

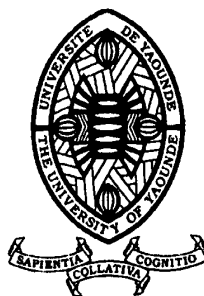
REPUBLIQUE DU CAMEROUN

*Paix – Travail – Patrie*

\*\*\*\*\*

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

\*\*\*\*\*



REPUBLIC OF CAMEROUN

*Peace – Work – Fatherland*

\*\*\*\*\*

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

\*\*\*\*\*

**CONTRIBUTION A L'ETUDE CHIMIQUE DES ECORCES  
DU TRONC D-ORMOCARPUM  
BIBRACTEATUM(FABACEAE) DU CAMEROUN POUR  
L'IDENTIFICATION DES FLAVONO**

Mémoire présenté et soutenu publiquement en exigence des conditions requises  
pour l'obtention du Diplôme de Professeur de l'Enseignement Secondaire 2e  
grade (DI.P.E.S.II)

Par :

**MBEGA Albert Yannick Stève**  
**Licenciée en Chimie(UYI)**

Sous la direction  
**NDONGO Joseph Thierry**  
Chargé de Cours



Année Académique  
2015-2016



## AVERTISSEMENT

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

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

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

---

## Dédicaces

---

Je dédie ce mémoire,

À

**Ma mère, EBOLO Odile Sylvie**

**Ma fille, ONANA MBEGA Marie Antoine Emmanuelle**

**Et à la famille ATANGA**

---

## Remerciements

---

Ce travail a été effectué dans le Laboratoire de de Pharmacochimie des Substances Naturelles (L.P.S.N) de l'Université de Yaoundé I

Je trouve ici l'occasion de remercier:

- Le Professeur **Dieudonné Emmanuel PEGNYEMB**, pour m'avoir accueilli au sein de son équipe de recherche.
- Le Docteur **Joseph Thierry NDONGO**, pour m'avoir fait l'honneur de diriger ce travail, et pour m'avoir initié à la phytochimie.
- Le Docteur **Joséphine NGO MBING**, Épouse **PEGNYEMB**, pour la codirection de ce travail, et surtout pour ses conseils, ses encouragements et sa sympathie qui m'ont permis de mener à ce travail, mais aussi pour m'avoir initié aux méthodes et techniques pratiques de laboratoire.
- Le Professeur **Charles FON ABI**, chef de Département de Chimie de l'École Normale Supérieure de Yaoundé pour son dynamisme et son dévouement pour la bonne marche du Département.
- Tous les enseignants de l'École Normale Supérieure de Yaoundé, notamment Les Professeurs **Deccaux KAPCHE**, **Bruno LENTA**, **Albert MUKAM**, **Théophile NDOUGSA**, **Pascal WAFO**, aux docteurs **René NGANSOP**, **AYINA BOUNI**, **Ibrahim MBOUOBOUO**, **Auguste ABOUEM A ZINTCHEM**, **Jean MELOUPOU**, **Jean EDONGO**... Je tiens également à les rassurer de ma reconnaissance et de ma sympathie pour la formation que j'ai reçue. L'assistant **Kenneth MBENE**, pour la formation qu'il nous a donnée.
- Les aînés du laboratoire: les Docteurs, **Olivier Placide NOTE**, **Gaétan BAYIHA**, **Dominique NGONO**, **Le Doux KAMTO**, et les Doctorants: **Mc Jésus KINYOK**, **Marius BALEMAKEN**, **Line SIMO**, **Norbert MBABI**, **Angélique Nicolas Onésime MAYEGA**, **MESSI**, **Mireille BEYALA**, **Fred ZOUA**, **Robert TIAM**, **Crystelle MATENE**, **Lin Marcellin AMBASSA MESSI**, **Jean EVINA**, **André BITOMBO**, **Alexie NAMA**, **Guy EBEDE** pour leur aide, leur conseil et surtout pour leur disponibilité.

Contribution à l'étude chimique des écorces du tronc d'*Ormocapum bibracteatum* du Cameroun pour l'identification des flavonoïdes (Fabaceae).

- Tous mes Camarades de la 55<sup>ème</sup> promotion pour l'atmosphère qu'ils ont créée et entretenue durant toutes ces années de formation.
- Ma mère **Mme. Odile Sylvie EBOLO**, pour son écoute, et son soutien moral et financier, et son affection.
- Mes grands-parents **M. Albert MBEGA, M. Joseph ESSINDI** et **Mme Mélanie NGONO**, pour l'éducation qu'ils m'ont inculqués, leur soutien moral, leurs conseils et la disponibilité qu'ils m'ont toujours exprimés.
- Mes frères et sœurs: **Marie ONYA, Pascal NNOMO, Thérèse Marie MFEUGUE, Solange BEKONO** pour les encouragements, l'affection qu'ils m'ont encore une fois exprimé.
- Tous mes oncles, tantes: **Emmanuel Jean ATANGA., Solange Béatrice BEKONO, Martine ONDOBO, Anastasie EDZIMBI, Mélanie RAYNAL, Hélène ATANGA EDOA, Gisel ESSAH, Cyrile OLOMO...** pour leur soutien moral et financier pour l'élaboration de ce travail.
- Tous mes amis, connaissances, sans toutefois oublier tous ceux qui ont contribué de près ou de loin à la rédaction de ce mémoire. et que je n'ai pas mentionné ici.
- Enfin je ne saurais oublier **Jacky ONANA NTOLO** pour son soutien, ses encouragements et surtout son affection.

---

## Table de matières

---

|   |           |
|---|-----------|
| Dédicaces .....   | i         |
| Remerciements .....   | ii        |
| Table de matières.....  | iv        |
| Liste des Abréviations et symboles .....  | vi        |
| Liste des Figures.....  | vii       |
| Liste des Schémas .....   | viii      |
| Liste des Tableaux.....   | ix        |
| Résumé .....  | x         |
| Abstract.....   | xi        |
| INTRODUCTION GÉNÉRALE.....  | 1         |
| <b>CHAPITRE I: REVUE DE LA LITTERATURE</b> .....  | <b>2</b>  |
| CHAPITRE 1: REVUE DE LA LITTERATURE.....  | 3         |
| <b>I.1- FAMILLE DES FABACEAE</b> .....  | <b>3</b>  |
| <b>I.2. LE GENRE ORMOCARPUM</b> .....   | <b>6</b>  |
| <b>I.3-L'ESPECE <i>ORMOCARPUM BIBRACTEATUM</i></b> .....                                      | <b>7</b>  |
| <b>I.4-USAGES ETHNO-PHARMACOLOGIQUES DU GENRE ORMOCARPUM</b> .....                            | <b>9</b>  |
| <b>II- ETUDES CHIMIQUES ANTERIEURES</b> .....   | <b>11</b> |
| <b>II.1- METABOLITES SECONDAIRES ISOLEES DE L'ESPECE <i>ORMOCARPUM BIBRACTEATUM</i></b> ..... | <b>11</b> |
| <b>II.2.ACTIVITES BIOLOGIQUES DES EXTRAITS DU GENRE <i>ORMOCARPUM</i></b> .....               | <b>22</b> |
| CHAPITRE II: RESULTATS ET DISCUSSION .....  | 23        |
| CHAPITRE 2: RESULTATS ET DISCUSSION.....  | 23        |
| <b>II.1. ISOLEMENT DES COMPOSÉS D'<i>ORMOCARPUM BIBRACTEATUM</i></b> .....                    | <b>23</b> |
| <b>II.2.IDENTIFICATION DES COMPOSES OB<sub>1</sub> ET OB<sub>2</sub></b> .....                | <b>25</b> |
| <b>II.2.1.Identification du composé OB<sub>1</sub></b> .....                                  | <b>25</b> |
| <b>II.2.2.Identification de OB<sub>2</sub></b> .....  | <b>34</b> |
| CHAPITRE III : MATERIEL ET METHODES .....   | 40        |
| <b>III.1. MATERIEL</b> .....  | <b>40</b> |
| <b>III.1.1. Matériel végétal</b> .....  | <b>40</b> |

Contribution à l'étude chimique des écorces du tronc d'*Ormocapum bibracteatum* du Cameroun pour l'identification des flavonoïdes (Fabaceae).

|   |    |
|---|----|
| <b>III.1.2. Matériel de laboratoire</b> .....   | 40 |
| <b>III.2. METHODES D'EXTRACTION</b> .....   | 41 |
| <b>III.2.1.Extraction</b> .....   | 41 |
| <b>III.2.2. Partition et test des flavonoïdes</b> .....                               | 42 |
| <b>III.2.2.1. Partition</b> .....   | 42 |
| <b>III.2.2.2. Test des flavonoïdes (test de shinoda)</b> .....                        | 42 |
| <b>III.2.3.Fractionnement et purification de l'extrait a l'acetate d'ethyle</b> ..... | 43 |
| <b>III.2.3.1. Fractionnement de l'extrait a l'acétate d'éthyle</b> .....              | 43 |
| <b>III.2.3.2. Purification des composés</b> .....                                     | 43 |
| <b>III.3 CARACTERISATION PHYSICO-CHIMIQUE DES COMPOSES ISOLEES</b> .....              | 44 |
| <b>INTERÊT PÉDADOGIQUE</b> .....  | 47 |
| <b>CONCLUSION ET PERSPECTIVES</b> .....   | 48 |
| <b>RÉFÉRENCES BIBLIOGRAPHIQUES</b> .....  | 48 |

---

## Liste des Abréviations et symboles

---

|                                   |  |
|-----------------------------------|--|
| AcOEt:                            | Acétate d'éthyle                                   |
| CC:                               | Chromatographie sur colonne                        |
| CCM:                              | Chromatographie sur couche mince                   |
| CH <sub>2</sub> Cl <sub>2</sub> : | Chlorure de méthylène                              |
| Cm                                | Centimètre   |
| COSY:                             | “Correlation Spectroscopy “                        |
| <i>d</i> :                        | Doublet  |
| <i>dd</i> :                       | Doublet dédoublé                                   |
| <i>s</i> :                        | Singulet   |
| <i>t</i> :                        | Triplet  |
| DMSO- <i>d</i> <sub>6</sub> :     | Diméthylsulfoxydehexadeutéié                       |
| HMBC:                             | ”Heteronuclear Multiple Bond Correlation”          |
| HSQC:                             | “Heteronuclear Single Quantum Coherence”           |
| Hz:                               | Hertz  |
| nm                                | Nanomètre  |
| <i>m/z</i> :                      | Masse / Charge électrique                          |
| mg:                               | Milligramme  |
| ml:                               | Millilitre   |
| ESIMS:                            | Ionisation par electrospray-Spectrométrie de masse |
| MeOH:                             | Méthanol   |
| <i>O</i> :                        | <i>Ormocarpum</i>                                  |
| RMN:                              | Résonance magnétique nucléaire                     |
| RMN <sup>1</sup> H:               | Résonance Magnétique Nucléaire du proton.          |
| RMN <sup>13</sup> C:              | Résonance Magnétique Nucléaire du carbone 13.      |
| I.U.P.A.C:                        | International Union of Pure and Applied Chemistry. |
| U.V:                              | Ultraviolet  |
| V.L.C :                           | Vaccum Liquid Chromatography                       |



---

## Liste des Figures

---

|   |    |
|---|----|
| <b>Figure1:</b> Photo d'une tige d' <i>O. bibractéatum</i> .....                              | 8  |
| <b>Figure2:</b> Photo des feuilles d' <i>O. Bibractéatum</i> .....                            | 8  |
| <b>Figure3:</b> Photo des fleurs d' <i>O. bibractéatum</i> .....                              | 8  |
| <b>Figure 4:</b> Répartition géographique d' <i>ormocarpum bibractéatum</i> au Cameroun ..... | 9  |
| <b>Figure 5:</b> Spectre de masse de <b>OB<sub>1</sub></b> .....                              | 25 |
| <b>Figure 6:</b> Spectre IR de <b>OB<sub>1</sub></b> .....                                    | 26 |
| <b>Figure 7:</b> Spectre de RMN <sup>1</sup> H (300 MHz, DMSO) de <b>OB<sub>1</sub></b> ..... | 31 |
| <b>Figure8:</b> Spectre de RMN <sup>13</sup> C (75 MHz, DMSO) de <b>OB<sub>1</sub></b> .....  | 31 |
| <b>Figure 9:</b> spectre HMBC (500 MHz, DMSO) de <b>OB<sub>1</sub></b> .....                  | 33 |
| <b>Figure 10:</b> Spectre COSY (500MHz, DMSO) de <b>OB<sub>1</sub></b> .....                  | 33 |
| <b>Figure 11:</b> Spectre HSQC de <b>OB<sub>1</sub></b> .....                                 | 34 |
| <b>Figure12:</b> Spectre de masse de <b>OB<sub>2</sub></b> .....                              | 35 |
| <b>Figure 13:</b> Spectre RMN de <b>OB<sub>2</sub></b> .....                                  | 37 |
| <b>Figure 14:</b> Spectre RMN <sup>13</sup> C de <b>OB<sub>2</sub></b> .....                  | 37 |
| <b>Figure 15:</b> Spectre COSY de <b>OB<sub>2</sub></b> .....                                 | 38 |
| <b>Figure 16:</b> Spectre HSQC du composé <b>OB<sub>2</sub></b> .....                         | 39 |
| <b>Figure 17:</b> Spectre HMBC du composé <b>OB<sub>2</sub></b> .....                         | 39 |
| <b>Figure 18:</b> Concentration du filtrat.....   | 41 |
| <b>Figure 19:</b> partition par VLC .....   | 42 |
| <b>Figure 20:</b> Fractionnement de l'extrait a l'acétate d'éthyle.....                       | 43 |
| <b>Figure 21 :</b> photo de purification.....   | 43 |

---

## Liste des Schémas

---

|   |    |
|---|----|
| <b>Schéma 1:</b> Formation du motif Chalcone (Harbone 1982). .....  | 15 |
| <b>Schéma 2:</b> Formation d'un flavonoïde à partir de la Chalcone (Harbone 1982). .....  | 16 |
| <b>Schéma 3:</b> Protocole d'extraction et isolement des métabolites secondaires des<br>écorces de <i>O. bibracteatum</i> ..... | 24 |

---

## Liste des Tableaux

---

|   |    |
|---|----|
| <b>Tableau 1:</b> Position systématique des Fabaceae.....   | 5  |
| <b>Tableau 2:</b> classification scientifique des plantes du genre <i>Ormocarpum</i> .....  | 6  |
| <b>Tableau 3:</b> Usages en pharmacopé traditionnelle des espèces du genre <i>Ormocarpum</i> .....  | 10 |
| <b>Tableau 4:</b> Quelques flavonoïdes isolés de l'espèce <i>Obibracteatum</i> .....  | 17 |
| <b>Tableau 5:</b> Quelques biflavonoïdes isolés de l'espèce <i>bibracteatum</i> .....   | 18 |
| <b>Tableau 6:</b> Quelques coumarines isolées de l'espèce <i>O. bibracteatum</i> .....  | 21 |
| <b>Tableau 7 :</b> Activités biologiques de quelques espèces du genre <i>Ormocarpum</i> .....   | 22 |
| <b>Tableau 8 :</b> Comparaison des déplacements des spectres de RMN <sup>13</sup> C et <sup>1</sup> H de <b>OB<sub>1</sub></b> à ceux de la littérature.....              | 30 |
| <b>Tableau: 9</b> Comparaison des déplacements chimiques des spectres de RMN <sup>13</sup> C et <sup>1</sup> H de <b>OB<sub>2</sub></b> avec ceux de la littérature ..... | 36 |

---

## Résumé

---

Le présent travail porte sur l'étude chimique de l'espèce *Ormocarpum bibracteatum* du Cameroun, une plante médicinale de la famille des *Fabaceae* pour l'identification des flavonoïdes. Grâce au test de Shinoda et aux différentes méthodes chromatographiques (chromatographie sous couches minces, chromatographie sous colonne) nous avons isolé de l'extrait au méthanol deux composés identifiés au chamaejasmin et à l'ormocarpin à l'aide des méthodes physico-chimiques et spectroscopiques usuelles (SM, IR, RMN 1D et 2D).

**Mots clés:** *Fabaceae*, *Ormocarpum bibracteatum*, flavonoïdes, chamaejasmin et ormocarpin.

---

## Abstract

---

The present work deals with the phytochemical study for the identification of flavonoïds in *ormocarpum bibracteatum*, a Cameroonian specie from *Fabaceae* family. Based on shinoda test and different chromatographic methods (column chromatography, thin layer chromatography), we isolated two compounds named as chamaejasmin and ormocarpin. These compounds were identified by using physicochemical and spectroscopic methods (MS, RI, NMR 1D and 2D).

**Keywords:** *Fabaceae*, *ormocarpum bibracteatum*, flavonoids, chamaejasmin and ormocarpin.

A blue horizontal scroll graphic with rounded ends and a vertical strip on the left side, resembling a rolled-up document. The text is centered on the scroll.

# **INTRODUCTION GENERALE**

## Introduction Générale

---

Depuis longtemps, les hommes apprécient les vertus apaisantes et analgésiques des plantes. A travers les siècles, les traditions humaines ont su développer la connaissance et l'utilisation des plantes médicinales dans le cadre de la médecine naturelle. En 2006, selon l'OMS, près de 80 % de la population mondiale avait encore recours aux plantes pour se soigner et n'avait pas accès aux médicaments dits modernes (Pousset J.L. 2006)

Ainsi, le désir d'améliorer la couverture sanitaire de la population mondiale, l'impuissance de la médecine moderne face à certaines maladies réveillant la nécessité de trouver de nouvelles substances biologiquement actives, sans oublier le dérisoire pouvoir d'achat des populations des pays du tiers-monde des médicaments dits modernes sont autant de raisons pour lesquelles les chimistes chercheurs participent entre autre au programme lié à l'isolement et à la caractérisation des constituants des plantes utilisées dans la médecine naturelle afin d'isoler le principe actif.

Le Laboratoire de Pharmacochimie des Substances Naturelles (LPSN) de l'université de Yaoundé I a choisi de s'impliquer dans cette immense et vaste tâche en s'investissant depuis plusieurs années dans l'étude chimique des plantes de la pharmacopée africaine en général et camerounaise en particulier.

C'est dans cette logique, qu'il nous a été proposé dans le cadre de nos travaux de recherche en vue de l'obtention du DIPES II d'apporter notre contribution à cet objectif en entreprenant l'identification des flavonoïdes de l'espèce Camerounaise d'*Ormocarpum bibracteatum* plus connu sous le nom d'*Ormocarpum kirkii*. Le choix de cette plante réside dans le fait qu'elle a fait l'objet de peu d'études chimiques à notre connaissance, mais aussi parce qu'elle possède plusieurs effets thérapeutiques. L'objectif de ce travail est donc de Contribuer à la valorisation d'*Ormocarpum bibracteatum* camerounais, pour y parvenir nous allons Extraire, Isoler, Purifier puis caractériser les Flavonoïdes de cette plante.

Ce travail se subdivise en cinq parties, une revue de la littérature, une présentation des résultats et discussion, une présentation du matériel et des méthodes expérimentales, l'implication pédagogique et une référence bibliographique.



## **CHAPITRE I: REVUE DE LA LITTERATURE**



---

## CHAPITRE 1: REVUE DE LA LITTÉRATURE

---

### I-APERÇU BOTANIQUE

#### I.1- FAMILLE DES FABACEAE

##### ✓ **Description**

La grande famille des Fabaceae doit son unité à son fruit, appelé gousse ou légume, d'où le nom de Légumineuses sous lequel cette famille est plus connue (De Wit 1963 ; Bhattacharyya, Johri 1998). La gousse est un follicule déhiscent qui s'ouvre par deux fentes longitudinales en deux valves portant chacune une rangée de graines exalbuminées. Cette famille est subdivisée en trois sous-familles à savoir: les Faboideae anciennement appelée Papilionaceae, avec une fleur typique en forme de papillon, les Caesalpinioideae autrefois appelée Caesalpinaceae avec une fleur pseudo-papilionacée et les Mimosoideae ancienne famille de Mimosaceae avec une fleur régulière. Les Fabaceae représentent une grande famille constituée de plantes ligneuses dans les zones tropicales et herbacées dans les zones tempérées avec quelques arbres et arbustes qui regroupe environ 12000 espèces réparties en plus de 650 genres (Gilbert, Boutique 1953). Les espèces de cette famille sont caractérisées par la présence des nodules fixateurs d'azote atmosphérique sur les racines, mais plus précisément chez les Faboideae et les Mimosoideae mais, ils sont absents chez la plupart de Caesalpinioideae.

##### ✓ **Caractéristiques générales des *Fabaceae***

Les plantes de la famille des Fabaceae possèdent plusieurs caractères botaniques en commun, ce sont des arbres, des arbustes ou des lianes ligneuses, caduques ou persistantes, ou encore des herbes annuelles, vivaces ou pluriannuelles.

##### **\*Appareil végétatif** (De Wit 1963)

Les feuilles sont généralement alternes, pennées ou trifoliolées et stipulées. Cependant on peut noter quelques légères variations telles que: l'absence de la foliole finale ou alors sa présence en forme de vrille, les folioles peuvent être remplacées par des épines, les stipules sont substituées à des épines (c'est le cas du robinier faux acacia), le nombre de folioles peut être réduit (cas du trèfle et du genêt), la nervation peut être de type palmée (cas du lupin).

Les fruits des gousses coriaces ou ligneuses, déhiscentes ou indéhiscentes à maturité s'ouvrant en deux valves parfois samaroides (Belesi 2009); indéhiscente des étranglements entre les graines (gousse lomentacée). Elle est sèche ou charnue, aplatie ou comprimée, ailée

Contribution à l'étude chimique des écorces du tronc d'*Ormocapum bibracteatum* du Cameroun pour l'identification des flavonoïdes (Fabaceae)

ou non, verdâtre ou de couleur vive et sa taille va de quelques millimètres à une trentaine de centimètres. Le nombre d'ovules est variable. Ils évoluent pour former une graine exalbuminée qui est d'ailleurs souvent riche en composés à haute valeur alimentaire comme : l'amidon (pois, fèves, lentilles), les lipides (arachides, graines de soja) et les protéines (à hauteur de 40% dans les graines de soja).

Les racines sont généralement pivotantes et laissent apparaître des nodosités à rhizobium qui se forment si le sol est pauvre en azote.

**\*Appareil reproducteur** (De Wit 1963, Bhattacharyya & Johri 1998)

Toutes les Fabaceae possèdent un seul carpelle et un unique ovaire. Celui-ci est supère et surmonté d'un style et d'un stigmate. Les inflorescences sont des grappes plus ou moins allongées et les fleurs sont cyclisées, hermaphrodites et fortement zygomorphes par la corolle. La corolle quant à elle présente une forme dite « papilionacée » c'est à dire à symétrie bilatérale et une préfloraison imbriquée, descendante ou vexillaire. Elle est constituée de cinq pétales disposés en forme de papillon. Le pétale dorsal (postérieur), vexillum ou plus couramment étendard, recouvre les deux pétales latéraux ou ailes. Ces derniers, recouvrent à leur tour, les deux pétales inférieurs, libres ou unis par leur bord interne sur une certaine longueur. Ces deux Pièces inférieures constituent ensemble la carène qui renferme l'androcée et le gynécée.

✓ **Distribution géographique**

Les Fabaceae constituent la troisième famille des angiospermes de par le nombre de ses représentants. Elle a donc une distribution quasi cosmopolite, on les trouve partout dans le monde; mais on dénombre leur abondance dans les régions tropicales et subtropicales d'Afrique, d'Asie et d'Amérique.

✓ **classification systématique**

L'Angiosperm Phylogeny Group (A.P.G) classe systématiquement les Fabaceae dans le tableau 1.

Contribution à l'étude chimique des écorces du tronc d'*Ormocapum bibracteatum* du Cameroun pour l'identification des flavonoïdes (Fabaceae)

**Tableau 1:** Position systématique des Fabaceae

|                    |                                       |
|--------------------|---------------------------------------|
| Règne              | <i>Plantae</i>                        |
| Embranchement      | <i>Spermatophyta</i>                  |
| Sous-embranchement | <i>Angiospermae</i>                   |
| Classe             | <i>Eudicotyledonae</i>                |
| Sous-classe        | <i>Rosidae</i>                        |
| Ordre              | <i>Fabidae.</i>                       |
| Sous-ordre         | <i>Fabales</i>                        |
| Famille            | <i>Fabaceae/ Leguminosae</i>          |
| Sous-famille       | Faboideae/Mimosoideae/Caesalpinoideae |

➤ **Importance des plantes de la famille des Fabaceae**

Les Fabaceae fournissent de nombreuses substances alimentaires, des substances médicales, des bois magnifiques pour la construction et les arts, des substances tinctoriales, des gommes et des résines, etc. Un grand nombre de légumineuses fournissent des graines ou des fruits Comestibles : haricot, lentille, pois, fève. Ces graines renferment beaucoup d'amidon et une proportion de matière azotée supérieure à celle des viandes de boucherie. Les graines de l'arachide cultivées dans les pays chauds, fournissent de l'arachide. Enfin, les légumineuses herbacées cultivées dans les régions tempérées peuvent Jouer un rôle de premier ordre comme engrais vert. Les agriculteurs ont appris depuis longtemps par l'expérience que lorsqu'une terre a été épuisée par la culture répétée d'une plante tel que le blé, on peut lui rendre une partie de ses principes fertilisants en l'ensemencant d'une légumineuse fourragère telle que la Luzerne, le Trèfle, le Lupin (Kurlovich, Repev 1995).

## I.2. LE GENRE ORMOCARPUM

### ✓ Description

Parmi les 500 genres de la famille des Fabaceae, nous nous sommes intéressés dans ce travail au genre *Ormocarpum* qui appartient à la tribu des Aeschynomènes de la sous famille des Faboideae (troisième sous famille des Fabaceae), Les plantes de ce genre sont des arbus aux feuilles sensibles, folioles ovoïdes, nombreuses, opposée et régulières avec des fleurs. Ce genre compte environ 16 espèces à savoir: l'*Ormocarpum bernierianum* (Baill Du Puy et Labat) l'*Ormocarpum cochinchinense* (Lour Merr), l'*Ormocarpum drakei* (R. Vig), l'*Ormocarpum flavum* J.B. Gillett, l'*Ormocarpum keniense* J.B. Gillett, l'*Ormocarpum kirkii* (S. Moore), l'*Ormocarpum klainei* (Tisser), l'*Ormocarpum megalophyllum* (Harms), l'*Ormocarpum muricatum* (Chiov), l'*Ormocarpum pubescens* (Hochst Cufod), l'*Ormocarpum schliebenii* (Harms), l'*Ormocarpum sennoides* (Willd DC), l'*Ormocarpum suberosum* (Teijsm. et Binn), l'*Ormocarpum trachycarpum* (Taub et Harms), l'*Ormocarpum trichocarpum* (Taub et Engl) et l'*Ormocarpum verrucosum* (P. Beauv). (Lavin et al. 2001).

### ✓ Classification systématique du genre *Ormocarpum*

La classification scientifique du genre *Ormocarpum* se résume dans le tableau 2 comme suit:

**Tableau 2:** classification scientifique des plantes du genre *Ormocarpum* (L'Angiosperm Phylogeny Group (A. P. D. III). 2009)

|                    |                             |
|--------------------|-----------------------------|
| Règne :            | Plante                      |
| Embranchement      | Angiospermes                |
| Sous-embranchement | Rosidaeae                   |
| Ordre :            | Fabale                      |
| Famille :          | Fabaceae                    |
| Sous-famille       | Faboideae                   |
| Tribu :            | Dalbergieae                 |
| Genre :            | <i>Ormocarpum</i> P. Beauv. |

✓ **Situation géographique**

On rencontre généralement les plantes du genre *Ormocarpum* dans les zones tropicales d'Amérique Latine (en Argentine), d'Asie (Inde), d'Australie vers l'antartique et en Afrique (la Tanzanie, l'Afrique du sud, le Kenya, le Zimbabwe, La Namibie, le Sénégal, la République Démocratique du Congo, le Cameroun) (Rhodesia Agricultural. 1956)

**I.3-L'ESPECE *ORMOCARPUM BIBRACTEATUM***

✓ **Description**

Le genre *Ormocarpum* regorge plusieurs espèces réparties aléatoirement dans le monde dont la plus connue est *Ormocarpum bibracteatum*. Seules quatre de ces espèces ont jusqu'ici été répertoriées au Cameroun à savoir: *Ormocarpum bibracteatum*, *Ormocarpum verrucosum*; *Ormocarpum sennoïdes* et *Ormocarpum megalophyllum* mais, celle qui a particulièrement retenu notre attention pour une investigation plus poussée est l'espèce *Ormocarpum bibractéatum* vulgairement connu sous le nom d'*Ormocarpum kirkii* qui est son nom préféré et officiellement reconnu par la communauté scientifique. Il est cependant indexé le synonyme d'*Ormocarpum mimosoides* S. Moore (Catalogue de vie. Avril 2013).

L'espèce *Ormocarpum bibracteatum* se présente généralement sous forme d'arbustes ou petits arbres allant jusqu'à 9 m; avec des écorces fissurées longitudinalement, rugueuses et liégeuses. Ses feuilles sont espacées sur de longues pousses en fascicules sur de courtes pousses avec des folioles d'environ 7-13, 6-12 × 2-7 mm, à l'âge pubère elles ont une forme elliptiques-oblongues (plus longue que large) avec un terminal ovoïde. Elles sont de couleur verte, glabres et révoluté de marge. Leur vernation a généralement lieu pendant la période sombre juste après la sècheresse. Leur pétiole mesure environ 5-13 mm avec une grappe (assemblage) de 1 à 3 fleurs de couleur rose ou pourpre ayant la forme d'une lame standard avec deux appendices arrondis à la base. Les fruits quant à eux ont jusqu'à 2 cm de long, enroulés dans la corolle persistante, ils sont pubescents, glandulaires et tuberculées. Toutes ces descriptions sont perceptibles à travers les figures 1,2 et 3.

Contribution à l'étude chimique des écorces du tronc d'*Ormocarpum bibracteatum* du Cameroun pour l'identification des flavonoïdes (Fabaceae)



**Figure1:** Photo d'une tige d'*O. bibracteatum* de Bart Wursten



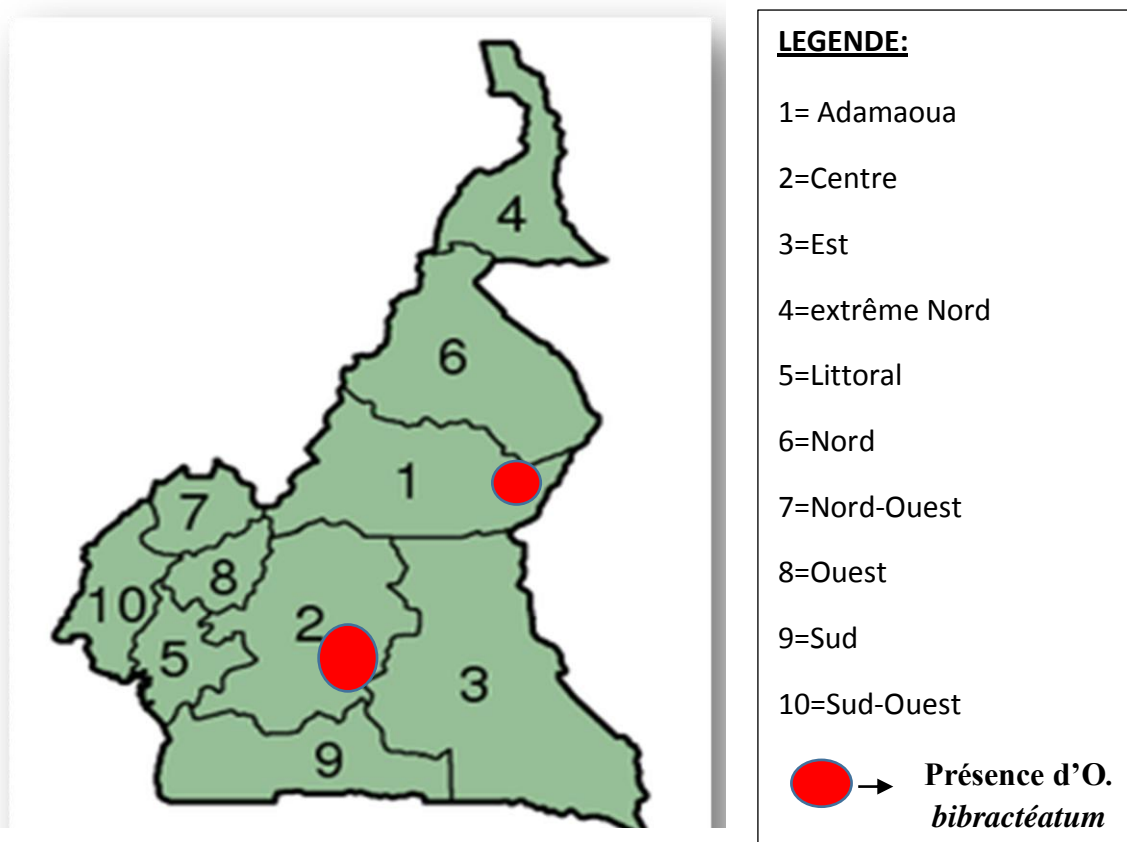
**Figure2:** Photo des feuilles d'*O. Bibracteatum* de Bart Wursten



**Figure3:** Photo des fleurs d'*O. bibractéatum* de Mark Hyde

✓ **Répartition géographique**

L'espèce *ormocarpum bibracteatum* est aléatoirement répandue à travers le monde. On la retrouve notamment, en Asie, Amérique latine en Afrique de l'Est à travers les pays tels que: la Tanzanie, le Kenya, le Zimbabwe, La Namibie (Rhodesia Agricultural. 1956) et en Afrique Centrale: en RDC, au Cameroun (Meiganga et Ndikiniméki).



**Figure 4:** Répartition géographique d'*ormocarpum bibracteatum* au Cameroun (HNC et Concessionnaire: COMMUNE DE NDIKINIMEKI, No de rapport: 09600489)

#### **I.4-USAGES ETHNO-PHARMACOLOGIQUES DU GENRE ORMOCARPUM**

Les constituants de la famille des Fabaceae sont importants sur le plan écologique et dans le domaine agricole car ils contiennent des nodules ribosomales qui fixent l'azote. Toutefois, les plantes du genre *Ormocarpum* présentent un intérêt thérapeutique remarquable en médecine traditionnelle et en médecine moderne. Les feuilles, la tige, les racines de ces derniers sont utilisées de différentes façons selon les peuples et les tribus.

##### **✓ Usages en pharmacopée traditionnelle de quelques espèces**

En pharmacopée traditionnelle, l'activité de certaines espèces du genre *Ormocarpum* a été confirmée dans le traitement de plusieurs affectdions comme le montre le tableau 3.

Contribution à l'étude chimique des écorces du tronc d'*Ormocarpum bibracteatum* du Cameroun pour l'identification des flavonoïdes (Fabaceae)

**Tableau 3:** Usages en pharmacopée traditionnelle de quelques espèces du genre *Ormocarpum*

| <b>Espèces</b>                 | <b>Pays</b> | <b>Parties</b>      | <b>Usages</b>   | <b>Références</b>           |
|--------------------------------|-------------|---------------------|---|-----------------------------|
| <i>Ormocarpum bibracteatum</i> | Tanzanie    | Ecorces de la tige  | par macération, elles sont utilisées pour l'allergie et la réduction des œdèmes   | (Nyandat et al. 1990)       |
|                                |             | Racines             | Elles sont utilisées pour le traitement du rhumatisme, des maux d'estomac, de l'épilepsie, de la hernie et de la fièvre causée par le paludisme | (Maregesi et al. 2007)      |
|                                |             | Feuilles            | Elles servent à soigner les maux de tête  | (Chhabra et al. 1990)       |
|                                |             | Ecorces des racines | Servent à stopper la diarrhée   | (Chhabra et al. 1990)       |
| <i>O.cochenchinense</i>        | Inde        | Racines             | Elles sont utilisées pour lutter contre la fatigue (stimulants).  | Marie John et al. 2011      |
|                                |             | Feuilles            | Traitement des lombagos, de la paralysie, des douleurs de la poitrine, mal de nerfs et pour la guérison des fractures                           | (Adyarpoongo 2007)          |
|                                | Island      | Jeunes feuilles     | sont utilisées comme légumes  | (Bean 2006)                 |
| <i>O.sennoides</i>             | Inde        | Arbustes            | Utilisés pour la guérison des fractures et permet la tonification des os  | (Bhuvaneshwari et al. 2014) |



## II- ETUDES CHIMIQUES ANTERIEURES

### II.1- Métabolites secondaires isolés de l'espèce *Ormocarpum bibracteatum*

L'étude chimique entreprise sur l'espèce *Ormocarpum bibracteatum* a conduit à l'isolement et à la caractérisation de plusieurs métabolites secondaires tels que: les flavonoïdes, les biflavonoïdes (les plus majoritaires) et les coumarines.

- **Les flavonoïdes**

- ✓ **Historique et description**

Les flavonoïdes ont été découverts par Albert Szent-Györgyi en 1936 et un an plus tard il a reçu le prix Nobel. Les flavonoïdes sont des métabolites secondaires des plantes partageant tous une même structure de base, formée par deux cycles aromatiques reliés par trois carbones C<sub>6</sub>-C<sub>3</sub>-C<sub>6</sub>. La chaîne C<sub>3</sub> est souvent fermée en un hétérocycle oxygéné hexa- ou pentagonal. Certains auteurs, comme Bruneton, préfèrent séparer, compte tenu de leurs propriétés particulières, les dérivés flavaniques, les anthocyanosides et les isoflavonoïdes et de conserver l'appellation de flavonoïdes dans le sens stricte pour les autres. Les flavonoïdes sont largement distribués dans le règne végétal où ils sont présents le plus souvent sous la forme soluble d'hétérosides.

Ils sont fréquents chez les *Bryophyta* (mousses et hépatiques), les *Pteridophyta* (fougères) et les *Gymnospermae* (conifères) ; mais c'est chez les *Angiospermae* qu'ils manifestent la plus grande diversité. Ils interviennent dans la symbiose entre les Fabacées et les bactéries du groupe rhizobium. Les racines de luzerne relâchent des flavonoïdes qui attirent la bactérie *Rhizobiummeliloti* et induisent chez elle les gènes de nodulation.

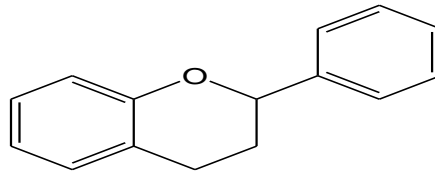
- ✓ **Couleur**

Les flavonoïdes sont des pigments responsables des colorations des fleurs et des fruits. Ils couvrent une large gamme de couleur allant du rouge à l'ultraviolet en passant par le jaune. Leur couleur dépend de leur structure mais aussi de l'acidité du milieu (pH). Les jaunes viennent des chalcones, auronnes et flavonols, les rouges et les mauves des anthocyanosides et les bleus trouvent leur origine dans les co-pigments flavones-anthocyanosides.

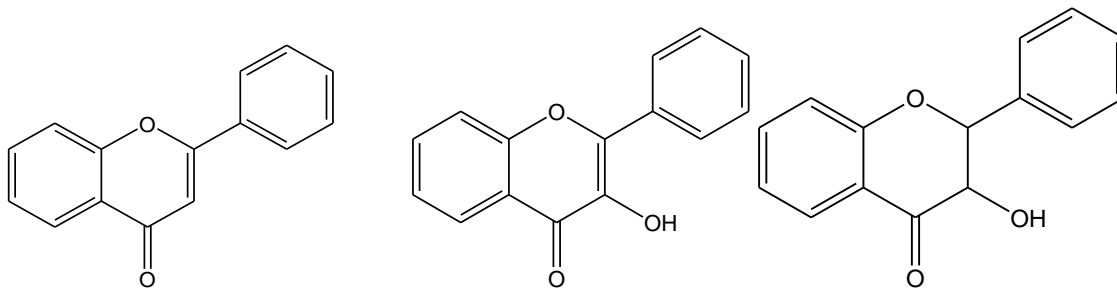
Contribution à l'étude chimique des écorces du tronc d'*Ormocapum bibracteatum* du Cameroun pour l'identification des flavonoïdes (Fabaceae)

✓ **Structure**

Les flavonoïdes présentent un squelette de base à 15 atomes de carbone, fait de deux cycles benzéniques C<sub>6</sub> reliés par une chaîne en C<sub>3</sub>. Le pont à 3 carbones entre les deux phényles forme généralement un troisième cycle appelé pyrane.



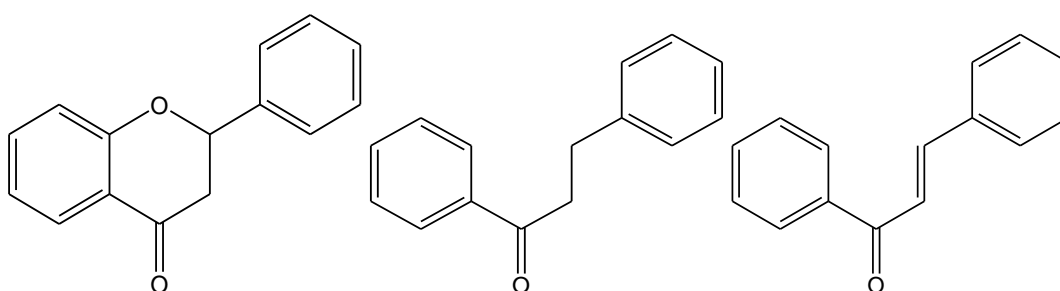
La distinction des sous-classes se fait sur la conformation de cette structure centrale C<sub>3</sub>. On peut distinguer notamment dans le sens strict les flavonoïdes :



FLAVONE

FLAVONOL

FLAVANONOL

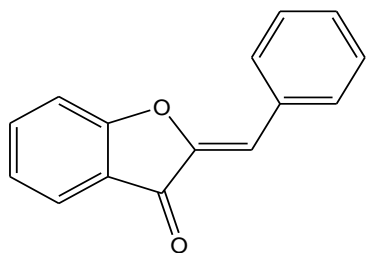


FLAVANONE

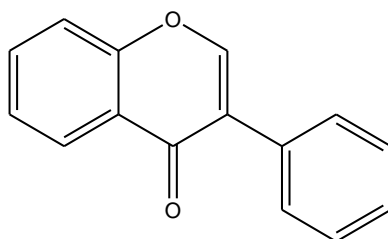
DIHYDROCHALCONE

CHALCONE

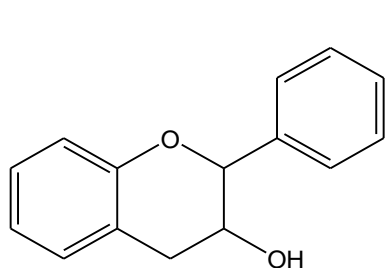
Contribution à l'étude chimique des écorces du tronc d'*Ormocapum bibracteatum* du Cameroun pour l'identification des flavonoïdes (Fabaceae)



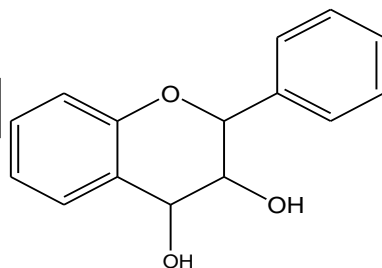
AURONE



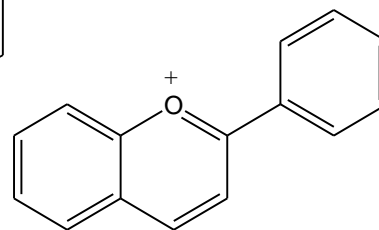
ISOFLAVONE



FLAVAN-3-OL



FLAVAN-3,4-DIOL



ANTHOCYANIDINE

✓ **Propriétés physiques.**

Les hétérosides de flavonoïdes sont en général solubles dans l'eau et les alcools. Les génines sont pour la plupart, solubles dans les solvants organiques polaires. L'extraction est réalisée habituellement à l'aide du méthanol ou de mélange méthanol-eau parfois d'acétonitrile-eau.

✓ **Propriétés biologiques.**

• **Renforcement de la résistance des capillaires.**

Historiquement, c'est la première propriété reconnue aux flavonoïdes. On les dit "veinotoniques" car on peut montrer qu'ils sont capables de diminuer la perméabilité des capillaires et de renforcer leur résistance. Pour Bruneton « les revues générales et les synthèses méthodiques avec méta-analyse récentes aboutissent plutôt à constater l'absence ou la faiblesse de preuves de l'effet des flavonoïdes dans le traitement de l'insuffisance veineuse chronique, effet au demeurant de valeur clinique incertaine ».

- **Activité antioxydante.**

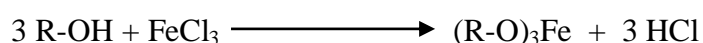
Les flavonoïdes agissent principalement comme antioxydants primaires, en stabilisant les radicaux peroxydant mais ils peuvent aussi désactiver les espèces oxygénées réactives (ion superoxyde, radical OH<sup>•</sup>, oxygène singlet), inhiber la lipoxygénase ou encore chélaté les métaux. La limitation principale de cette activité antioxydante est la faible biodisponibilité des flavonoïdes après ingestion d'aliments riches de ces composés. La faible quantité absorbée entre en concurrence avec les autres piègeurs de radicaux libres ( $\alpha$ -tocophérol, ascorbates et glutathione) présents dans des concentrations très supérieures. Exception faite du tractus gastro-intestinal et peut-être du sang. L'action potentielle des polyphénols comme piègeurs de radicaux libres n'a probablement aucune signification physiologique dans la plupart des organes.

- ✓ **Tests d'identification.**

Comme tous les composés phénoliques, les flavonoïdes répondent positivement au test au chlorure ferrique (FeCl<sub>3</sub>) et en plus au test de Shinoda.

- **Test au chlorure ferrique**

À une solution alcoolique de produit on ajoute quelques gouttes de chlorure ferrique. La présence des phénols se manifeste par un changement de coloration qui vire au vert.



- **Test de Shinoda (Shinoda 1928)**

À une solution alcoolique de produit on ajoute quelques gouttes d'acide chlorhydrique concentré puis quelques copeaux de magnésium. La présence des flavonoïdes en général se manifeste par une effervescence et un changement de coloration qui peut être violette ou rouge brique.

- ✓ **Biosynthèse des flavonoïdes.**

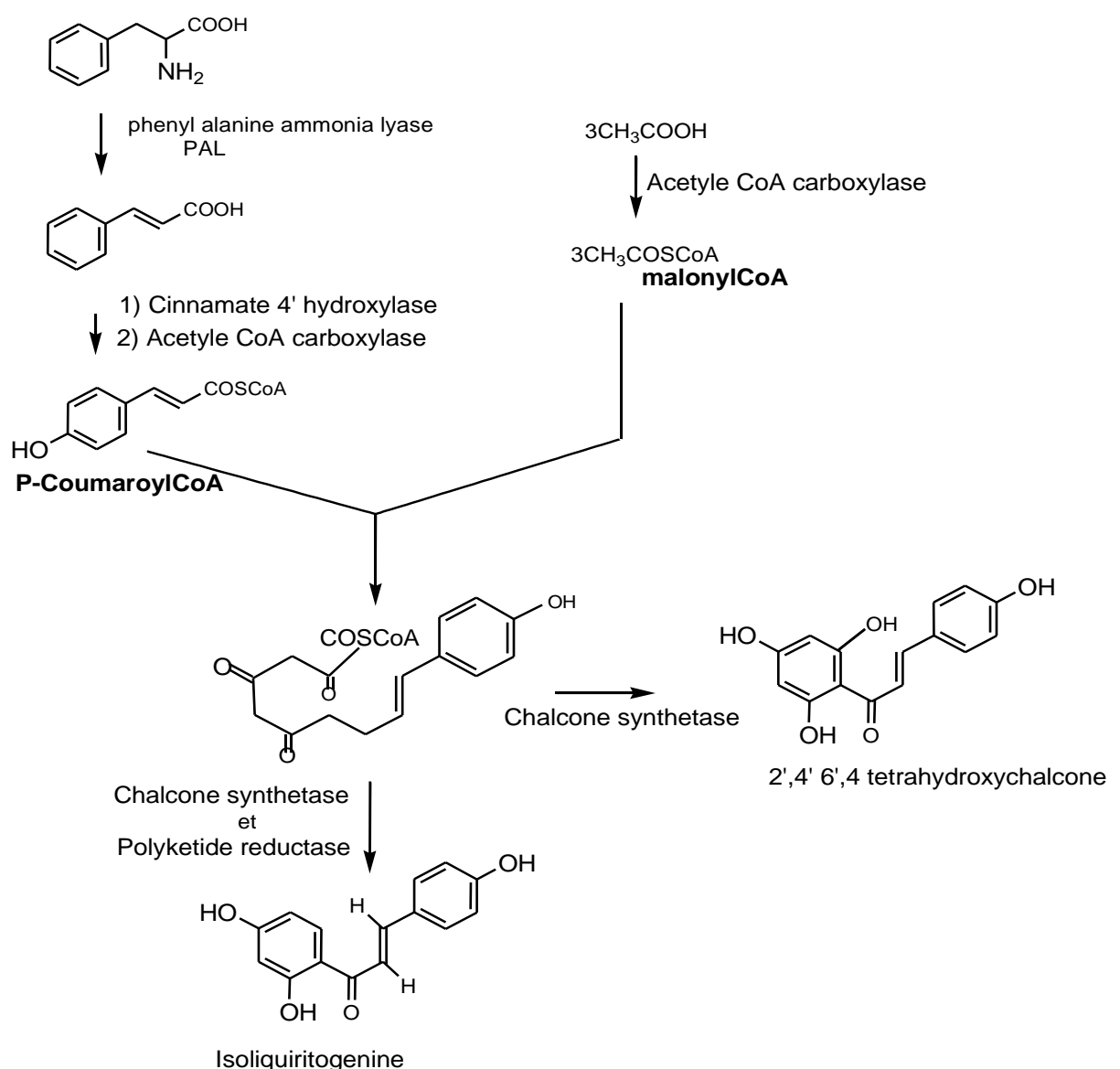
La biosynthèse est la synthèse par les organismes vivants des métabolites nécessaires à leur nutrition. Pour tous les flavonoïdes, la biosynthèse est initiée par deux précurseurs qui ne sont autres que le malonyl-CoA et le *p*-coumaroyl-CoA qui proviennent respectivement du

Contribution à l'étude chimique des écorces du tronc d'*Ormocapum bibracteatum* du Cameroun pour l'identification des flavonoïdes (Fabaceae)

métabolisme des carbohydrates et par la voie des phénylpropanoïdes. Cette biosynthèse se déroule en deux étapes:

- **Formation du motif de chalcone**

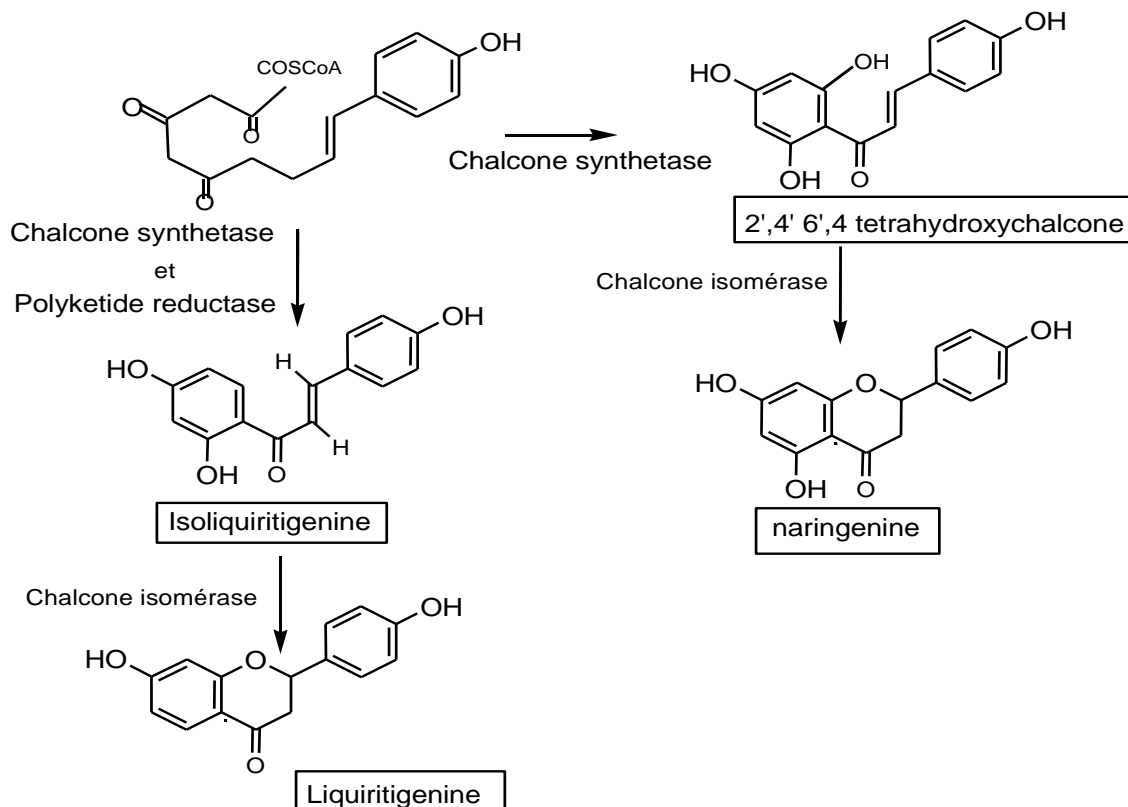
Dans cette étape on a la condensation de trois unités de Malonyl-CoA avec une unité de *p*-Coumaroyl-CoA, qui conduit à la formation d'un produit jaune qui n'est autre que la chalcone dont le squelette est constitué de deux groupes phénoliques rattachés par un brin formé par trois carbones non cycliques. Cette première étape est catalysée par la Chalcone synthase.



**Schéma 1:** Formation du motif Chalcone (Harbone 1982).

- **Formation d'un flavonoïde à partir de la Chalcone.**

Cette forme de chalcone étant instable va normalement s'isomériser, par catalyse de l'enzyme Chalcone isomérase (CHI), pour former la flavanone correspondante.



**Schéma 2:** Formation d'un flavonoïde à partir de la Chalcone (Harbone 1982).

- ✓ **Méthodes de détermination des structures des flavonoïdes**

L'élucidation des structures des flavonoïdes se fait généralement grâce aux méthodes spectroscopiques telles que: l'UV, l'IR.

- **La spectroscopie UV**

La plupart des flavonoïdes présentent leurs bandes d'absorptions maximales à 240-295 nm (système du cycle A) et à 310-410 nm (système du cycle B) (Harbone et William 2000).

• **La spectroscopie IR**

Les flavonoïdes ont une large bande d'absorption entre 3300-3600 cm<sup>-1</sup> caractérisant le groupement hydroxyle et une bande d'absorption autour de 1680 cm<sup>-1</sup> caractérisant le groupement carbonyle (Harbone et William 2000).

Quelques flavonoïdes isolés de l'espèce ont été consignés dans le tableau 4.

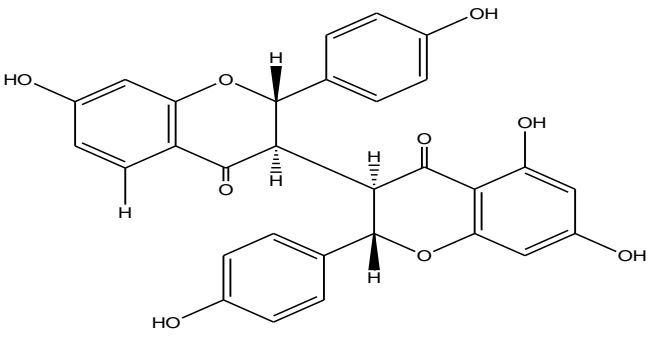
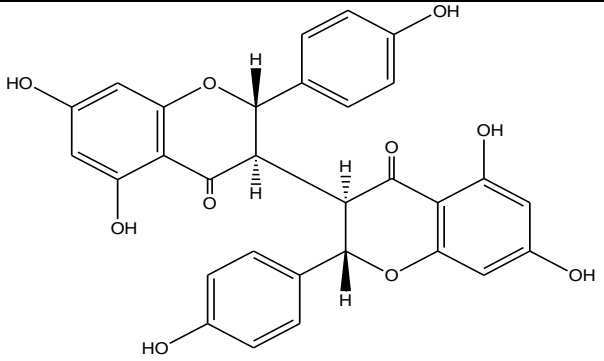
**Tableau 4:** Quelques flavonoïdes isolés de l'espèce *O.bibracteatum*

| Noms                          | Structures | Références                          |
|-------------------------------|------------|-------------------------------------|
| Hydroxydiphysolone<br>(1)     |            | (Nyandat et al. 1990)               |
| Isovitexin (2)                |            | (De Moreira et al. 2000)            |
| Glycosyldiphysolone<br>(3)    |            | (Tsanuo et al. 2003)                |
| Diglycosyldiphysolones<br>(4) |            | (Gaffield, 1970, Slade et al. 2005) |

• **Les biflavonoïdes**

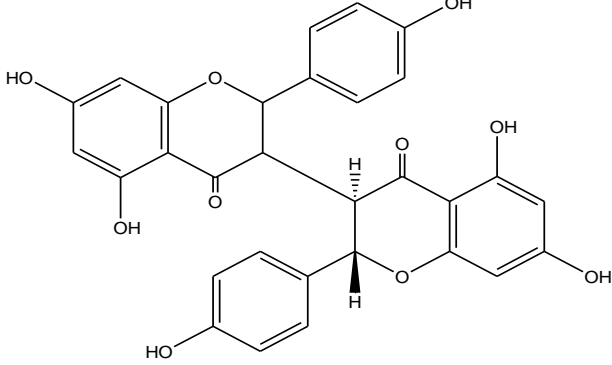
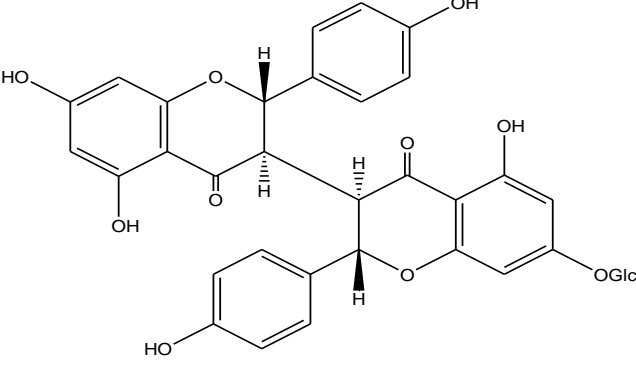
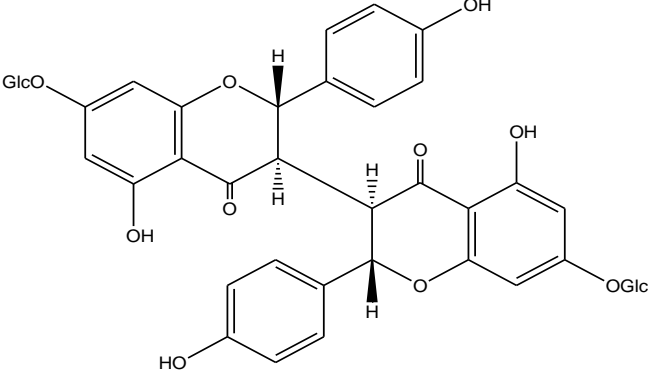
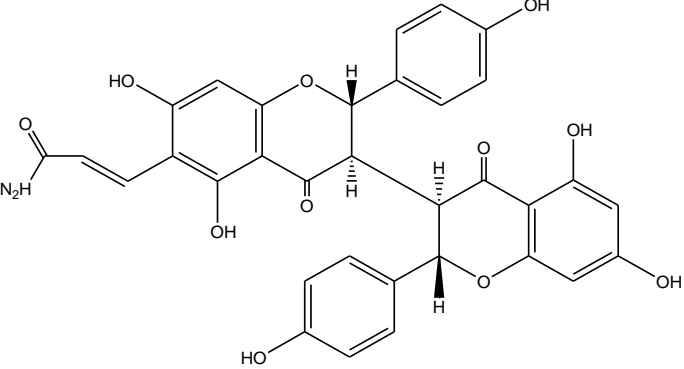
Les biflavonoïdes constituent une classe de métabolites secondaires obtenus par condensation d'unités flavonoïdes identiques (dimères homogènes) ou d'unités flavonoïdes différentes (dimères mixtes) (Robinson, 1955). Les jonctions entre les unités flavonoïdes peuvent être de type C—C, ou de type C—O—C formée à partir du couplage oxydatif de deux radicaux libres issus d'unités chalcones suivi d'une modification de l'unité centrale en C<sub>3</sub> (Jackson et al 1971). L'espèce *O.bibracteatum* a conduit à l'isolement quelques-uns cités dans le tableau 5 ci-dessous:

**Tableau 5:** Quelques biflavonoïdes isolés de l'espèce *O.bibracteatum*

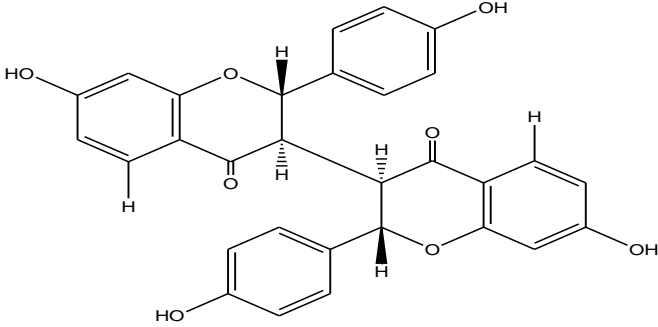
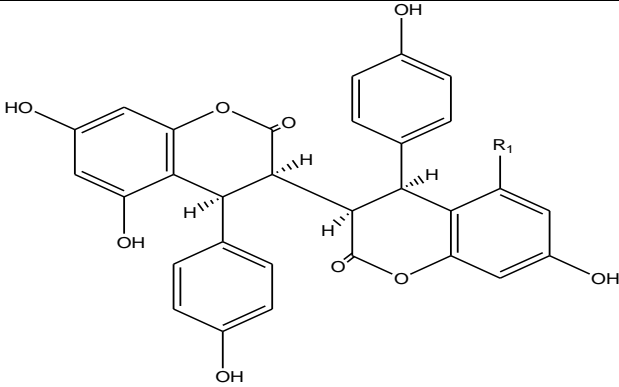
| Noms                               | Structures   | Références         |
|------------------------------------|--|--------------------|
| Liquiritigeninyl-naringenin<br>(5) |   | (Niwa et al. 1986) |
| (+)-Chamaejasmin<br>(6)            |  |                    |



Contribution à l'étude chimique des écorces du tronc d'*Ormocapum bibracteatum* du Cameroun pour l'identification des flavonoïdes (Fabaceae)

|   |  |  |
|---|--|--|
| <p>Apigeninyl-naringenin<br/>(7)</p>      |    |  |
| <p>O-glucosylchamaejasmin<br/>(8)</p>     |    | <p>(Dhooghe et al. 2010)</p>                 |
| <p>di-O-glucosylchamaejasmin.<br/>(9)</p> |   | <p>(Xu et al. 2011, Nyandat et al. 1996)</p> |
| <p>Aminoacryloylchamaejasmin<br/>(10)</p> |  | <p>(Ichino et al.</p>                        |

Contribution à l'étude chimique des écorces du tronc d'*Ormocarpum bibracteatum* du Cameroun pour l'identification des flavonoïdes (Fabaceae)

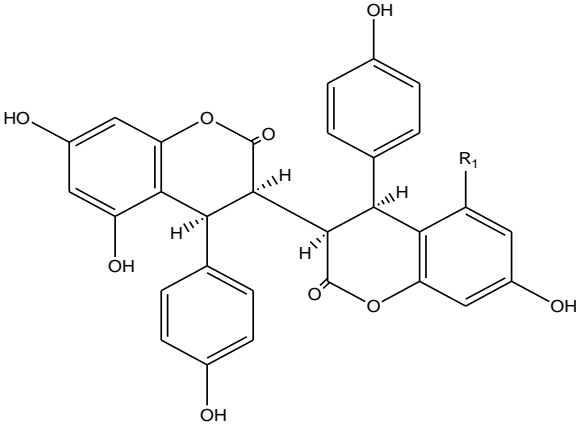
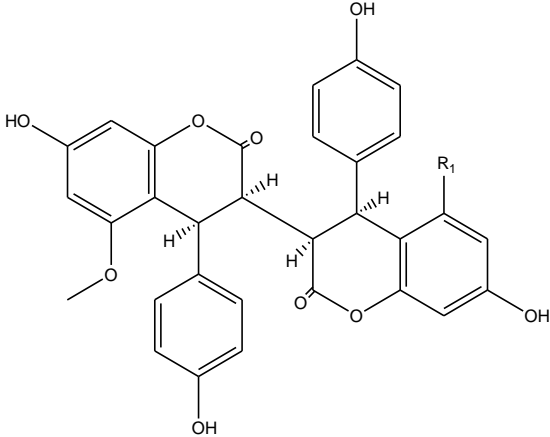
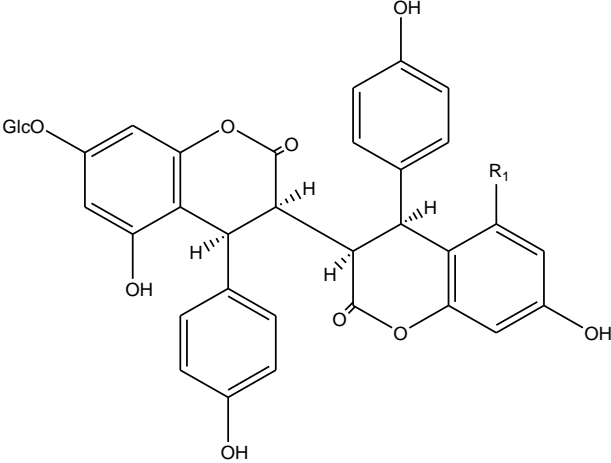
|  |  |  |
|--|--|--|
| <p align="center"><b>Biliquiritigenin<br/>(11)</b></p> |  | <p align="right">2006)</p>                           |
| <p align="center"><b>Sikokianin<br/>(12)</b></p>       |  | <p align="right">(Xu-Y-j et <i>al.</i><br/>2011)</p> |

- **Les coumarines**

Les coumarines sont des substances naturelles organiques aromatiques connues dans la nomenclature internationale comme 2H-1-benzopyrane-2-one qui peuvent être considérées en première approximation, comme des lactones de l'acide 2-hydroxy-Z-cinnamique. Leur odeur de foin fraîchement coupé a attiré l'attention des parfumeurs sur elle dès le XIX<sup>e</sup> siècle. (George S & Clark 1995). Cependant certaines ont été isolées de l'espèce *Ormocarpum bibracteatum* et quelques-unes sont citées dans le tableau 6.

Contribution à l'étude chimique des écorces du tronc d'*Ormocapum bibracteatum* du Cameroun pour l'identification des flavonoïdes (Fabaceae)

**Tableau 6:** Quelques coumarines isolées de l'espèce *O. bibracteatum*

| Noms  | Structures   | références   |
|---|--|--|
| <p align="center">Diphysin<br/>(13)</p>                 |    | <p align="center">(Stermitz<br/>et al. 1993)</p>   |
| <p align="center">5,5'-di-O-methyldiphysin<br/>(14)</p> |   | <p align="center">(Dhooghe<br/>et al<br/>2010)</p> |
| <p align="center">D-glucopyranosyldiphysin<br/>(15)</p> |  |  |

## II.2. Activités biologiques des extraits du genre *Ormocarpum*

Les espèces du genre *Ormocarpum* ayant fait l'objet d'une étude phytochimique présentent des activités biologiques remarquables et importantes pour l'avancée de la médecine moderne et quelques-unes sont élucidées dans le tableau 7.

**Tableau 7** : Activités biologiques des extraits du genre *Ormocarpum*

| Espèces                   | Parties        | Propriétés biologiques                                   | Références                    |
|---------------------------|----------------|--|-------------------------------|
| <i>O. bibractéatum</i>    | Plante entière | antimicrobienne,<br>antiparasitique,<br>Antiplasmodiale. | (Dhooghe et al. 2010)         |
| <i>O. sennoïdes</i>       | Arbuste        | Antioxydante,<br>antimicrobienne.                        | (Bhuvaneswari et al.)<br>2014 |
| <i>O. cochenchinenses</i> | Racine         | Antioxydante   | Silvakumar et al. 2013        |

A blue horizontal scroll graphic with rounded ends and a slight 3D effect, containing the chapter title in white text.

## CHAPITRE II: RESULTATS ET DISCUSSION

---

## CHAPITRE 2: RESULTATS ET DISCUSSION

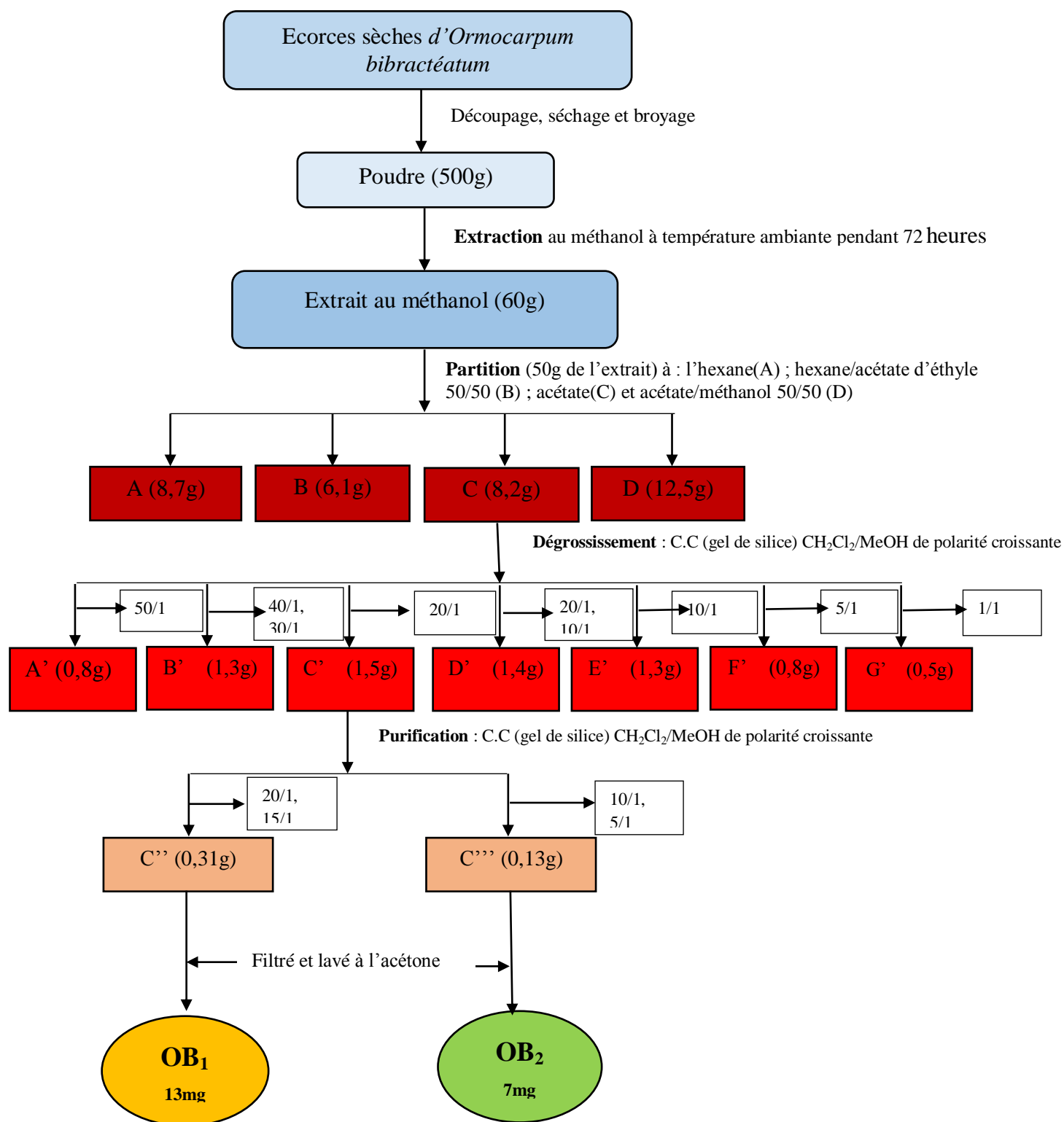
---

### II.1. ISOLEMENT DES COMPOSÉS D'*ORMOCARPUM BIBRACTEATUM*

Les écorces d'*Ormocarpum bibracteatum* ont été découpées, séchées puis broyées donnant ainsi une poudre de masse 510g. Nous avons prélevé 500g de cette poudre qui ont fait l'objet d'une extraction à froid par macération ceci par trempe dans 3L méthanol à température ambiante pendant 72h. Après filtration, nous avons obtenu un extrait de coloration rouge et de texture collante qui a été concentré par évaporation dans un évaporateur rotatif à une température de 70°C aboutissant à une masse de 60g d'extrait brut.

50g de cet extrait a été prélevé puis partitionné successivement à l'hexane pure, à l'hexane/acétate d'éthyle 50/50, à l'acétate pur, et enfin à l'AcOEt/MeOH 50/50. À l'issue de cette opération nous avons obtenu une masse d'extrait à hexane (A) de 8,7g, 6,1g d'extrait à l'hexane/acétate d'éthyle 50/50 (B), 8,2g d'extrait à l'acétate d'éthyle pur (C) et 12,5g d'extrait à l'AcOEt/MeOH 50/50 (D). Un test chimique (test des flavonoïdes) a été réalisé sur tous ces extraits, seuls les extraits (C) et (D) ont été retenus car ayant réagi positivement au test des flavonoïdes, cependant, pour la suite de notre étude, nous nous sommes intéressés à l'extrait (C) car elle a montré une grande effervescence et une couleur accentuée par ailleurs l'extrait (D) a été préservé pour nos travaux à venir. Une masse de 8g de l'extrait à l'acétate (C) a été fractionné par chromatographie sur colonne, l'élution s'est faite au CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>/MeOH de polarité croissante. Sept fractions majeures indexées A', B', C', D', E', F' et G', ont été obtenues. La fraction (C') a été purifiée pour donner deux composées OB<sub>1</sub> (13 mg) et OB<sub>2</sub> (7mg) donc la pureté a été confirmée par CCM.

Contribution à l'étude phytochimique des écorces d'*Ormocarpum bibracteatum* (Fabaceae) du Cameroun pour l'identification des flavonoïdes.



**Schéma 3:** Protocole d'extraction et isolement des métabolites secondaires des écorces de *O. bibracteatum*

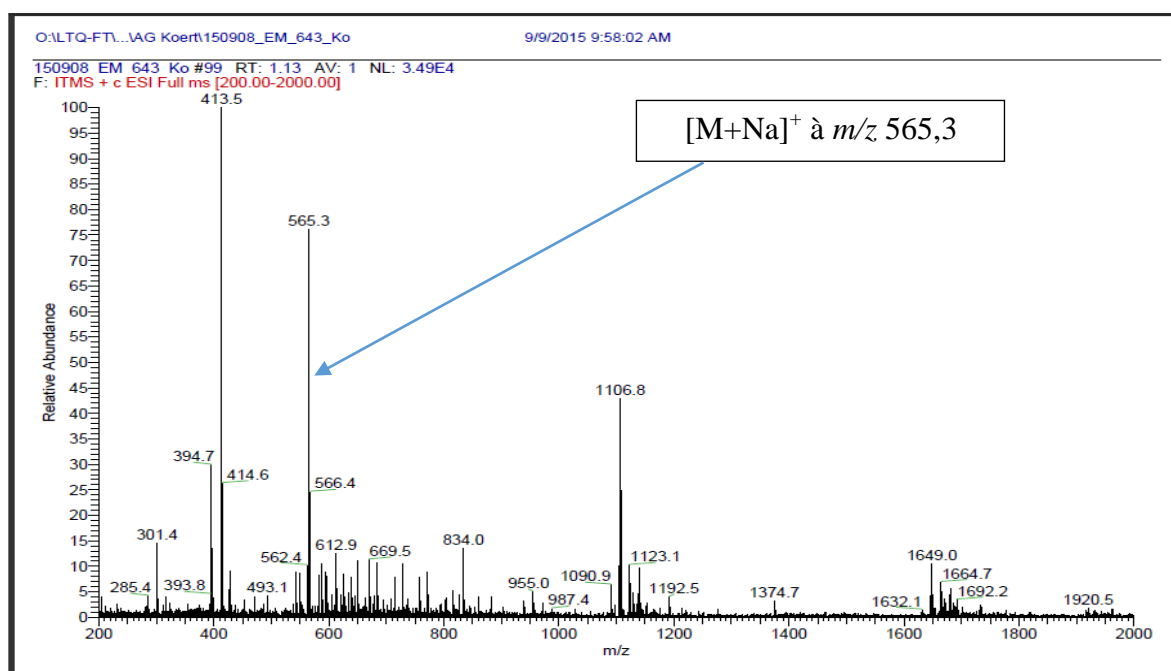
## II.2.IDENTIFICATION DES COMPOSES OB<sub>1</sub> ET OB<sub>2</sub>

L'identification des composés OB<sub>1</sub> et OB<sub>2</sub> s'est faite à partir d'une étude minutieuse des spectres à une dimension (1D): l'UV, l'IR, la RMN (<sup>1</sup>H), la RMN <sup>13</sup>C et des spectres à deux dimensions (2D) à savoir : le COSY, le HMBC et le HSQC.

### II.2.1.Identification du composé OB<sub>1</sub>

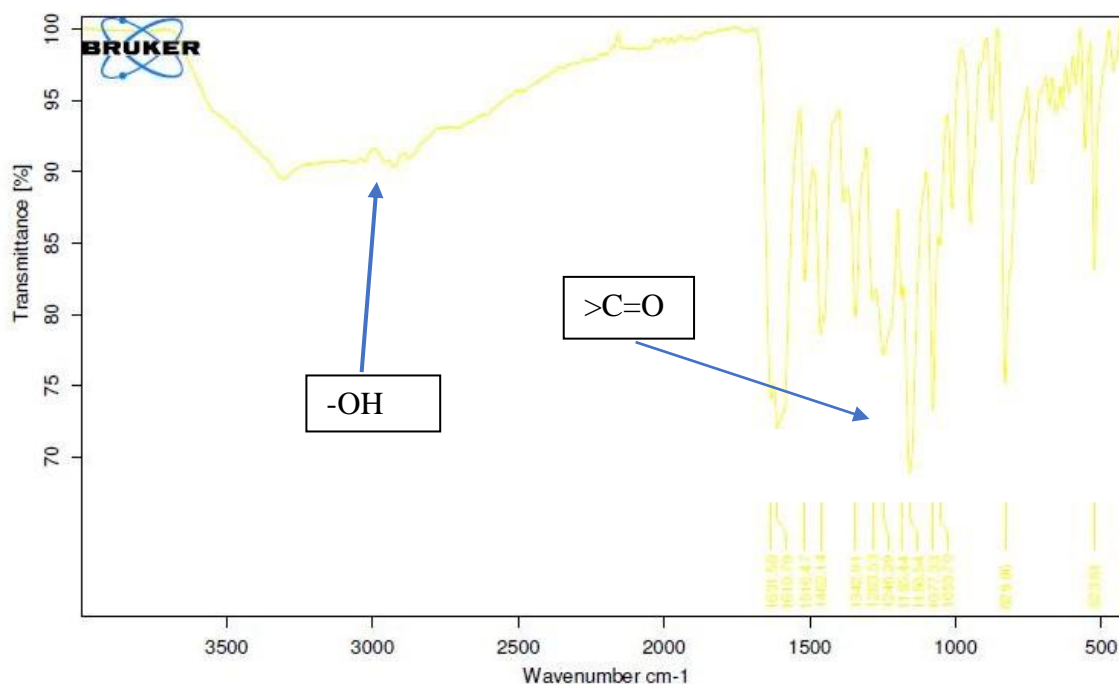
Le composé **OB<sub>1</sub>** se présente sous forme d'une poudre blanche amorphe soluble dans le DMSO-d<sub>6</sub> et répond positivement au test de Shinoda (Shinoda., 1928), caractéristique des flavonoïdes. L'analyse du spectre de masse ESIMS (**figure 5**) en mode positif de ce composé indique la présence du pic d'adduit sodique [M+Na]<sup>+</sup> à  $m/z = 565,3$  suggérant une masse molaire moléculaire de 542 g/mol compatible avec la formule moléculaire C<sub>30</sub>H<sub>24</sub>O<sub>10</sub>.

Sur son spectre IR (**figure 6**), il présente des bandes d'absorption vers 3307 cm<sup>-1</sup> et 1631cm<sup>-1</sup> attribuables respectivement aux groupements hydroxyle (OH) et carbonyle (>C=O).



**Figure 5:** Spectre de masse de OB<sub>1</sub>

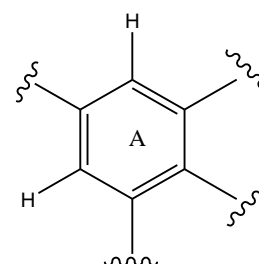
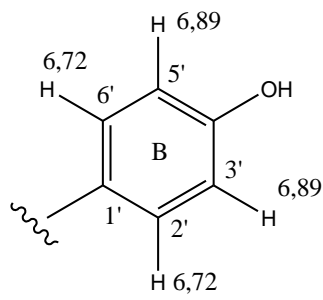
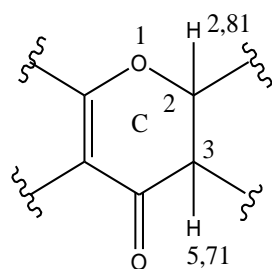




**Figure 6:** Spectre IR de **OB<sub>1</sub>**

Le spectre de RMN <sup>1</sup>H (**Figure 7, Tableau 8**) présente sept signaux correspondant à sept familles de proton avec des déplacements chimiques à  $\delta_H$ : 2,81, 5,71, 5,80, 5,88, 6,72, 6,89 et à 9,70. L'analyse de ce spectre nous a permis de déceler deux 2 signaux à  $\delta_H$  2,81 (d,  $J=12\text{Hz}$ , H-2) et 5,71 (d,  $J=12\text{Hz}$ , H-3) qui caractérisent les protons du cycle (C) (**16**) des flavonoïdes de type flavanone (Mabry et al. 1975). Par ailleurs, sur le même spectre de RMN <sup>1</sup>H nous avons des signaux qui apparaissent à  $\delta_H$  6,89 (d,  $J=9\text{Hz}$  H-2' et H-6') et à  $\delta_H$  6,72 (d,  $J=9\text{Hz}$  H-3' et H-5') caractéristiques d'un système AA'BB' du cycle B des flavonoïdes (**17**). Nous observons également deux signaux de protons à  $\delta_H$  5,90 (s, H-8) et à 5,84 (s, H-6) correspondant à un système AB du cycle A des flavanones (**18**) (Mabry et al. 1975). Enfin nous avons un signal à  $\delta_H$  9,7 (s, H) correspondant au proton du groupement hydroxyle phénolique (OH). Toutes ces informations plaident en faveur d'un flavonoïde de type flavanone (Mabry et al. 1975).

Contribution à l'étude phytochimique des écorces d'*Ormocapum bibracteatum* (Fabaceae) du Cameroun pour l'identification des flavonoïdes.



L'analyse du spectre COSY (**Figure 10**) grâce aux différentes corrélations  $^3J_{H-H}$  entre ces différents protons nous a permis de justifier les positions de ces derniers.

Le spectre de RMN  $^{13}C$  (**Figure 8**) présente quant à lui treize signaux correspondant à 13 familles de carbone. L'analyse de ces signaux nous a permis de déceler:

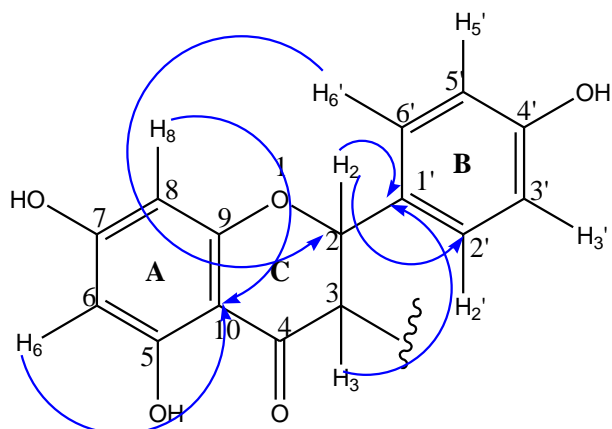
-Sept carbones quaternaires aromatiques dont trois hydroxylés à:  $\delta_C$  162,5 (C-4'), 163,4 (C-5), 167,0 (C-7), un carbonyle à  $\delta_C$  169,1 (C-4). et deux méthylènes à  $\delta_C$  158,3 et 49,0 (Mabry et al. 1975).

-Quatre carbones aromatiques à  $\delta_C$  129,2; 115,4; 163,4 et 167,0 ppm

-Deux carbones cycliques hybridés  $sp^3$  à  $\delta_C$  49,0 et à 83,1 ppm caractérisant respectivement les carbones (C-3) et (C-2) des flavanones (Mabry et al. 1975).

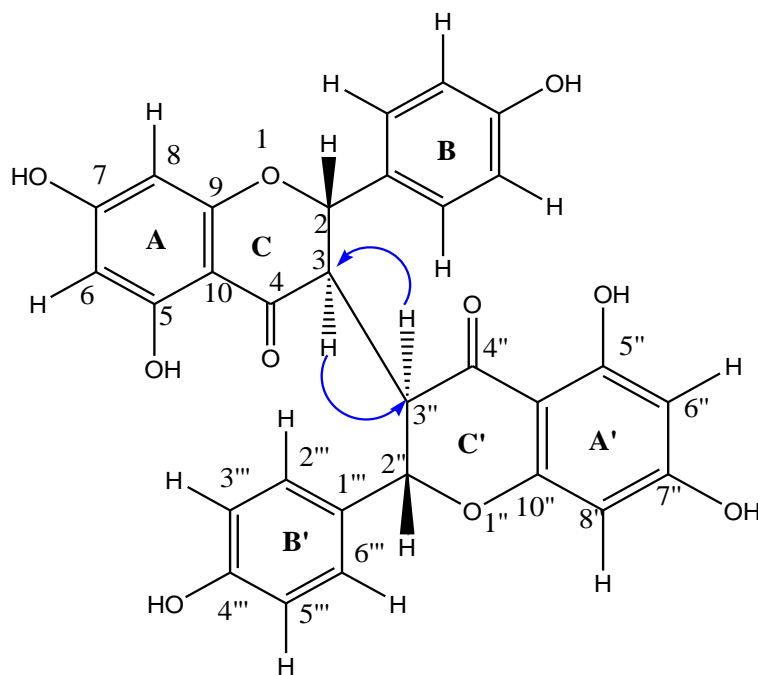
L'analyse du spectre HMBC (**Figure 9**) nous a permis de déceler les corrélations proton-carbone et de relier les cycles A, B et C. Il nous montre que le proton à  $\delta_H$  5.78 (H-2) corrèle respectivement avec les carbones C-1' et C-2' et les protons à  $\delta_H$  6,89 (H-2' et H-6') et à  $\delta_H$  2,82 (H-3) corrèlent respectivement avec le carbone C-2 et le carbone C-1'. Nous avons également les protons à  $\delta_H$  5.84 (H-6) et à  $\delta_H$  5,90 (H-8) qui corrèlent avec le carbone (C-10). Sur la base de ces données spectrales, nous pouvons attribuer à **OB<sub>1</sub>** la sous structure (**19**).

Contribution à l'étude phytochimique des écorces d'*Ormocapum bibracteatum* (Fabaceae) du Cameroun pour l'identification des flavonoïdes.



(19)

La valeur de la masse molaire à 542 g/mol nous laisse penser à l'existence d'un plan de symétrie dans la molécule **OB<sub>1</sub>** et la jonction interflavonoïdique entre les deux monomères est du type C-(3)-C-(3'') ce qui est confirmé par le spectre HMBC qui montre la corrélation entre le proton à  $\delta_H$  2,82 (H-3) et le carbone à  $\delta_C$  49,0 (C-3''). La constance de couplage de ces protons étant suffisamment élevée soit  $J=12\text{Hz}$  nous révèle la position «trans» des protons H-2 et H-3 d'où l'obtention de la sous structure (20).

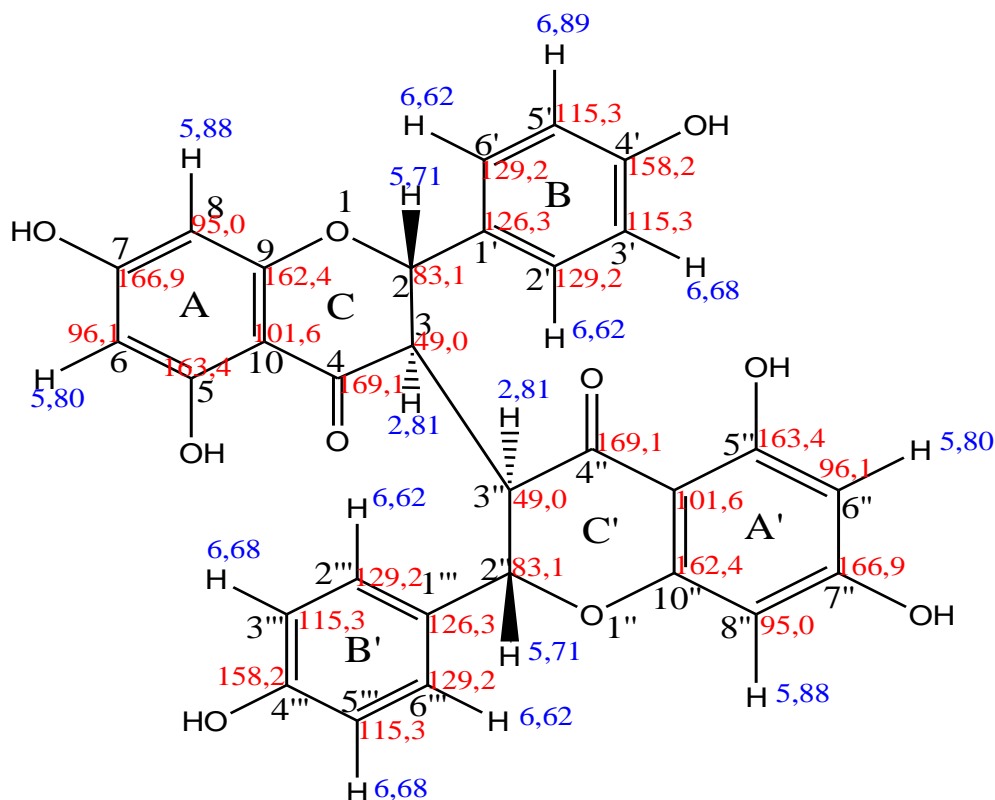


(20)

Le spectre HSQC (Figure 11) nous a permis d'attribuer les déplacements chimiques des carbones et des protons de la molécule **OB<sub>1</sub>**.

Contribution à l'étude phytochimique des écorces d'*Ormocarpum bibracteatum* (Fabaceae) du Cameroun pour l'identification des flavonoïdes.

L'ensemble de toutes ces données spectrales en comparaison avec celles publiées dans la littérature permettent d'attribuer à **OB<sub>1</sub>** la structure **(21)** qui est celle du chamaejasmin, un biflavonoïde isolé précédemment des écorces d'*Ormocarpum kirkii* par Niwa et *al.* en 1986. Son nom systématique donné par l'I.U.P.A.C est: (2S, 3R)-3-[(2R,3S)-5,7-dihydroxy-2-(4-hydroxyphényl-4-oxo-2,3-dihydrochromen-3-yl)]-5,7-dihydroxy-2-(4-hydroxyphényl)-2,3-diphydrochromen-4-one.



(21)

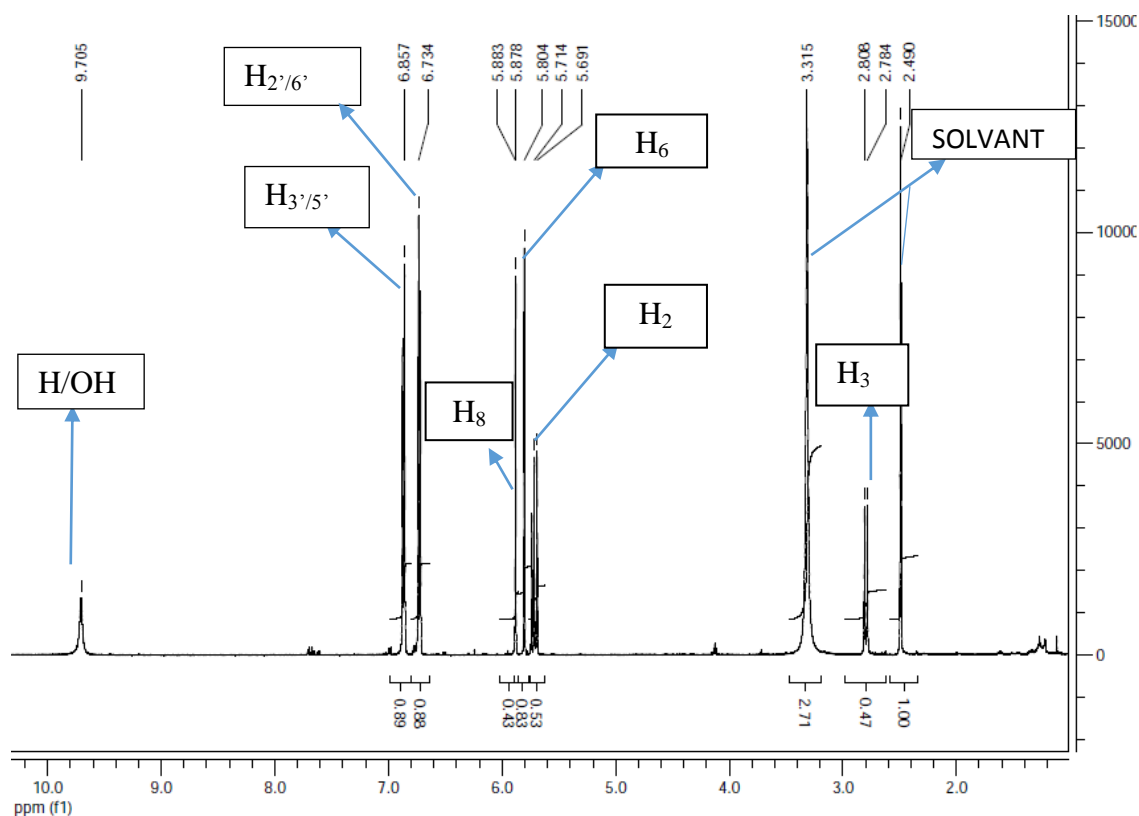
Le **Tableau (9)** nous donne La comparaison des déplacements chimiques des spectres RMN <sup>13</sup>C et RMN <sup>1</sup>H de **OB<sub>1</sub>** avec ceux de la littérature.

Contribution à l'étude phytochimique des écorces d'*Ormocapum bibracteatum* (Fabaceae) du Cameroun pour l'identification des flavonoïdes.

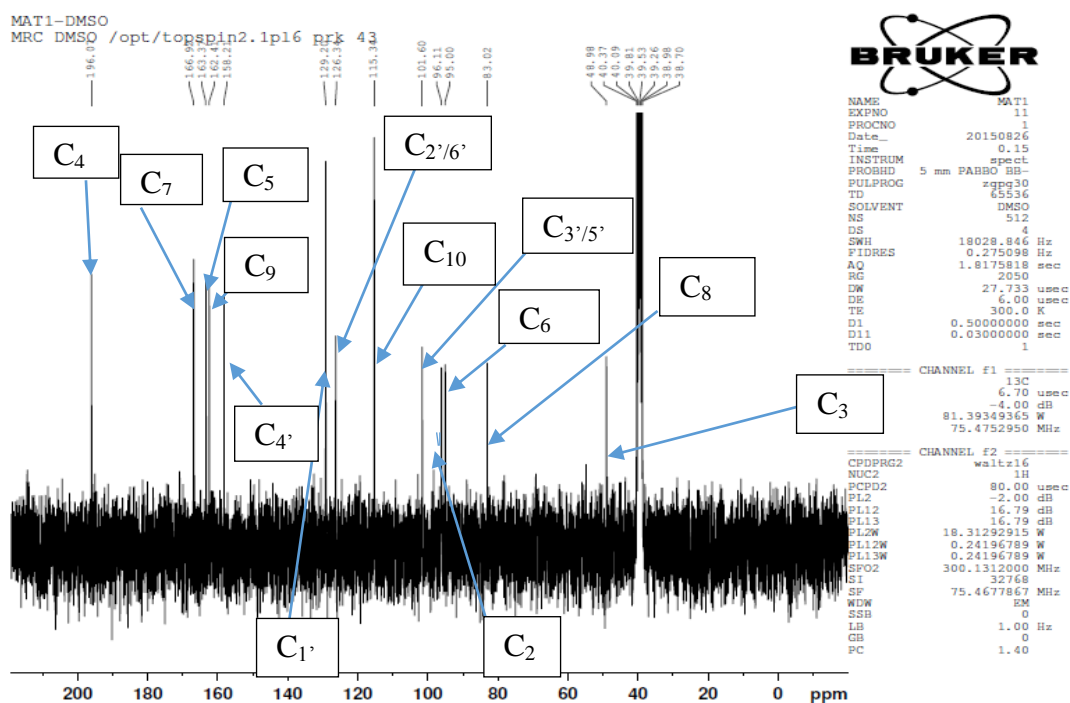
**Tableau 8 :** comparatif des déplacements des spectres RMN <sup>13</sup>C et RMN <sup>1</sup>H de **OB<sub>1</sub>** avec ceux de la littérature.

| <i>N°: C/H</i>  | <b>OB<sub>1</sub></b>   | <b>Littérature</b>      | <b>OB<sub>1</sub></b>             | <b>Littérature</b>                                     |   |
|-----------------|-------------------------|-------------------------|-----------------------------------|--|---|
|                 | $\delta_C$ (ppm) (DMSO) | $\delta_C$ (ppm) (DMSO) | $\delta_H$ (ppm) et multiplicités | $\delta_H$ (ppm) (CD <sub>3</sub> OD) et multiplicités | $\delta_H$ (ppm) (acétone-d <sub>6</sub> ) et multiplicités |
| <i>1/1'''</i>   | -                       | -                       | -                                 | -  | -   |
| <i>2/2'''</i>   | 83,1                    | 82,4                    | 5,71 ;d                           | 4,90 ;d  | 4,92 ;d   |
| <i>3/3'''</i>   | 49,0                    | 49,0                    | 2,81 ;d                           | 3,72 ;d  | 3,84 ;d   |
| <i>4/4'''</i>   | 196,1                   | 196,8                   | -                                 | -  | -   |
| <i>5/5'''</i>   | 163,4                   | 165,3                   | -                                 | -  | -   |
| <i>6/6'''</i>   | 96,1                    | 97,3                    | 5,80 ;d                           | 5,74 ;d  | 5,80 ;d   |
| <i>7/7'''</i>   | 166,9                   | 168,1                   | -                                 | -  | -   |
| <i>8/8'''</i>   | 95,0                    | 96,1                    | 5,88 ;d                           | 5,88 ;d  | 5,94 ;d   |
| <i>9/9'''</i>   | 162,4                   | 164,3                   | -                                 | -  | -   |
| <i>10/10'''</i> | 101,6                   | 102,8                   | -                                 | -  | -   |
| <i>1'/1''''</i> | 126,3                   | 129,0                   | -                                 | -  | -   |
| <i>2'/2''''</i> | 129,2                   | 130,8                   | 6,72 ;d                           | 6,75 ;d  | 6,86 ;d   |
| <i>3'/3''''</i> | 115,3                   | 116,5                   | 6,89 ;d                           | 7,00 ;d  | 7,12 ;d   |
| <i>4'/4''''</i> | 158,2                   | 159,5                   | -                                 | -  | -   |
| <i>5'/5''''</i> | 115,3                   | 116,5                   | 6,89 ;d                           | 7,00 ;d  | 7,12 ;d   |
| <i>6'/6''''</i> | 129,2                   | 130,8                   | 6,72 ;d                           | 6,75 ;d  | 6,86 ;d   |

Contribution à l'étude phytochimique des écorces d'*Ormocapum bibracteatum* (Fabaceae) du Cameroun pour l'identification des flavonoïdes.

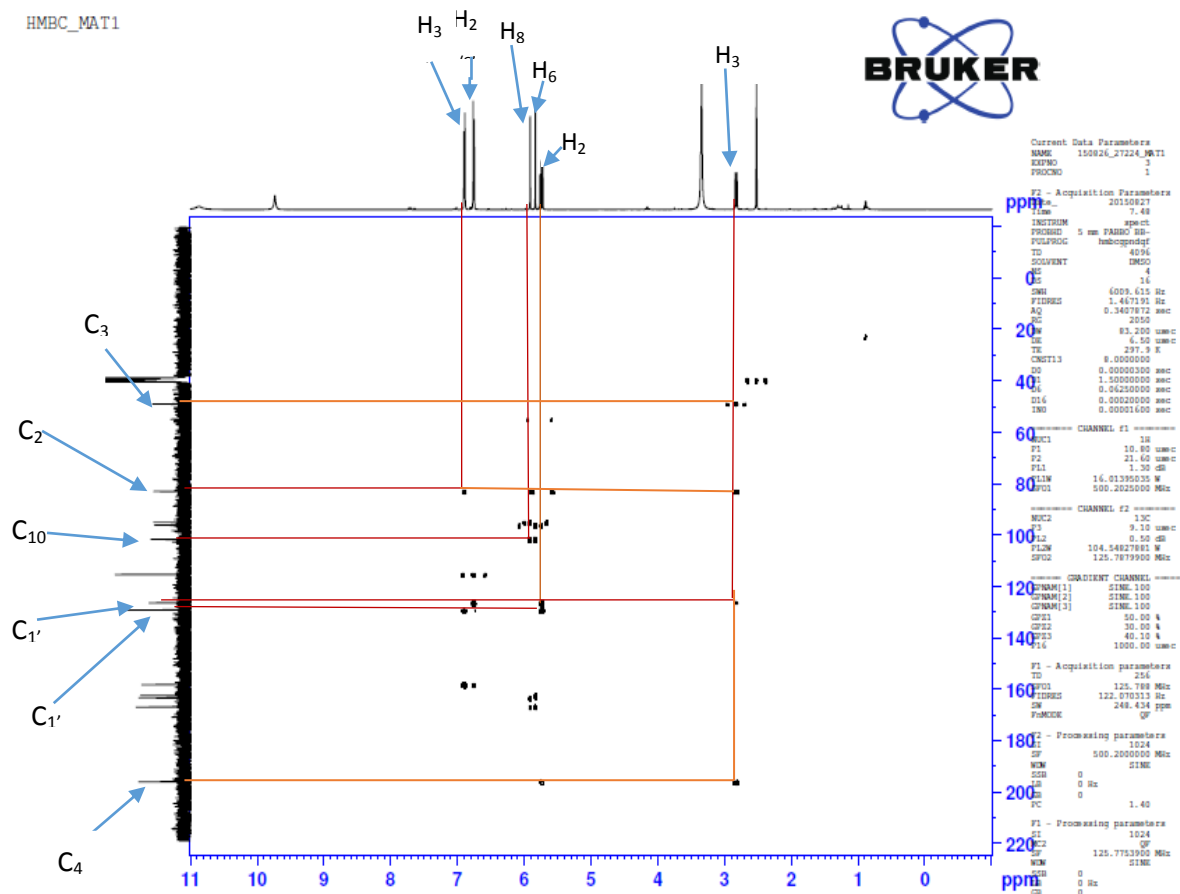


**Figure 7:** Spectre de RMN <sup>1</sup>H (300 MHz, DMSO) de OB<sub>1</sub>



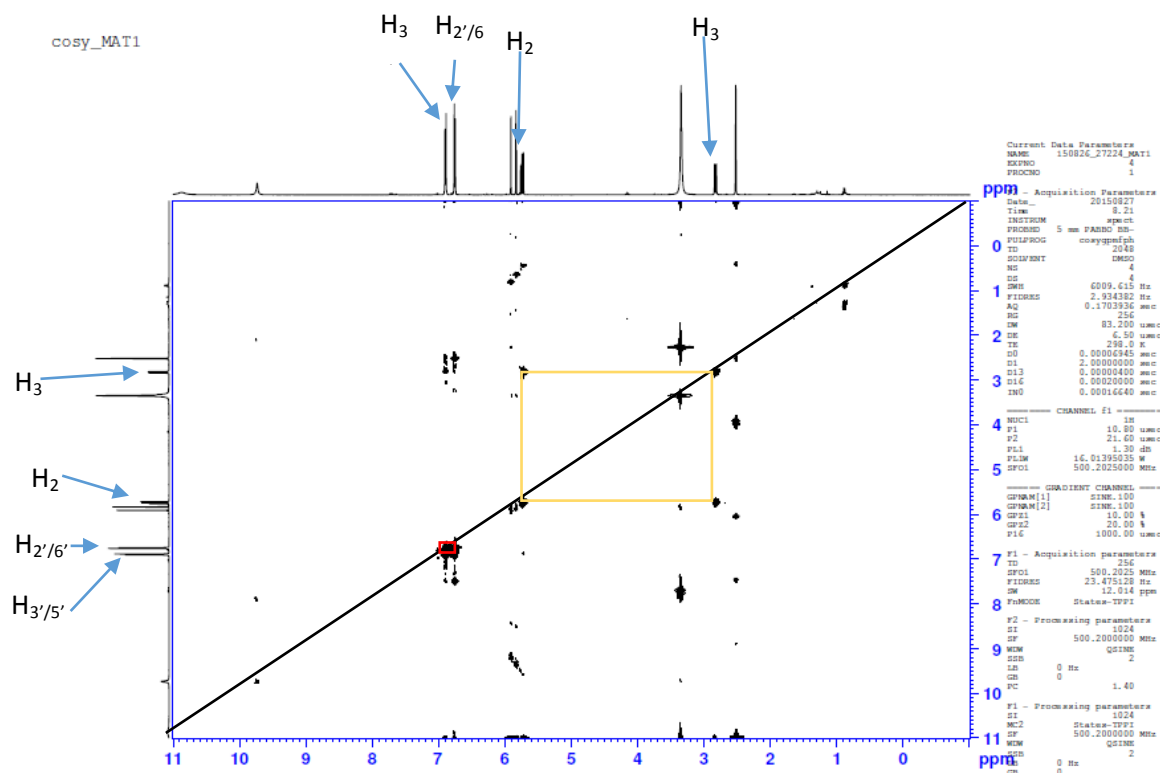
**Figure 8:** Spectre de RMN <sup>13</sup>C (75 MHz, DMSO) de OB<sub>1</sub>

Contribution à l'étude phytochimique des écorces d'*Ormocapum bibracteatum* (Fabaceae) du Cameroun pour l'identification des flavonoïdes.



**Figure 9:** Spectre HMBC (500 MHz, DMSO) de OB<sub>1</sub>

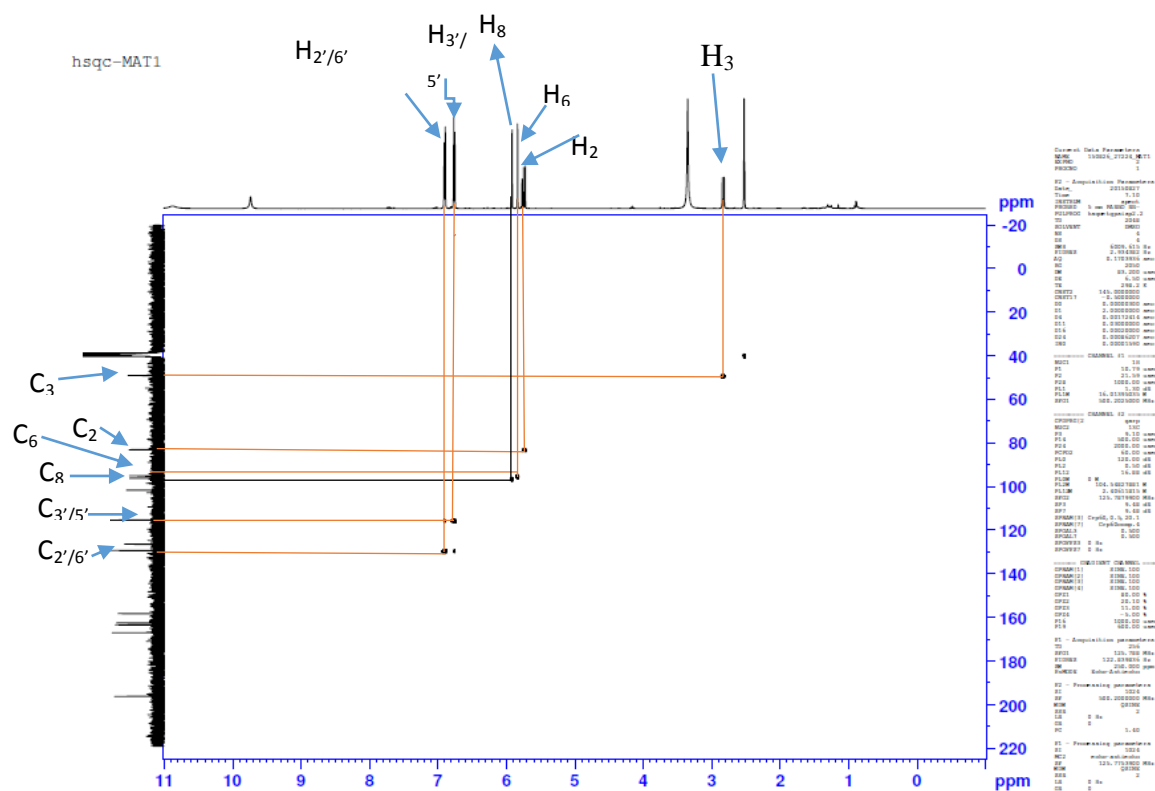
Contribution à l'étude phytochimique des écorces d'*Ormocapum bibracteatum* (Fabaceae) du Cameroun pour l'identification des flavonoïdes.



**Figure 10:** Spectre COSY (500MHz, DMSO) de **OB<sub>1</sub>**



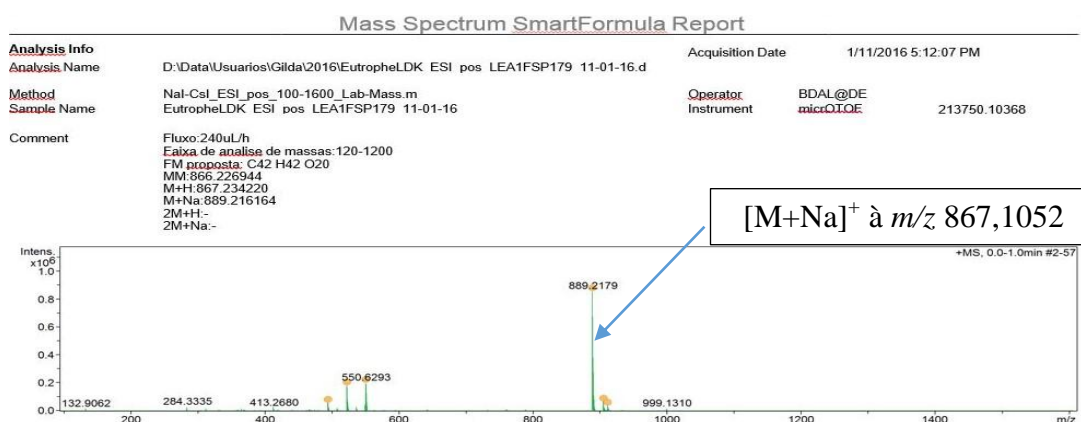
Contribution à l'étude phytochimique des écorces d'*Ormocapum bibracteatum* (Fabaceae) du Cameroun pour l'identification des flavonoïdes.



**Figure 11:** Spectre HSQC de **OB<sub>1</sub>**

### II.2.2. Identification de **OB<sub>2</sub>**

Le composé **OB<sub>2</sub>** se présente sous forme d'une poudre jaune amorphe soluble dans le chlorure de méthylène et répond positivement au test de Shinoda (Shinoda, 1928). Le spectre de masse ESIMS en mode positif de ce composé indique la présence d'un ion *pseudo*-moléculaire  $[M+H]^+$  à  $m/z$  867,1052 correspondant à une masse molaire moléculaire de 866g/mol compatible à la formule brute  $C_{42}H_{42}O_{20}$ .(figure 12)

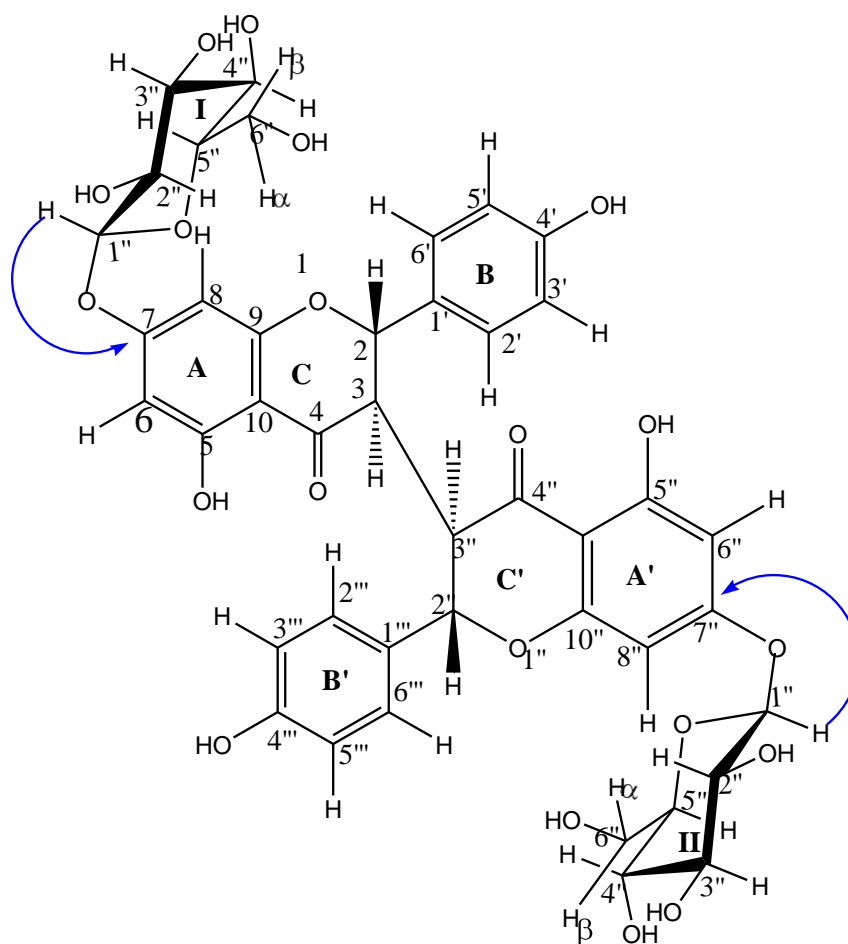


**Figure 12 :** Spectre de masse de **OB<sub>2</sub>**

Contribution à l'étude phytochimique des écorces d'*Ormocapum bibracteatum* (Fabaceae) du Cameroun pour l'identification des flavonoïdes.

L'analyse des spectres RMN  $^1\text{H}$  (**Figure 13**), RMN  $^{13}\text{C}$  (**Figure 14**) et COSY (**Figure 15**) de **OB<sub>2</sub>** a indiqué dans l'ensemble une forte similitude avec celui du chamaejasmin, à l'exception de la présence des protons à  $\delta_{\text{H}} 4,97$  (d,  $J=7\text{Hz}$ , H-1''(I) ) et  $\delta_{\text{H}} 4,97$  (d,  $J=7\text{Hz}$ , H-1''(II) ) caractéristique des protons anomériques des *O*-glucosides qui ont un couplage antipériplanaire ( $J=7\text{Hz}$ ) avec le proton à  $\delta_{\text{H}} 3,42$  (t,  $J=7\text{Hz}$ , H-2'') ceci montre que les sucres ont une configuration  $\beta$ . On décèle aussi trois protons multiplets à  $\delta_{\text{H}}$ : 3,41 (H-2''), 3,43 (H-4'' et H-5'') et deux protons apparaissant en doublets dédoublés à  $\delta_{\text{H}}$  3,42 (dd, H- $\alpha$ ) et à 3,67(dd, H- $\beta$ ) justifiant la présence du «*O*-  $\beta$ -glucoside».

Le spectre HMBC (**Figure 17**), nous montre que les protons anomériques corrélient avec les carbones (C-7) et (C-7'') indiquant les positions d'attache des groupements *O*-glucosyles sur les carbones en C-7 et C-7''.



(22)

Le spectre HSQC (**Figure 16**) nous a permis d'attribuer les déplacements chimiques des carbones et des protons de la molécule **OB<sub>2</sub>**.

Contribution à l'étude phytochimique des écorces d'*Ormocarpum bibracteatum* (Fabaceae) du Cameroun pour l'identification des flavonoïdes.

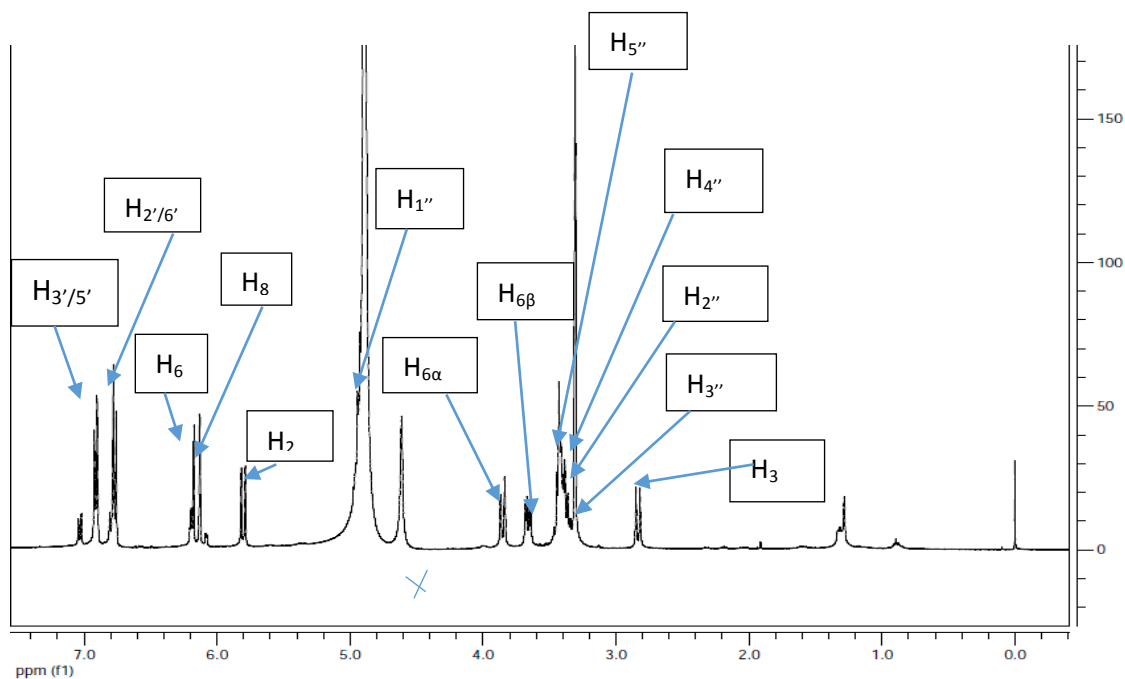
L'ensemble des données spectrales en comparaison avec celles de la littérature a permis d'établir la structure du composé **OB<sub>2</sub>** comme étant celle de l'**ormocarpin** qui est un biflavonoïde isolé précédemment des écorces d'*Ormocarpum kirkii* en 1996 par Nyandat et al. Son nom systématique est: 7,7'-β-diglucoside of (2S,3R)-chamaejasmin.

Les déplacements chimiques des spectres RMN <sup>13</sup>C et RMN <sup>1</sup>H de **OB<sub>2</sub>** en comparaison à ceux de la littérature ont été regroupés dans le tableau ci-après.

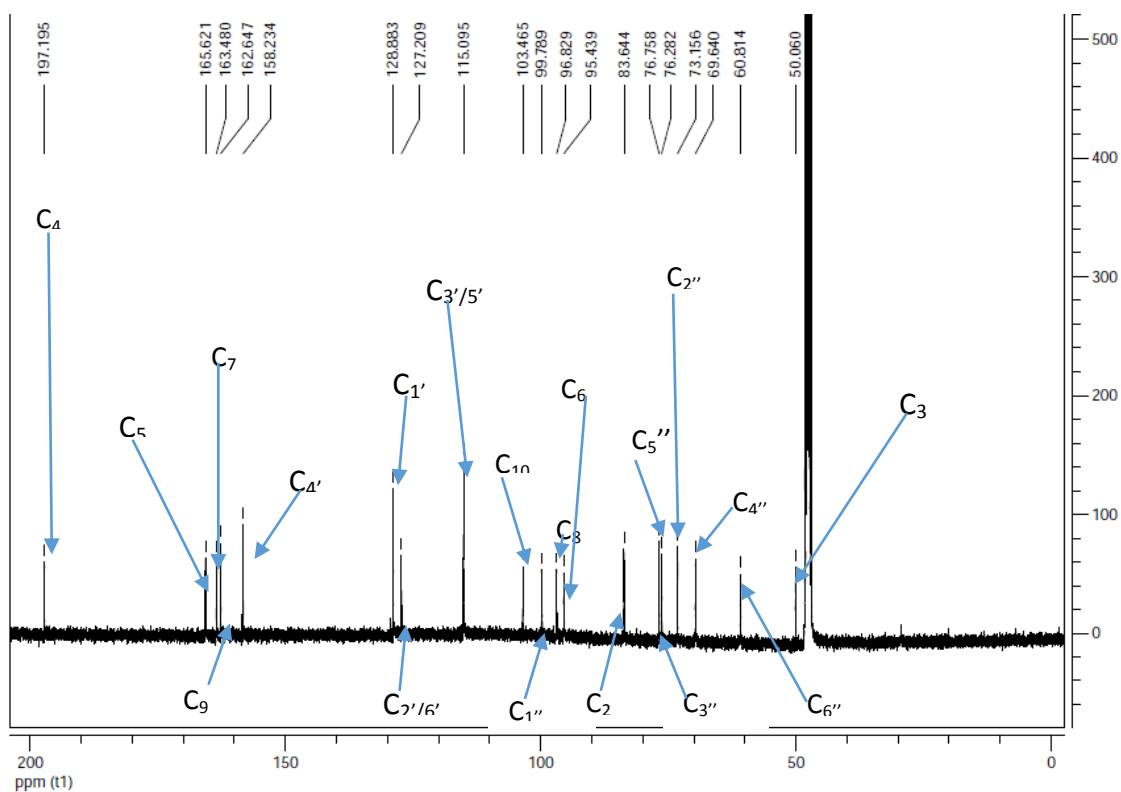
**Tableau: 9** comparaison des déplacements chimiques des spectres RMN <sup>13</sup>C et RMN <sup>1</sup>H de **OB<sub>2</sub>** avec ceux de la littérature

| N°            | δ <sup>13</sup> C (ppm)<br>OB <sub>2</sub> | δ <sup>13</sup> C (ppm)<br>Littérature | δ H (ppm)<br>OB <sub>2</sub> | δ <sup>13</sup> C (ppm)<br>Littérature |
|---------------|--|--|------------------------------|--|
| 1/1'''        | -  | -                                      | -                            | -                                      |
| 2/2'''        | 83,6                                       | 84,1                                   | 5,81                         | 5,94                                   |
| 3/3'''        | 50,1                                       | 50,1                                   | 2,82                         | 2,79                                   |
| 4/4'''        | 197,2                                      | 197,7                                  | -                            | -                                      |
| 5/5'''        | 165,6                                      | 166,4                                  | -                            | -                                      |
| 6/6'''        | 96,8                                       | 96,3                                   | 6,13                         | 6,13                                   |
| 7/7'''        | 163,5                                      | 163,2                                  | -                            | -                                      |
| 8/8'''        | 95,4                                       | 97,7                                   | 6,19                         | 6,24                                   |
| 9/9'''        | 162,7                                      | 159,2                                  | -                            | -                                      |
| 10/10'''      | 103,5                                      | 104,0                                  | -                            | -                                      |
| 1''           | 127,2                                      | 130,0                                  | -                            | -                                      |
| 2',4'/2'',4'' | 128,8                                      | 126,9                                  | 6,78                         | 6,63                                   |
| 3',5'/3'',5'' | 115,1                                      | 116,2                                  | 6,90                         | 6,86                                   |
| 4'/4''        | 158,2                                      | 163,7                                  | -                            | -                                      |
| I-1'' /II-1'' | 99,9                                       | 100,4                                  | 4,97                         | 4,75                                   |
| I-2'' /II-2'' | 73,2                                       | 73,4                                   | 3,83                         | 3,80                                   |
| I-3'' /II-3'' | 76,3                                       | 77,8                                   | -                            | -                                      |
| I-4'' /II-4'' | 69,6                                       | 70,3                                   | -                            | -                                      |
| I-5'' /II-5'' | 76,8                                       | 77,0                                   | -                            | -                                      |
| I-6'' /II-6'' | 60,6                                       | 61,4                                   | α-3,42<br>β-3,67             | α-3,45<br>β-3,65                       |

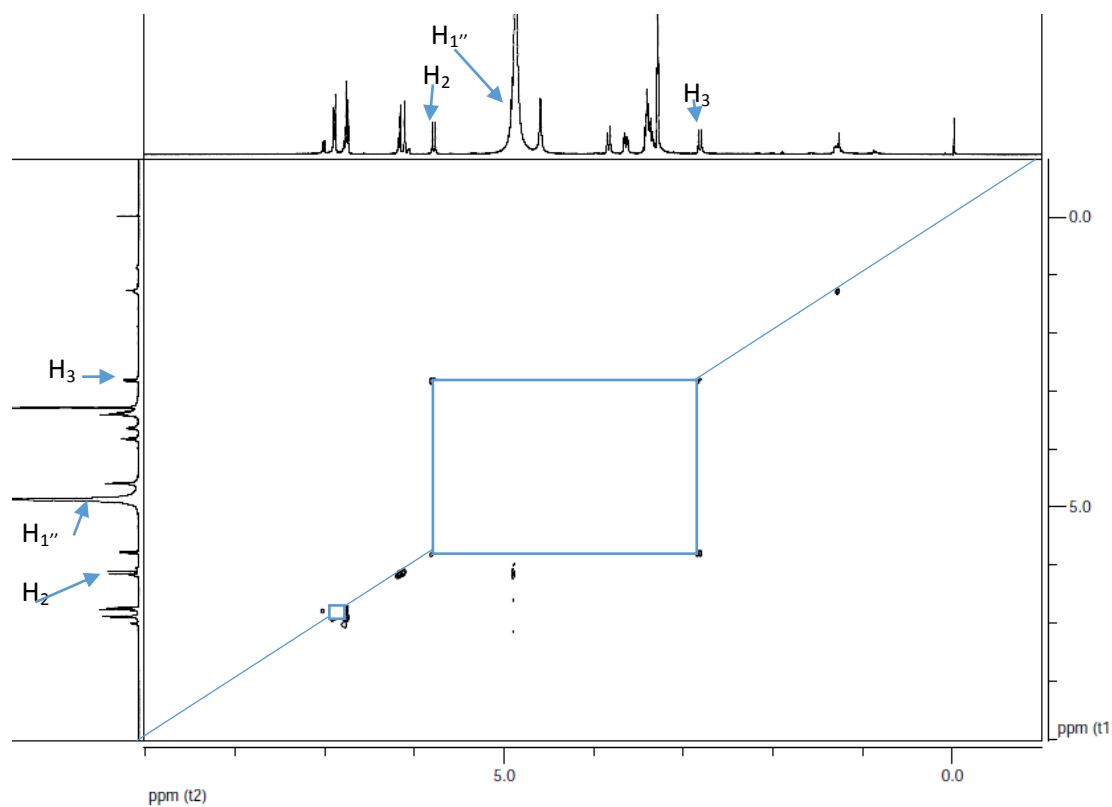
Contribution à l'étude phytochimique des écorces d'*Ormocapum bibracteatum* (Fabaceae) du Cameroun pour l'identification des flavonoïdes.



**Figure 13:** Spectre RMN  $^1\text{H}$  de  $\text{OB}_2$

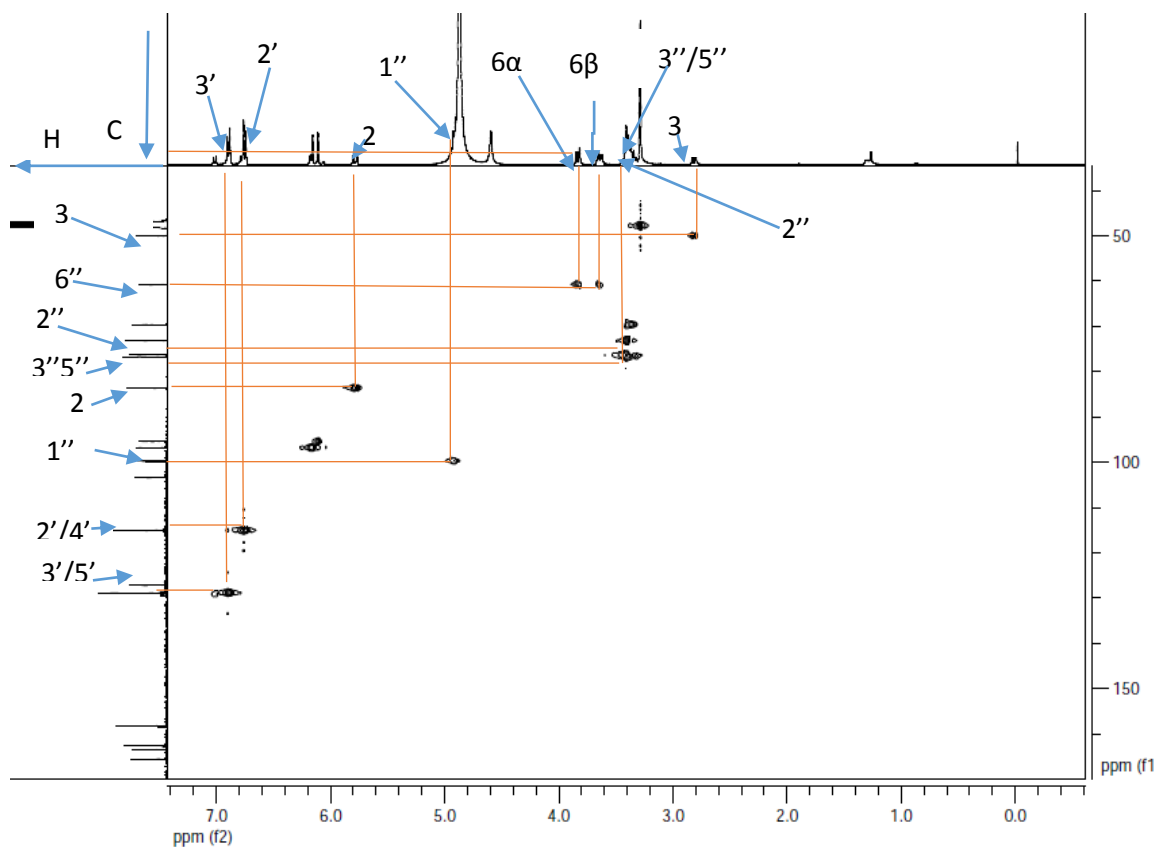


**Figure 14:** Spectre de RMN  $^{13}\text{C}$  de  $\text{OB}_2$

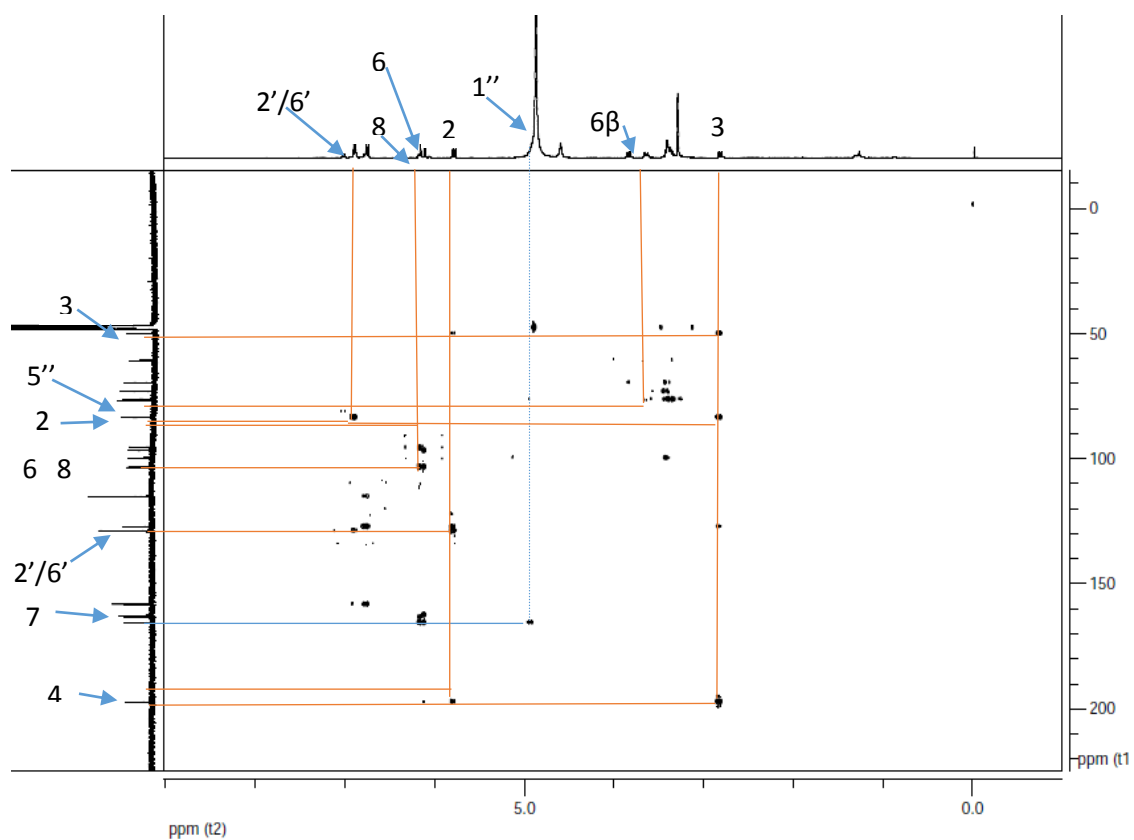


**Figure 15:** Spectre COSY de **OB<sub>2</sub>**

□



**Figure 16:** Spectre HSQC du composé OB<sub>2</sub>



**Figure 17:** Spectre HMBC du composé OB<sub>2</sub>

A blue horizontal scroll graphic with rounded ends and a slight shadow, containing the chapter title in white text.

## CHAPITRE III : MATERIEL ET METHODES

---

## CHAPITRE III: MATERIEL ET METHODES D'EXTRACTION

---

### III.1.1. Matériel végétal

#### ➤ Recolte

Les écorces d'*Ormocarpum bibracteatum* ont été récoltées au Cameroun dans la région de l'Adamaoua plus précisément à Ngaoundéré sur la route de Meiganga en Aout 2014 et ont été identifiées par le botaniste Mr. FAWA YAMAGA et un échantillon de référence a été déposé à l'Herbier National de Yaoundé-Cameroun sous le numéro (40525 HNC).

#### ➤ Sechage

Le matériel végétal a été découpé en fine lamelles, séché à l'air libre pendant environ un mois. La plante a été ensuite broyée finement, la poudre obtenue a donné une masse de 260g donc 200g ont été prélevées pour être soumise à des extractions.

### III.1.2. Matériel de laboratoire

Pour l'élaboration de notre travail, nous avons utilisé en plus de la verrerie standard du laboratoire chimie l'appareillage et le matériel ci-après:

- Des balances électroniques de type «Acculab VIC-612» et «Acculab ACL-210,4»,
- Un évaporateur rotatif de type BUCHI Rotavapor R200,
- Des plaques chromatographiques,
- Une lampe UV de marque FISHER BIOBLOCK SCIENTIFIC,
- Une plaque chauffante,
- Des plaques CCM préfabriquées sur feuilles d'aluminium de dimension 200x200x0.1 et 0.15mm et de type GF 254 MERCK,
- Une cuve chromatographique de type DESAGA Heidelberg,
- Une pompe à air,
- La silice de type 60 Merck, de granulométrie variant entre 200 et 63 micro-mètres,



Contribution à l'étude phytochimique des écorces d'*Ormocarpum bibracteatum* (Fabaceae) du Cameroun pour l'identification des flavonoïdes.

- Des colonnes chromatographiques d'environ 100 cm de hauteur et 4 ou 5,5 cm de diamètre pour les séparations et de 1,3 cm de diamètre pour les purifications.
- ESIMS à 70 eV avec Varian MAT 731, Varian 311A, AMD-402, Haute résolution avec perfluorokerosene comme standard.
- ESIMS avec Quattro Triple Quadrupole mass spectrometer Finnigan Mat-Incos 50, ESIMS LCQ (Finnigan).
- Des spectromètres RMN  $^1\text{H}$  de type VarianUnity 300 (300.542 MHz), Bruker MAT1 (300.130 MHz) (BrukerDaltonikGmbH, Bremen, Germany), VarianInova 500 (499.8 MHz), VarianInova 600 (599.8 MHz). Constantes de couplage ( $J$ ) en Hz.
- Des spectromètres RMN  $^{13}\text{C}$  de type Varian Unity 300 (75.5 MHz), Bruker MAT1 (300.130 MHz).
- Des spectromètres RMN 2D: COSY ( $^1\text{H}, ^1\text{H}$  Correlated Spectroscopy), HMBC (Heteronuclear Multiple Bond Connectivity), et HSQC (Heteronuclear Single Quantum Coherence)

## III.2. METHODES D'EXTRACTION

### III.2.1.Extraction

Les écorces d'*Ormocarpum bibracteatum* ont été découpées, séchées puis broyées donnant ainsi une poudre de masse 510g. Nous avons prélevé 500g de cette poudre qui ont fait l'objet d'une extraction à froid par macération ceci par trempé dans 3L méthanol à température ambiante pendant 72h. Après filtration, nous avons obtenu un extrait de coloration rouge et de texture collante qui a été concentré par évaporation dans un évaporateur rotatif à une température de 70°C aboutissant à une masse de 60g d'extrait brut



**Figure 18:** Concentration du filtrat .

### **III.2.2. Partition et test des flavonoïdes**

#### **III.2.2.1. Partition**

Une masse de 50g d' extrait au MeOH a été prélevée et mélangée à de la silice et ensuite soumise au dispositif de Chromatographie Liquide Basse Pression (VLC, Vacuum Liquid Chromatography) dans lequel on a effectué tour à tour des éluions et des concentrations à l'hexane, à l'hexane/acétate d'éthyle 50/50, à l'acétate pur, et à acétate/chlorure de méthylène 50/50. A l'issu de cette opération nous avons obtenu une masse d'extrait à hexane (A) de 8,7g, 6,1g d'extrait à l' hexane/acétate d'éthyle 50/50 (B), 8,2g d'extrait à l'acétate d'éthyle pur (C) et 12,5g d'extrait à l'acétate/méthanol 50/50 (D).



**Figure 19:** partition par VLC

#### **III.2.2.2. Test des flavonoïdes (test de shinoda)**

Dans le but de révéler l'extrait contenant majoritairement les flavonoïdes, nous avons fait recours au test de Shinoda en prélevant Une masse de 5mg de chaque extrait que nous avons dissous distinctement dans 1ml de méthanol, à cela a été ajouté quelques copeaux de magnésium, et 1ml de HCl concentré goutte à goutte. La présence des flavonoïdes s'est manifestée par une effervescence et un changement de coloration du rose au pourpre (rouge violacé) comme le prévoit la littérature dans l'extrait à AcOEt (C) qui a fait l'objet de la suite de nos travaux.

### III.2.3. Fractionnement et purification de l'extrait à l'acétate d'éthyle

#### III.2.3.1. Fractionnement de l'extrait à l'acétate d'éthyle

L'extrait à l'acétate d'éthyle a été mélangé à la silice puis séché. L'amalgame obtenu a été introduit dans une colonne de gel de silice et élué avec le mélange  $\text{CH}_2\text{Cl}_2/\text{MeOH}$  à des polarités croissantes: 50/1, 40/1, 35/1, 20/1, 10/1, 5/1 et 1/1. Les différentes fractions ainsi recueillies dans les flacons de 150ml ont été concentrées par évaporation. Grâce à la CCM, nous avons regroupé ces fraction en fonction des similitudes sur les plaques CCM et nous avons obtenus sept mélanges indexés: A'(0,8g), B'(1,3g), C'(1,5g), D'(1,4g), E'(1,3g), F'(0,8g) et G'(0,5g).



**Figure 20:** Fractionnement de l'extrait à l'acétate d'éthyle.

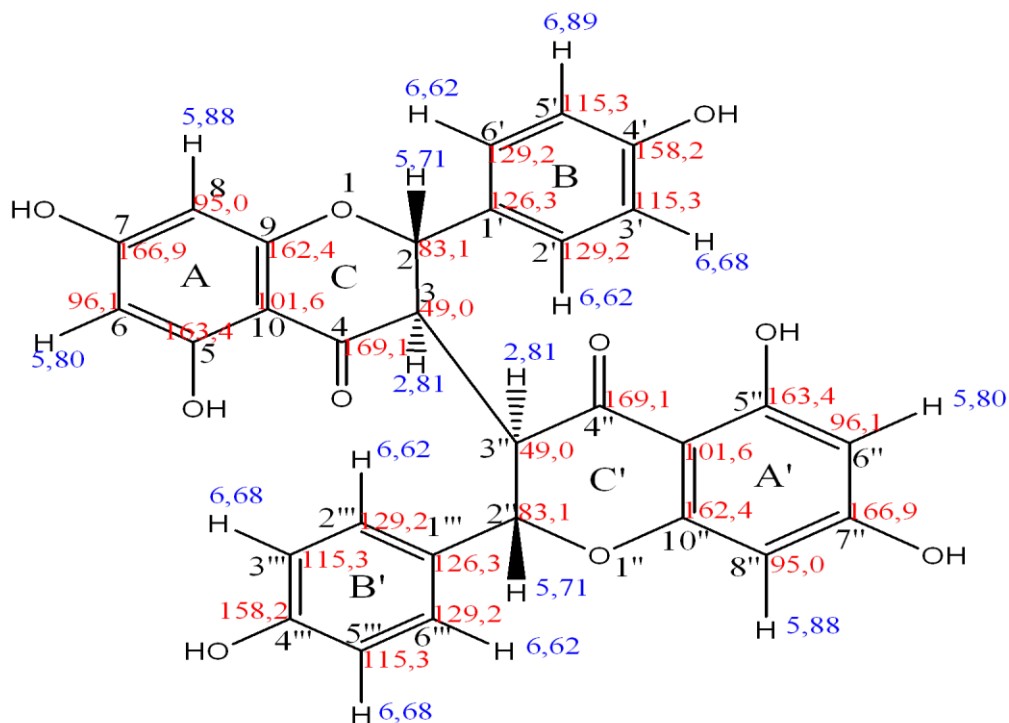
#### III.2.3.2. Purification des composés

Nous avons effectué une autre chromatographie sur colonne à gel de silice de la fraction (C') que nous avons élué avec le mélange  $\text{CH}_2\text{Cl}_2/\text{MeOH}$  à des gradients de polarités décroissantes: 20/1, 10/1, 5/1 et 1/1. À l'issu de cette opération nous avons isolé deux composés pure indexés **OB<sub>1</sub>** (13mg) et **OB<sub>2</sub>** (7mg) dont la pureté a été confirmée par CCM et leurs structures ont été élucidées grâce aux méthodes spectrales en comparaison avec les données de la littérature.



**Figure 21 :** photo de purification.

### III.3 CARACTERISATION PHYSICO-CHIMIQUE DES COMPOSES ISOLEES



**Aspect physique:**

**Nom:** chamaejasmin

**Formule brute:** C<sub>30</sub>H<sub>22</sub>O<sub>10</sub>

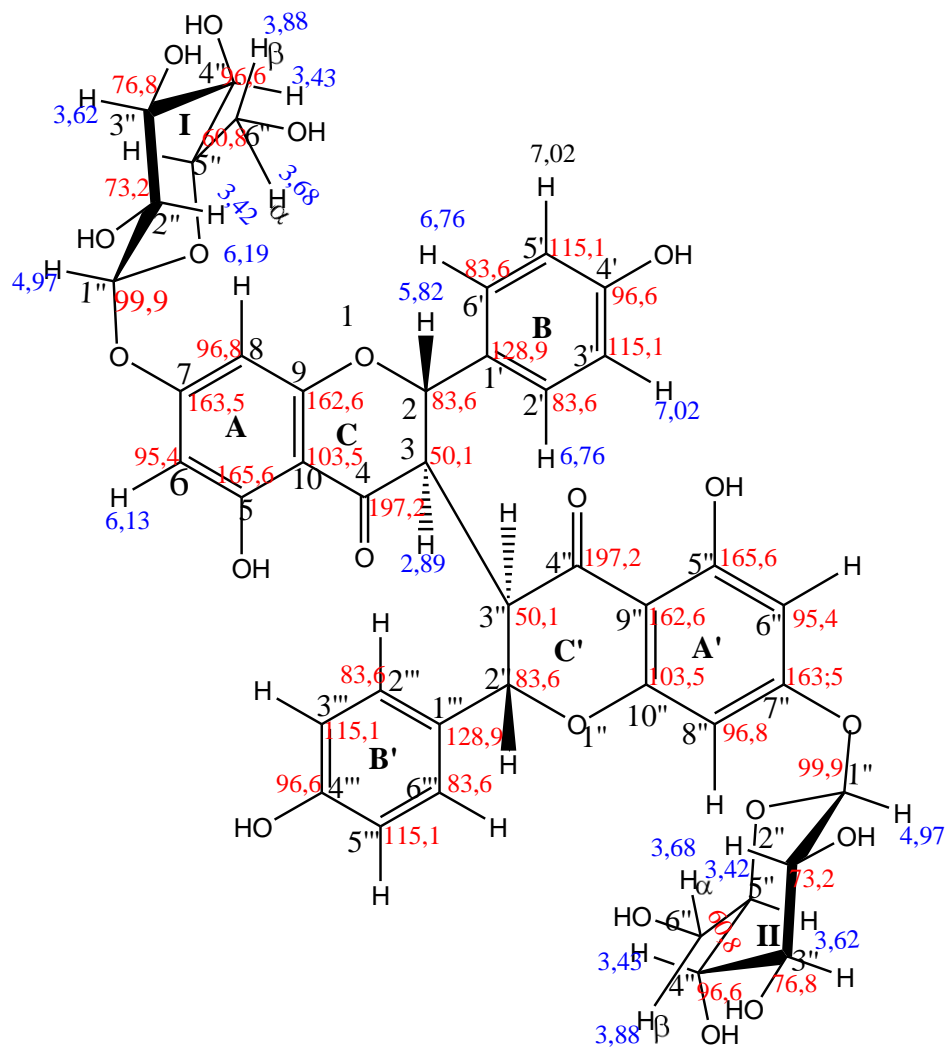
**Masse molaire:** 542,4897g/mol

**Solvant de solubilité:** DMSO

**Point de fusion:** 251°C (484°F, 524°K)

(23)

Contribution à l'étude phytochimique des écorces d'*Ormocarpum bibracteatum* (Fabaceae) du Cameroun pour l'identification des flavonoïdes.



**Aspect physique:** poudre jaune

**Nom:** Ormocarpin

**Formule brute :** C<sub>42</sub>H<sub>42</sub>O<sub>20</sub>

**Masse molaire:** 866g/mol

**Solvant de solubilité :** DMSO-d<sub>6</sub>

**Test de Shinoda:** positif

(24)



INTERÊT PÉDAGOGIQUE

---

## Interêt pédagogique

---

Le travail effectué dans le cadre de ce mémoire nous a été d'une importance capitale sur le plan pédagogique à plusieurs niveaux :

- ❖ La rédaction de ce mémoire a commencé par une recherche bibliographique, qui nous a permis de nous familiariser avec l'outil informatique et les méthodes de recherches, de traitement de l'information, de cultiver en nous l'esprit de recherche de l'information, chose capitale pour les futurs enseignants que nous sommes.
- ❖ Elle nous permettra également de présenter et d'effectuer des tests sur des groupements fonctionnels de certaines molécules, d'enseigner la notion de dosage acido-basique en classe de Terminale, la notion de pH, identification des ions, d'une solution acide et une solution basique en classe de troisième et de seconde.
- ❖ De nous familiariser aux techniques de laboratoires tels que : l'extraction, la filtration, la préparation des solutions... qui nous permettrons de mieux aborder les leçons.
- ❖ De bien maîtriser les règles de laboratoire

Au-delà de ces techniques de laboratoire, la recherche nous impose certaines qualités managériales et organisationnelles, et surtout certaines habiletés telles que : l'esprit de synthèse, l'honnêteté intellectuelle, l'ouverture d'esprit, l'esprit de discernement, l'esprit critique, la prudence de jugement, qui sont des qualités chères à l'homme de science et en particulier au futur enseignant de chimie du secondaire que nous sommes.



## CONCLUSION ET PERSPECTIVES



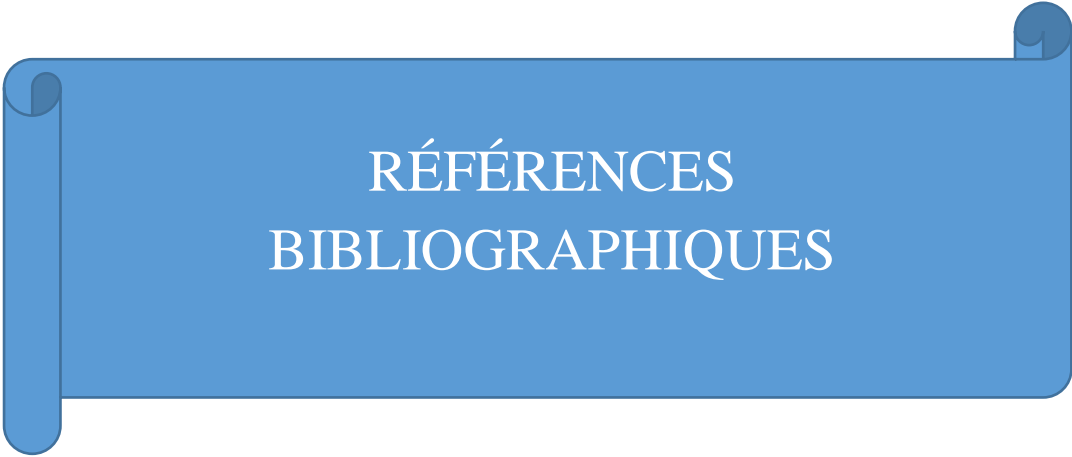
---

## Conclusion et Perspectives

---

En somme, l'étude phytochimique des écorces d'*Ormocarpum bibractéum* nous a permis grâce à l'extrait au méthanol sur lequel nous avons successivement effectué la partition, le fractionnement et la purification, d'isoler deux composés OB<sub>1</sub> et OB<sub>2</sub>. Les structures de ces deux composés ont été respectivement identifiées au chamaejasmin et à l'ormocarpin, ceci grâce aux méthodes spectroscopiques et à la spectrométrie de masse.

Au regard de l'intérêt pharmacologique des flavonoïdes (antipaludéens, antioxydants) et de l'intérêt ethnobotanique du genre *Ormocarpum* dans la médecine traditionnelle, nous souhaitons dans la suite de nos travaux continuer non seulement à traiter les autres fractions issues de l'extrait au méthanol mais aussi étendre l'étude phytochimique aux autres parties de la plante (racines, fruits, graines et feuilles).



## RÉFÉRENCES BIBLIOGRAPHIQUES

---

## Références Bibliographiques

---

- Adyarpoonga., (2007). Draft Concept Plans for Discussion. Appendix. Edible plants of the tropical dry evergreen forest 05. Edible Plants.tamildictionary.50webs.com/herbs/TAMILHERBS.pdf.
- Angiosperm Phylogeny Group (A. P. D. III) (2009). Localisation and classification of Angiosperm Phylogeny. **86** :468-473.
- Bean A., R., (2006). Notes on *Ormocarpum* (Fabaceae: Faboideae). Australian Systematic Botany Society Newsletter **127**:5–6.
- Belesi K. H., (2009). Phytogéographique et Phytosociologique de la végétation du bas - kasai (RDC) thèse de doctorat, UNIKIN, p 563.
- Bhuvanewari et al., (2014). Etude phytochimie et de l'activité biologique des feuilles d'*Ormocarpum sennoides*. Chem.Tech. Res. **6(9)** :4078-4083
- Bhattacharyya B., Johri B. M. (1998). Flowering plants, taxonomy and phylogeny. Ed° Springer-Verlag, Berlin, 253-256.
- Chhabra S.C., Mahunnah, R.L A., Mshiu, E. N. (1990). Plants used in traditional medicine in Eastern Tanzania. IV. Angiosperms (Mimosaceae to Papilionaceae). J. Ethnopharmacol. **29**, 295–323.
- De Wit H., (1963). Les plantes du monde. Ed Hachette. Paris, 308-323. De WIT H. Les plantes du monde.
- Dhooghe L., Maregesi S., Mincheva I., Ferreira D., Marais J., Lemiere F., Matheusen A., Cos P., Maes L., Vlietinck A., Apers S., Pieters L. (2010). Antiplasmodial activity of (I-3,II-3)-biflavonoids from *Ormocarpum kirkii*. Phytochemistry **71**: 785-791.
- George S., Clark., (1995). «Coumarin», *Perfumer & Flavorist* **20** 23-34
- Gilbert G., Boutique R., (1952), «mimosaceae et papilionaceae, in Flore du Congo belge et du Ruanda Urundi» *Publ. I.N.E.A.C.* éd. Bruxelles. Jard. Bot **3**,167-227.

Contribution à l'étude phytochimique des écorces d'*Ormocarpum bibracteatum* du Cameroun pour l'identification des flavonoïdes (Fabaceae).

- Harbone J.B., William C.A. (2000). Advances in flavonoid research since 1992. *Phytochemistry* **55** (6): 481-504
- Harborne J.B., Mabry T.J., (1982). The flavonoids advances in research. New York: Cambridge University Press. 126. **16** :335-337)
- Kokwaro J.O., (1976). Medicinal Plants of East Africa. East Africa Literature Bureau, Nairobi.
- Lavin M., Pennington RT., Klitgaard BB., Sprent JI., de Lima HC., Gasson PE., (2001). "The dalbergioid legumes (Fabaceae): delimitation of a pantropical monophyletic clade". *Am J Bot***88** (3): 503-33.
- Maregesi S. M., Ngassapa O.D., Pieters L., Vlietinck J., (2007). Ethnopharmacological survey of the Bunda district, Tanzania: plants used to treat infectious diseases. *J Ethnopharmacol.* **113**: 457-470.
- Mabry T.J., Markham K.R., Thomas M.B., (1970). The systematic identification of flavonoids. Springer-Verlag, Berlin-Heidelberg , New York, 184-234.
- Maregesi, S., Van, Miert, S, Pannecouque, C., Feiz, Haddad, M., Hermans, N., Wright, C. W., Vlietinck, A., Apers. S., Pieters, L., (2010). Screening of Tanzanian medicinal plants against *Plasmodium falciparum* and human immunodeficiency virus. *Planta Med.* **76** 195-201
- Maria John K.M., Venkatesan D., Sandhiya S., Karthik, S. and Natarajan S., (2011). In vitro synthesis of calcite crystals from *Ormocarpum cochinchines* L. a traditional bone healing aid of Southern India. *Amer. J. Plant Physiol.* **6(6)**: 312-317.
- Niwa M., Chen X.F., Liu G.Q., Tatematsu H., Hirata Y., (1984). Structure of isochamaejasmin from *Stellera chamaejasme* L., 1587–1590.
- Niwa M., Otsuji S., Tatematsu H., Liu G.Q., Chen X.F., Hirata Y., (1986). Stereostructures of two biflavanones *Stellera chamaejasme*. *Chem. Pharm. Bull.* **34**: 3249–3251.
- Nyandat E., Hassanali A., de Vicente Y., Multari G., Galeffi C., (1990). The 7,7''- $\beta$ -diglucoside de (2S,3R)-chamaejasmin from *Ormocarpum kirkii*, *phytochemistry* **29**:2361-2364.

Contribution à l'étude phytochimique des écorces d'*Ormocapum bibracteatum* du Cameroun pour l'identification des flavonoïdes (Fabaceae).

- Pousset J.L. (2006). Place des médicaments traditionnels en Afrique. Médecine tropicale **66** : 606-609
- Rhodesia Agricultural. (1956). Ministry of Agriculture **53** :523-526.
- Roskov Y., Zarucchi J., Novoselova M., & Bisby F. (2015). ILDIS World Database of Legumes In: Species 2000 & ITIS Catalogue of Life.
- Sivakumar et *al.*, (2013). Triadimefon mediated changes in antioxydant and indole alkaloid contentin two species of Datura. Am. J. Plant Physiol. 252-26.
- Stermitz F.R., Mead E.W., Foderaro T.A., Castro O.C. (1993). Diphysin, a 3-300 -dimeric 4-phenyldihydrocoumarin from *Dyphysa robinoides*. Phytochemistry **34**: 287-289.