins 3 composés + traînée
HEX-AE (1 : 1)	30 - 47	B (14,2 g)	Mélange d'au moins 6 composés dont 2 fluorescents
HEX-AE (3 : 1)	48 - 62	C (16,3g)	Mélange d'au moins 5 composés dont 1 fluorescents + traînée
AE	63 - 68	D (31,7 g)	Mélange d'au moins 5 composés dont la dihydroquercétine déjà isolée des figes
	69 - 76		
AE-MeOH (17 : 03)	77 - 96	E (40,4 g)	Mélange d'au moins 3 composés + traînée

**III.2.3.3.1- Chromatographie de la fraction A**

La fraction A a été dissoute dans le dichlorométhane, puis fixée sur la silice et rechromatographiée sur colonne de gel de silice. L'élution au système Hex-AE de gradient de polarité allant de 1:0 à 8:2, a conduit à trois produits purs indexés FTBR-1 (24 mg), FTBR-4 (11 mg) et FTBR-6 (35,2 mg).

**III.2.3.3.2- Chromatographie de la fraction B**

La fraction B a été dissoute dans l'acétate d'éthyle, puis fixée sur la silice et rechromatographiée sur colonne de gel de silice. L'élution faite avec le système Hex-AE de polarité croissante (9 : 1 à 4 : 6), a conduit à quatre produits purs FTBR-3 (16 mg), FTBR-7 (14,2 mg), FTBR-8 (18 mg), et FTBR-15 (05 mg).

**III.2.3.3.3- Chromatographie de la fraction C**

La fraction C a été dissoute dans le méthanol, puis fixée sur la silice et rechromatographiée sur colonne de gel de silice. L'élution faite avec le système Hex-AE de polarité croissante (75:25 à 70:30), a conduit à quatre produits purs FTBR-9 (8 mg), FTBR-10 (42,3 mg), FTBR-11 (6,4 mg), et FTBR-15 (04 mg).

**III.2.3.3.4- Chromatographie de la fraction D**

La fraction C a été dissoute dans le méthanol, puis fixée sur la silice et rechromatographiée sur colonne de gel de silice. L'élution faite avec le système Hex-AE de

polarité croissante (7 : 3 à 0 : 1), a conduit à deux produits purs FTBR-2 (83,6 mg) et FTBR-5 (06 mg).

#### **III.2.3.4- Obtention du produit FPFE**

Après extraction du matériel végétal, un précipité jaune s'est formé. Ce précipité, partiellement soluble dans l'A.E., a été lavé plusieurs fois dans ce solvant, puis recristallisé dans le méthanol, conduisant ainsi à l'obtention de cristaux jaunes de FPFE (211 mg).

### **III.3- TRANSFORMATIONS CHIMIQUES DE QUELQUES COMPOSES ISOLES**

#### **III.3.1- Acétylation**

Le substrat [30 mg (0,085 mmol) de shutérine (**55**)] a été dissous dans 1 mL de pyridine. 2 mL d'anhydride acétique ont été ajoutés à l'ensemble. Le mélange réactionnel a été laissé pendant deux heures, sous agitation magnétique, et l'évolution de la réaction contrôlé par CCM. A la fin de la réaction, le milieu réactionnel a été mélangé aux glaçons, 5 mL d'une solution aqueuse de sulfate de cuivre et 10 mL d'acétate d'éthyle. La phase organique a été récupérée, lavée abondamment à l'eau distillée, séchée avec du MgSO<sub>4</sub> anhydre, filtrée et évaporée à l'aide d'un évaporateur rotatif. Le résidu obtenu a été chromatographié sur colonne de gel de silice de granulométrie 70 - 230 mesh. L'élution s'est faite de façon isochratique avec le mélange Hexane-acétate d'éthyle (3 : 1), pour conduire à 14,1 mg de dérivé triacétylé (**64**) et 10,7 mg de dérivé diacétylé (**65**) avec pour rendement respectivement 35 et 30 %.

Les produits obtenus se présentent sous forme de gomme blanche et sont solubles dans le chlorure de méthylène.

De façon similaire, 10 mg de thonningiol (**57**) ont été dissous dans 1 mL de pyridine. 2 mL d'anhydride acétique ont été ajoutés à l'ensemble. Le mélange réactionnel a été laissé pendant deux heures, sous agitation magnétique, et l'évolution de la réaction contrôlé par CCM. A la fin de la réaction, le milieu réactionnel a été mélangé aux glaçons, 5 mL d'une solution aqueuse de sulfate de cuivre et 10 mL d'acétate d'éthyle. La phase organique a été récupérée, lavée abondamment à l'eau distillée, séchée avec du MgSO<sub>4</sub> anhydre, filtrée et évaporée à l'aide d'un évaporateur rotatif. Le résidu obtenu a été chromatographié sur colonne de gel de silice de granulométrie 70-230 mesh. L'élution s'est faite de façon isochratique avec le mélange Hexane-acétate d'éthyle (3 : 1), pour donner 7,76 mg de dérivé diacétylé (**66**) avec 63 % de rendement.

### III.3.2- Estérification

Le protocole est très semblable à celui de l'acétylation décrit précédemment, à la différence que la pyridine n'est pas utilisée. Le composé est dissout dans un solvant organique (chlorure de méthylène, acétate d'éthyle, acétone) avec le chlorure d'acyle en présence du DIPEA et maintenu à température ambiante pendant trois heures. La phase organique est extraite au chlorure de méthylène, lavée abondamment à l'eau distillée, séchée avec du MgSO<sub>4</sub> anhydre, évaporée et chromatographiée sur colonne de gel de silice de granulométrie 70-230 mesh. L'élution s'est faite de façon isochratique avec le mélange Hexane-acétate d'éthyle (7:3).

### III.3.3- Éthérisation

Le substrat [100 mg (0,34 mmol) de catéchine] ont été dissouts dans 10 mL d'acétonitrile. Le bromure d'allyle (157 mL) a été ajouté, puis du K<sub>2</sub>CO<sub>3</sub> (286 mg). Le mélange réactionnel a été laissé pendant 24 heures, sous agitation magnétique dans un bain d'huile de silicone à 50°C, et l'évolution de la réaction contrôlé par CCM. A la fin de la réaction, le milieu réactionnel a été lavé abondamment à l'eau distillée, séché au MgSO<sub>4</sub> anhydre, filtré et évaporé à l'aide d'un évaporateur rotatif. Le résidu obtenu a été chromatographié sur colonne de gel de silice de granulométrie 70 - 230 mesh. L'élution s'est faite de façon isochratique avec le mélange Hexane-acétate d'éthyle (8 : 2), pour donner 122,6 mg de dérivé tétra-acylé (**72**) avec un rendement de 81 %.

Le produit obtenu se présente sous forme de fines particules solides polymorphe blanche et est soluble dans le chlorure de méthylène.

### III.3.4- Epoxydation

Dans un ballon de 100 mL contenant 10 mL de CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>, on introduit du *m*-CPBA [1,7 eq (7,45 mg)] et du NaHCO<sub>3</sub> [1,3 eq (2,46 mg)]. Le tout est porté dans un bain de glace et maintenu sous agitation magnétique pendant une dizaine de minute (solution 1). On dissout ensuite le substrat [8 mg (0,023 mmol) de shutérine **55**] dans 5 mL de chlorure de méthylène (solution 2). On ajoute goutte à goutte, à l'aide d'une seringue, la solution 2 dans la solution 1. Après 10 minutes d'agitation, le milieu réactionnel est retiré de bain de glace et maintenu sous agitation magnétique à température ambiante pendant six heures. Le milieu réactionnel est lavé avec une solution de sulfite de sodium et extrait au chlorure de méthylène.

Le résidu obtenu a été chromatographié sur colonne de gel de silice de granulométrie 70 - 230 mesh. L'élution s'est faite avec le mélange Hexane-acétate d'éthyle (7 : 3), ce qui nous a permis d'obtenir 4,1 mg de dérivé époxydé avec un rendement de 52 %.

Le produit obtenu se présente sous forme de poudre amorphe jaune (73) et est soluble dans le chlorure de méthylène.

### III.3.5- Tentative de réaction en « chimie Click »

20 mg de dérivé tétra-acylé de catéchine ont été mélangés à 44,2 mg d'azido(4-chlorophenyl)méthadone. Puis 8,2 mg d'iodure de cuivre (I) et 9,0 mg de L-ascobate de sodium le tout dissout dans 10 mL de mélange Acétonitrile-eau (1:1). Le mélange réactionnel a été laissé pendant 48 heures, sous agitation magnétique dans un bain d'huile de silicone à 200°C, et l'évolution de la réaction contrôlé par CCM. Malheureusement le produit (thiazole) attendu ne s'est pas formé. La réaction n'a pas évolué au bout de 48 heures.

## III.4- EVALUATION DES ACTIVITES BIOLOGIQUES

### III.4.1- Evaluation de l'activité antimicrobienne

Les six espèces de microorganismes pathogènes "modèles" utilisés comme témoins d'efficacité dans ce travail sont constitués de cinq bactéries aérobies facultatives dont une Gram négatif (*Staphylococcus aureus*, isolés d'échantillons d'urine et de pus provenant de patients de l'Hôpital de la *Cameroon Development Corporation* de Tiko) et quatre Gram positifs (*Escherichia coli*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Providencia stuartii*, et *Proteus vulgaris* tous obtenus à partir d'échantillons d'urine et de selles recueillies auprès de patients de l'Hôpital de la *Cameroon Development Corporation* de Tiko), et une levure (*Candida albicans* isolée à partir du frottis vaginal).

Pour évaluer l'activité antimicrobienne d'un extrait végétal ou d'une substance naturelle les méthodes communément employées sont réalisées par dilution ou par diffusion. La méthode de dilution, qui peut être effectuée en milieu liquide ou en milieu solide, consiste à mettre un inoculum microbien au contact de concentrations croissantes de l'échantillon. Le degré d'inhibition de la croissance microbienne détermine le pouvoir antimicrobien des substances testées. La méthode de diffusion, exclusivement réalisée sur milieu solide, consiste à déposer un disque de papier absorbant préalablement imprégné de l'échantillon sur une géloseensemencée avec l'inoculum microbien. Les molécules actives diffusent à partir des disques et la présence d'une zone d'inhibition dans laquelle il n'y a pas eu de croissance, indique la présence de molécules actives à l'égard du micro-organisme testé.

Dans notre cas, la méthode de diffusion a été utilisée. Les tests de sensibilité ont été effectués selon la méthode de diffusion en puits de gélose. Les cultures mères ont été maintenues à 4 °C sur gélose nutritive (Oxoid, Angleterre) pentes. Les cultures actives pour les

expériences ont été préparées par le transfert d'une anse de cellules à partir des cultures d'achat d'actions des tubes à essai de bouillon Mueller-Hinton (Oxoid, Angleterre) pour les espèces de bactéries et Sabouraud bouillon de dextrose (Oxoid, Angleterre) pour les espèces de *Candida*. Ils ont été incubés sans agitation pendant 24 heures à 37 °C. Les cultures ont été diluées avec de l'eau distillée pour obtenir une densité correspondant à  $2,0 \times 10^6$  mL (CFU / mL) pour les espèces de bactéries et de  $2,0 \times 10^5$  CFU / mL pour les espèces de *Candida*. Le milieu a été percé de six millimètres de diamètre et les puits remplis avec 120 µL de l'échantillon d'essai. La concentration des extraits utilisés était de 50 mg / mL, préparée dans 10 % v / v de solution aqueuse de diméthylsulfoxyde (DMSO). En même temps, la gentamycine (Sigma, USA) et la nystatine (Sigma, USA) ont été utilisés comme contrôles positifs, à une concentration de 0,2 mg / mL pour les bactéries et les cellules de levure, respectivement, avec 10 % v / v de solution aqueuse / DMSO en tant que contrôle négatif. Les plaques ont été incubées à 37 °C pendant 24 heures, et des zones d'inhibition autour des puits formés ont été mesurées (en mm) en utilisant un pied à coulisse. Tous les tests ont été effectués en double et les résultats ont été enregistrés comme étant le diamètre moyen des zones d'inhibition de croissance autour des disques.

La concentration minimale inhibitrice (CMI) a été déterminée par la technique de microdilution de bouillon en utilisant des plaques à 96 puits. Les milieux de culture ont été complétés au glucose à 5 % et 1 % de phénol comme indicateur de point d'extrémité rouge. Après avoir rempli chaque puits avec 100 µL de bouillon, les échantillons secs préalablement dilués dans le DMSO sont prêts pour faire une concentration finale de 720 mg / mL. Ces solutions (100 µL) ont été ajoutées dans les premier puits de chaque ligne de microlitre. Des dilutions successives ont été effectuées en transférant le mélange / dilution (100 µL) du premier au onzième puit. Le douzième puit a servi de témoin car aucun échantillon (extrait ou les antibiotiques de référence) n'y a été ajouté. La suspension microbienne ( $100 \mu\text{L}$  à  $2,0 \times 10^6$  CFU / mL pour les espèces de bactéries et de  $2,0 \times 10^5$  cellules / mL pour *Candida*), obtenue à partir d'une culture d'une nuit a été ajoutée à chaque puit. La concentration finale des extraits utilisés pour évaluer l'activité antimicrobienne a varié de 160 à 0,15 mg / mL et celle de la référence de 0,960 à 0,003 mg / mL de médicaments. Des essais ont été incubés en aérobiose à 37 °C pendant 24 heures avant d'être lus. Le point final a été fait par observation visuelle de la croissance, grâce à un indicateur de changement de couleur du rouge au jaune. La CMI a été considérée comme la concentration de l'échantillon le plus faible qui empêchait une croissance visible ou a changé de couleur du rouge au jaune en raison de la formation de métabolites acides correspondant à la croissance microbienne.



### III.4.2- Evaluation de l'activité antiradicalaire

#### III.4.2.1- Objectif

L'objectif est de déterminer parmi les extraits préparés, et les composés isolés, ceux qui ont la plus grande activité antiradicalaire contre le DPPH (2,2'-diphényl-1-picrylhydrazyl). L'évaluation de l'aptitude du composé (extrait) à piéger des radicaux libres consiste donc à mesurer sa capacité à les piéger et donc à ralentir ou inhiber leur création.

#### III.4.2.2- Principe

Le DPPH est un radical libre stable que nous avons utilisé pour remplacer les radicaux libres produits par les cellules en réponse aux stress internes ou externes. En présence d'un antioxydant, la couleur violette caractéristique du DPPH vire au jaune et l'absorbance mesurée à 517 nm s'abaisse. L'ajout de différentes dilutions des extraits à la solution de DPPH permettait de déterminer celle qui abaisse le plus l'absorbance.

Cette activité a été testée selon la méthode décrite par Brand *et al.*, (1995). Pour chaque extrait, nous avons préparé des dilutions de (5 µL) de différentes concentrations (62,5 – 500 µg); puis, une solution éthanolique de DPPH (95 µL).

Après le mélange de 95 µL de cette dernière avec 5 µL de la dilution de l'échantillon considérée, l'absorbance a été mesurée à 515 nm, toutes les 15 secondes jusqu'à stabilité de la valeur. Comme témoin, nous avons utilisé le BHA.

À l'œil nu, la présence de l'activité antioxydante contre le DPPH se caractérise par le virage de la couleur de ce dernier du violet initial au jaune. Mais, la mesure de la valeur exacte de cette activité est calculée selon l'équation suivante :

$$\text{Pourcentage de l'activité antioxydante} = \left( \frac{\text{Abs DPPH} - \text{Abs finale}}{\text{Abs DPPH}} \right) \times 100$$

Avec **Abs DPPH** : Absorbance de départ de la solution 1 molaire du DPPH.

**Abs finale**: La valeur stable de l'absorbance après l'ajout de l'extrait.

Les pourcentages obtenus sont des valeurs moyennes d'un minimum de trois et d'un maximum de 5 essais, afin de minimiser d'éventuelles erreurs.

### III.4.3- Evaluation de l'activité inhibitrice des cholinestérases

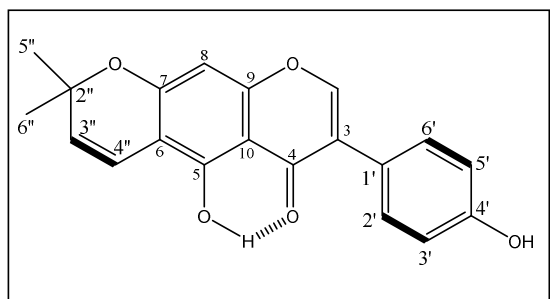
Les activités d'inhibition des cholinestérases ont été mesurées spectrophotométriquement suivant la méthode développée par Allman *et al.*, 1961. L'iodure

d'acétylthiocholine et le chlorure de butyrylthiocholine ont été utilisés comme substrat pour le test d'inhibition de l'AChE et du BChE respectivement. Le galanthamine et l'ésérine ont été utilisés comme références standards. Le mélange réactionnel contient 130  $\mu\text{L}$  (100 mM) de tampon phosphate de sodium (pH = 8,0), 20  $\mu\text{L}$  d'acide 5,5'-dithio-bis-nitrobenzoïque (DTNB), 10  $\mu\text{L}$  de la solution d'échantillon à tester et 20  $\mu\text{L}$  de solution d'AChE ou de BChE. Ce mélange a été incubé à 25 °C pendant 15 min. La solution a été initiée par addition de 20  $\mu\text{L}$  d'acétylthiocholine ou de butyrylthiocholine. L'hydrolyse de l'AChE et de BChE se caractérise par la formation de l'anion 5-thio-2-nitro-benzoate de couleur jaune traduisant ainsi la réaction entre le DTNB et la thiocholine résultant de l'hydrolyse enzymatique de l'acétylthiocholine et de butyrylthiocholine respectivement à une longueur d'onde de 412 nm pendant 15 min. Les échantillons à tester et la galanthamine ont été dissous dans l'éthanol. Toutes les réactions ont été réalisées en trois essais dans 96 puits microplates dans spectramax 340 (molecular Devices, USA). Les concentrations des composés testés qui inhibent l'hydrolyse de 50 % de l'acétylcholine par l'acétylcholinestérase et de la butyrylcholine par la butyrylcholinestérase ont été déterminées en suivant l'effet de l'augmentation des concentrations des composés testés dans différentes expériences. Les valeurs de  $\text{CI}_{50}$  ont été calculées en utilisant le programme de la cinétique enzymatique EZ-Fit (Perrella Scientific InC., Amherst; USA).

### III.5- CARACTERISTIQUES PHYSICOCHIMIQUES DES COMPOSES ISOLES

#### FTF-19, alpinumisoflavone (46)

Aiguilles jaunes (60 mg) (Rahman *et al.*, 2007).



**P.F:** 212.1-213 °C

**[ $\alpha$ ]<sub>D</sub><sup>29</sup>:** - 39,7 (*c* 0,019 ; CH<sub>3</sub>OH).

**SM-EI (int.rel):** *m/z* 336 [M]<sup>+</sup> (21,3); 322 (22,0); 321 (100), 203 ; 161 (19,1); 149; 118; 91; 57

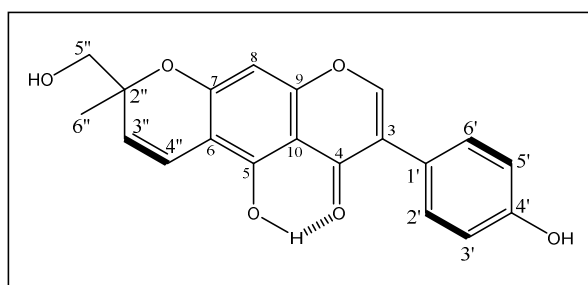
**SMHR-EI-:** *m/z* 336,0984 (336,0992 calc. pour C<sub>20</sub>H<sub>16</sub>O<sub>5</sub>).

**RMN <sup>1</sup>H (DMSO-*d*<sub>6</sub>, 500 MHz):**  $\delta_H$  13,37 (1H, s, OH-4); 9,60 (1H, sl, OH-4'); 8,36 (1H, s, H-2); 7,37 (2H, d, *J* = 8,5 Hz, H-2' & H-6'); 6,81 (2H, d, *J* = 9,0 Hz, H-3' / H-5'); 6,61 (1H, d, *J* = 10,0 Hz, H-4''); 6,50 (1H, s, H-8); 5,80 (1H, d, *J* = 10,5 Hz, H-3'') ; 1,42 (6H, s, 2 X CH<sub>3</sub>)

**RMN <sup>13</sup>C (DMSO-*d*<sub>6</sub>, 125 MHz):**  $\delta_C$  180,5 (C-4), 158,8 (C-7), 157,5 (C-9), 156,7 (C-5), 156,0 (C-4'), 154,2 (C-2), 130,1 (C-2'), 130,1 (C-6'), 129,1 (C-3''), 122,4 (C-3), 121,0 (C-1'), 115,0 (C-3'), 115,0 (C-5'), 105,4 (C-6), 104,7 (C-10), 94,6 (C-8), 126,7 (C-3''), 78,1 (C-2''), 27,8 (C-5'') et 27,8 (C-6'').

#### FTBR-15, hydroxyalpinumisoflavone (47)

Fines particules solides de couleur jaune (08 mg) (Pistelli *et al.*, 1998).



**P.F:** 247- 249 °C

**[ $\alpha$ ]<sub>D</sub><sup>29</sup>:** + 39,9 (*c* 0,159; DMSO).

**SM-EI (int.rel):** *m/z* 352 [M]<sup>+</sup> (7,3); 337 (3,0); 321 (100), 203 (6,2); 161 (5,1), 118 (2,7); 57

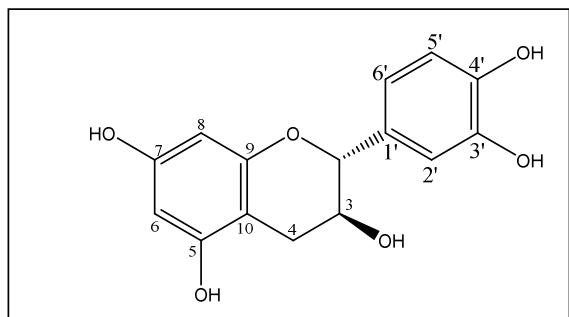
**SMHR-EI-:** *m/z* 352,0942 (352,0947 calc. pour C<sub>20</sub>H<sub>16</sub>O<sub>6</sub>).

**RMN <sup>1</sup>H (DMSO-*d*<sub>6</sub>, 500 MHz):**  $\delta_H$  13,33 (1H, s, OH-4); 9,58 (1H, sl, OH-4'); 8,35 (1H, s, H-2); 7,37 (2H, dd, *J* = 6,5 ; 2,0 Hz, H-2' & H-6'); 6,81 (2H, dd, *J* = 6,5; 2,0 Hz, H-3' / H-5'); 6,67 (1H, d, *J* = 10,0 Hz, H-4''); 6,46 (1H, s, H-8); 5,73 (1H, d, *J* = 10,5 Hz, H-3''); 3,74 (2H, t, *J* = 5,5 Hz, H-5''); 1,34 (3H, s, CH<sub>3</sub>-6'')

**RMN <sup>13</sup>C (DMSO-*d*<sub>6</sub>, 125 MHz):**  $\delta_C$  180,4 (C-4), 159,2 (C-7), 156,7 (C-9), 155,8 (C-5), 157,4 (C-4'), 154,2 (C-2), 130,1 (C-2'), 130,1 (C-6'), 126,2 (C-3''), 122,4 (C-3), 121,0 (C-1'), 115,0 (C-3'), 115,0 (C-5'), 104,8 (C-6), 105,3 (C-10), 94,4 (C-8), 126,2 (C-3''), 81,2 (C-2''), 67,0 (C-5'') and 23,2 (C-6'').

### FPE-10, catéchine (36)

Fines particules solides de couleur beige (530 mg) (Nonaka *et al.*, 1982).



**P.F:** 178-179 °C  $[\alpha]_D^{29}$ : -21,2 (c 0,9; CH<sub>3</sub>OH).

**UV**  $\lambda_{\max}$  (CH<sub>3</sub>OH) (log  $\epsilon$ ): 230 (2,49); 278 (1,72); 282 (1,71) nm.

**IR** (NaCl): 3383 (OH), 2925, 1627, 1521, 1461 (C=C aromatique) cm<sup>-1</sup>.

**SM-EI (int.rel):**  $m/z$  290 [M]<sup>+</sup> (25,7) ; 273 (1,5) ; 213 (6), 185 (1,1) ; 167 (4) ; 152 (4) ; 152 (36,3) ; 124 (19) ; 123 (47) ; 110 (4) ; 105 (33,4).

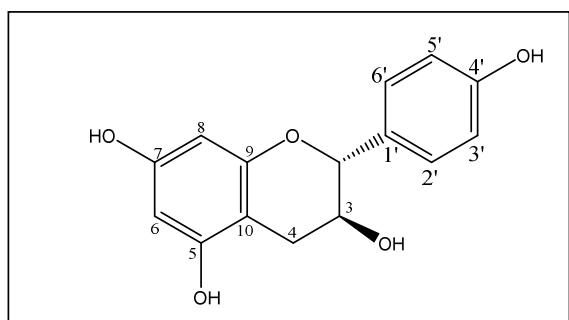
**SMHR-EI-:**  $m/z$  290,0797 (290,0790 calc. pour C<sub>15</sub>H<sub>14</sub>O<sub>6</sub>).

**RMN <sup>1</sup>H (DMSO-*d*<sub>6</sub>, 500 MHz):**  $\delta_H$  9,60 (1H, sl, OH-4'); 8,91 (1H, sl, OH-7); 8,82 (1H, sl, OH-3'); 9,16 (1H, sl, OH-5); 6,70 (1H, d,  $J = 2,0$  Hz, H-2'); 6,67 (1H, d,  $J = 8,0$  Hz, H-5'); 6,58 (1H, dd,  $J = 8,0 ; 2,0$  Hz, H-6') ; 5,87 (1H, d,  $J = 2,5$  Hz, H-8); 5,67 (1H, d,  $J = 2,5$  Hz, H-6); 4,46 (1H, d,  $J = 4,5$  Hz, H-2); 3,80 (1H, ddd,  $J = 12,0 ; 8,0 ; 4,0$  Hz, H-3); 2,64 (1H, dd,  $J = 16,0 ; 5,5$  Hz, H-4a); 2,34 (1H, dd,  $J = 16,0 ; 8,0$  Hz, H-4b)

**RMN <sup>13</sup>C (DMSO-*d*<sub>6</sub>, 125 MHz):**  $\delta_C$  156,5 (C-9), 156,2 (C-5), 155,4 (C-7), 144,9 (C-3'), 144,9 (C-4'), 130,6 (C-1'), 118,5 (C-6'), 115,1 (C-5'), 114,5 (C-2'), 99,1 (C-10), 95,1 (C-6), 93,8 (C-8), 81,0 (C-2), 66,3 (C-3), 27,9 (C-4).

### FPE-9, afzéléchine (35)

Fines particules solides de couleur beige (08 mg) (Taha *et al.*, 2011).



**P.F:** 221 - 222 °C  $[\alpha]_D^{29}$ : +0.50° (c 0,09 ; Acetone-AE 9:1).

**UV**  $\lambda_{\max}$  (CH<sub>3</sub>OH) (log  $\epsilon$ ): 275 (2,49), nm.

**IR** (KBr): 3407 (OH), 2980, 1612, 1454 (C=C aromatique), 1457, 1376, 1052, 935, 841 cm<sup>-1</sup>.

**SM-EI (int.rel):**  $m/z$  274 [M]<sup>+</sup> (84,8) ; 256 (1,8) ; 167 (17,6) ; 139 (100) ; 136 (81,4) ; 121 (4,8) ; 107 (79,3) ; 77 (14,1).

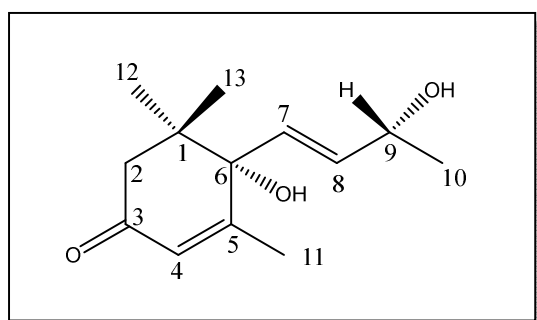
**SMHR-EI-:**  $m/z$  274,0841 (274,0790 calc. pour C<sub>15</sub>H<sub>14</sub>O<sub>5</sub>).

**RMN <sup>1</sup>H (DMSO-*d*<sub>6</sub>, 500 MHz):**  $\delta_H$  9,89 (1H, sl, OH-7); 9,27 (1H, sl, OH-4'); 9,10 (1H, sl, OH-5); 7,21 (2H, d,  $J = 8,5$  Hz, H-2', H-6'); 6,70 (2H, d,  $J = 8,5$  Hz, H-3', H-5'); 5,88 (1H, d,  $J = 2,0$  Hz, H-6); 5,71 (1H, d,  $J = 2,0$  Hz, H-8); 4,79 (1H, sl, H-2); 4,98 (1H, d,  $J = 4,5$  Hz, OH-3); 4,01 (1H, sl, H-3); 2,67 (1H, dd,  $J = 16,0 ; 4,5$  Hz, H-4ax); 2,47 (1H, dd,  $J = 17,0 ; 3,5$  Hz, H-4eq)

**RMN <sup>13</sup>C (DMSO-*d*<sub>6</sub>, 125 MHz):**  $\delta_C$  156,5 (C-9), 156,5 (C-7), 156,2 (C-5), 155,7 (C-4'), 130,0 (C-1'), 128,3 (C-2'), 128,3 (C-6'), 114,4 (C-3'), 114,4 (C-5'), 98,4 (C-10), 95,1 (C-6), 94,1 (C-8), 78,0 (C-2), 64,8 (C-3), 28,2 (C-4).

## FPE-22-5, bluménol A (44)

Fines particules solides de couleur (09 mg) (Xiaoxi *et al.*, 1999).



**P.F:** 114 – 115 °C

**[ $\alpha$ ]<sub>D</sub><sup>29</sup>:** + 191,7 ° (c = 0,32 ; CH<sub>3</sub>Cl)

**UV  $\lambda_{\max}$**  (CH<sub>3</sub>OH) (log  $\epsilon$ ): 236 (4,05); 278 (1,72); 282 (1,71) nm.

**IR** (NaCl): 3426 (OH), 2968, 1659, 1651 cm<sup>-1</sup>.

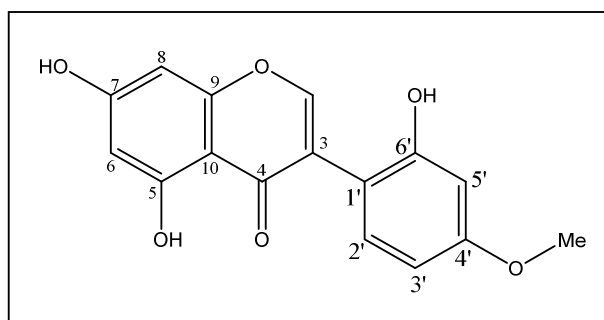
**SM-EI (int.rel):** *m/z* 224 [M]<sup>+</sup> (1,1); 206 (M-H<sub>2</sub>O; 5,5); 188 (M-2H<sub>2</sub>O; (1,3), 180 (7,3); 168 (28,1); 150 (38,3); 135 (33,8); 124 (100); 111 (29,7); 79 (27,1).

**RMN <sup>1</sup>H** (CD<sub>3</sub>OD, 500 MHz):  $\delta_{\text{H}}$  5,87 (1H, sl, H-4) ; 5,79 (1H, d, *J* = 16,0 Hz, H-7); 5,78 (1H, dd, *J* = 16,0 ; 6,0 Hz, H-8) ; 4,31 (1H, dq, *J* = 6,5 ; 6,0 ; Hz, H-9) ; 2,47 (1H, d, *J* = 17,0 Hz, H-2a) ; 2,15 (1H, d, *J* = 16,5 Hz, H-2b) ; 1,91 (3H, s, Me-13) ; 1,23 (3H, s, Me-10) ; 1,03 (3H, s, Me-12) ; 1,01 (3H, s, Me-11)

**RMN <sup>13</sup>C** (DMSO-*d*<sub>6</sub>, 125 MHz):  $\delta_{\text{C}}$  201,2 (C-3); 167,5 (C-5); 136,9 (C-7); 130,0 (C-8); 127,1 (C-4); 80,0 (C-6); 68,6 (C-9); 49,6 (C-2); 42,4 (C-1); 24,5 (C-10); 23,8 (C-12); 23,5 (C-11); 19,5 (C-13).

## FTF-31-L, déhydroferreirine (51)

Fines particules solides de couleur blanche (11 mg) (Ko *et al.*, 1999).



**P.F:** 252– 253 °C

**[ $\alpha$ ]<sub>D</sub><sup>29</sup>:** + 19,17 ° (c = 0,32 ; CH<sub>3</sub>Cl)

**UV  $\lambda_{\max}$**  (CH<sub>3</sub>OH) (log  $\epsilon$ ): 222 (3,52); 247 (3,50); 290 (3,34) nm.

**IR** (MeOH + NaOAc): 3483 (OH), 1618 (C=C-C=O), 1571, 1440 (C=C aromatiques) cm<sup>-1</sup>.

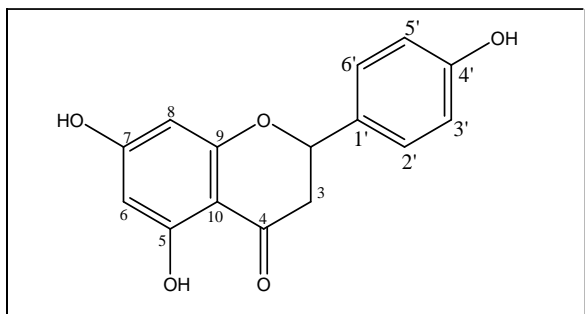
**SM-EI (int.rel):** *m/z* 300 [M]<sup>+</sup> (100); 285 (2,2); 283 (M-OH; 29,7); 153 [(C<sub>7</sub>H<sub>5</sub>O<sub>4</sub> A)<sup>+</sup>, (11,2)]; 148 [(C<sub>9</sub>H<sub>8</sub>O<sub>2</sub> B)<sup>+</sup>, (63,2)]; 133 (10,5).

**RMN <sup>1</sup>H** (CD<sub>3</sub>OD, 500 MHz):  $\delta_{\text{H}}$  12,92 (1H, sl, H-5) ; 10,85 (1H, sl, H-7) ; 9,41 (1H, sl, H-4') ; 8,17 (1H, s, H-2) ; 7,09 (1H, d, *J* = 8,4 Hz, H-2') ; 6,46 (1H, d, *J* = 2,4 Hz, H-5') ; 6,43 (1H, dd, *J* = 8,8 ; 2,4 Hz, H-3') ; 6,38 (1H, d, *J* = 2,4 Hz, H-8) ; 6,22 (1H, d, *J* = 2,5 Hz, H-6) ; 3,72 (3H, s, CH<sub>3</sub>-4')

**RMN <sup>13</sup>C** (DMSO-*d*<sub>6</sub>, 125 MHz):  $\delta_{\text{C}}$  180,2 (C-4), 164,1 (C-7), 161,8 (C-5), 160,4 (C-4'), 157,6 (C-9), 156,5 (C-6'), 155,4 (C-2), 132,2 (C-2'), 120,1 (C-3), 110,3 (C-1'), 104,4 (C-3'), 104,4 (C-10), 101,4 (C-5'), 98,9 (C-6), 93,6 (C-8), 55,0 (-OCH<sub>3</sub>-4')

## FPE – 7, naringénine (34)

Fines particules solides de couleur blanchâtre (06 mg) (Hassan *et al.*, 2003).



**P.F:** 251– 252 °C

**[ $\alpha$ ]<sub>D</sub><sup>29</sup>:** - 23,6 °(c = 0,32 ; MeOH)

**UV  $\lambda_{max}$**  (CH<sub>3</sub>OH) : 336, 291 nm.

**IR** (KBr): 3435 (OH), 1635 (C=O), 1612, 1571, 1440 (C=C aromatiques) cm<sup>-1</sup>.

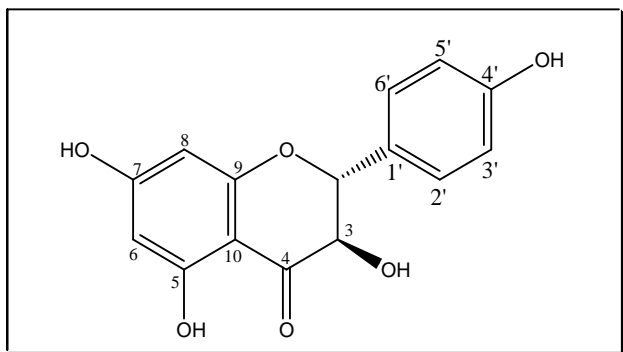
**SM-EI (int.rel):** *m/z* 272 [M]<sup>+</sup> (100), 179 (36,2), 166 (27,7), 153 (91,8), 120 (62,5)

**RMN <sup>1</sup>H (DMSO-*d*<sub>6</sub>, 500 MHz):**  $\delta_H$  12,14 (1H, s, OH-5) ; 10,77 (1H, sl, OH-7) ; 9,57 (1H, sl, OH-4') ; 8,17 (1H, s, H-2) ; 7,30 (1H, d, *J* = 7,0 Hz, H-2') ; 7,30 (1H, d, *J* = 7,0 Hz, H-6') ; 6,78 (1H, d, *J* = 7,0 Hz, H-3') ; 6,78 (1H, d, *J* = 7,0 Hz, H-5') ; 5,86 (1H, sl, H-6) ; 5,86 (1H, sl, H-8) ; 5,43 (1H, dd, *J* = 12,5 ; 3,0 Hz; H-2) ; 3,26 (1H, dd, *J* = 13,0 ; 17,0 Hz, H-3a) ; 2,66 (1H, dd, *J* = 3,0 ; 17,0 Hz, H-3b).

**RMN <sup>13</sup>C (DMSO-*d*<sub>6</sub>, 125 MHz):**  $\delta_C$  196,4 (C-4), 166,7 (C-7), 163,5 (C-5), 163,0 (C-9), 157,4 (C-4'), 128,9 (C-1'), 128,4 (C-2'), 128,4 (C-6'), 115,2 (C-3'), 115,2 (C-5'), 101,8 (C-10), 95,8 (C-6), 95,0 (C-8), 78,5 (C-2), 42,0 (C-3).

## FTBR – 9, aromadendrine (54)

Fines particules solides de couleur jaune (08 mg) (Bachheti *et al.*, 2011).



**P.F:** 165 - 167 °C [ $\alpha$ ]<sub>D</sub><sup>29</sup>: +34.10<sup>0</sup> (c 0,05 ; MeOH).

**CD** (CH<sub>3</sub>OH,  $\Delta\epsilon$ ): 327 (+ 0,31), 295(- 3,5) nm.

**IR** (KBr): 3480 (OH), 1650, 1600, 1500 (C=C aromatique), 1420, 1220, 1052 cm<sup>-1</sup>.

**SM-EI (int.rel):** *m/z* 288 [M]<sup>+</sup> (6,9), 270 (M -H<sub>2</sub>O) (23,0), 165 (14,0), 153 (100), 134 (25,4), 107 (40,8), 77 (14,1),

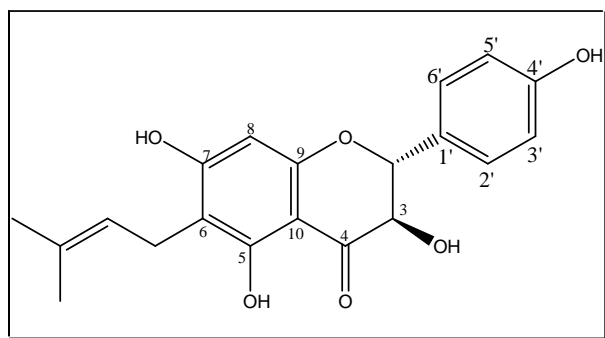
**SMHR-EI-:** *m/z* 288,0629 (288,0634 calc. pour C<sub>15</sub>H<sub>12</sub>O<sub>6</sub>).

**RMN <sup>1</sup>H (DMSO-*d*<sub>6</sub>, 500 MHz):**  $\delta_H$  11,90 (1H, sl, OH-5) ; 10,80 (1H, sl, OH-7) ; 9,55 (1H, sl, OH-4') ; 7,30 (2H, d, *J* = 8,5 Hz, H-2', H-6') ; 6,77 (2H, d, *J* = 8,5 Hz, H-3', H-5') ; 5,89 (1H, d, *J* = 2,0 Hz, H-6) ; 5,84 (1H, d, *J* = 2,0 Hz, H-8) ; 5,74 (1H, d, *J* = 5,0 Hz, OH-3) ; 5,03 (1H, d, *J* = 11,5 Hz, H-2) ; 4,57 (1H, dd, *J* = 11,5 ; 4,0 Hz, H-3)

**RMN <sup>13</sup>C (DMSO-*d*<sub>6</sub>, 125 MHz):**  $\delta_C$  197,5 (C-4), 167,4(C-7), 163,3 (C-5), 162,5 (C-9), 157,7 (C-4'), 129,4 (C-2'), 129,4 (C-6'), 127,6 (C-1'), 114,9 (C-3'), 114,9 (C-5'), 100,2 (C-10), 96,1 (C-6), 82,8 (C-2), 71,4 (C-3), 95,1 (C-8).

## FTBR-10, shutérine (55)

Fines particules solides de couleur jaune (48 mg) (Ingham *et al.*, 1986).



**P.F:** 181,2 – 181,8 °C  $[\alpha]_D^{29}$ : +23,7° (c 0,9 ; MeOH).

**CD** (CH<sub>3</sub>OH, mdeg): 340 (+ 0,31), 288 (- 33,425) nm.

**IR** (KBr): 3480 (OH chélaté), 3321 (OH), 1728 (C=O), 1600, 1500 (C=C aromatique),

**SM-EI (int.rel):** *m/z* 356 [M]<sup>+</sup> (47,7), 338 (M -H<sub>2</sub>O) (14,0), 165 (100), 134 (96,1), 107 (90,4)

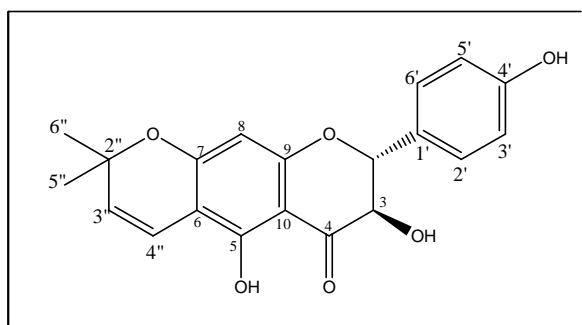
**SMHR-EI-:** *m/z* 356,1250 (356,1260 calc. pour C<sub>20</sub>H<sub>20</sub>O<sub>6</sub>).

**RMN <sup>1</sup>H (DMSO-*d*<sub>6</sub>, 500 MHz):**  $\delta_H$  12,17 (1H, sl, OH-5); 10,72 (1H, sl, OH-7); 9,53 (1H, sl, OH-4'); 7,29 (2H, d, *J* = 8,5 Hz, H-2', H-6'); 6,70 (2H, d, *J* = 8,5 Hz, H-3', H-5'); 5,92 (1H, s, H-8); 5,73 (1H, d, *J* = 6,0 Hz, OH-3); 5,12 (1H, t, *J* = 7,0 Hz, H-2''); 5,00 (1H, d, *J* = 11,5 Hz, H-2); 4,57 (1H, dd, *J* = 11,5 ; 6,0 Hz, H-3); 3,11 (2H, t, *J* = 7,5 Hz, H-1''); 1,69 (3H, s, CH<sub>3</sub>-4''); 1,61 (3H, s, CH<sub>3</sub>-5'').

**RMN <sup>13</sup>C (DMSO-*d*<sub>6</sub>, 125 MHz):**  $\delta_C$  198,0 (C-4), 160,3(C-7), 164,4 (C-5), 160,2 (C-9), 157,7 (C-4'), 130,3 (C-3''), 129,4 (C-2'), 129,4 (C-6'), 127,7 (C-1'), 122,6 (C-2''), 114,9 (C-3'), 114,9 (C-5'), 100,2 (C-10), 107,8 (C-6), 82,8 (C-2), 71,5 (C-3), 94,4 (C-8), 25,5 (C-5''), 20,6 (C-1''), 17,6 (C-4'').

## FTBR-7, conrauiflavonol (56)

fines particules solides de couleur jaune (14 mg) (Awantu *et al.*, 2011).



**P.F:** 191,6 – 192,2 °C

$[\alpha]_D^{29}$ : +2,61° (c 0.003, CHCl<sub>3</sub>).

**CD** (CH<sub>3</sub>OH, mdeg): 356 (+60,2109), 290 (1,7863), 264 (-11,7555), 236 (- 3,77508) nm.

**IR** (KBr): 3403 (OH chélaté), 3321 (OH), 1728 (C=O), 1600, 1500 (C=C aromatique), cm<sup>-1</sup>.

**SM-EI (int.rel):** *m/z* 354 [M]<sup>+</sup> (37,1), 339 (M -15) (93,7), 203 (100), 219 (64,1), 177 (38,1),

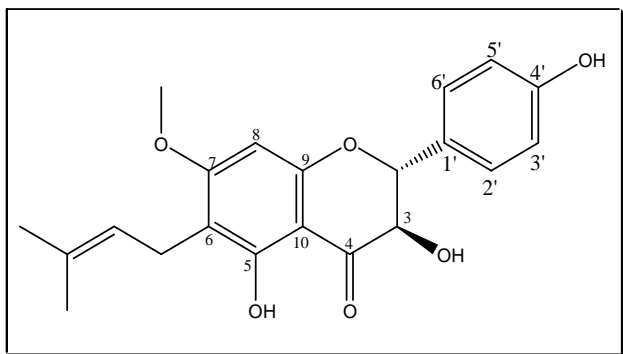
**SMHR-EI-:** *m/z* 353,9801 (354,1094 calc. pour C<sub>20</sub>H<sub>18</sub>O<sub>6</sub>).

**RMN <sup>1</sup>H (DMSO-*d*<sub>6</sub>, 500 MHz):**  $\delta_H$  12,21 (1H, sl, OH-5); 9,55 (1H, sl, OH-4'); 7,31 (2H, d, *J* = 8,5 Hz, H-2', H-6'); 6,76 (2H, d, *J* = 8,5 Hz, H-3', H-5'); 6,51 (1H, d, *J* = 10,0 Hz, H-4''); 5,90 (1H, s, H-8); 5,81 (1H, d, *J* = 6,5 Hz, OH-3); 5,66 (1H, d, *J* = 10,0 Hz, H-3''); 5,09 (1H, d, *J* = 11,5 Hz, H-2); 4,64 (1H, dd, *J* = 11,5 ; 6,5 Hz, H-3); 1,38 (3H, s, CH<sub>3</sub>-5''); 1,38 (3H, s, CH<sub>3</sub>-6'').

**RMN <sup>13</sup>C (DMSO-*d*<sub>6</sub>, 125 MHz):**  $\delta_C$  198,9 (C-4), 161,9(C-7), 157,8 (C-5), 161,2 (C-9), 157,8 (C-4'), 129,6 (C-2'), 129,6 (C-6'), 127,3 (C-1'), 127,1 (C-3''), 114,9 (C-3'), 114,9 (C-5'), 114,4 (C-4''), 102,3 (C-6), 101,3 (C-10), 95,6 (C-8), 83,0 (C-2), 78,3 (C-2''), 71,4 (C-3), 27,9 (C-5''), 27,9 (C-6'').

## FTBR – 8, thonningiol (57)

Fines particules solides de couleur jaune claire (18 mg).



P.F: 188,5 – 189,1 °C

$[\alpha]_D^{29}$ : +17,3<sup>0</sup> (c 0.0032, MeOH).

CD (CH<sub>3</sub>OH, mdeg): 336 (+ 97,14), 276 (- 1,92), 256 (65,52) nm.

IR (KBr): 3447 (OH chélaté), 3321 (OH), 1795 (C=O), 1643, 1500 (C=C aromatique),

SM-EI (int.rel): *m/z* 370 [M]<sup>+</sup> (34,6), 352 (M - H<sub>2</sub>O) (9,1), 179 (100), 134 (19,7), 107 (20,4)

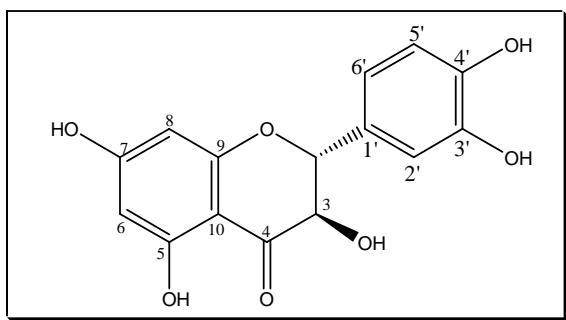
SMHR-EI-: *m/z* 370,1424 (370,1416 calc. pour C<sub>21</sub>H<sub>22</sub>O<sub>6</sub>).

RMN <sup>1</sup>H (DMSO-*d*<sub>6</sub>, 500 MHz):  $\delta_H$  12,00 (1H, sl, OH-5); 9,54 (1H, sl, OH-4'); 7,31 (2H, d, *J* = 8,5 Hz, H-2', H-6'); 6,78 (2H, d, *J* = 8,5 Hz, H-3', H-5'); 6,20 (1H, s, H-8); 5,79 (1H, d, *J* = 6,5 Hz, OH-3); 5,07 (1H, t, *J* = 6,5 Hz, H-2''); 5,07 (1H, d, *J* = 11,5 Hz, H-2); 4,62 (1H, dd, *J* = 11,5 ; 6,5 Hz, H-3); 3,80 (3H, s, OCH<sub>3</sub>-7); 3,13 (2H, t, *J* = 7,0 Hz, H-1''); 1,69 (3H, s, CH<sub>3</sub>-4''); 1,60 (3H, s, CH<sub>3</sub>-5'').

RMN <sup>13</sup>C (DMSO-*d*<sub>6</sub>, 125 MHz):  $\delta_C$  198,8 (C-4), 165,1 (C-7), 161,0 (C-9), 159,0 (C-5), 157,7 (C-4'), 130,6 (C-3''), 129,4 (C-2'), 129,4 (C-6'), 128,8 (C-1'), 122,2 (C-2''), 114,9 (C-3'), 114,9 (C-5'), 101,0 (C-10), 108,5 (C-6), 91,4 (C-8), 83,1 (C-2), 71,6 (C-3), 56,2 (OCH<sub>3</sub>), 25,4 (C-5''), 20,6 (C-1''), 17,6 (C-4'').

## FTF-41-5, dihydroquercétine (58)

Fines particules solides de couleur jaune (1643 mg) (Lee *et al.*, 2011).



P.F: 165 - 167 °C

$[\alpha]_D^{29}$ : +12,68<sup>0</sup> (c 0,2 ; MeOH).

CD (CH<sub>3</sub>OH,  $\Delta\epsilon$ ): 330 (+ 0,11), 297 (- 2,58) nm.

IR (KBr): 3480 (OH), 3260, 1650, 1600, 1500 (C=C aromatique), 1420, 1220, 1052, cm<sup>-1</sup>.

SM-EI (int.rel): *m/z* 304 [M]<sup>+</sup> (37,7), 286 (M - H<sub>2</sub>O) (6,0), 275 (88,1), 153 (100), 123 (77,4).

SMHR-EI-: *m/z* 304.0576 (304.0583 calc. pour C<sub>15</sub>H<sub>12</sub>O<sub>6</sub>).

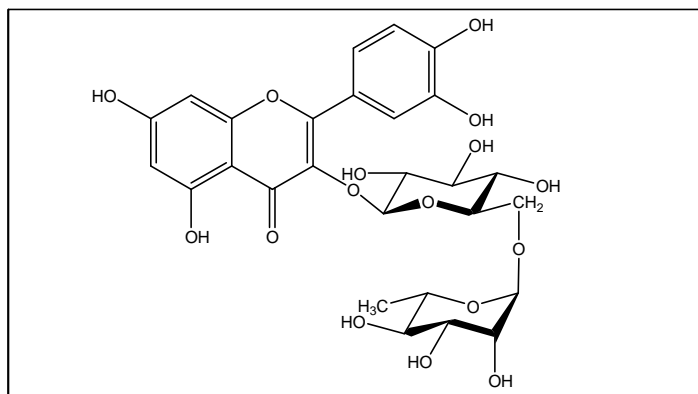
RMN <sup>1</sup>H (DMSO-*d*<sub>6</sub>, 500 MHz):  $\delta_H$  11,88 (1H, sl, OH-5); 9,02 (1H, sl, OH-7); 9,02 (1H, sl, OH-4'); 6,86 (1H, d, sl, H-5'); 6,73 (2H, sl, H-2', H-6'); 5,88 (1H, d, *J* = 2,0 Hz, H-6); 5,83 (1H, d, *J* = 2,0 Hz, H-8); 5,74 (1H, d, *J* = 4,0 Hz, OH-3); 4,95 (1H, d, *J* = 11,0 Hz, H-2); 4,48 (1H, dl, *J* = 8,5 ; H-3).

RMN <sup>13</sup>C (DMSO-*d*<sub>6</sub>, 125 MHz):  $\delta_C$  197,7 (C-4), 167,1 (C-7), 163,4 (C-5), 162,4 (C-9), 145,8 (C-4'), 144,8 (C-3'), 128,1 (C-1'), 119,5 (C-6'), 115,4 (C-2'), 115,2 (C-5'), 100,4 (C-10), 96,1 (C-6), 95,1 (C-8), 83,1 (C-2), 71,6 (C-3).



## FPFE-5, rutine (37)

Fines particules solides de couleur jaune (120 mg) (Kazuma *et al.*, 2003).



**P.F:** 196.5 - 198 °C

**[ $\alpha$ ]<sub>D</sub><sup>29</sup>:** +13,82° (c 0,2; EtOH).

**IR (KBr):** 3330 (OH), 1654, 1596, 1501 (aromatic C=C), 1456, 1358, 1203 cm<sup>-1</sup>.

**SM-ESI (int.rel):** *m/z* 611,1 [M + H]<sup>+</sup>(10), *m/z* 633 [M + Na]<sup>+</sup>(100), 464,9 (M - rham) (18,0), 303,2 (M - rham-glu) (20)

**SM-FAB - + (int.rel):** *m/z* 611 [M + H]<sup>+</sup> (100), 369, 303, 166.

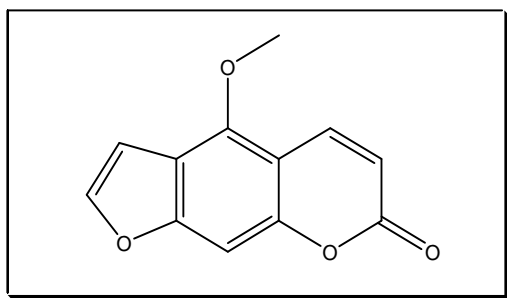
**SM-HR-FAB- +:** *m/z* 611.0576 (611.1634 calc. pour C<sub>27</sub>H<sub>30</sub>O<sub>16</sub>).

**RMN <sup>1</sup>H (CD<sub>3</sub>OD, 500 MHz):**  $\delta_H$  7,67 (1H, d, *J* = 2,0 Hz; H-2'); 7,62 (1H, dd, *J* = 8,0 ; 2,0 Hz; H-6'); 6,85 (1H, d, *J* = 8,0 Hz; H-5'); 6,33 (1H, d, *J* = 2,0 Hz; H-8) ; 6,15 (1H, d, *J* = 2,0 Hz; H-6); 3-glu [5,05 (1H, d, *J* = 7,5 Hz; H-1); 3,47 (1H, dd, *J* = 9,0 ; 7,0 Hz; H-2); 3,39 (1H, t, *J* = 8,5 Hz; H-3); 3,27 (1H, t, *J* = 9,0 Hz; H-4); 3,32 (1H, m, H-5); 3,80 (1H, dd, *J* = 10,5;1,5 Hz; H-6a); 3,39 (1H, dd, *J* = 9,0 ; 6,0 Hz; H-6b)] 6''-rham [4,51 (1H, sl, H-1); 3,62 (1H, dl, *J* = 2,0 Hz; H-2); 3,53 (1H, dd, *J* = 9,5 ; 3,5 Hz; H-3); 3,27 (1H, t, *J* = 9,0 Hz; H-4); 3,42 (1H, q, *J* = 6,1 Hz; H-5); 1,11 (3H, t, *J* = 6,0 Hz; H-6)].

**RMN <sup>13</sup>C (CD<sub>3</sub>OD, 150 MHz):**  $\delta_C$  179,1 (C-4), 161,1 (C-7), 162,9 (C-5), 158,7 (C-9), 150,0 (C-4'), 145,9 (C-3'), 123,1 (C-1'), 123,5 (C-6'), 117,6 (C-2'), 116,1 (C-5'), 105,0 (C-10), 96,1 (C-6), 95,5 (C-8), 155,4 (C-2), 135,5 (C-3), 3-glu [(105,0 C-1); (75,7 C-2); (78,2 C-3); (77,2 C-5); (68,6 C-6)] 6''-rham [(102,4 C-1); (72,1 C-2); (72,2 C-3); (73,9 C-4); (67,9 C-5); (17,9 C-6)]

## FPE – 1, bergaptène (38)

Paillettes blanches (156 mg) (Kim *et al.*, 2006).



**P.F:** 188 - 189° C

**IR (KBr):** 1731 (C=O), 1620, 1600, 1500 (C=C aromatique), 1124 (benzofurane) cm<sup>-1</sup>.

**SM-EI (int.rel):** *m/z* 216 [M]<sup>+</sup> (100), 201 (M - CH<sub>3</sub>) (34,0), 188 (21,0), 173 (63,7), 145 (33,6).

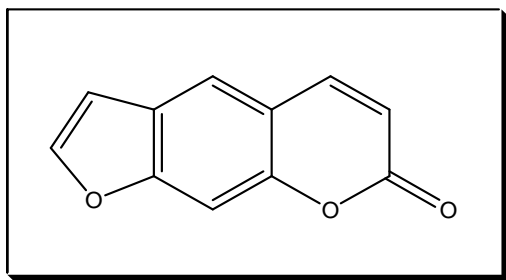
**SMHR-EI-:** *m/z* 216,0204 (216,0238 calc. Pour C<sub>12</sub>H<sub>8</sub>O<sub>4</sub>).

**RMN <sup>1</sup>H (CDCl<sub>3</sub>, 500 MHz):**  $\delta_H$  4,24 (3H, s, 5-OMe); 6,25 (1H, d, *J* = 10,0 Hz, H-3); 7,00 (1H, d, *J* = 2,5 Hz, H-3'); 7,24 (1H, s, H-8); 7,41 (1H, d, *J* = 2,5 Hz, H-2'); 8,13 (1H, d, *J* = 10,0 Hz, H-4).

**RMN <sup>13</sup>C (CDCl<sub>3</sub>, 150 MHz):**  $\delta_C$  161,1 (C-2), 158,4(C-7), 152,7 (C-9), 149,6 (C-5), 144,8 (C-2'), 139,2 (C-4), 112,7 (C-6), 112,5 (C-3), 106,4 (C-10), 105,0 (C-3'), 93,8 (C-8), 60,1 (5-OMe).

## FPE – 2, psoralène (39)

Aiguilles cristallines blanches (07 mg) (Thanh *et al.*, 2004).



**P.F:** 161 – 162 °C

**UV**  $\lambda_{\max}$  (CH<sub>3</sub>OH) : 242, 247, 291, 330 nm.

**IR** (KBr): 1720 (C=O), 1710, 1600, 1575 (C=C aromatique), 1124 (benzofurane) cm<sup>-1</sup>.

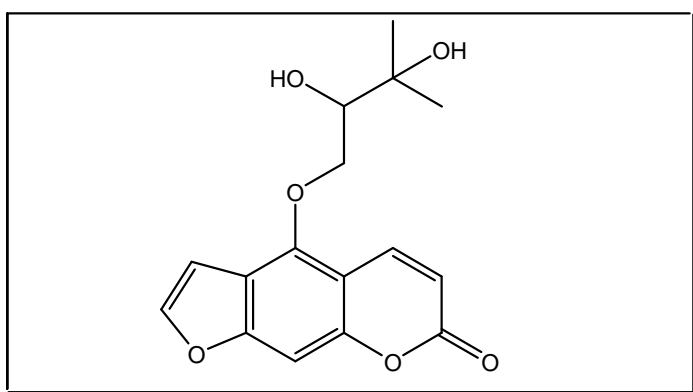
**SM-EI (int.rel):** *m/z* 186 [M]<sup>+</sup> (100), 158 (85,1), 188 (21,0), 130 (28,7), 102 (32,6).

**SMHR-EI-:** *m/z* 186,0101 (186,0134 calc. pour C<sub>11</sub>H<sub>6</sub>O<sub>3</sub>).

**RMN <sup>1</sup>H (CDCl<sub>3</sub>, 500 MHz):**  $\delta_{\text{H}}$  6,37 (1H, d, *J* = 10,0 Hz, H-3); 6,85 (1H, d, *J* = 2,5 Hz, H-3'); 7,47 (1H, s, H-8); 7,67 (1H, s, H-5); 7,68 (1H, d, *J* = 2,0 Hz, H-2'); 7,83 (1H, d, *J* = 10,0 Hz, H-4)..

## FPE-22-10, aviprine (40)

Fines particules solides de couleur jaune pâle (06 mg) (Thanh *et al.*, 2004).



**P.F:** 134 – 135 °C

**[ $\alpha$ ]<sub>D</sub><sup>24</sup>:** +18° (*c* 0,2; Me<sub>2</sub>CO).

**IR** (KBr): 3400 (-OH), 1716 (C=O), 1604, 1500 (C=C aromatique), 1124 (benzofurane) cm<sup>-1</sup>.

**SM-EI (int.rel):** *m/z* 304 [M]<sup>+</sup> (69,7), 202 (100), 174 (50,5), 145 (11,7),

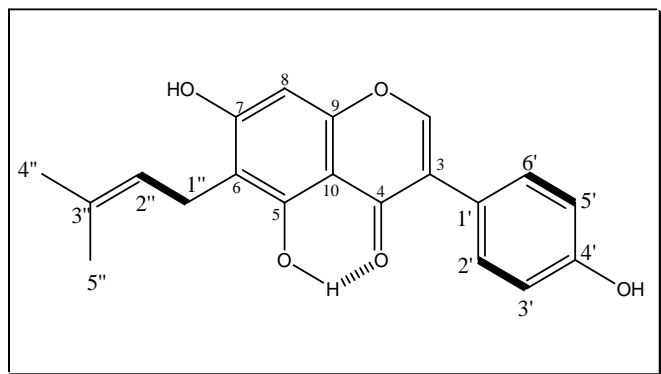
**SMHR-EI-:** *m/z* 304,199 (304,09469 calc. pour C<sub>16</sub>H<sub>16</sub>O<sub>6</sub>).

**RMN <sup>1</sup>H (CDCl<sub>3</sub>, 500 MHz):**  $\delta_{\text{H}}$  8,13 (1H, d, *J* = 10,0 Hz, H-4); 7,59 (1H, d, *J* = 2,0 Hz, H-2'); 7,17 (1H, sl, H-8); 6,29 (1H, d, *J* = 10,0 Hz, H-3); 6,97 (1H, d, *J* = 2,0 Hz, H-3'); 4,52 (1H, dd, *J* = 10,0 ; 2,5 Hz, H-2a''); 4,49 (1H, dd, *J* = 10,0 ; 8,0 Hz, H-2b''); 3,89 (1H, dd, *J* = 8,0 ; 3,0 Hz, H-3''); 2,77 (1H, sl, OH-3''); 2,10 (1H, sl, OH-4''); 1,34 (3H, s, H-5''); 1,30 (3H, s, H-6'')

**RMN <sup>13</sup>C (CDCl<sub>3</sub>, 150 MHz):**  $\delta_{\text{C}}$  161,0 (C-2), 158,1(C-7), 152,6 (C-9), 148,5 (C-5), 145,3 (C-2'), 138,9 (C-4), 114,3 (C-6), 113,2 (C-3), 107,4 (C-10), 104,7 (C-3'), 95,0 (C-8), 76,5 (C-3''), 74,5 (C-2''), 71,7 (C-4''), 26,7 (C-5''), 25,2 (C-6'')

### FTF-31-FM, wightéone (48)

Aiguilles jaune pâle (13 mg) (Kitoshima *et al.*, 1990).



P.F: 219.1- 220 °C

SM-EI (int.rel):  $m/z$  338 [M]<sup>+</sup> (38.8), 295 (68,4), 283 (100), 270(10,6)

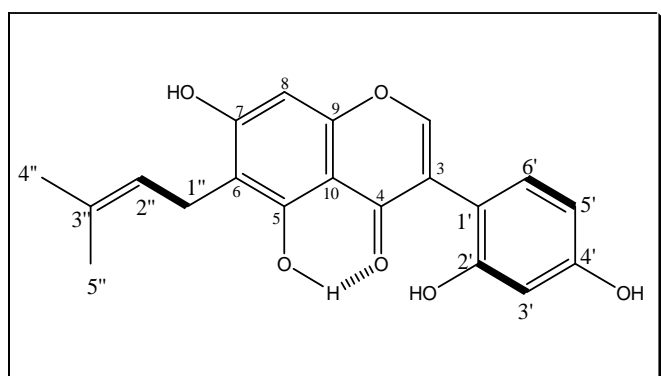
SMHR-EI-:  $m/z$  338,1146 (336,1154 calc. pour C<sub>20</sub>H<sub>18</sub>O<sub>5</sub>).

RMN <sup>1</sup>H (DMSO-*d*<sub>6</sub>, 400 MHz):  $\delta_H$  13,20 (1H, s, OH-4); 9,55 (1H, sl, OH-4'); 8,26 (1H, s, H-2); 7,36 (2H, d,  $J = 8,8$  Hz, H-2' & H-6'); 6,80 (2H, d,  $J = 8,4$  Hz, H-3' & H-5'); 6,41 (1H, s, H-8); 5,16 (1H, tl,  $J = 7,2$  Hz, H-2''); 3,22 (2H, dl,  $J = 7,2$  Hz, H-1''); 1,71 (3H, s, CH<sub>3</sub>-4''); 1,61 (3H, s, CH<sub>3</sub>-5'').

RMN <sup>13</sup>C (DMSO-*d*<sub>6</sub>, 125 MHz):  $\delta_C$  180,1 (C-4), 162,0 (C-7), 158,7 (C-5), 155,3 (C-9), 157,3 (C-4'), 153,6 (C-2), 130,1 (C-2'), 130,6 (C-3''), 130,1 (C-6'), 122,2 (C-3), 122,1 (C-2''), 121,4 (C-1'), 115,0 (C-3'), 115,0 (C-5'), 111,0 (C-6), 104,0 (C-10), 92,9 (C-8), 21,0 (C-1''), 25,4 (C-5'') et 17,7 (C-4'').

### FTBR-11, lutéone (53)

Fines particules solides de couleur jaune pâle (06,4 mg) (Ingham *et al.*, 1983).



P.F: 210.1- 211 °C

SM-EI (int.rel):  $m/z$  354 [M]<sup>+</sup> (34.2), 311 (100), 299 (64,4), 283 (100), 165 (22,9)

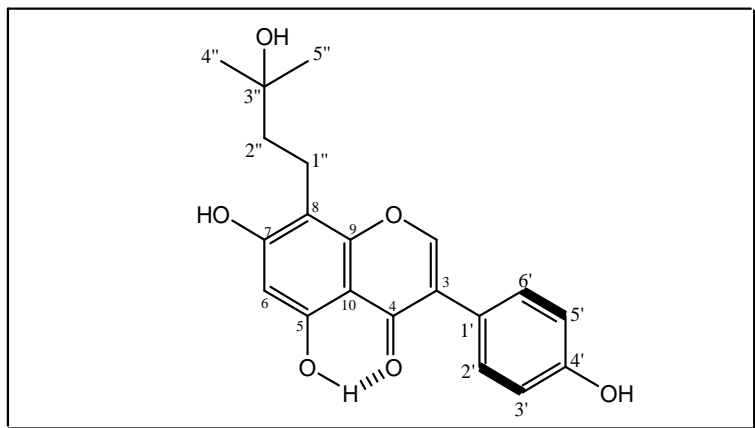
SMHR-EI-:  $m/z$  354.1112 (354.1103 calc. pour C<sub>20</sub>H<sub>18</sub>O<sub>6</sub>).

RMN <sup>1</sup>H (DMSO-*d*<sub>6</sub>, 500 MHz):  $\delta_H$  13,23 (1H, s, OH-4); 10,82 (1H, sl, OH-7); 9,35 (1H, sl, OH-4'); 9,25 (1H, sl, OH-2'); 8,11 (1H, s, H-2); 6,94 (1H, d,  $J = 8,5$  Hz, H-6'); 6,41 (1H, s, H-8); 6,35 (1H, d,  $J = 2,5$  Hz, H-3'); 6,25 (1H, dd,  $J = 8,5; 2,5$  Hz, H-5'); 5,16 (1H, tl,  $J = 7,0$  Hz, H-2''); 3,21 (2H, dl,  $J = 7,0$  Hz, H-1''); 1,71 (3H, s, CH<sub>3</sub>-4''); 1,61 (3H, s, CH<sub>3</sub>-5'').

RMN <sup>13</sup>C (DMSO-*d*<sub>6</sub>, 125 MHz):  $\delta_C$  180,4 (C-4), 161,8 (C-7), 158,6 (C-5), 155,3 (C-9), 158,5 (C-4'), 156,3 (C-2'), 155,0 (C-2), 132,6 (C-6'), 130,6 (C-3''), 122,1 (C-2''), 120,3 (C-3), 110,9 (C-6), 108,8 (C-1'), 106,0 (C-5'), 104,2 (C-10), 102,4 (C-3'), 92,6 (C-8), 21,0 (C-1''), 25,4 (C-5'') et 17,6 (C-4'').

### FTF-41-8, hydrate de lupiwightéone (49)

Fines particules solides de couleur jaune (06,9 mg) (Hashidoko *et al.*, 1986).



P.F: 244 - 245 °C

UV  $\lambda_{\max}$  (CH<sub>3</sub>OH) : 267 (2.58), 261 (2.84), 223 (1.69), 211 nm.

IR (KBr): 3416 (OH), 1646 (C=O), 1612, 1542, 1440 (C=C aromatiques) cm<sup>-1</sup>.

SM-EI (int.rel):  $m/z$  356 [M]<sup>+</sup> (59.1), 338 (M<sup>+</sup>-18, 43.7), 323 (M<sup>+</sup>-33, 97.3), 283 (100), 270 (33,7) 165 (25.9), 141 (16.2),

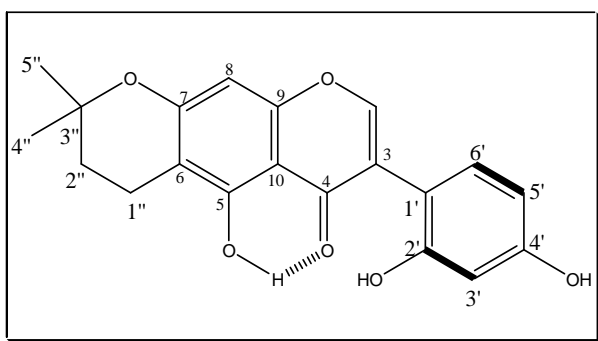
SMHR-EI:  $m/z$  356,1257 (356,1126 calc. pour C<sub>20</sub>H<sub>20</sub>O<sub>6</sub>).

RMN <sup>1</sup>H (DMSO-*d*<sub>6</sub>, 500 MHz):  $\delta_H$  12,90 (1H, s, OH-4); 9,55 (1H, sl, OH-4'); 8,36 (1H, s, H-2); 7,37 (2H, dd,  $J = 9,0; 2,5$  Hz, H-2' / H-6'); 6,80 (2H, dd,  $J = 9,0; 2,5$  Hz, H-3' & H-5'); 6,30 (1H, s, H-6); 2,67 (2H, ddd,  $J = 8,5 ; 5,0 ; 3,5$  Hz, CH<sub>2</sub>-1'') ; 1,52 (2H, ddd,  $J = 8,5 ; 5,0 ; 3,5$  Hz, CH<sub>2</sub>-2''); 1,16 (6H, s, CH<sub>3</sub>-4'' et CH<sub>3</sub>-5'').

RMN <sup>13</sup>C (DMSO-*d*<sub>6</sub>, 125 MHz):  $\delta_C$  180,6 (C-4), 161,8 (C-7), 159,4 (C-5), 154,9 (C-9), 157,3 (C-4'), 154,1 (C-2), 130,1 (C-2'/C-6'), 121,8 (C-1'), 121,3 (C-3), 115,0 (C-3'/C-5'), 98,5 (C-6), 104,4 (C-10), 107,2 (C-8), 42,8 (C-2''), 17,2 (C-1''), 68,9 (C-3''), 29,1 (C-4''/C-5'').

### FTF-41-3, $\beta$ -isolutéone (50)

Fines particules solides de couleur jaune (09 mg) (Fukui *et al.*, 1973).



P.F: 248 - 250 °C

UV  $\lambda_{\max}$  (CH<sub>3</sub>OH) : 267 (2.58), 261 (2.84), 223 (1.69), 211 (1.88) nm.

IR (KBr): 3416 (OH), 1646 (C=O), 1612, 1542, 1440 (C=C aromatiques) cm<sup>-1</sup>.

SM-EI (int.rel):  $m/z$  356 [M]<sup>+</sup> (59.1), 338 (M<sup>+</sup>-18, 43.7), 323 (M<sup>+</sup>-33, 97.3), 283 (100), 270 (33,7) 165 (25.9), 141 (16.2), 118 (9.8)

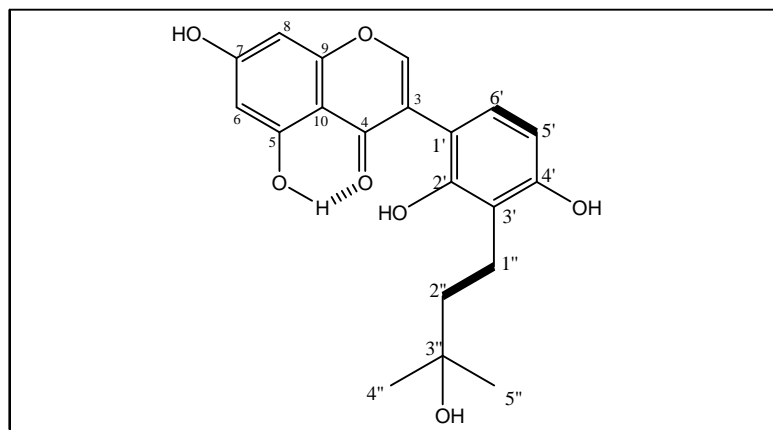
SMHR-EI:  $m/z$  354,1257 (354,11260 calc. pour C<sub>20</sub>H<sub>18</sub>O<sub>6</sub>).

RMN <sup>1</sup>H (DMSO-*d*<sub>6</sub>, 500 MHz):  $\delta_H$  13,20 (1H, s, OH-4); 9,33 (1H, sl, OH-4'); 9,23 (1H, sl, OH-2'); 8,10 (1H, s, H-2); 6,95 (1H, d,  $J = 8,5$  Hz, H-6'); 6,35 (1H, d,  $J = 2,5$  Hz, H-3'); 6,25 (1H, dd,  $J = 8,5 ; 2,5$  Hz, H-5'); 2,57 (2H, ddd,  $J = 8,5 ; 5,0 ; 3,5$  Hz, CH<sub>2</sub>-1''); 1,50 (2H, ddd,  $J = 8,5 ; 5,0 ; 3,5$  Hz, CH<sub>2</sub>-2''); 1,16 (6H, s, CH<sub>3</sub>-4'' et CH<sub>3</sub>-5'')

RMN <sup>13</sup>C (DMSO-*d*<sub>6</sub>, 125 MHz):  $\delta_C$  180,4 (C-4), 161,9 (C-7), 158,8 (C-5), 155,2 (C-9), 158,5 (C-4'), 156,4 (C-2'), 154,9 (C-2), 132,2 (C-6'), 120,3 (C-3), 112,3 (C-6), 108,8 (C-1'), 106,2 (C-5'), 104,2 (C-10), 102,6 (C-3'), 92,7 (C-8), 68,9 (C-3''), 42,3 (C-2''), 29,0 (C-4''/C-5''), 17,2 (C-1'').

### FTF-41-6, thonningiisoflavone (52)

Fines particules solides de couleur jaune, (08 mg) (Hashidoko *et al.*, 1986).



**P.F:** 153,4- 154,1 °C

**UV  $\lambda_{\max}$**  (CH<sub>3</sub>OH) : 261 (2,89), 222 (2,72), 218 (2,69) nm.

**IR** (KBr): 3440 (OH), 1651 (C=O), 1609, 1503, 1451 (C=C aromatiques) cm<sup>-1</sup>.

**SM-EI (int.rel):** *m/z* 372.1 [M]<sup>+</sup> (21,3), 354 (M<sup>+</sup>-18; 86,8); 339 (M<sup>+</sup>-33; 39,6); 299 (100), 270 (7,1) 153 (17,8); 105 (21,1)

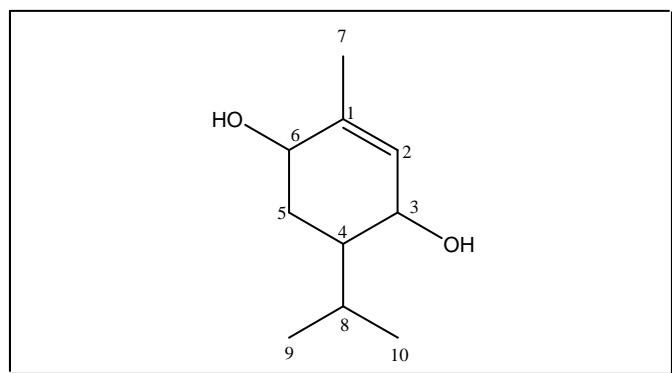
**SMHR-EI-:** *m/z* 372,1228 (372,1209 calc. pour C<sub>20</sub>H<sub>20</sub>O<sub>7</sub>).

**RMN <sup>1</sup>H (DMSO-*d*<sub>6</sub>, 500 MHz):**  $\delta_{\text{H}}$  12,80 (1H, s, OH-4); 9,17 (1H, sl, OH-2'/4'); 8,09 (1H, s, H-2); 6,74 (1H, d, *J* = 8,5 Hz, H-6'); 6,35 (1H, d, *J* = 8,5 Hz, H-5'); 6,30 (1H, s, H-8); 6,10 (1H, s, H-6); 4,23 (1H, sl, OH-3''); 2,57 (2H, ddd, *J* = 8,0 ; 5,0 ; 3,5 Hz, CH<sub>2</sub>-1''); 1,51 (2H, ddd, *J* = 8,5 ; 5,0 ; 3,5 Hz, CH<sub>2</sub>-2''); 1,13 (6H, s, CH<sub>3</sub>-4'' et CH<sub>3</sub>-5'').

**RMN <sup>13</sup>C (DMSO-*d*<sub>6</sub>, 125 MHz):**  $\delta_{\text{C}}$  180,7 (C-4), 164,9 (C-7), 161,8 (C-5), 157,8 (C-9), 156,4 (C-4'), 155,4 (C-2), 154,1 (C-2'), 128,4 (C-6'), 121,2 (C-3), 116,8 (C-3'), 109,6 (C-1'), 106,6 (C-5'), 99,2 (C-6), 104,0 (C-10), 93,8 (C-8), 42,7 (C-2''), 18,5 (C-1''), 69,2 (C-3''), 29,2 (C-4''/C-5'').

### FTER-3, *p*-menthane-3,6-diol (63)

Huile incolore (16 mg) (Zellagui *et al.*, 2011).



**SM-EI (int.rel):** *m/z* 170 [M]<sup>+</sup>, 169 (22), 111 (86,6), 127 (21,6), 100(100), 71 (95,0),

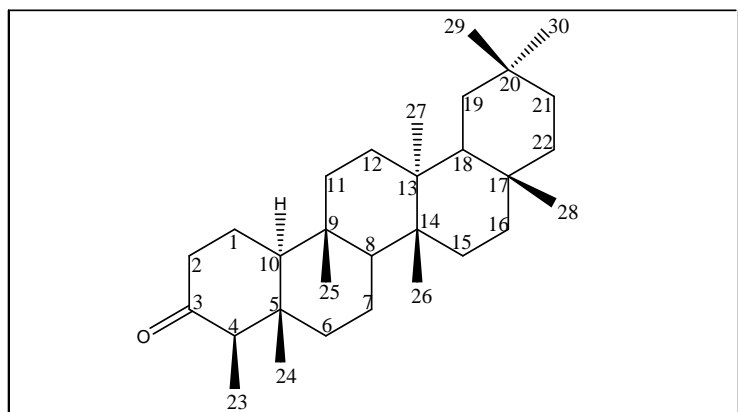
**SMHR-EI-:** *m/z* 170.1297 (170.1307 calc. pour C<sub>10</sub>H<sub>18</sub>O<sub>2</sub>).

**RMN <sup>1</sup>H (CD<sub>3</sub>OD, 500 MHz):**  $\delta_{\text{H}}$  5,46 (1H, t, *J* = 1,5 Hz, H-2); 3,91 (1H, sl, H-3); 3,84 (1H, dl, *J* = 9,0 Hz, H-6); 2,10 (1H, m, H-8); 1,76 (3H, t, *J* = 1,5 Hz, CH<sub>3</sub>-7); 1,78 (1H, dt, *J* = 13,5; 2,5 Hz, H-5a); 1,59 (1H, m, H-4); 1,38 (1H, td, *J* = 13,5 ; 4,0 Hz, H-5b) ; 0,96 (3H, d, *J* = 7,0 Hz, CH<sub>3</sub>-10); 0,82 (3H, d, *J* = 7,0 Hz, CH<sub>3</sub>-9).

**RMN <sup>13</sup>C (CD<sub>3</sub>OD, 125 MHz):**  $\delta_{\text{C}}$  137,5 (C-1), 131,0 (C-2), 70,0 (C-6), 68,4 (C-3), 42,8 (C-4), 30,9 (C-5), 27,0 (C-8), 21,4 (C-10), 20,8 (C-7), 17,1 (C-9).

## FTF-7A, friedéline (60)

Aiguilles blanches (12 mg) (Sousa *et al.*, 2012).



P.F: 258 - 260 °C

$[\alpha]_D^{29}$ : -27,3 ° (c = 0.03, CH<sub>3</sub>Cl)

IR (KBr): 2930 (C-H), 2836, 1720 (C=O), 1466, 1395, 1268, 1103 cm<sup>-1</sup>.

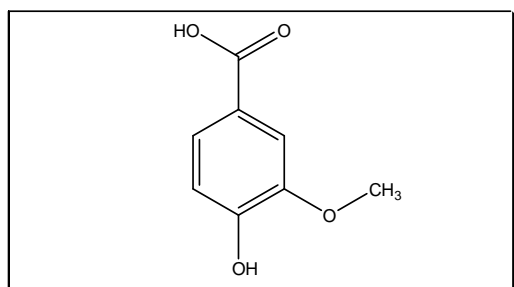
SM-EI (int.rel): *m/z* 426,3 [M]<sup>+</sup> (6,0), 411 [(M<sup>+</sup>-CH<sub>3</sub>) 2,8]; 273 (9,6); 205 (9,5), 163 (10,1) 123 (24,8); 95 (45,6); 81 (52,1); 55 (100)

SMHR-EI: *m/z* 426,3862 (426,3895 calc. pour C<sub>30</sub>H<sub>50</sub>O).

RMN <sup>1</sup>H (CDCl<sub>3</sub>, 500 MHz): δ<sub>H</sub> 0,71 (3H, s, CH<sub>3</sub>-24); 0,85 (3H, s, CH<sub>3</sub>-25); 0,86 (3H, d, *J* = 6,5 Hz, CH<sub>3</sub>-23); 0,93 (1H, m, H-22b); 0,93 (3H, s, CH<sub>3</sub>-26); 0,98 (3H, s, CH<sub>3</sub>-29); 0,99 (3H, s, CH<sub>3</sub>-30); 1,03 (3H, s, CH<sub>3</sub>-27); 1,16 (3H, s, CH<sub>3</sub>-28); 1,18 (1H, m, H-19b); 1,18 (1H, m, H-19a); 1,19 (1H, m, H-6b); 1,20 (1H, m, H-11b); 1,24 (1H, m, H-15b); 1,25 (1H, m, H-16b); 1,26 (1H, m, H-12b); 1,27 (1H, m, H-12a); 1,32 (1H, m, H-7b); 1,32 (1H, m, H-8); 1,33 (1H, m, H-21b); 1,37 (1H, m, H-11a); 1,44 (1H, m, H-22a); 1,45 (1H, m, H-7a); 1,46 (1H, m, H-15a); 1,46 (1H, m, H-21a); 1,50 (1H, m, H-10); 1,50 (1H, m, H-16a); 1,56 (1H, m, H-18); 1,66 (1H, m, H-1b); 1,75 (1H, m, H-6a); 1,94 (1H, m, H-1a); 2,23 (1H, q, *J* = 6,5 Hz, H-4); 2,36 (1H, m, H-2b); 2,37 (1H, dq, *J* = 8,5 ; 3,5 Hz, H-2a)

RMN <sup>13</sup>C (CDCl<sub>3</sub>, 125 MHz): δ<sub>C</sub> 213,3 (C-3), 59,4 (C-10), 58,2 (C-4), 53,1 (C-8), 42,8 (C-18), 42,1 (C-5), 41,5 (C-2), 41,3 (C-6), 39,7 (C-13), 39,2 (C-22), 38,3 (C-14), 37,4 (C-9), 36,0 (C-16), 35,3 (C-28), 35,6 (C-11), 35,3 (C-19), 32,7 (C-15), 32,4 (C-21), 31,8 (C-30), 32,1 (C-29), 30,5 (C-12), 30,0 (C-17), 28,1 (C-20), 22,3 (C-1), 20,3 (C-26), 18,7 (C-27), 18,2 (C-7), 14,9 (C-25), 14,7 (C-24), 6,8 (C-23).

## FPE-5, Acide vanillique (45)



P.F: 212 - 213°C UV<sub>λmax</sub>(MeOH) nm (log ε): 253 (3,41), 286 (3,47).

IR (KBr): 3485, 2955, 1686, 1598, 1547, 1523, 1473, 1299, 1239, 1205, 1113, 918, 882 cm<sup>-1</sup>.

SM-EI (int.rel): *m/z* 168,1 [M]<sup>+</sup> (100); 153 [(M<sup>+</sup>-CH<sub>3</sub>) ] (72); 125 (35); 97 (55); 77 (10,1).

SMHR-EI: *m/z* 168,0423 (168,0456 calc. pour C<sub>8</sub>H<sub>8</sub>O<sub>4</sub>).

RMN <sup>1</sup>H (CDCl<sub>3</sub>, 500 MHz): δ<sub>H</sub> 7,55 (2H, m); 6,83 (1H, d, *J* = 9,0 Hz); 3,89 (3H, s, OCH<sub>3</sub>).

# REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

## A

- Adeyemi, M., Adebote, D., Amupitan, J., Oyewale A., Agbaji, A., **2010**. Antifeedant Activity of Quercetin Isolated from the Stem Bark of *Bobgunnia madagascariensis* (Desv.) J.H.Kirkbr & Wiersema. (Caesalpiniaceae). *Australian Journal of Basic and Applied Sciences*, **4**(8), 3342-3346.
- Adjanohoun, E.J., Ahyi, A.M., Assi, L.A., Baniakina, J., Chibon, P., Cusset, G., Doulou, V., Enzana, A., Eyme, J., Goudote, E., Keita, A., Mbemba, C., Mollet, J., Moutsambote, J. M., Mpati, J., Sita, P., **1988**. Contribution aux études ethnobotaniques et floristiques en République Démocratique du Congo. Agence de coopération culturelle et technique, p 257.
- Abdullahi, M., Kolo, I., Adebayo, O.O., Joseph, O.A., Majekodumi, O.F., Joseph, I.O., **2011**. Antimycobacterial Friedelane-terpenoid from the Root Bark of *Terminalia Avicennioides*. *American Journal of Chemistry*, **1**(2), 52-55.
- Afanas'eva, I.B., Ostrakhovitch, E.A., Mikhal'chik, E.V., Ibragimova, G.A., Korkina, L.G., **2001**. Enhancement of antioxidant and anti-inflammatory activities of bioflavonoid rutin by complexation with transition metals. *Biochemical. Pharmacology*, **61**(6), 677-684.
- Afonso, A., Hunt, P., Cheesman, S., Alves, A.C., Cunha, C.V., do Rosario, V., Cravo, P., **2006**. Malaria parasites can develop stable resistance to artemisinin but lack mutations in candidate genes atp6 (encoding the sarcoplasmic and endoplasmic reticulum Ca<sup>2+</sup> ATPase), tctp, mdr1, and cg10. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*, **50**, 480-489.
- Agid, Y., Dubois, B., Anand, R., Gharabawi, G., **1998**. Efficacy and tolerability of rivastigmine in patients with dementia of the Alzheimer type. *Current Therapeutic Research*, **59**, 837-845.
- Agrawal, P.K., **1989**. Flavonoid structure and carbon-13 NMR spectroscopy. In: Agrawal, P.K. (Ed.), *Carbon 13-NMR of Flavonoids*. Elsevier, New York.
- Ahlquist, M., Fokin, V., **2007**. Enhanced reactivity of dinuclear copper (I) acetylides in dipolar cycloadditions. *Organometallics*, **26**, 4389-4391.
- Alvarez, A., Bronfman, F., Pérez C.A., Vicente, M., Garrido, J., Inestrosa, N.C., **1995**. Acetylcholinesterase, a senile plaque component, affects the fibrillogenesis of amyloid- $\beta$ -peptides. *Neuroscience Letters*, **201**, 49-52.
- Alzheimer, A., **1897**. Beiträge zur pathologischen Anatomie der Hirnrinde und zur anatomischen Grundlage einiger Psychosen. *Monatsschrift für Psychiatrie und Neurologie*, **2**, 82-120.
- Alzheimer's Disease International, "World Alzheimer Report 2010: the global economic impact of dementia," [http://www.alz.org/documents/national/World\\_Alzheimer\\_Report\\_2010.pdf](http://www.alz.org/documents/national/World_Alzheimer_Report_2010.pdf).

- Amarowicz, R., Shahidi F., **1996**. A rapid chromatographic method for separation of individual catechins from green tea. *Food Research International*, **29**, 71-76.
- Anand, P., Singh, B., Singh, N., **2012**. A review on coumarins as acetylcholinesterase inhibitors for Alzheimer's disease. *Bioorganic and Medicinal Chemistry*, **20**(3), 1175-1180.
- Andersen, M., et Markham, K.R., **2006**. FLAVONOIDS: Chemistry, Biochemistry and Applications. *CRC Press, Taylor & Francis Group*, 1205 pages.
- Andersen, Ø.M. et Markham K.R., **2006**. Flavonoids: Chemistry, Biochemistry and Applications. *Taylor & Francis Group, CRC Press*, London, P. 918.
- Ardestani, A., et Yazdanparast, R., **2007**. Antioxidant and free radical scavenging potential of *Achillea santolina* extracts. *Food Chemistry*, **104**, 21-29.
- Andres, A., Donovan, S.M., Kuhlenschmidt, M.S., **2009**. Soy isoflavones and virus infections. *Journal of Nutritional Biochemistry*, **20**, 563-569.
- Aron, P.M. et Kennedy, J.A., **2008**. Flavan-3-ols: nature, occurrence and biological activity. *Molecular and Nutritional Food Research*, **52**, pp 79-104.
- Asada, Y., Oshikawa, T., Welli, **1998**. Antimicrobial flavonoids from *Glycyrrhiza glabra* hairy root cultures. *Planta medica*, **64**(8), 746-747.
- Ashani, Y., Peggins, J.O., Doctor, B.P., **1992**. Mechanism of inhibition of cholinesterases by huperzine A. *Biochemical and Biophysical Research Communications*, **184**, 719-726.
- Astagneau, P. et Ancelle, T., (sous la direction de) **2011**. Surveillance épidémiologique. Paris, Médecine Sciences, Lavoisier, 384 pages.
- Augry, F., Darchy, A., De Rotrou, J., Guelfi, M.C., Forette, F., **1997**. Réponse à la tacrine: bilan de deux ans de prescription. *Journal de Pharmacie Clinique*, **16**, 183-188.
- Awantu, A.F., Lenta, N.B., Donfack, V.E., Wansi, J.D., Neumann, B., Stammler, H.G., Nougoué, T.D., Tsamo, E., Sewald, N., **2011**. Flavonoids and other constituents of *Hymenostegia afzelii* (Caesalpinaceae). *Phytochemistry Letters*, **4**, 315-319.
- Awolola, G.V., Koorbanally, N.A., Chenia, H., Shode, F.O., Baijnath, H., **2014**. Antibacterial and anti-biofilm activity of flavonoids and triterpenes isolated from the extracts of *Ficus sansibarica* warb. subsp. *sansibarica* (moraceae) extracts. *African Journal of Traditional, Complementary and Alternative Medicine*, **11**(3), 124-131.

## B

- Bachheti, R.K., Pandey, D.P., Joshi, A., Rana, V., **2011**. Chemical analysis of aerial parts of *Justicia gendarussa*. *International Journal of Chemistry Technics Research*, **3**(1), 244 -247.
- Bacon, J.D., Mabry, T.A., **1976**. UV Spectral procedures for distinguishing free and substituted 7-hydroxyl groups in flavones and flavanols. *Revista Latinoamerica de Quimica*, **7**, 83-86.



- Bartus, R.T., Dean, R.L., Beer, B., Lippa, A.S., **1982**. The cholinergic hypothesis of geriatric memory dysfunction. *Science*, **217**, 408-414.
- Bednar, R.A., Hadcock, J.R., **1988**. Purification and characterization of chalcone isomerase from soybeans. *Journal of Biological Chemistry*, **263**, 9582- 9588.
- Beentje, H., **1994**. Kenya's trees, shrubs and lianas. Nairobi, Kenya: National Museums of Kenya.
- Berg, C.C., Hijman, M.E., Weerdenburg, J.C., **1985**. Flore du Cameroun 28, Moracées: (incl. Cecropiacées), Muséum Nat. d'Hist. Naturelle, p 4.
- Berg, CC., Wiebes, J.T., **1992**. African fig trees and fig wasps. Amsterdam: Koninklijke Nederlandse Akademie van Wetenschappen.
- Bhat, R.B., Eterjere, E.O., Oladipo, V.T., **1990**. Ethnobotanical studies from Central Nigeria. *Economic Botany*, **44**, 382-390.
- Boland, G.M., Donnelly, D.M., **1998**. Isoflavonoids and related compounds. *Natural Product Reports*, **15**, 241-260.
- Botta B., Menendez, P., Zappia, G., Lima, R., Torge, R., Monache, G., **2009**. Prenylated isoflavonoids: botanical distribution, structures, biological activities and biotechnological studies. An update (1995-2006). *Current Medicinal Chemistry*, **16**, 3414-3468.
- Bouquet, A., **1969**. Féticheurs et médecines traditionnelles du Congo (Brazzaville), Mémoire O.R.S.T.O.M., 36, PARIS, p 170.
- Brand, W.W., Cuvelier, H.E., Berset, C., **1995**. Use of a free radical method to evaluate antioxidant activity. *Food Science and Technology*, **82**, 25-30.
- Braune, A., Gutschow, M., Engst, W., Blaut M., **2001**. Degradation of quercetin and luteolin by *Eubacterium ramulus*. *American Society for Microbiology*, **67**(12), 5558-5567.
- Brugère-Picoux, J., Rey, M., (sous la direction de) **2010**. Les maladies infectieuses exotiques. Risques d'importation et d'implantation en Europe. Rapports de l'Académie nationale de médecine. Editions Lavoisier, 226 pages.
- Brum, R.L., Honda, N.K., Hess, S.C., Cavalheiro, A.J., Monache, F.D., **1998**. Acyl lupeols from *Cnidioscolus vitifolius*. *Phytochemistry*, **49**(94), 1127-1128.
- Bruneton, J., **1993**. Pharmacognosie, phytochimie, plantes médicinales. 2<sup>nd</sup> Ed. Librairie Lavoisier, Technique et documentation, pp 344 - 350.
- Bruneton, J., **1999a**. Pharmacognosie, phytochimie, plantes médicinales. 3<sup>ème</sup> édition : Paris, Lavoisier Tech. et Doc, p. 915.
- Bruneton, J., **1999b**. Pharmacognosie, phytochimie, plantes médicinales. 2<sup>ème</sup> édition : Paris, France Édition Tech. et Doc, pp. 266-280.

Bruneton, J., **2001**. Plantes toxiques: végétaux dangereux pour l'Homme et les animaux. 2<sup>e</sup> édition et doc, Paris, p 465.

Burkill, H. M., **1997**. The useful plants of west tropical Africa, 2<sup>nd</sup> ed, 4, families M – R, Royal Botanic Gardens, key, Richmond, United Kingdom.

## C

Caamano-Isorna, F., Corral, M., Montes-Martinez, A., Takkouche, B., **2006**. Education and dementia: a meta-analytic study. *Neuroepidemiology*, **26**, 226-232.

Cadenas, E., Davies, K.J., **2000**. Mitochondrial free radical generation, oxidative stress, and aging. *Free Radical Bioogy and Medecine*, **29**, 222-230.

Cain, C.C., Saslowsky, D.E., Walker, R.A., Shirley, B.W., **1997**. Expression of chalcone synthase and chalcone isomerase proteins in *Arabidopsis seedlings*. *Plant Molecular Biology*, **35**, 377-381.

Cardono, L., Garcia, B., Pedro, J., Perez, J., **1992**. 6-prenyloxy-7-methoxycoumarin, a coumarin hemiterpene ether from *Carduus tenuiflorus*. *Phytochemistry*, **31**, 3989-3991.

Chandana, V., Vijayakumar, M., **2008**. Effect of quercetin, flavonoids and  $\alpha$ -tocopherol, an antioxidant vitamin on experimental reflux oesophagitis in rats. *European Journal of Pharmacology*, **589**, 233-238.

Chandrasekar, S.B., Bhanumathy, M., Somasundaram, T., **2010**. Pharmacology of *Ficus religiosa*. *Pharmacognosy Review*, **4**(8), 195-199.

Chaudhuri, S., Banerjee, A., Basu, K., Sengupta, B., Sengupta, P., **2007**. Interaction of flavonoids with red blood cell membrane lipids and proteins: Antioxidant and antihemolytic effects. *International Journal of Biological Macromolecules*, **41**(1), 42-48.

Cheng, N., Masakuni, T.A., Hanashiro, I., Tamaki, H., **2008**. Antioxidant Flavonoid glycosides from the leaves of *Ficus pumila* L. *Food Chemistry*, **109**(2), 415-420.

Consolacion, Y., Ragasa, Erlinda, J., John, A., Rideout, **1999**. A Triterpene from *Ficus pumila* L. *Journal of Asian Natural Products Research*, **1**, 269-275.

Connoly, J. D., **1983**. The chemistry and taxonomy of the Rutales. In Watterman, P., and Grundon, M. Academic press London, pp 180 - 190.

Connolly, M.A., Gayer, M., Ryan, M.J., Salama, P., Spiegel, P., Heymann, D.L., **2004**. Communicable diseases in complex emergencies: impact and challenges. *The Lancet*, **364**, 1974-1983.

Corner, E. J., **1965**. Checklist of *Ficus* in Asia and Australia with keys to identification. *The Garden's Bullutin of Singapore*, **21**, 1-186.

- Costa, S.C., Chavez, C.V., Jubelin, G., Givaudan, A., Escoubas, J.M., Brehelin, M., Zumbihl, R., **2010**. Recent insight into the pathogenicity mechanisms of the emergent pathogen *Photorhabdus asymbiotica*. *Microbes and Infections*, **12**, 182-189.
- Costa, V., Moradas-Ferreira P., **2001**. Oxidative stress and signal transduction in *S. cerevisiae*: insights into ageing, apoptosis and diseases. *Molecular Aspects of Medecine*, **22**, 217-246.
- Cowan, M.M., **1999**. Plant products as antimicrobial agents. *Clinical Microbiology Reviews*, **12**, 564-582.
- Crozier, A., Jaganath, I.B., Clifford, M.N., **2009**. Dietary phenolics: chemistry, bioavailability, and effect on health. *Natural Products Reports*, **26**, 1001-1043.
- Cummings, J.L., Back, C., **1998**. The cholinergic hypothesis of neuropsychiatric symptoms in Alzheimer's disease. *American Journal of Geriatric Psychiatry*, **6**, 64-78.
- Cushnie, T., Lamb, A., **2005**. Antimicrobial activity of flavonoids. *International Journal of Antimicrobial Agents*, **26**, 343-356.

## D

- D'Introno, A., Solfrizzi, V., Colacicco, A.M., Capurso, C., Amodio, M., Todarello, O., Capurso, A., **2006**. Current knowledge of chromosome 12 susceptibility genes for lateonset Alzheimer's disease. *Neurobiology of Aging*, **27**, 1537-1553.
- Da Silva E., Oliveira, A., Lapa, A., **1994**. Pharmacological evaluation of the anti-inflammatory activity of a citrus bioflavonoid, hesperidin, and the isoflavonoids, dauricin and claussequinone, in rats and mice. *Journal of Pharmacy and Pharmacology*, **46**(2), 118-122.
- Dahl, E.L., Shock, J.L., Shenai, B.R., Gut, J., Derisi, J.L., Rosenthal, P.J., **2006**. Tetracyclines specifically target the apicoplast of the malaria parasite *Plasmodium falciparum*. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*, **50**, 3124-3131.
- Dalton, H. R., Bendall, R., Ijaz, S., Banks, M., **2008**. Hepatitis E: an emerging infection in developed countries. *The Lancet Infectious Diseases*, **8**, 698-709.
- Davis, B.D., Needs, P.W., Kroon, P.A., Brodbelt, J.S., **2006**. Identification of isomeric flavonoid glucuronides in urine and plasma by metal complexation and LC-ESIMS/MS. *Journal of Mass Spectrometry*, **41**(7), 911-920.
- Dangrembizi, R., Erlwanger, K. H., Moyo, D., Chivandi, E., **2013**. Phytochemistry, pharmacology and ethnopharmacology uses of *Ficus thonningii* Blume (Moracea): A review. *African Journal of Traditional, Complementary and Alternative Medecine*, **10**(2), 203-212.
- Dartigues, J.F., Gagnon, M., Michel, P., Letenneur, L., Commenges, D., Barberger-Gateau, P., Auriacombe, S., **1991**. The Paquid research program on the epidemiology of dementia. Methods and initial results. *Revue neurologique*, **147**, 225-230.

- Degenhardt, J., Koellner, T.G., Gershenzon, J., **2009**. Monoterpene and sesquiterpene synthases and the origin of terpene skeletal diversity in plants. *Phytochemistry*, **70**, 1621-1637.
- Desenclos, J.C., De Valk, H., **2005**. Emergent infectious diseases: importance for public health, epidemiology, promoting factors, and prevention. *Medecine et Maladies Infectieuses*, **35**, 49-61.
- Dewick, P. M., 1994. *The Flavonoids: Advances in Research* (Ed., Harborne, J.B.), Chapman & Hall, London, p. 117.
- Dixon, R.A., Dey, P. M. and Lamb, C. J., **1983**. Phytoalexins: Enzymology and molecular biology, *Adv. Enzymology*, **55**, 1-136.
- Dixon, R.A., Xie, D.-Y., Sharma, S.B., **2005**. Proanthocyanidins-A final frontier in flavonoid research? *New phytoogist*, **165**, 9-28.
- Drachman, D.A., Leavitt, J., **1974**. Human memory and the cholinergic system. A relationship to aging? *Archives of Neurology*, **30**, 113-121.
- Du, J., He, Z.D., Jiang, R.W., Ye, W.C., Xu, H.X., But, P.P., **2003**. Antiviral flavonoids from the root bark of *Morus alba* L. *Phytochemistry*, **62**, 1285-1283.

## E

- Ellman, G.L., Courtney, D., Andres, V., Featherstone, R.M., **1961**. A new and rapid colorimetric determination of acetylcholinesterase activity. *Biochemical Pharmacology*, **7**, 88-95.
- Egli, A., **1988**. Les arbres et arbustes fourragers au Rwanda. Institut des Sciences Agronomiques du Rwanda. Note technique n° 2. Butare (Rwanda).
- Erben-Russ, M., Bors, W., Saran, M., **1987**. Reactions of linoleic acid peroxy Radicals with phenolic antioxidants: a pulse Radiolysis study. *International Journal of Radiation Biology*, **52**, 393-412.

## F

- Falconer, S.B., Brown, E.D., **2009**. New screens and targets in antibacterial drug discovery, *Current Opinion Microbiology*, **12**, 497-504.
- Fang-rong, C., Chung-yi, C., Tian-jye, H., Chung-ping, C., Yang-chang, W., **2000**. Chemical constituents from *Annona glabra* III. *Journal of Chinese Society*, **47**, 913-921.
- Fathiazada, F., Delazara, A., Amiria, R., Sarkerb, S.D., **2006**. Extraction of flavonoids and quantification of rutin from waste Tobacco leaves. *Iran Journal of Pharmaceutical Research*, **3**, 222-227.

- Favier, A., **2003**. « Le stress oxydant: Mécanismes biochimiques ; Intérêt conceptuel et expérimental dans la compréhension des mécanismes des maladies et potentiel thérapeutique». *L'actualité chimique*, nov/déc, pp 108 - 115.
- Ferreira, D., Nel, R.J., Bekker, R., **1999**. Condensed Tannins. *Comprehensive Natural Products Chemistry*, Pergamon, pp 747-797.
- Ferri, C.P., Prince, M., Brayne, C., Brodaty, H., Fratiglioni, L., Ganguli, M., Hall, K., **2005**. Global prevalence of dementia: a Delphi consensus study. *The Lancet*, **366**, 2112-2117.
- Floden, A.M., Li, S., Combs, C.K., **2005**.  $\beta$ -amyloid-stimulated microglia induce neuron death via synergistic stimulation of tumor necrosis factor  $\alpha$  and NMDA receptors. *Journal of Neuroscience*, **25**, 2566-2575.
- Forkmann, G., Heller, W., **1999**. Biosynthesis of flavonoids. *Comprehensive Natural Products Chemistry*, Pergamon: Oxford, pp 713-746.
- Fotie, J., Scott B. D., Leimanis, M. L., Georges, E., Rukunga, G., Nkengfack, A.E., **2006**. Lupeol Long-Chain Fatty Acid Esters with Antimalarial Activity from *Holarrhena floribunda*. *Journal of Natural Products*, **69**, 62-67.
- Fritsch, T., McClendon, McKee, J., Smyth, K.A., Ogrocki, Paula, K., **2002**. Effects of educational attainment and occupational status on cognitive and functional decline in persons with Alzheimer-type dementia. *International Psychogeriatrics*, **14**, 347-363.
- Fuhrman, B., Lavy, A., Aviram, M., **1995**. Consumption of red wine with meals reduces the susceptibility of human plasma and low-density lipoprotein to lipid peroxidation. *American Journal of Clinical Nutrition*, **61**(3), 549-554.
- Fukuda, Y., Osawa, T., Namiki, M., Ozaki, T., **1985**. Studies on antioxidative substances in sesame seed. *Agricultural and Biological Chemistry*, **49**, 301-306.
- Fukui, H., Egawa, H., Koshimizu, K., Mitsui, T., 1973. A New Isoflavone with Antifungal Activity from Immature Fruits of *Lupinus luteus*. *Agricultural and Biological Chemistry*, **37** (2), 417-421.

## G

- Gaffield, W., **1970**. Circular dichroism, optical rotatory dispersion and absolute configuration of flavanones, 3-hydroxyflavanones and their glycosides; determination of aglycone chirality in flavanone glycosides. *Tetrahedron*, **26**, 4093-4108.
- Gaggeri, R., Rossi, D., Christodoulou, M.S., Passarella, D., Leoni, F., Azzolina, O., Collina S., **2012**. Chiral flavanones from *Amygdalus lycioides* Spach: structural elucidation and identification of tnf  $\alpha$  inhibitors by bioactivity-guided fractionation. *Molecules*, **17**, 1665-1674.

- Gai-Mei, S., Jin-Bo, H., Ying-Jun, Z., Chong-Ren, Y., **2010**. Phenolic constituents from *Rhopalocnemis phalloides* with DPPH radical scavenging activity. *Pharmaceutical Biology*, **48**(1), 116-119.
- Galati, E., Monforte, M., Kirjavainen, S., Forestieri, A., Trovato, A., Tripodo, M., **1994**. Biological effects of hesperidin, a citrus flavonoid. (Note I): antiinflammatory and analgesic activity. *Farmaco*, **40**(11), 709-712.
- Galbraith, M.N., Horn, D.H., **1972**. Structures of the natural products blumenols A, B and C. *Journal of the Chemical Society, Chemical Communication*, 113-114.
- Garcia, G.F., Sanchez, A.M., Perez, M.A., Martin, C.E., Marsal, A.C., Rodriguez, F.G., Garcia, C. C., **2001**. The prevalence of dementia and its main subtypes in subjects older than 65 years: impact of occupation and education. The Toledo Study. *Medicina Clinica*, **116**, 401-407.
- Geddes, A., **2005**. The future of infectious diseases. *Antibiotiques*, **2**, 75-76.
- Gessler, M.C., Nkunya, M.H., Mwasumbi, L.B., Henrich, M., Tanner M., **1994**. Screening Tanzanian medicinal plants for antimalarial activity. *Acta Tropica* **56**, 65-77.
- Grandtner M. M., **2005**. World Dictionary of Trees, Wood and Forest Sciences Department, Faculty of Forestry and Geomatics. Laval University, Quebec, Canada. <<http://www.wdt.qc.ca/>>. Consulté en ligne le 24 Juin 2013, à 14H 34min.
- Grayer, R. J., Veitch, N. C., **2006**. Flavanones and Dihydroflavonols. *Flavonoids: Chemistry, Biochemistry and Applications*; CRC Press, pp 917 - 1002.
- Grin, (Germplasm Resources Information Network). **2002**. Online Database. United States Department of Agriculture, Agricultural Research Service, National Germplasm Resources Laboratory, Beltsville, MD. Available: <http://www.ars-grin.gov/> (consulté le 7 Mai 2013, 17h10min).
- Grossberg, G.T., **2003**. Cholinesterase inhibitors for the treatment of Alzheimer's disease: getting on and staying on. *Current Therapeutic Research*, **64**, 216-235.

## H

- Halbwirth, H., **2010**. The creation and physiological relevance of divergent hydroxylation patterns in the flavonoid pathway. *International Journal of Molecular Sciences*, **11**, 595-621.
- Harborne, J.B., Mabry, T.J., Mabry, H., **1975**. The flavonoids, Tome I, Tome II, Chapman and Hall, London.
- Harborne, J.B., Williams, C.A., **2000**. Advances in flavonoid research since 1992. *Phytochemistry*, **55**, 481-504.

- HAS, **2011**. Maladie d'Alzheimer et maladies apparentées : diagnostic et prise en charge. Haute Autorité de Santé, recommandations du Service des bonnes pratiques professionnelles, 49 pages.
- Hashidoko, Y., Tahara, S., Mizutani, J., **1986**. New complex isoflavones in the roots of yellow lupin (*Lupinus luteus* L., cv. Barpine). *Agricultural and Biological Chemistry*, **50**(7), 1797-1807.
- Hassan, A.A., Mawardi, R., Mohd, A.S., Abdoul, M.A., **2003**. The chemical constituents of *Ficus benjamina* Linn. and their biological activities. *Pertanika Journal of Sciences and Technology*, **11**(1), 73-81.
- Hebert, L.E., Scherr, P.A., Beckett, L.A., Funkenstein, H.H., Albert, M.S., Chown, M.J., Evans, D.A., **1992**. Relation of smoking and alcohol consumption to incident Alzheimer's disease. *American Journal of Epidemiology*, **135**, 347-355.
- Hellstrom, J.K., Torronen, A.R., Mattila, P.H., **2009**. Proanthocyanidins in Common Food Products of Plant Origin. *Journal of Agricultural Food Chemistry*, **57**, 7899-7906.
- Hemingway, R.W., Foo, L.Y., Porter, L.J., **1982**. Linkage isomerism in trimeric and polymeric 2,3-*cis*-procyanidins. *Journal of Chemical Society, Perkin Transactions*, **1**, 1209-1216.
- Herbert, R.B., **1981**. The biosynthesis of secondary metabolites. USA, New York, pp. 50-62.
- Hernandez, N.E., Tereschuk, M.L., Abdala, L.R., **2000**. Antimicrobial activity of flavonoids in medicinal plants from Taidal Valle (Tucuman, Argentina). *Journal of Ethnopharmacology*, **73**, 317-322.
- Himo, F., Lovell, T., Hilgraf, R., Rostovtsev, V., Noodleman, L., Sharpless, K., Fokin, V., **2005**. Copper(I)-catalyzed synthesis of azoles. DFT study predicts unprecedented reactivity and intermediates. *Journal of American Chemistry Society*, **127**, 210-216.
- Holding, P.A., Snow, R.W., **2001**. Impact of Plasmodium falciparum malaria on performance and learning: review of the evidence. *American Journal of Tropical Medicine and Hygiene*, **64**(1-2 Suppl), 68-75.
- Hostettmann, K., Borloz A., Urbain, A., Marston, A., **2006**. Natural product inhibitors of acetylcholinesterase. *Current Organic Chemistry*, **10**, 825-847.
- Ibrahim, A.S., Galal, A.M., Ahmed, M.S., Mossa, G.S., **2003**. *O*-Demethylation and sulfation of 7-methoxylated flavanones by *Cunninghamella elegans*. *Chemical and Pharmaceutical Bulletin*, **51**(2), 203-206.
- Ibrahim, M., Farooq, T., Hussain, N., Hussain, A., Gulzar, T., Hussain, I., Akash, M.S., Fouzia Rehmani, S., **2013**. Acetyl and butyryl cholinesterase inhibitory sesquiterpene lactones from *Amberboa ramosa*. *Chemistry Central Journal*, **7**, 116-120.

- In-Chul, L., Jong-Sup, B., Taewan, K., O Jun, K., Tae Hoon K., **2011**. Polyphenolic Constituents from the Aerial Parts of *Thymus quinquecostatus* var. japonica Collected on Ulleung Island. *Journal of the Korean Society for Applied and Biological Chemistry*, **54**(5), 811 – 816.
- Igoli, J. O., Ogaji, O. G., Tor-Anyiin, T. A., Igoli, N. P., **2005**. Traditional Medical Practices amongst the Igede People of Nigeria. *African Journal of Traditional, Complementary and Alternative Medicine*, **2**(2), 134-152.
- Inestrosa, N.C., Alvarez, A., Pérez, C.A., Moreno, R.D., Vicente, M., Linker, C., Casanueva, O.I., **1996**. Acetylcholinesterase Accelerates Assembly of Amyloid-b-Peptides into Alzheimer's Fibrils: Possible Role of the Peripheral Site of the Enzyme. *Neuron*, **16**, 881-891.
- Ingham, J.L., Tahara, S., Dziedzic, S.Z., **1986**. New 3-hydroxyflavone (Dihydroflavonol) phytoalexins from the papilionate legume *Shutteria vestita*. *Journal of Natural Products*, **49**(4), 631-638.
- Isorez, G., **2007**. Contribution à la chimie des flavonoïdes : Accès à des analogues de pigments du vin rouge. Thèse de Doctorat Ph.D, Université Louis Pasteur – Strasbourg I ; page 12.
- J
- Jacques, D., Opie, C.T., Porter, L.J., Haslam, E., **1977**. Plant procyanidins. Part 4. Biosynthesis of procyanidins and observations on the metabolism of cyanidin in plants. *Journal of Chemical Society, Perkin Transactions*, **1**, 1637-1643.
- Jain, R., Mittal, M., **2012**. Naringenin, a flavanone from the stem of *Nyctanthes arbortristis* Linn. *International Journal of Biology, Pharmacy and Allied Sciences*, **1**(7), 964-972.
- Jamal, A.K., Yaacob, W.A., Din, L.B., **2008**. A Chemical Study on *Phyllanthus reticulatus*. *Journal of Physical Science*, **19**(2), 45-50.
- Jeon, C.Y., Haan, M.N., Cheng, C., Clayton, E.R., Mayeda, E.R., Miller, J.W., Aiello, A.E., **2012**. *Helicobacter pylori* infection is associated with an increased rate of diabetes. *Diabetes Care*, **35**(93), 520-525.
- Jessen, F., Feyen, L., Freymann, K., Tepest, R., Maier, W., Heun, R., Schild-Hans, H., **2006**. Volume reduction of the entorhinal cortex in subjective memory impairment. *Neurobiology of Aging*, **27**, 1751-1756.
- Jimenez-Gonzalez, L., Alvarez-Corral, M., Munoz-Dorado, M., Rodriguez-Garcia, I., **2008**. Pterocarpan: interesting natural products with antifungal activity and other biological properties. *Phytochemistry Reviews*, **7**, 125-154.
- Jitoe, A., Masuda, T., Tengah, I.G., Suprpta, D.N., Gara I.W., Nakatani N., **1992**. Antioxidant activity of tropical ginger extracts and analysis of the contained curcuminoids. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, **40**, 1337-1340.



- Joa, H., Vogl, S., Atanasov, A., Zehl, M., Nake, L. T., Fakhrudin, N., Heiss, E., Picker, P., Urban, E., Wawrosch, C., Saukel, J., Reznicek, G., Kopp, B., Dirsch, V., **2011**. Identification of ostruthin from *Peucedanum ostruthium* rhizomes as an inhibitor of vascular smooth muscle cell proliferation. *Journal of Natural Products*, **74**, 1513-1516.
- Juan, E.A, Rideout, J.A, Ragasa, C.Y., **1997**. Bioactive furanocoumarin derivatives from *Ficus pumila* (Moraceae). *Philippine Journal of Science*, **126**(2), 143-153.
- Judd, W.S., Campbell, C.S., Kellogg, E.A., Stevens, P.F., Donoghue, M.J., **2008**. Plant systematics: A phylogenetic approach. *Sinaeur associates inc. Sunderland, MA*.
- Jurd, L., **1962**. The Chemistry of Flavonoid Compounds (GEISSMAN, T. A. Ed), Pergamon Press, Oxford. pp 107-155.

## K

- Kang, S.Y., Lee, K.Y., Sung, S.H., Park, M.J., Kim, Y.C., **2001**. Coumarins isolated from *Angelica gigas* inhibit acetylcholinesterase: structure-activity relationships. *Journal of Natural Products*, **64**(5), 683-685.
- Karimi, G., Iranshahi, M., Hosseinalizadeh, F., Riahi, B., Sahebkar, A., **2010**. Screening of Acetylcholinesterase Inhibitory Activity of Terpenoid and Coumarin Derivatives from the Genus *Ferula*. *Pharmacologyonline*, **1**, 566-574.
- Kasuga A., Aoyagi, Y., Sugahara, T., **1988**. Antioxidant activities of edible plants. *Nippon Shokuhin Kogyo Gakkaishi*, **35**, 828-834.
- Kayser, F.H., Böttger, E.C., Zinkernagel, R.M., Haller, O., Eckert, J., Deplazes, **2008**. *Microbiologie Médicale*. Editions Flammarion, Paris.
- Kawakami, M., Suzuki, K., Kameoka, Y., Vilhardt, F., Krause, K.H., Harada, N., **2004**. Activation of microglia by amyloid-b-protein: activated microglia expressed myeloperoxidase activity. *Fujita Gakuen Igakkaishi*, **28**, 213-218.
- Kazuma, K., Noda, N., Suzuki, M., **2003**. Malonylated flavonol glycosides from the petals of *Clitoria ternatea*. *Phytochemistry*, **62**, 229-237.
- Keivan, Z., Boon-Teong, T, Sing-Sin, S., Pooi-Fong, W., Mohd-Rais, M., Sazaly, A., **2011**. *In vitro* antiviral activity of Fisetin, Rutin and Naringenin against Dengue virus type-2. *Journal of Medicinal Plants Research*, **5**(23), 5534 – 5539.
- Kengap, R.T., Kapche, G.D., Jean-Paul Dzoyem, J.P., Simo, I.K., Ambassa, P., Sandjo, L.P., Abegaz, B.M., Ngadjui, B.T., **2011**. Isoprenoids and Flavonoids with Antimicrobial Activity from *Ficus conraui* Warburg (Moraceae). *Helvetica Chimica Acta*, **94**, 2231-2238.
- Kerharo, J., Adam, J.G., **1974**. La pharmacopée Sénégalaise traditionnelle. Plantes Médicinales et toxiques. Vigot frères Paris, pp 402-434.

- Khlebnikov, A.I., Schepetkin, I.A., Domina, N.G., Kirpotina, L.N., Quinn, M.T., **2007**. Improved quantitative structure-activity relationship models to predict antioxidant activity of flavonoids in chemical, enzymatic, and cellular systems. *Bioorganic Medicinal Chemistry*, **15**(4), 1749-1770.
- Kim, J.S., Kim, C., Shim, S.H., Lee, E.J., Jin, W., Bae, K., Son, K.H., Kim, H.P., Kang, S.S., Chang, H.W., **2006**. Chemical Constituents of the Root of *Dystaenia takeshimana* and Their Anti-Inflammatory Activity. *Archives of Pharmacal Research*, **29**(8), 617-623.
- Kinoshita, T., Ichinose, K., Takahashi, C., Ho, F.C., Wu, J.B., Sankawa, U., **1990**. Chemical Studies on *Sophora tomentosa*: the Isolation of a New Class of Isoflavonoid. *Chemical and Pharmaceutical Bulletin*, **38**(10), 2756-2759.
- Kitajima, J., Kimizuka, K., Tanaka, Y., **1998a**. New sterols and triterpenoids of *Ficus pumila* fruit. *Chemical and Pharmaceutical Bulletin*, **46**(9), 1408-1411.
- Kitajima J, Kimizuka K., Tanaka, Y., **1998b**. Constituents of *Ficus Pimula* leaves. *Chemical and Pharmaceutical Bulletin*, **46**(10), 1647-1649.
- Kitajima, J., Kimizuka, K., Tanaka, Y., **1999**. New Dammarane-Type Acetylated Triterpenoids and Their Related Compounds of *Ficus pumila* Fruit. *Chemical and Pharmaceutical Bulletin*, **47**(8), 1138-1140.
- Kitajima, J., Kimizuka, K., Tanaka, Y., **2000**. Three New Sesquiterpenoid Glucosides of *Ficus pumila* Fruit. *Chemical and Pharmaceutical Bulletin*, **48**(1), 77-80.
- Klass, J., Tinto, W.F., McLean, S., Reynolds, W.F., **1992**. Friedelane Triterpenoids from *Peritassa compta*: Complete <sup>1</sup>H and <sup>13</sup>C Assignments by 2D NMR Spectroscopy. *Journal of Natural Products*, **55**, 1626-1630.
- Klyne, W., **1966**. The Chemistry of the Steroids (Londres, 1957, 3<sup>e</sup> éd., 1965; trad. fr. la Chimie des stéroïdes, Gauthier-Villars, 1966).
- Ko, S.H., Kwon, Y.S., Do, S.H. 1999. Flavonoids from the heartwood of *Maackia fauriei*. *Yakhak hoeji*, **43**, 553-558.
- Kolb, H.C., Finn, M.G., Sharpless, K.B., **2001**. Click Chemistry: Diverse Chemical Function from a Few Good Reactions. *Angewandte Chemie International*, **40**(11), 2005-2021.
- Kone, D., **2009**. Etude de la phytochimie et des activités larvicide, anticholinestérasique et antioxydante des extraits de quatre plantes du Mali : *Acacia nilotica* Guill. et Perr. (Mimosaceae), *Calotropis procera* (Ait.) Ait.f. (Asclepiadaceae), *Euphorbia sudanica* A. Chev (Euphorbiaceae) et *Hyptis suaveolens* (L.) Poit (Lamiaceae). Thèse de Doctorat/ Ph.D, Université de Bamako, Mali. Pp 1-188.
- Kone, W.M., Kamanzi, K.A., Terreaux, C., Hostettmann, K., Traore, D., Dosso, M., **2004**. Traditional medicine in north côte-d'ivoire: screening of 50 medicinal plants for antibacterial activity. *Journal of ethnopharmacology*, **93**(1), 43-49.

- Kone, W. M., Atindehou, K. K., Kacou-N'douba, A., Dosso, M., **2007**. Evaluation of 17 medicinal plants for their *in vitro* activity against *Streptococcus pneumoniae*. *African Journal of Traditional, Complementary and Alternative Medicine*, **4**(1), 17-22.
- Korver, O., Wilkins, C. K., **1971**. Circular dichroism spectra of flavonols. *Tetrahedron*, **27**, 5459-5465.
- Kovganko, N. V., Kashkan, Z. N., Borisov, E. V., Batura, E. V., **1999**. <sup>13</sup>C NMR spectra of  $\beta$ -sitosterol derivatives with oxidized rings A and B. *Chemistry of Natural Compounds*, **35**, 646-649.
- Kreuzaler, F., Hahlbrock, K., **1972**. Enzymatic synthesis of aromatic compounds in higher plants: formation of naringenin (5,7,4'-trihydroxyflavanone) from p-coumaroyl coenzyme A and malonyl coenzyme A. *Federation of European Biochemical Societies Letters*, **28**, 69-72.
- Kuete, V., Nana, F., Ngameni, B., Mabveng, T.A., Keumedjio, F. and Ngadjui, B.T., **2009**. Antimicrobial activity of the crude extract, fractions and compounds from stem bark of *Ficus ovata* (Moraceae). *Journal of Ethnopharmacology*, **124**, 556-561.
- Kuete, V., Ngameni, B., Fotso, S.C.C, Kengap, T.R, Ngadjui, B.T., Meyer, J.J.M., Lall, N., Kuate, J.R., **2008**. Antimicrobial activity of the crude extracts of and compounds from *Ficus chlamydocarpa* and *Ficus cordata* (Moraceae). *Journal of Ethnopharmacology*, **120**, 17-24.
- L**
- Lahmer, N., Belboukhari, N., Cheriti, A., **2012**. Méthodes et techniques de la séparation chirale des flavanones. *Phytochemistry & Bioactives Substances Journal*, **6**(1), 1-9.
- Lai, M.T., Chen, E., Crouthamel, M.C., DiMuzio, M.J., Xu, M., Huang, Q., Price, E., **2003**. Presenilin-1 and presenilin-2 exhibit distinct yet overlapping  $\gamma$ -secretase activities. *Journal of Biological Chemistry*, **278**, 22475-22481.
- Lam, K.S., **2007**. New aspects of natural products in drug discovery. *Trends Microbiology*, **15**(6), 279-289.
- Lanari, A., Amenta, F., Silvestrelli, G., Tomassoni, D., Parnetti, L., **2006**. Neurotransmitter, deficits in behavioural and psychological symptoms of Alzheimer's disease. *Mechanisms of Ageing and Development*, **127**, 158-165.
- Lansky, E.P., Paavilainen, H. M., **2009**. Figs CRC Press Inc. Boca Raton, p 59.
- Lansky, E.P., Paavilainen, M.H., **2011**. Figs, the genus *Ficus*. *Traditional herbal Medicine for Modern Times*, **9**, p 269.
- Lavarde, P., Fouquet, E., Maler, P., **2013**. Les liens entre santé et biodiversité, conseil général de l'environnement et du développement durable, Rapport n° : 00809501. pp 22-25.

- Lamarck, J-B.M., Poiret, J.L., **1783**. Encyclopédie méthodique: Botanique, 2, Panckoucke, Harvard University, p 497.
- Lee, I., Bae, J., Kim, T., Kwon, o.j., Kim, T.H., **2011**. Polyphenolic constituents from the aerial parts of *Thymus quinquecostatus* var. *japonica* collected on Ulleung Island. *Journal of Korean Society for Applied Biology and Chemistry*, **54**(5), 811-816.
- Lenzken, S.C., Lanni, C., Govoni, S., Lucchelli, A., Schettini, G., Racch, M., **2007**. Nicotinic component of galantamine in the regulation of amyloid precursor protein processing. *Chemico-Biological Interactions*, **165**, 138-145.
- Leport, C., Regnier B., Vildé J.-L., Yeni P., **2003**. Infections virales émergentes- enjeux collectifs- 46<sup>e</sup> journée de l'Hôpital Claude-Bernard. Éditions médicales et scientifiques, EDK.
- Leport, C., et Guégan J.F., **2011**. Les maladies infectieuses émergentes : état de la situation et perspectives. Pp 31 - 45.
- Letenneur, L., Gilleron, V., Commenges, D.C., Helmer, C., Orgogozo, J.-M., Dartigues, J.-F. **1999**. Are sex and educational level independent predictors of dementia and Alzheimer's disease? Incidence data from the PAQUID project. *Journal of Neurology, Neurosurgery, and Psychiatry*, **66**, 177-183.
- Letenneur, L., Jacqmin, H., Commenges, D., Barberger-Gateau, P., Dartigues, J.F., Salamon, R., **1993**. Cerebral and functional aging: first results on prevalence and incidence of the Paquid cohort. *Methods of Information in Medicine*, **32**, 249-251.
- Letenneur, L., Larrieu, S., Barberger-Gateau, P., **2004**. Alcohol and tobacco consumption as risk factors of dementia: a review of epidemiological studies. *Biomedecine and Pharmacotherapy*, **58**, 95-99.
- Li-Wen, C., Ming-Jen, C., Chien-Fang, P., Ih-Sheng, C., **2010**. Secondary Metabolites and Antimycobacterial Activities from the Roots of *Ficus nervosa*. *Chemistry & Biodiversity*, **7**, 1814 – 1821.
- Liu, J.-S., Zhu, Y.-L., Yu, C.-M., Zhou, Y.-Z., Han, Y.-Y., Wu, F.-W., Qi, B.-F., **1986**. The structures of huperzine A and B, two new alkaloids exhibiting marked anticholinesterase activity. *Canadian Journal of Chemistry*, **64**, 837-839.
- Liu, R., Feng, L., Sun, A., Kong, L., **2004**. Preparative isolation and purification of coumarins from *Cnidium monnieri* (L.) Cusson by high-speed counter-current chromatography. *Journal of Chromatography A*, **1055**, 71-76.
- Lôbo, L.T., Da Silva, G.A., Ferreira, M., Da Silva, M.N., Santos, A.S., Arruda, A.C., Guilhon, G.P., Santos, L.S., Borges, R.S., Arruda, M.P., **2009**. Dihydrofavonols from the leaves of *Derris urucu* (Leguminosae): structural elucidation and DPPH radical-scavenging activity. *Journal of Brazilian Chemical Society*, **20**, 1082-1088.

Lopez-Lazaro, M., **2000**. Two new flavonol glycosides as DNA topoisomerase I poisons. *Zeitschrift für Naturforsch C.*, **735**(11-12), 898-902.

Lucetti D.L., Lucetti, E.C., Bandeira, M.A., Veras, H.N., Silva, A.H., Leal, L.K., Lopes, A.A., Alves, V.C., Silva, G.S., Brito, G.A., Viana, G.B., **2010**. Anti-inflammatory effects and possible mechanism of action of lupeol acetate isolated from *Himatanthus drasticus* (Mart.) Plumel. *Journal of Inflammation*, **7**(60), 1-11.

## M

Mabile, L., Meilhac, O., Escargueil-Blanc, I., Troly, M., Pieraggi, M.T., Salvayre, R., Nègre-Salvayre, A., **1997**. Mitochondrial function is involved in LDL oxidation mediated by human cultured endothelial cells. *Arteriosclerosis, Thrombosis and Vascular Biology*, **17**, 1575-1582.

Mabry, T.J., Makham K.R., Thomas, M.B., **1970**. The systematic identification of flavonoids. Springer-Verlag, New York. Heidelberg. Berlin, p. 12 et 35-230.

Macheix, J.J., Fleuriet, A., Billot, J., **1990**. Fruit phenolics; *CRC Press: Boca Raton, Etats Unis*, p 378.

Maelicke, A., Samochocki, M., Jostock, R., Fehrenbacher, A., Ludwig, J., Albuquerque, E.X., Zerlin, M., **2001**. Allosteric sensitization of nicotinic receptors by galantamine, a new treatment strategy for Alzheimer's disease. *Biological Psychiatry*, **49**, 279-288.

Magne, N.C., Njamen, D., Fomum, T.S., Wandji, J., Simpson, E., Clyne, C., Günter, V., **2012**. In vitro estrogenic activity of two major compounds from the stem bark of *Erythrina lysistemon* (Fabaceae). *Molecular and Cellular Pharmacology, European Journal of Pharmacology*, **674**, 87-94.

Maikere-Faniyo, R., Van Puyvelde, L., Mutwewingabo, A., Habiyaremye, F.X., **1989**. Study of Rwandese medicinal plants used in the treatment of diarrhoea. I. *Journal of Ethnopharmacology*, **26**, 101-109.

Mahato, S.B., Kundu, A.P., **1994**. <sup>13</sup>C NMR spectra of pentacyclic triterpenoids, a compilation and some salient features. *Phytochemistry*, **37**, 1517-1575.

Malikov, V.M., Saidkhodzhaev, A.I., **1998**. Coumarins. Plants, structure, properties. *Chemistry of Natural Compounds*, **34**(3), 345-409.

Mandal, S.C., Saha, B.P., Pal, M., **2000**. Study on antimicrobial activity of *Ficus racemosa* Linn leaf extract. *Phytotherapy Research*, **14**, 278-280.

Mark, R.J., Blanc, E.M., Mattson, M.P., **1996**. Amyloid b-peptide and oxidative cellular injury in Alzheimer's disease. *Molecular Neurobiology*, **12**, 211-224.

Markham, K.R., **1982**. Techniques of flavonoids identification, Academic press, London.

- Markham, K.R., **1989a**. Method in plant biochemistry, Academic Press, London, **1**, 197-235.
- Markham, K.R., **1989b**. Flavones, flavonols and their glycosides, in “Methods in plant biochemistry”, (P.P. DEY and J.B. Harborne), Academic press, pp 197-232.
- Markham, E.R, GEIGER, H., **1994**.  $^1\text{H}$  NMR Spectroscopy of flavonoids and their glycosides in hexadeuterodimethylsulfoxide. In Flavonoids, Harborne, J.B., 1993. Chapman and Hall, London.
- Markowicz, B., D. H., Saldanha, L. A., Catharino, R. R., Sawaya, A.C.H. F., Cunha, I B. S., Carvalho, P. O. Eberlin, M. N., **2007**. Phenolic Antioxidants Identified by ESI-MS from Yerba Maté (*Ilex paraguariensis*) and Green Tea (*Camelia sinensis*) Extracts. *Molecules*, **12**, 423-432.
- Martin, D.B., **2014**. The role of mitochondria in longevity and healthspan. *Brand Longevity & Healthspan*, **3**, 7-9.
- Martens, S., Preu, A., Matern, U., **2010**. Multifunctional flavonoid dioxygenases: Flavonol and anthocyanin biosynthesis in *Arabidopsis thaliana* L. *Phytochemistry*, **71**, 1040-1049.
- Martens, S., Teeri, T., Forkmann, G., **2002**. Heterologous expression of dihydroflavonol 4-reductases from various plants. *FEBS Letters*, **531**, 453-458.
- Martinez, E., Lwande, W., Delle Monache, F., Marini B.G., **1982**. A Pyranoisoflavone from seeds of *Milletia thonningii*. *Phytochemistry*, **21**, 1763-1765.
- Mattson, M.P., Goodman, Y., **1995**. Different amyloidogenic peptides share a similar mechanism of neurotoxicity involving reactive oxygen species and calcium. *Brain Research*, **676**, 219-224.
- Mazimba, O., Majinda, R.T., Motlhanka, D., **2011**. Antioxidant and antibacterial constituents from *Morus nigra*. *African Journal of Pharmacy and Pharmacology*, **5**, 751-754.
- McMichael, A.J., **2004**. Environmental and social influences on emerging infectious diseases: past, present and future. *Philosophical Transactions of the Royal Society. Lond. B. Biol. Sci.*, **359**(1447), 1049-1058.
- McMichael, A.J., Butler, C.D., **2004**. Climate change, health, and development goals. *The Lancet*, **364** (9450), 2004-2006.
- Mehtab, P., Akhtar, A., Ali, M.M., Pedro, S.P., Manuela, R.S., **2011**. A halogenated coumarin from *Ficus krishnae*. *Chemical Papers*, **65**(5), 735-738.
- Meli, A. L., **2004**. Etudes phytochimique et pharmacologique de deux plantes médicinales du cameroun: *Securidaca longepedunculata* (Polygalacée) et *Ceiba pentandra* (Bombacacée) et hémisynthèse de quelques dérivés Xanthoniques, «Thèse de Doctorat/ ph D». Université de Yaoundé I, Cameroun: 5-34.

- Mercader, A.G., Duchowicz, P.R., Fernandez, F.M., Castro, E.A., Bennardi, D.O., Autino, J.C., Romaneli, G.P., **2008**. QSAR prediction of inhibition of aldose reductase for flavonoids. *Bioorganic Medecinal Chemistry*, **16**, 7470-7476.
- Meshnick, S.R., Yang, Y. Z., Lima, V., Kuypers, F., Kamchonwongpaisan, S., Yuthavong, Y., **1993**. Irondependent free radical generation from the antimalarial agent artemisinin (qinghaosu). *Antimicrobial Agents Chemotherapy*, **37**(5), 1108-1114.
- Middleton, E., Drzewiecki G., **1984**. Flavonoid inhibition of human basophil histamine release stimulated by various agents. *Biochemical Pharmacology*, **33**(21), 3333-3338.
- Mims, C.A., Playfair, J.L., Roitt, I.M., Wakelin, D., Williams, R., **1993**. Medical Microbiology Mandarin Offset edn., Mosby Europe, London.
- Mitsubishi, H., **1988**. Illustrated medicinal plants of the world in colour. Tokyo: Hokuryukan.
- Mookerjee, B., Lee T., Logue, G., Lippes, H., Middleton, E., **1986**. The effects of flavonoids on human lymphocyte proliferative responses. *Progress in Clinical and Biological Research*, **213**, 511-520.
- Morikawa, K., Nonaka, M., Mochizuki, H., Handa, K., Hanada, H., Hirota, K., **2008**. Naringenin and hesperetin induce growth arrest, apoptosis, and cytoplasmic fat deposit in human preadipocytes. *Journal of Agricultural Food Chemistry*, **56**(22), 11030-11037.
- Morreel, K., Goeminne, G., Storme, V., Sterck, L., Ralph, J., Coppieters, W., Breyne, P., Steenackers, M., Georges, M., Messens, E., Boerjan, W., **2006**. Genetical metabolomics of flavonoid biosynthesis in *Populus*: a case study. *The Plant Journal*, **47**, 224-237.
- Mukherjee, P.K., Kumar, V., Mal, M., Houghton, P.J., **2007**. Acetylcholinesterase inhibitors from plants. *Phytomedicine*, **14**, 289-300.
- Murray, P.R., Rosenthal, K.S., Pfaller, M.A., **2009**. Medical Microbiology Elsevier edn., Philadelphia, p 960.
- Musabayane, C.T., Bwititi, P.T., Ojewole, J.A., **2006**. Effects of oral administration of some herbal extracts on food consumption and blood glucose levels in normal and streptozotocin-treated diabetic rats. *Methods and Finding in Experimental and Clinical Pharmacology*, **28**, 223-228.
- Musabayane, C.T., **2012**. The effects of medicinal plants on renal function and blood pressure in diabetes mellitus. *South Africa journal of Diabetes & vascular diseases*, **9**, 114-119. Neal, M. C., 1965. In Gardens of Hawai'i. Bernice P. Bishop Museum Special Publication 40, Bishop Museum Press, Honolulu, HI.
- Musabayane, C.T., Gondwe, M., Kamadyaapa, D.R., Chuturgoon, A.A., Ojewole, J.A., **2007**. Effects of *Ficus thonningii* (Blume) [Moraceae] stem-bark ethanolic extract on blood glucose, cardiovascular and kidney functions of rats, and on kidney cell lines of the proximal (LLC-PK1) and distal tubules (MDBK). *Renal Failure*, **29**, 389-397.

## N

- Namgoong, S., Son, K., Chang, H., Kang, S., Kim, H., **1994**. Effects of naturally occurring flavonoids on mutagen-induced lymphocyte proliferation and mixed lymphocyte culture. *Life Science*, **54**(5), 313-320.
- Nancy, C., **1995**. A list of some plants known to cause dermatitis. *Florida department of Agriculture and pathology*, p 18.
- Nawal, A., Shagufta, P., Itrat, F., Muhammad, N., Ajaz, H., **2011**. Antioxidant, Anti-Glycation and Anti-Inflammatory Activities of Phenolic Constituents from *Cordia sinensis*. *Molecules*, **16**, 10214 – 10226.
- Nonaka, G.I., Minua, N., Nishioka, I., **1982**. Stilbene gallates and proanthocyanidins from *Polygonum multiflorum*. *Phytochemistry*, **22**, 429-432.
- Niassy, B., Um, B., Lobstein, A., Weniger, B., Koné, M., Anton, R., **2004**. Flavonoides de *Tephrosia deflexa* et *Tephrosia albifoliolis*. *Comptes Rendues de Chimie*, **7**, 993-996.
- Ning, C., Leong, A., Tako, M., Hanashiro, I., Tamaki, H., **2008**. Antioxidant Flavonoid glycosides from the leaves of *Ficus pumila* L. *Food Chemistry*, **109**(2), 415-420.
- Novelli, G.P., **1997**. Role of free radicals in septic shock. *Journal of Physiology and Pharmacology*, **48**, 517-527.

## O

- Ong, H. C., Hiasan, T., **2008**. *Khasiat Makanan & Ubatan Utusan Publishing & Distributors Sdn. Bhd. Kuala Lumpur*, pp 62-63.
- Ono, E., Hatayama, M., Isono, Y., Sato, T., Watanabe, R., Yonekura-Sakakibara, K., Fukuchi-Mizutani, M., Tanaka, Y., Kusumi, T., Nishino, T., Nakayama, T., **2006**. Localization of a flavonoid biosynthetic polyphenol oxidase in vacuoles. *The Plant Journal*, **45**, 133-143.
- OMS, **2002**. Rapport sur la Santé du Monde, <http://www.who.int/whr/2002/fr/>
- OMS, **2014**. Premier rapport de l’OMS sur la résistance aux antibiotiques: une menace grave d’ampleur mondiale. Communiqué de presse.
- OMS, **2013**. Maladies diarrhéiques. Aide-mémoire N°330.
- OMS, **2014**. Principales causes de mortalité dans le monde. Aide-mémoire N°310.
- Onusida, **2013**. Le sida en chiffre. [un aids.org](http://un aids.org), Genève-Suisse, pp 1-12.
- Orwa, C., Mutua, A., Kindt, R., Jamnadass, R., Simons, A., **2009**. Agroforestry Database : a tree reference and selection guide version 4.0 (<http://www.worldagroforestry.org/af/treedb/>). Consulté le Lundi 31-12-2012 à 13h 27 min.



## P

- Palli, F., **2006**. Arbres de la Martinique, Les arbres de la Forêt Martiniquaise -Répertoire complet. < <http://www.palli.ch/kapeskreyol/divers/arbres.html> >. Consultée en ligne le 15 Mars 2013, à 09 H 42 min.
- Patil, P., Ichino, C., Ishiyama, A., Sekiguchi, H., Namatame, M., Ruangrunsi, N., Saifah, E., Kiyohara, H., Otoguro, K., Omura, S., Yamada, H., **2010**. In vitro antimalarial activity of prenylated flavonoids from *Erythrina fusca*. *Journal of Natural Medicines*, **62**, 217-220.
- Paulsen, E., Stahl, P., Andersen, K., **1998**. Immediate skin and mucosal symptoms from pot plants and vegetables in gardeners and greenhouse workers. *Contact Dermatitis*, **39**(4), pp 166-170.
- Pawan, K.A., **1992**. NMR Spectroscopy in the structural elucidation of oligosaccharides and glycosides. *Phytochemistry*, **31**(10), 3307-3330.
- Pepin, J.-L., Delwaide, P., **1999**. Actualités thérapeutiques dans la maladie d'Alzheimer. *Médecine et Hygiène*, **57**, 1546-1550.
- Perry, C., Hall, C., **2009**. Antibiotic resistance: how it arises, the current position and strategies for the future. *Nursing Times*, **105**(36), 20-23.
- Perry J., Staley J., Lory, S., **2002**. Microbiologie. Cours et question de révision. Dunod: 159-160.
- Perry, E.K., Gibson, P.H., Blessed, G., **1977**. Neurotransmitter enzyme abnormalities in senile dementia. Choline acetyltransferase and glutamic acid decarboxylase activities in necropsy brain tissue. *Journal of Neurological Science*, **34**, 247-265.
- Pietta, P., **2000**. Flavonoids as antioxidants. *Journal of Natural Products*, **63**(7), 1035-1042.
- Pistelli, L., Bertoli, A., Giachi, I., Manunta, A., **1998**. Flavonoids from *Genista ephedroides*. *Journal of Natural Products*, **61**, 1404-1406.
- Polinsky, R.J., **1998**. Clinical pharmacology of rivastigmine: a new-generation acetylcholinesterase inhibitor for the treatment of Alzheimer's disease. *Clinical Therapeutics*, **20**, 634-647.
- Porter, L.J., **1988**. Flavans and proanthocyanidins. *The flavonoids*; Chapman and Hall Ltd: London, pp 21 - 62.
- Prachayasittikul, S., Suphamong, S., Worachartcheewan, A., Lawung, R., Ruchirawat, S., Prachayasittikul, V., **2009**. Bioactive Metabolites from *Spilanthes acmella* Murr. *Molecules*, **14**, 850-867.

## Q

Qi, S.H., Wu, D.G., Ma, Y.B., Luo, X.D., **2003**. A novel flavane from *Carapa guianensis*. *Acta botanica sinica*, **45**(9), 1129-1133.

## R

Rahman, M.Z., Sultana, S.J., Faroque, C.F., Ferdous, F., Rahman, M.S., Islam, M.S., Rashid, M.A., **2007**. Phytochemical and biological investigation of *Erythrina variegata*. *Saudi Pharmaceutical Journal*, **15**, 140-145.

Rahman, M.Z., Rahman, M.S., Kaisar, A., Hossain, A., Rashid, M.A., **2010**. Bioactive isoflavones from *Erythrina variegata* L. *Turkish Journal of Pharmaceutical Science*, **7**(1), 21-28.

Ramarathnam, N., Osawa, T., Namiki, M., Kawakishi S., **1989**. Chemical studies on novel rice hull antioxidants. 2. Identification of isovitexin, a C-glycosyl flavonoid. *Journal of Agricultural Food Chemistry*, **37**, 316-319.

Ragasa, C. Y., Juan, E., Rideout, J. A., **1999**. A triterpene from *Ficus pumila*. *Journal of Asian Natural Products Research*, **1**(4), 269-275.

Raponda-walker, A., Sillans, R., **1961**. Les plantes utiles du Gabon, Édition Paul Chevalier, Paris, p 298.

Recanatini, M., et Valenti, P., **2004**. Acetylcholinesterase inhibitors as a starting point towards improved Alzheimer's disease therapeutics. *Current Pharmaceutical Design*, **10**, 3157-3166.

Rice, L.B., Sahm, D., Banomo, R.A., **2003**. Mechanisms of resistance to antimicrobial agents, in: *Manual of Clinical Microbiology 8<sup>th</sup> ed.* (P. R. Murray, ed.), *American Society of Microbiology*, Washington, pp. 1014-1086.

Rinne, J.O., Sako, E., Paljarvi, L., Molsa, P.K., Rinne, U.K., **1988**. A comparison of brain choline acetyltransferase activity in Alzheimer's disease, multi-infarct dementia, and combined dementia. *Journal of Neural Transmission*, **73**, 121-128.

Robinson, B., Robinson, J.B., **1968**. The anti-acetylcholinesterase activities of the alkaloids of *Physostigma venenosum* seeds. *Journal of Pharmacy and Pharmacology*, **20**, 213-217.

Rock, E., **2006**. Bases théoriques du stress oxydant et mécanismes d'action des antioxydants. *Dégénérescence Maculaire Liée à l'Age*, N° 28, librairie médicale, page 11.

Rogers, S.L., Friedhoff, L.T., **1997**. Donepezil provides long-term clinical benefits for patients with Alzheimer's Disease (AD). *Journal of Neurological Science*, **150**, S296.

Ronsted, N., Weiblen, G.D., Clement, W.L., Zerega, N.J., Savolainen, V., **2008**. Reconstructing the phylogeny of figs (*Ficus*, Moraceae) to reveal the history of the fig pollination mutualism. *Symbiosis*, **45**, 45-56.

Rossor, M.N., Garrett, N.J., Johnson, A.L., Mountjoy, C.Q., Roth, M., Iversen, L.L., **1982**. A post-mortem study of the cholinergic and GABA systems in senile dementia. *Brain*, **105**, 313-330.

Roué, R., **2001**. Infections virales aiguës, importées, hautement contagieuses et leur prise en charge. Editions ENSP, Rennes.

Ruimy, R., et Andremont, A., **2004**. Quorum sensing in *Pseudomonas aeruginosa*: molecular mechanism, clinical impact, and inhibition. *Réanimation*, **13**, 176-184.

Ruitenbergh, A., Van-Swieten, J.C., Witteman, J.C., Mehta, K.M., Van-Duijn, C.M., Hofman, A., Breteler M.B., **2002**. Alcohol consumption and risk of dementia: the Rotterdam Study. *The Lancet*, **359**, 281-286.

## S

Salvayre, R., Auge, N., Nègre-Salvayre, A., **2003**. Rôle de l'oxydation dans la genèse et la progression de l'athérosclérose ; dans *L'athérosclérose : Physiopathologie, Diagnostics, Thérapeutiques.*, J.F., Toussaint, M.P., Jacob, L., Lagrost, J., Chapman, Eds. Masson: Paris, **14**, 269-290.

Sansonetti, P., Orth, G., **2006**. Les maladies infectieuses, mieux comprendre pour mieux maîtriser, in: *La maîtrise des maladies infectieuses: un défi de santé publique, une ambition médico-scientifique* EDP Sciences edn. (P. Sansonetti, and G. Orth, eds.), Académie des Sciences, Les Ulis, pp. 26-47.

Sarni-Manchado, et P., Cheynier, V., **2006**. Les polyphénols en agroalimentaire, Ed. Lavoisier (Tec &Doc), Paris. pp 300-398.

Schliebs, R., Arendt, T., **2006**. The significance of the cholinergic system in the brain during aging and in Alzheimer's disease. *Journal of Neural Transmission*, **113**, 1625-1644.

Shin, R.W., Lee, V.M., Trojanowski, J.Q., **1995**. Neurofibrillary pathology and aluminum in Alzheimer's disease. *Histology and Histopathology*, **10**, 969-978.

Shizhen, L., Porter, S., George, A. S., **1973**. *Chinese Medicinal Herbs: A Modern Edition of a Classic Sixteenth-Century Manual* Dover Publications Inc. New York, p 175.

Siess, M.H., Le Bon, A.M., Lavier, C., **2000**. Mechanisms involved in the chemoprevention of flavonoids. *Biofactors*, **12**(1-4), 193-199.

Shaopeng, W., Wenjun, W., Zhiqin, J., **2012**. New Antifungal Pyranoisoflavone from *Ficus tikoua* Bur. *International Journal of Molecular Sciences*, **13**, 7375 – 7382.

Sirisha, N., Sreenivasulu, M., Sangeeta, K., Madhusudhana C., **2010**. Antioxidant Properties of Ficus Species – A Review. *International Journal of Pharmacy and Technological Research*, CODEN (USA), **2**, 2174-2182.

- Slade, D., Ferreira, D., Marais, J.J., **2005**. Circular dichroism, a powerful tool for assessment of absolute configuration of flavonoids. *Phytochemistry*, **66**, 2177-2215.
- Snowden, F.M., **2008**. Emerging and reemerging diseases: a historical perspective. *Immunological Reviews*, **225**, 9-26.
- Sousa, G., Duarte, L., Alcântara, A., Silva, G., Vieira-Filho, S., Silva, R., Oliveira, D., Takahashi, J., **2012**. New Triterpenes from *Maytenus robusta*: Structural Elucidation Based on NMR Experimental Data and Theoretical Calculations. *Molecules*, **17**, 13439-13456.
- Spencer, C.M., Noble, S., **1998**. Rivastigmine: a review of its use in Alzheimer's disease. *Drugs & Aging*, **13**, 391-411.
- Sreedharan T. P., **2004**. Biological Diversity of Kerala: A survey of Kalliasseri panchayat, Kannur district. Discussion Paper No. 62. Kerala Research Programme on Local Level Development. Centre for Development Studies. Prasanth Nagar, Ulloor. Thiruvananthapuram. ISBN No:81-87621-65-6. <http://krpcds.org/publication/downloads/62.pdf>. Consultée en ligne le 05 Mars 2013, à 14 H 05 min.
- Sroka, Z., **2005**. Antioxidative and Antiradical Properties of Plant Phenolics. *Zeitschrift für naturforsch C*, **60**, 833-843.
- Su-Jin, K., Min-Cheol, K., Jae-Young, U., Seung-Heon, H., **2010**. The beneficial effect of vanillic acid on ulcerative *colitis*. *Molecules*, **15**, 7208-7217.

## T

- Taha, M. S., Fawkeya, A. A., Zeinab, I., El-Sayed, Ahmed, M., **2011**. Two new polyphenolic compounds from *Ficus retusa L. "variegata"* and the biological activity of the different plant extracts. *Journal of Pharmacognosy and Phytotherapy*, **7**, 89-100.
- Tahara, S., **2007**. A journey of twenty-five years through the ecological biochemistry of flavonoids. *Bioscience, Biotechnology and Biochemistry*, **71**, 1387-1404.
- Tangmouo, J.G., **2006**. Etude phytochimique de deux plantes médicinales du Cameroun : *Diopyros canaliculata* et *Diopyros crassiflora* (Ebenacées), Evaluation des Activités biologiques et quelques transformations chimiques, «Thèse de Doctorat /PhD». Université de Yaoundé I, Yaoundé Cameroun, pp. 26-30.
- Thanh, P.N., Jin, W.Y., Song, G.Y., Bae, K., Kang, S., **2004**. Cytotoxic Coumarins from the Root of *Angelica dahurica*. *Archives of Pharmacal Research*, **27**(12), 1211-1215.
- Tiina, O., Remes, S., Haansuu, P., Vuorela, H., Hiltunen, R., Haahtela, K., Vuorela, P., **2000**. Antimicrobial activity of some coumarin containing herbal plants growing in Finland. *Journal of Ethnopharmacology*, **73**, 299-305.

- Trape J.F., **2001**. The public health impact of chloroquine resistance in Africa. *American Journal of Tropical Medicine and Hygiene*, **64**, 12-17.
- Tyas, S.L., **2001**. Alcohol use and the risk of developing Alzheimer's disease. *Alcohol Research & Health*, **25**, 299-306.
- Thomas, D. W., **1988**. The influence of aggressive ants on fruit removal in the tropical tree, *Ficus capensis* [Moraceae]. *Biotropica*, **20**, 49-53.
- Tobinaga, S., **1989**. Okinawa Minzoku Yakuyou Dousyokubutsushi. Naha: Niraisya.
- Tomofuji, T., Ekuni, D., Irie, K., Azuma, T., Endo, Y., Tamaki, N., Sanbe, T., Murakami, J., Yamamoto, T., Morita, M., **2009**. Preventive effects of a cocoa-enriched diet on gingival oxidative stress in experimental periodontitis. *Journal of Periodontology*, **80**(11), 1799-1808.
- Tsobou, R., Mapongmetsem P.M., Damme, P.V., **2013**. Medicinal plants used against typhoid fever in Bamboutos division, western Cameroon. *Ethnobotany Research & Applications*, **11**, 163-174.
- Tytgat, I., Colacino, E., Tulkens, P. M., Poupaert, J. H., Prevost, M., Van Bambeke, F., **2009**. DD-ligases as a potential target for antibiotics: past, present and future. *Current Medicinal Chemistry*, **16**(20), 2566-2580.

## U

- Urbain, A., **2007**. Isolement de xanthones et coumarines inhibitrices de l'acétylcholinestérase, respectivement à partir de *Gentianella campestris* (L.) Börner et *Gentianella amarella* (L.) Börner ssp. *acuta* (Michx.) J.M. Gillett (Gentianaceae), et *Peucedanum ostruthium* (L.) Koch (A piaceae). Thèse de Doctorat Ph.D, Université de Genève. 196 pages.
- Usman, H., Abdulrahman, F.I. and Usman, A., **2009**. Qualitative phytochemical screening and *in vitro* antimicrobial effects of methanol stem bark extract of *Ficus thonningii* (Moraceae). *African Journal of Traditional, Complementary and Alternative Medicine*, **6**, 289-295.

## V

- Vaidya, A.B., **2004**. Mitochondrial and plastid functions as antimalarial drug targets. *Curr. Drug Targets*, **4**, 11-23.
- Venditti, A., Serrilli, A.M., Rizza, L., Frasca, G., Cardile, V., Bonina, F.P., Bianco, A.D., **2013**. Aromadendrine, a new component of the flavonoid pattern of *Olea europaea* L. and its anti-inflammatory activity. *Natural Products Research*, **27**, 340-349.
- Veitch, N.C., Grayer, R.J., **2006**. Chalcones, Dihydrochalcones, and Aurones. *Flavonoids: Chemistry, Biochemistry and Applications*; CRC Press; pp 1003-1100.

## W

- Wahid, H., Javid, H., Roshan, A., Ikhtiar, K., Zabta, Khan, S., Iracema, A.N., **2012**. Tradable and conervation status of medicinal plants of Kurram valley, Parachinar, Pakistan. *Journal of Applied Pharmatceutical Science*, **2**(10), 133-136.
- Walsh, C., **2003**. Antibiotics: actions, origins, resistance. ASM Press. Washington, pp. 117.
- Walter E., Zotz, E., Coombes, A. J., Bodeker, N., Seybols, S., **2009**. The Timber Press Dictionary of Plant Names. *Timber Press Incorporated Portland*, p 348.
- Wanasundara, U., Amarowicz, R., Shahidi, F., **1994**. Isolation and Identification of an Antioxidative Component in Canola Meal. *Journal of Agriculture and Food Chemistry*, **42**, 1285-1290.
- WAR, **2010**. The Global Economic Impact of Dementia. *Alzheimer's Disease International*, World Alzheimer Report, 56 pages.
- Watt, J. M., Breyer-Brandwijk, M.G., **1962**. The Medicinal and Poisonous Plants of Southern and Eastern Africa. 2<sup>nd</sup> ed. London: E. & S. Livingstone, Ltd.
- Whitehouse, P.J., Price, D.L., Struble, R.G., **1982**. Alzheimer's disease and senile dementia: Loss of neurons in the basal forebrain. *Science*, 215, 1237-1239.
- Wilson, A., Salamatian, L., **2003**. Les Radicaux Libres : Une question d'équilibre. DESS-IST, Université de Versailles Saint-Quentin-en-Yvelines, Page 11.
- WHO, **2013**. World Malaria Report, [http://www.who.int/malaria/world\\_malaria\\_report\\_2013/en/index.html](http://www.who.int/malaria/world_malaria_report_2013/en/index.html)
- Widelski, J., Popova, M., Graikou, K., Glowniak K., Chinou, I., **2009**. Coumarins from *Angelica lucida* L., Antibacterial Activities. *Molecules*, **14**, 2729-2734.
- Wilkinson, B.L., Landreth, G.E., **2006**. The microglial NADPH oxidase complex as a source of oxidative stress in Alzheimer's disease. *Journal of Neuroinflammation*, **3**, 30-41.
- Wolfe, K.L., Liu, R.H., **2008**. Structure-activity relationships of flavonoids in the cellular antioxydant activity assay. *Journal of Agriculture and Food Chemistry*, **56**, 8404-8411.
- Wu, J.W., Lee, M.H., Ho, C.T., Chang, S.S., **1982**. Elucidation of the chemical structures of natural antioxidants isolated from rosemary. *Journal of American Oil Chemistry Society*, **59**, 339-345.

## X

- Xiaoxi, L., Feifei, T., Hong-bing, Z., Elsa, P., Jerry, L.M., **1999**. Biologically active blumenol A from the leaves of *Annona glabra*. *Natural products Letters*, **14**(1), 77-81.

## Y

Yang, L.L., Yen, K.Y., Kiso, Y., Kikino, H., **1987**. Antihepatotoxic actions of Formosan plant drugs. *Journal of Ethnopharmacology*, **19**, 103-110.

Yamashita, K., Ouchi, K., Shirai, M., Gondo, T., Nakazawa, T. and Ito, H., **1998**. Distribution of *Chlamydia pneumoniae* infection in the atherosclerotic carotid artery. *Stroke*, **29**(4), 773-778.

## Z

Zahri, S., Razavi, S., Mehdi, Moatamed, Z., **2012**. Antioxidant activity and cytotoxic effect of aviprin and aviprin-3"-O-D-glucopyranoside on LNCaP and HeLa cell lines. *Natural Product Research* **26**(6), 540 - 547.

Zellagui, A., Gherraf, N., Elkhateeb, A., Hegazy, M., Mohamed, T., Touil, A., Shahat, A., Rhouati, S., **2011**. Chemical constituents from Algerian *Foeniculum vulgare* aerial parts and evaluation of antimicrobial activity. *Journal of Chilean Chemical Society*, **56**, 759-763.

Zhang, H.Y., Tang, X.C., **2006**. Neuroprotective effects of huperzine A: new therapeutic targets for neurodegenerative disease. *Trends in Pharmacological Sciences*, **27**, 619-625.

Zhang, M.-L., Yuan, G.-Z., Yao, J.-J., Bi, P., Ni, S.-Q., **2006**. Evaluation of clinical effect and safety of huperzine A in treating 52 Alzheimer's disease. *Zhongguo Xinyao Yu Linchuang Zazhi*, **25**, 693-695.

Ziegler, J., Facchini, P.J., **2008**. Alkaloid biosynthesis: metabolism and trafficking. *Annual Review of Plant Biology*, **59**, 735-769.

Zhu, D.-Y., Tan, C.-H., Li, Y.-M., **2006**. The overview of studies on huperzine A: a natural drug for the treatment of Alzheimer's disease. In: Medical Chemistry of Bioactive Natural Products. Liang X.-T., Fang W.-S., editor: *John Wiley & Sons*. pp 143-182.

# ANNEXE:

## PUBLICATION ISSUE DE CE TRAVAIL

**Yannick S.F. Fongang**, Bankeu, J.J., Muhammad, S.A., Awantu, A.F., Zeeshan, A., Assob, C.N., Mehreen, Lateef, Lenta, B.N., Ngouela, S.A., Tsamo, E., 2015. Flavonoids and other bioactive constituents from *Ficus thonningii* Blume (Moraceae). *Phytochem. Lett.*, **11**, 139 – 145.

**Butyrylcholinesterase inhibitors from two *Ficus* species (Moraceae) (en cours de publication)**

## AUTRES PUBLICATIONS

Mba'ning, B.M., Lenta, N.B., Nougoue, D.T., Antheaume, C., **Fongang, Y.F**, Boyom, F.F., Rosenthal, P.J., Tsamo, E., Sewald, N., Laatsch, H., **2013**. Antiplasmodial triterpenes from the seeds of *Salacia longipes* var. *Camerunensis*. *Phytochemistry*, **96**, 347-352.

E. V. Donfack, B. N. Lenta, Michel D. T. Kongue, **Y.F. Fongang**, S. Ngouela, E. Tsamo, Birger Dittrich and Hartmurt Laatsch., **2012**. Naucleadine D, an indole alkaloid and another chemical constituents from roots and fruits of *mitragyna inermis*. *zeitschrift für naturforschung B.*, **67b**, 1159 – 1165. doi:10.5560/ZNB.2012-0115.

A. F. Awantu, B.N. Lenta, T. Bogner, **Y.F. Fongang**, S. Ngouela, J. D. Wansi, E. Tsamo, and N. Sewald. **2011**. Dialiumoside, an olean-18-ène triterpenoid from *dialium excelsum*. *zeitschrift für naturforschung B.*, **6**, 624 – 628.