

REPUBLIQUE DU CAMEROUN

Paix – Travail – Patrie

UNIVERSITE DE YAOUNDE I

FACULTE DES SCIENCES

DEPARTEMENT DE CHIMIE

ORGANIQUE

CENTRE DE RECHERCHE ET DE

FORMATION DOCTORALE EN

SCIENCES,

TECHNOLOGIES ET GEOSCIENCES

LABORATOIRE DE

PHARMACOCHEMIE DES

SUBSTANCES NATURELLES



REPUBLIC OF CAMEROUN

Peace – Work – Fatherland

UNIVERSITY OF YAOUNDE I

FACULTY OF SCIENCE

DEPARTMENT OF ORGANIC

CHEMISTRY

POSTGRADUATE SCHOOL FOR

SCIENCES, TECHNOLOGY AND

GEOSCIENCES

NATURAL PRODUCTS

PHARMACOCHEMISTRY

LABORATORY

**Valorisation phytochimique et pharmacologique
de légumineuses du Cameroun : *Newtonia
griffoniana*, *Anthonotha macrophylla* et
Desmodium adscendens.**

THESE

Rédigée et Présentée en vue de l'obtention du Doctorat/Ph.D en Chimie
Organique Option: Substances Naturelles

Par : **Mc Jesus KINYOK**
D.E.A de Chimie Organique

Sous la direction de
SONDENGAM Beiban Luc
Professeur, Université de Yaoundé I
PEGNYEMB Dieudonné Emmanuel
Professeur, Université de Yaoundé I

Année Académique : 2018



UNIVERSITE DE YAOUNDE I
UNIVERSITY OF YAOUNDE I

FACULTE DES SCIENCES
FACULTY OF SCIENCES



REPUBLIQUE DU CAMEROUN
Paix – Travail – Patrie

REPUBLIC OF CAMEROON
Peace – Work – Fatherland

DEPARTEMENT DE CHIMIE ORGANIQUE
DEPARTMENT OF ORGANIC CHEMISTRY

Attestation de correction de thèse de **Doctorat/Ph.D en Chimie Organique** de
M. MC JESUS KINYOK

Nous soussignons **Pr. NKENGFACK Augustin Ephrem**; **Pr. PEGNYEMB Dieudonné Emmanuel**; **Pr. ATCHADE Alex De Théodore** tous enseignants à l'Université de Yaoundé I respectivement Président; rapporteur et examinateurs du jury de thèse de **M. MC JESUS KINYOK**; attestons que ladite thèse a été effectivement corrigée conformément aux recommandations du jury devant lequel le travail intitulé « **Valorisation phytochimique et pharmacologique de légumineuses du Cameroun : *Newtonia griffoniana*, *Anthonotha macrophylla* et *Desmodium adscendens*** » a été défendue le 04 Juillet 2018 dans la salle de soutenance S01/02 du bloc pédagogique de la faculté des sciences de l'Université de Yaoundé I.

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

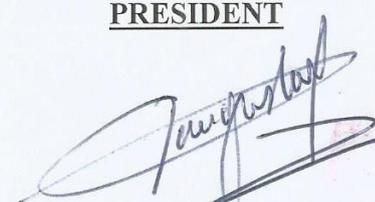
Fait à Yaoundé le 18 OCT 2018

Le jury:

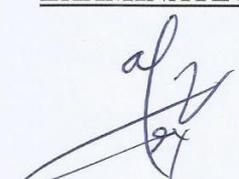
PRESIDENT

RAPPORTEUR

EXAMINATEUR


Pr. A.E NKENGFACK


Pr. D.E PEGNYEMB


Pr. A.T. ATCHADE



UNIVERSITE DE YAOUNDE I FACULTE DES SCIENCES Division de la Programmation et du Suivi des Activités Académiques		The University of Yaoundé I Faculty of Science Division of Programming and follow-up of Academic Affairs
LISTE DES ENSEIGNANTS PERMANENTS		LIST OF PERMANENT TEACHING STAFF

ANNEE ACADEMIQUE 2016/2017
(Par Département et par Grade)

DATE D'ACTUALISATION : 10 Octobre 2017

ADMINISTRATION

DOYEN : AWONO ONANA, Professeur

VICE-DOYEN / DPSAA : DONGO Etienne, Professeur

VICE-DOYEN / DSSE : OBEN Julius ENYONG, Professeur

VICE-DOYEN / DRC : Luc MBAZE MEVA'A, Professeur

Chef Division Affaires Académiques, Scolarité et Recherche : ABOSSOLO Monique,
Chargé de cours

Chef Division Administrative et Financière : NDOYE FOE Marie C. F., Maître de
Conférences

1- DEPARTEMENT DE BIOCHIMIE (BC) (40)			
N°	NOMS ET PRENOMS	GRADE	OBSERVATIONS
1	BENG née NINTCHOM PENLAP V.	Professeur	En poste
2	FEKAM BOYOM Fabrice	Professeur	En poste
3	MBACHAM Wilfried	Professeur	En poste
4	MOUNDIPA FEWOU Paul	Professeur	Chef de Département
5	OBEN Julius ENYONG	Professeur	<i>Vice-Doyen (DRC)</i>
6	BIGOGA DIAGA Jude	Maître de Conférences	En poste
7	BOUDJEKO Thaddée	Maître de Conférences	En poste
8	FOKOU Elie	Maître de Conférences	En poste
9	KANSCI Germain	Maître de Conférences	En poste
10	MINKA Samuel	Maître de Conférences	En poste
11	NGONDI Judith Laure	Maître de Conférences	En poste
12	NGUEFACK Julienne	Maître de Conférences	En poste
1	NJAYOU Frédéric Nico	Maître de Conférences	En poste
14	WAKAM née NANA Louise	Maître de Conférences	En poste
15	BELINGA née NDOYE FOE Marie C. Florentine	Maître de Conférences	Chef DAF / FS
16	ACHU Merci BIH	Chargé de Cours	En poste
17	AZANTSA Boris	Chargé de Cours	En poste
18	ATOUGHO Barbara Mma	Chargé de Cours	En poste
19	DEMMANO Gustave	Chargé de Cours	En poste
20	DJOKAM TAMO Rosine	Chargé de Cours	En poste
21	DJUIDJE NGOUNOUE Marcelline	Chargé de Cours	En poste

22	DJUIKWO NKONGA Ruth Viviane	Chargé de Cours	En poste
23	EFFA ONOMO Pierre	Chargé de Cours	En poste
24	EVEHE BEBANDOUÉ Marie –Solange	Chargé de Cours	<i>En disponibilité</i>
25	EWANE Cécile Anne	Chargé de Cours	En poste
26	KOTUE TAPTUE Charles	Chargé de Cours	En poste
27	MBONG ANGIE MOUGANDE Mary Ann	Chargé de Cours	En poste
28	MOFOR née TEUGWA Clotilde	Chargé de Cours	<i>IA4/MINESUP</i>
29	Palmer MASUMBE NETONGO	Chargé de Cours	En poste
30	TCHANA KOUATCHOUA Angèle	Chargé de Cours	En poste
31	AKINDEH MBUH NJI	Chargé de Cours	En poste
32	LUNGA Paul KAILAH	Chargé de Cours	En poste
33	PECHANGOU NSANGOU Sylvain	Chargé de Cours	En poste
34	BEBEE FADIMATOU	Assistant	En poste
35	BEBOY EDJENGUELE Sara Nathalie	Assistant	En poste
36	DAKOLE DABOY Charles	Assistant	En poste
37	DONGMO LEKAGNE Joseph Blaise	Assistant	En poste
38	FONKOUA Martin	Assistant	En poste
39	MANANGA Marlyse Joséphine	Assistant	En poste
40	MBOUCHE FANMOE Marcelline Joëlle	Assistant	En poste
41	TIENTCHEU DJOKAM Léopold	Assistant	En poste

2- DEPARTEMENT DE BIOLOGIE ET PHYSIOLOGIE ANIMALES (B.P.A.) (44)

1	BILONG BILONG Charles Félix	Professeur	Chef de Département
2	DIMO Théophile	Professeur	En Poste
3	FOMENA Abraham	Professeur	En Poste
4	KAMTCHOUING Pierre	Professeur	En poste
5	MIMPFONDI REMY	Professeur	En poste
6	NJAMEN Dieudonné	Professeur	En poste
7	NJIOKOU Flobert	Professeur	En Poste
8	NOLA Moïse	Professeur	En poste
9	TAN Paul Vernyuy	Professeur	En poste
10	TCHUEM TCHUENTE Louis	Professeur	<i>Coord. Progr. MINSANTE</i>
11	AJEAGAH Gidéon AGHAINDOUM	Maître de Conférences	<i>Chef Serv. /Diplomation FS</i>
12	DJIETO Lordon Champlain	Maître de Conférences	En poste
13	DZEUFIET DJOMENI Paul Désiré	Maître de Conférences	En poste
14	ESSOMBA née NTSAMA MBALLA	Maître de Conférences	<i>VDRC/Chef dépt FMSB</i>
15	FOTO MENBOHAN Samuel	Maître de Conférences	En poste
16	KAMGANG René	Maître de Conférences	<i>C.E. MINRESI</i>
17	KEKEUNOU Sévilor	Maître de Conférences	En poste
18	MEGNEKOU Rosette	Maître de Conférences	En poste
19	MONY NTONE Ruth	Maître de Conférences	En poste
20	ZEBAZE TOGOUET Serge Hubert	Maître de Conférences	En poste
20	ALENE Désirée Chantal	Chargé de Cours	<i>Chef Serv. /MINESUP</i>
21	ATSAMO Albert Donatien	Chargé de Cours	En poste
22	BELLET EDIMO Oscar Roger	Chargé de Cours	En poste
23	BILANDA Danielle Claude	Chargé de Cours	En poste
24	DJIOGUE Séfirin	Chargé de Cours	En poste
25	GOUNOUÉ KAMKUMO Raceline	Chargé de Cours	En poste
26	JATSA MEGAPTCHE Hermine	Chargé de Cours	<i>En poste</i>
27	MAHOB Raymond Joseph	Chargé de Cours	En poste
28	MBENOUN MASSE Paul Serge	Chargé de Cours	En poste
29	MOUGANG NGAMENI Luciane	Chargé de Cours	En poste

30	LEKEUFACK FOLEFACK Guy Benoît	Chargé de Cours	En poste
31	NGOUATEU KENFACK Omer BEBE	Chargé de Cours	En poste
32	NGUEGUIM TSOFACK Florence	Chargé de Cours	En poste
33	NGUEMBOCK	Chargé de Cours	En poste
34	NJUA Clarisse YAFI	Chargé de Cours	En poste
35	TADU Zéphirin	Chargé de Cours	En poste
36	TOMBI Jeannette	Chargé de Cours	En poste
37	YEDE	Chargé de Cours	En poste
38	ETEME ENAMA Serge	Assistant	En poste
39	KANDEDA KAVAYE Antoine	Assistant	En poste
40	KOGA MANG'Dobara	Assistant	En poste
41	METCHI DONGFACK Mireille Flore	Assistant	En poste
40	NOAH E. O. Vivien	Assistant	En poste
41	MVEYO NDANKEU Yves Patrick	Assistant	En poste

3-DEPARTEMENT DE BIOLOGIE ET PHYSIOLOGIE VEGETALES (B. P. V.) (27)

1	YOUMBI Emmanuel	Professeur	Chef de Département
2	AMBANG Zachée	Professeur	Vice-Doyen/FSE
3	MOSSEBO Dominique Claude	Professeur	En poste
4	BELL Joseph Martin	Maître de Conférences	En poste
5	DJOCGOUE Pierre François	Maître de Conférences	En poste
6	KENGNE NOUMSI Ives Magloire	Maître de Conférences	En poste
7	MBOLO Marie.	Maître de Conférences	En poste
8	NDONGO BEKOLO	Maître de Conférences	<i>CE / MINRESI</i>
9	ZAPFACK Louis	Maître de Conférences	En poste
10	ANGONI Hyacinthe	Chargé de Cours	En poste
11	BIYE Elvire Hortense	Chargé de Cours	En poste
12	MAHBOU SOMO TOUKAM Gabriel	Chargé de Cours	En poste
13	MALLA Armand William	Chargé de Cours	En poste
14	MBARGA BINDZI Marie Alain.	Chargé de Cours	<i>Inspecteur académ. N°1 MINESUP</i>
15	NGALLE Hermine BILLE	Chargé de Cours	<i>Coordo. Programme MINFOF</i>
16	NGODO MELINGUI Jean Baptiste	Chargé de Cours	En poste
17	NGONKEU MAGAPTCHE Eddy Léonard	Chargé de Cours	En poste
18	NGOUO Lucas Vincent	Chargé de Cours	En poste
19	NSOM ZAMO Annie Claude ép. PIAL	Chargé de Cours	<i>Expert national./UNESCO</i>
20	ONANA Jean Michel	Chargé de Cours	En poste
21	TONFACK Libert Brice	Chargé de Cours	En poste
22	TSOATA Esaïe	Chargé de Cours	En poste
23	DJEUANI Astride Carole	Assistant	En poste
24	GONMADGE Christelle	Assistant	En poste
25	MAFFO MAFFO Nicole Liliane	Assistant	En poste
26	NNANGA MEBENGA Ruth Laure	Assistant	En poste
27	NOUKEU KOUAKAM Armelle	Assistant	En poste

4-DEPARTEMENT DE CHIMIE INORGANIQUE (C.I.) (35)

1	KETCHA MBADCAM Joseph	Professeur	Chef de Département
2	NDIFON Peter TEKE	Professeur	<i>CT MINRESI</i>
3	NGAMENI Emmanuel	Professeur	<i>Doyen/ UDS</i>

4	GHOGOMU Paul MINGO	Professeur	<i>Directeur Cabinet PM</i>
5	LAMINSI Samuel	Professeur	En poste
6	MELO née CHINJE Uphie F.	Professeur	<i>Recteur/UN</i>
7	AGWARA ONDOH Moïse	Professeur	<i>Vice-Recteur/ UBa</i>
8	NANSEU Charles Péguy	Professeur	En poste
9	NENWA Justin	Professeur	En poste
10	BABALE DJAM DOUDOU	Maître de Conférences	En poste
11	DJOUFAC WOUMFO Emmanuel	Maître de Conférences	En poste
12	ELIMBI Antoine	Maître de Conférences	En poste
13	KONG SAKEO	Maître de Conférences	En poste
14	NDIKONTAR Maurice KOR	Maître de Conférences	<i>Vice-Doyen/UBa</i>
15	NGOMO Horace MANGA	Maître de Conférences	<i>Recteur /UB</i>
16	YOUNANG Elie	Maître de Conférences	En poste
17	ACAYANKA Elie	Chargé de Cours	En poste
18	CHEUMANI YONA Arnaud	Chargé de Cours	En poste
19	EMADACK Alphonse	Chargé de Cours	En poste
20	GWET Simon – Pierre	Chargé de Cours	En poste
21	KAMGANG YOUBI Georges	Chargé de Cours	En poste
22	KEUMEGNE MBOUGUEM Jean Claude	Chargé de Cours	En poste
23	KENNE DEDZO Gustave	Chargé de Cours	En poste
24	MBEY Jean Aimé	Chargé de Cours	En poste
25	NDI Julius NSAMI	Chargé de Cours	En poste
26	NDOSIRI Bridget NDOYE	Chargé de Cours	En poste
27	NJIOMOU Chantale épouse DJANGANG	Chargé de Cours	En poste
28	NJOYA Dayirou	Chargé de Cours	En poste
29	NYAMEN Linda Dyorisse	Chargé de Cours	En poste
30	PABOUDAM GBAMBIE Awaou	Chargé de Cours	En poste
31	TCHAKOUTE KOUAMO Hervé	Chargé de Cours	En poste
32	BELIBI BELIBI Placide Désiré	Assistant	En poste
33	KOUOTOU DAOUDA	Assistant	En poste
34	MAKON Thomas Beauregar	Assistant	En poste
35	NCHIMI NONO Katia	Assistant	En poste

5-DEPARTEMENT DE CHIMIE ORGANIQUE (C.O.) (33)

1	DONGO Etienne	Professeur	Vice-Doyen/ DPSSA
2	GHOGOMU TIH ROBERT RALPH	Professeur	<i>Directeur I.B.A. Foumban</i>
3	MBAFOR Joseph	Professeur	En poste
4	NGADJUI TCHALEU B.	Professeur	<i>Chef de dépt FMBS</i>
5	NGOUELA Silvère Augustin	Professeur	<i>Chef de dépt. UDs</i>
6	NKENGFACK Augustin Ephraïm	Professeur	Chef de Département
7	NYASSE Barthélemy	Professeur	<i>Directeur /UN</i>
8	PEGNYEMB Dieudonné Emmanuel	Professeur	<i>Directeur au MINESUP</i>
9	WANDJI Jean	Professeur	En poste
10	Alex de Théodore ATCHADE	Maître de Conférences	<i>CD Rectorat/ UYI</i>
11	FOLEFOC Gabriel NGOSONG	Maître de Conférences	En poste
12	KEUMEDJIO Félix	Maître de Conférences	En poste
13	KOUAM Jacques	Maître de Conférences	En poste
14	MBAZOA née DJAMA Céline	Maître de Conférences	En poste
15	NOUNGOUE TCHAMO Diderot	Maître de Conférences	En poste

16	TCHOUANKEU Jean-Claude	Maître de Conférences	<i>Vice-Recteur/ UYII</i>
17	YANKEP Emmanuel	Maître de Conférences	En poste
18	TCHUENDEM KENMOGNE Marguerite	Maître de Conférences	En poste
19	TIH née NGO BILONG E. Anastasie	Maître de Conférences	En poste
20	AMBASSA Pantaleon	Chargé de Cours	En poste
21	EYONG Kenneth OBEN	Chargé de Cours	En poste
22	FOTSO WABO Ghislain	Chargé de Cours	En poste
23	KAMTO Eutrophe Ledoux	Chargé de Cours	En poste
24	MKOUNGA Pierre	Chargé de Cours	En poste
25	NGO MBING Joséphine	Chargé de Cours	En poste
26	NGONO BIKOBO Dominique Serge	Chargé de Cours	En poste
27	NOTE LOUGBOT Olivier	Chargé de Cours	En poste
28	OUAHOUE WACHE Blandine Marlyse	Chargé de Cours	En poste
29	TABOPDA KUATE Turibio	Chargé de Cours	En poste
30	TAGATSING FOTSING Maurice	Chargé de Cours	En poste
31	ZONDEGOUNBA Ernestine	Chargé de Cours	En poste
32	NGINTEDO Dominique	Assistant	En poste
33	NGOMO Orléans	Assistant	En poste

6-DEPARTEMENT D'INFORMATIQUE (IN) (30)

1	TCHUENTE Maurice	Professeur	PCA / UYII
2	FOTSO Pauline Laure	Professeur	<i>Député à l'Assemblée Nationale</i>
3	FOUDA NDJODO Marcel	Professeur	<i>IGA-MINESUP/Chef Dpt ENS</i>
4	ATSA ETOUNDI Roger	Professeur	Chef de Département <i>Chef Division MINESUP</i>
5	NDOUNDAM René	Maître de Conférences	En poste
6	CHEDOM FOTSO Donatien	Chargé de Cours	En poste
7	DJAM Xaviera Youth KIMBI	Chargé de Cours	En poste
8	KOUOKAM KOUOKAM Etienne Appolin	Chargé de Cours	En poste
9	MELATAGIA YONTA Paulin	Chargé de Cours	En poste
10	MOTO MPONG Serge Alain	Chargé de Cours	En poste
11	TINDO Gilbert	Chargé de Cours	En poste
12	TSOPZE Norbert	Chargé de Cours	En poste
13	WAKU KOUAMOU Jules	Chargé de Cours	En poste
14	ABESOLO ALO'O Gislain	Assistant	En poste
15	AMINOUE Halilou	Assistant	En poste
16	BAYEM Jacques Narcisse	Assistant	En poste
17	DOMGA KOMGUEM Rodrigue	Assistant	En poste
18	EBELE Serge	Assistant	En poste
19	HAMZA Adamou	Assistant	En poste
20	KAMDEM KENGNE Christiane	Assistant	En poste
21	KAMGUEU Patrick Olivier	Assistant	En poste
22	JIOMEKONG AZANZI Fidel	Assistant	En poste
23	MAKEMBE S. Fritz Oswald	Assistant	En poste
24	MEYEMDOU Nadège Sylvianne	Assistant	En poste
25	MONTHÉ DJIADEU Valéry Martial	Assistant	En poste
26	NKONDOCK MI BAHANACK Nicolas	Assistant	En poste
27	OLE OLE David Claude	Assistant	En poste
28	TAPAMO KENFACK Hyppolite	Assistant	En poste

7-DEPARTEMENT DE MATHEMATIQUES (MA) (33)

1	BEKOLLE David	Professeur	<i>Vice-Recteur UN</i>
2	BITJONG NDOMBOL	Professeur	En poste
3	DOSSA COSSY Marcel	Professeur	En poste
4	AYISSI Raoult Domingo	Maître de Conférences	Chef de Département
5	EMVUDU WONO Yves S.	Maître de Conférences	En poste
6	NKUIMI JUGNIA Célestin	Maître de Conférences	En poste
7	NOUNDJEU Pierre	Maître de Conférences	En poste
8	AGHOUKENG JIOFACK Jean Gérard	Chargé de Cours	En poste
9	BOGSO Antoine M	Chargé de Cours	En poste
10	CHENDJOU Gilbert	Chargé de Cours	En poste
11	DOUANLA YONTA Hermann	Chargé de Cours	En poste
12	FOMEKONG Christophe	Chargé de Cours	En poste
13	KIANPI Maurice	Chargé de Cours	En poste
14	KIKI Maxime Armand	Chargé de Cours	En poste
15	MBAKOP Guy Merlin	Chargé de Cours	En poste
16	MBANG Joseph	Chargé de Cours	En poste
17	MBEHOU Mohamed	Chargé de Cours	En poste
18	MBELE BEDIMA Martin	Chargé de Cours	En poste
19	MENGUE MENGUE David Joe	Chargé de Cours	En poste
20	NGUEFACK Bertrand	Chargé de Cours	En poste
21	NGUIMTSA Charles	Chargé de Cours	En poste
22	POLA DOUNDOU Emmanuel	Chargé de Cours	En poste
23	TAKAM SOH Patrice	Chargé de Cours	En poste
24	TCHANGANG Roger Duclos	Chargé de Cours	En poste
25	TCHOUNDJA Edgar Landry	Chargé de Cours	En poste
26	TIAYA TSAGUE N. Anne- Marie	Chargé de Cours	En poste
27	DJIADEU NGAHA Michel	Assistant	En poste
28	MBIAKOP Hilaire George	Assistant	En poste
29	NIMPA PEFOUKEU Romain	Assistant	En poste
30	TANG AHANDA Barnabé	Assistant	<i>Chef Serv. MINPLAMAT</i>
31	TETSADJIO TCHILEPECK Mesmin Erick	Assistant	En poste

8-DEPARTEMENT DE MICROBIOLOGIE (MB) (13)

1	ETOA François-Xavier	Professeur	Recteur UD/Chef de Département
2	BOYOMO ONANA	Maître de Conférences	
3	ESSIA NGANG Jean Justin	Maître de Conférences	<i>Chef de Division recherche IMPM</i>
4	NYEGUE Maximilienne Ascension	Maître de Conférences	En poste
5	NWAGA Dieudonné M.	Maître de Conférences	En poste
6	RIWOM Sara Honorine	Maître de Conférences	
7	SADO KAMDEM Sylvain Leroy	Maître de Conférences	En poste
8	BODA Maurice	Chargé de Cours	En poste
9	ENO Anna Arey	Chargé de Cours	En poste
10	ESSONO OBOUGOU Germain Gabriel	Chargé de Cours	En poste
11	BOUGNOM Blaise Pascal	Chargé de Cours	En poste
12	NJIKI BIKOÏ Jacky	Assistant	En poste
13	TCHIKOUA Roger	Assistant	En poste

9-DEPARTEMENT DE PHYSIQUE (PH) (41)

1	ESSIMBI ZOBO Bernard	Professeur	En poste
2	KOFANE Timoléon Crépin	Professeur	En poste
3	NJOMO Donatien	Professeur	En poste
4	TABOD Charles TABOD	Professeur	<i>Doyen/Ubda</i>
5	WOAFO Paul	Professeur	En poste
6	NDJAKA Jean Marie Bienvenu	Professeur	Chef de Département
7	PEMHA Elkana	Professeur	En poste
8	TCHAWOUA Clément	Professeur	En poste
9	BIYA MOTTO Frédéric	Maître de Conférences	<i>Dir.Gén. B. MEKIM</i>
10	BEN- BOLIE Germain Hubert	Maître de Conférences	En poste
11	DJUIDJE KENMOE Gemaine épouse ALOYEM KAZE	Maître de Conférences	En poste
12	EKOBENA FOU DA Henri Paul	Maître de Conférences	<i>Chef Dépt UN</i>
13	EYEBE FOU DA Jean Sire	Maître de Conférences	En poste
14	FEWO Serge Ibraïd	Maître de Conférences	En poste
15	MBANE BIOUELE	Maître de Conférences	<i>En poste</i>
16	NANA NBENDJO Blaise	Maître de Conférences	En poste
17	NJANDJOCK NOUCK Philippe	Maître de Conférences	<i>Chef Serv. MINRESI</i>
18	NOUAYOU Robert	Maître de Conférences	En poste
19	OUMAROU BOUBA	Maître de Conférences	<i>En poste</i>
20	SAIDOU	Maître de Conférences	<i>En poste</i>
21	SIEWE SIEWE Martin	Maître de Conférences	En poste
22	ZEKENG Serge Sylvain	Maître de Conférences	En poste
23	BODO Bernard	Chargé de Cours	En poste
24	ENYEGUE A NYAM Françoise épouse BELINGA	Chargé de Cours	En poste
25	EDONGUE HERVAIS	Chargé de Cours	En poste
26	FOUEDJIO David	Chargé de Cours	En Poste
27	HONA Jacques	Chargé de Cours	En poste
28	MBINACK Clément	Chargé de Cours	En Poste
29	MBONO SAMBA Yves Christian U.	Chargé de Cours	En poste
30	NDOP Joseph	Chargé de Cours	En poste
31	OBOUNOU Marcel	Chargé de Cours	<i>Dir.acad/Univ.Int.Etat Cam-Congo</i>
32	SIMO Elie	Chargé de Cours	En poste
33	TABI Conrad Bertrand	Chargé de Cours	En poste
34	TCHOFFO Fidèle	Chargé de Cours	En poste
35	VONDOU DERBETINI Appolinaire	Chargé de Cours	En Poste
36	WAKATA née BEYA Annie	Chargé de Cours	<i>Chef Serv. MINESUP</i>
37	WOULACHE Rosalie Laure	Chargé de Cours	En poste
38	ABDOURAHIMI	Assistant	En Poste
39	CHAMANI Roméo	Assistant	En Poste
40	MELI'I Jorelle Larissa	Assistant	En Poste
41	MVOGO Alain	Assistant	En Poste

10- DEPARTEMENT DE SCIENCES DE LA TERRE (S.T.) (44)

1	NDJIGUI Paul-Désiré	Professeur	Chef de Département
2	NZENTI Jean-Paul	Professeur	En poste
3	BITOM Dieudonné Lucien	Professeur	Doyen FASA/ U Dschang

4	FOUATEU Rose épouse YONGUE	Maître de Conférences	En poste
5	KAMGANG Pierre	Maître de Conférences	En poste
6	MEDJO EKO Robert	Maître de Conférences	Conseiller Technique/UYII
7	MOUNDI Amidou	Maître de Conférences	CT/MINMIDT
8	NDAM NGOUPAYOU Jules-Remy	Maître de Conférences	En poste
9	NGOS III Simon	Maître de Conférences	D.A.A.C./UM
10	NJILAH Isaac KONFOR	Maître de Conférences	En poste
11	NKOUMBOU Charles	Maître de Conférences	En poste
12	TEMDJIM Robert	Maître de Conférences	En poste
13	YENE ATANGANA Joseph Q.	Maître de Conférences	Chef de Div/ MINTP
14	ABOSSOLO née ANGUE Monique	Chargé de Cours	Chef DAASR FS/UYI
15	BEKOA Etienne	Chargé de Cours	En poste
16	BISSO Dieudonné	Chargé de Cours	Directeur Projet Barage Memve'ele
17	EKOMANE Emile	Chargé de Cours	En poste
18	ESSONO Jean	Chargé de Cours	En poste
19	EYONG John TAKEM	Chargé de Cours	En poste
20	FUH Calistus Gentry	Chargé de Cours	SG D'ETAT /MINMIDT
21	GANNO Sylvestre	Chargé de Cours	En poste
22	GHOGOMU Richard TANWI	Chargé de Cours	Chef de Dépt IMIP/Maroua
23	LAMILLEN BILLA Daniel	Chargé de Cours	En poste
24	MBIDA YEM	Chargé de Cours	En poste
25	MINYEM Dieudonné	Chargé de Cours	Chef de Dépt IMIP/Maroua
26	MOUAFO Lucas	Chargé de Cours	En poste
27	NGO BELNOUN Rose Noël	Chargé de Cours	En poste
28	NGO BIDJECK Louise Marie	Chargé de Cours	En poste
29	NGUEUTCHOUA Gabriel	Chargé de Cours	CEA MINRESI
30	NJOM Bernard de Lattre	Chargé de Cours	En poste
31	NYECK Bruno	Chargé de Cours	En poste
32	ONANA Vincent	Chargé de Cours	En poste
33	TCHAKOUNTE Jacqueline ép. NUMBEM	Chargé de cours	CEA MINRESI
34	TCHOUANKOUE Jean-Pierre	Chargé de Cours	En poste
35	ZO'O ZAME Philémon	Chargé de Cours	DG ART
36	TEMGA Jean Pierre	Chargé de Cours	En poste
37	ANABA ONANA Achille Basile	Assistant	En Poste
38	BINELI BETSI Thierry Olivier	Assistant	En Poste
39	METANG Victor	Assistant	En poste
40	NOMO NEGUE Emmanuel	Assistant	En poste
41	SABABA Elisé	Assistant	En Poste
42	TCHAPTCHET TCHATO De Pesquidoux I	Assistant	En poste
43	TEHNA Nathanaël	Assistant	CS/ MINMIDT

DEDICACES

A Mon Seigneur et Sauveur JESUS CHRIST

A Mon feu père KINYOK Pascal

A Toute la famille KINYOK

REMERCIEMENTS

Je tiens à exprimer ma gratitude vis-à-vis du **Professeur Dieudonné Emmanuel PEGNYEMB**, mon encadreur, celui qui m'a initié à la recherche. Son soutien multiforme et ses encouragements pendant ce dur labeur ont été pour moi d'un grand secours.

Je remercie le **Professeur Beiban Luc SONDEGAM** qui a codirigé se travail pour ses encouragements et ses conseils.

Je remercie également le **Professeur Jan H. Van der WESTHUISEN** de regretté mémoire pour m'avoir accueilli dans son unité de recherche du département de chimie, Université de Free State(UFS), Bloemfontein, Afrique du Sud afin de pouvoir achever mes travaux.

Je remercie le **Professeur Nicolas Gabriel ANDJIGA**, Directeur de l'ENS de Yaoundé pour sa diligence et ses précieux conseils.

Je remercie le **Professeur Augustin E. NKENGFACK**, Chef de département de Chimie Organique, Faculté des Sciences, Université de Yaoundé I pour ses encouragements.

Je remercie le **Professeur Alex de Théodore ATCHADE** qui de manière permanente m'a galvanisé dans mon travail de thèse.

Je remercie le **Professeur Siméon KOUAM FOGUE** pour ses précieux conseils et sa disponibilité et ses encouragements.

Je remercie le **Professeur Joséphine NGO MBING** pour ses précieux conseils, sa disponibilité et ses encouragements.

Je remercie également tous les **ENSEIGNANTS** du département de chimie organique de la faculté des sciences et de l'Ecole Normale Supérieure de l'université de Yaoundé I qui de près ou de loin m'ont soutenu dans cette longue marche.

Je remercie le projet **YABINAPA-DAAD** pour sa contribution financière à la réalisation de se travail.

Je tiens à exprimer ma gratitude de manière spéciale aux Docteurs **Olivier NOTE, Eutrophe le Doux KAMTO** et **Zéphyrin DJIOGUE** pour leur contribution exceptionnelle pour que ce travail arrive à son terme.

Je remercie tous mes collègues de laboratoire : Docteurs **Auguste ABOUEM, Dominique NGONO, Gaétan BAYIHA, Arnaud NGONGANG, René PEMHA, Thierry NDONGO** ; Les dames **Jeanne Louise NKOT, Nathalie MBIDA, Line SIMO, Mireille BEYALA, Christiane Nana** ; les messieurs **Marius BALEMAKEN, Norbert MBABI, Eric TIAM, Fred ZOUA, Jean Noel EVINA, Luc BOULLOU, Angélique MESSI, MESSI Ambassa** et tous les autres. Trouvez ici l'expression de ma profonde gratitude pour tout le soutien et les encouragements.

Je remercie tous mes collègues **ASSISTANTS** de l'Ecole Normale Supérieure de Yaoundé dont je suis le représentant et en particulier : **Guy Hector FEINDOUNG, Josian MAHO, Anne Justine ETINDELE, Victor LOUMGAN, Christelle TALLA, Patrick MVE.**

Je remercie tous les collègues « **SOLIDAIRES** ».

Je remercie également les Docteurs **Suzan BONNET, Anke WILHELM MOUTON** et **ANWAR** pour le suivi quotidien de mes travaux à l'UFS, Bloemfontein ainsi que tous les autres membres du Staff.

Je remercie mes fidèles amis de très longue date : **Jean Aimé MBEY, Georges KAMGANG YOUNI, Augustin TADIE TACHE.**

Je remercie tous mes oncles, mes tantes et cousins, en particulier: **François HONBA et son épouse, Samuel ELOGA, Marie Thérèse NGO HEMLE, Pierre Rodrigue HEMLE, Pasteur Jules Francis BILONG, Mireille NGO HEMLE, Stéphanie NGO BILONG** pour tout leurs encouragements.

Je remercie les Pasteurs **Elysée ZOGO et Ben ILUKA** mes précieux conducteurs dans la foi, la **Soeur Blondine EBE**, le frère **Elias TSAMA** ainsi que tous les biens aimés en Jésus Christ pour leur soutien dans la prière.

Je remercie spécialement la Famille **KINYOK** et particulièrement ma très chère maman madame veuve **KINYOK Victorine, mes sœurs chéries Chantal KINYOK épouse**

MBALLA, Marianne KINYOK, Marcelle KINYOK, Peggy KINYOK et mes Frères Christian MATIP KINYOK, Modeste BAHIDA KINYOK pour votre confiance sans cesse renouvelée à ma modeste personne et pour tout le précieux soutien. « **L'union fait la force** »

Je remercie ma charmante épouse **Nadine Joelle DJOMENI KAMENI** et nos sept enfants **Pascal, Moise, Michel, Mc Jesus II, Marie victoire, Metuschela et Abigaël KINYOK.** Votre présence me donne continuellement l'envie de travailler sans relâche.

Je remercie **tous ceux** qui de près ou de loin m'ont soutenu dans ce travail dont je n'ai pas cité les noms. Trouvez ici mon inébranlable gratitude.

Table de matières

Liste des enseignants.....	i
Dédicaces	ix
Remerciements.....	x
Table de matières.....	xiii
Abréviations.....	xvii
Liste des figures.....	xix
Liste des tableaux.....	xxiv
Résumé.....	xxv
Abstract.....	xxvii
Introduction générale.....	1
Problématique.....	4
Objectif général.....	4
Objectifs spécifiques.....	4
Chapitre I : Revue de la littérature.....	5
I– APERCU BOTANIQUE DES LEGUMINEUSES.....	6
I – 1 – Présentation de <i>Newtonia griffoniana</i> (Mimosoïdées).....	7
I – 1 – 1 – Les Mimosoïdées	7
I – 1 – 1 – 1 – Position systématique.....	7
I – 1 – 1 – 2 – Caractéristique botanique des Mimosoïdées.....	7
I – 1 – 1 – 3 – Usages traditionnels des Mimosoïdées.....	7
I – 1 – 2 – Le genre <i>Newtonia</i>	8
I – 1 – 3 – <i>Newtonia griffoniana</i>	9
I – 1 – 3 – 1 – Position systématique.....	9
I – 1 – 3 – 2 – Description botanique.....	10
I – 1 – 3 – 3 – Répartition géographique de <i>Newtonia griffoniana</i> au Cameroun.....	10
I – 1 – 3 – 4 – Intérêt ethnopharmacologique de <i>Newtonia griffoniana</i>	10
I – 1 – 4 – Travaux chimiques antérieurs dans les Mimosoïdées.....	11
I – 2 – Présentation d’<i>Anthonotha macrophylla</i> (Césalpinioïdées).....	20
I – 2 – 1 – Les Césalpinioïdées.....	20
I – 2 – 1 – 1 – Position systématique.....	20
I – 2 – 1 – 2 – Caractéristiques botaniques des Césalpinioïdées.....	20

I – 2 – 1 – 3 – Usages traditionnels des Césalpinioïdées.....	20
I – 2 – 2 – Le genre <i>Anthonota</i>	21
I – 2 – 3 – <i>Anthonota macrophylla</i> ou <i>macrolobium macrophyllum</i>	21
I – 2 – 3 – 1 – Position systematique.....	21
I – 2 – 3 – 2 – Description botanique	23
I – 2 – 3 – 3 – Répartition géographique au Cameroun.....	24
I – 2 – 3 – 4 – Intérêt ethnopharmacologique de <i>Anthonota macrophylla</i>	24
I – 2 – 4 – Travaux chimiques antérieurs dans les Césalpinioïdées.....	24
I – 3 – Présentation de <i>Desmodium adscendens</i> (Papilionoïdées).....	31
I – 3 – 1 – Les Papilionoïdées.....	31
I – 3 – 1 – 1 – Position systématique.....	31
I – 3 – 1 – 2 – Caractéristiques botaniques des Papilionoïdées.....	31
I – 3 – 1 – 3 – Usage traditionnel des Papilionoïdées.....	31
I – 3 – 2 – Le genre <i>Desmodium</i>	32
I – 3 – 3 – <i>Desmodium adscendens</i>	33
I – 3 – 3 – 1 – Position systématique.....	33
I – 3 – 3 – 2 – Description botanique.....	33
I – 3 – 3 – 3 – Répartition géographique au Cameroun.....	34
I – 3 – 3 – 4 – Intérêt ethno pharmacologique de <i>Desmodium adscendens</i>	34
I – 3 – 4 – Travaux chimiques antérieurs sur le genre <i>Desmodium</i>	35
I – 4 – I – 4 – Conclusion sur l'étude phytochimique des légumineuses.....	37
I – 5 – Aperçu sur l'Anxiété	38
I – 5 – 1 – Définition, causes et symptômes.....	38
I – 5 – 2 – Les conséquences.....	38
I – 5 – 3 – Les traitements conventionnels.....	38
I – 5 – 3 – 1 – Les médicaments anxiolytiques.....	38
I – 5 – 3 – 2 – Mécanisme d'action des anxiolytiques.....	38
I – 5 – 3 – 3 – Différents types de médicaments anxiolytiques.....	39
I – 5 – 4 – Les anxiolytiques dérivés des plantes.....	40
Chapitre II : Résultats et Discussions.....	42
II–1– Etude phytochimique de <i>Newtonia griffoniana</i>.....	43
II–1–1– Extraction et isolement.....	43
II–1–2– Caractérisation des composés.....	45

II-1-2-1- Détermination de la structure MJ₃	45
II-1-2-2- Détermination de la structure MJ₁	53
II-1-2-3- Détermination de la structure MJ₆	59
II-1-2-4 – Identification de la structure MJ₂	68
II-1-2-5- Identification de la structure MJ₅	72
II-1-2-6- Identification de la structure MJ₄	78
II-2- Etude phytochimique d’<i>Anthonotha macrophylla</i>	84
II-2-1- Extraction et purification.....	84
II-2-2- Caractérisation des composés.....	86
II-2-2-1- Détermination de la structure AK₇	86
II-2-2-2- Détermination de la structure AK₁	93
II-2-2-3 – Identification de la structure AK₈	99
II-2-2-4 – Identification de la structure AK₂	105
II-2-2-5 – Identification de la structure AK₅	111
II-2-2-6 – Identification de la structure AK₄	114
II-2-2-7 – Identification de la structure AK₃	118
II-3- Etude phytochimique <i>Desmodium adscendens</i>	121
II-3-1- Extraction et isolement	121
II-3-2- Caractérisation des composés.....	123
II-3-2-1- Détermination de la structure JD₄	123
II-3-2-2 – Détermination de la structure JD₃	131
II-3-2-3 – Identification de la structure JD₂	136
II-3-2-4- Identification de la structure JD₅	138
II-4- Conclusion sur la phytochimie des plantes étudiées	141
II-5- Activité anxiolytique de <i>N.griffoniana</i> et du Newtonoate (MJ₃)	143
II-5-1- Effet de l’extrait au méthanol de <i>N. griffoniana</i> sur les indicateurs d’anxiété dans le test EPM	144
II-5-2- Effet du Newtonoate (MJ₃) sur les indicateurs d’anxiété dans le test EPM	145
Conclusion et Perspectives.....	148
Chapitre III : Partie expérimentale.....	152
III-1- Etude phytochimique.....	153
III-1-1- Généralités	153

III-1-2- Matériel végétal	154
III-1-3- Extraction et isolement des composés de <i>N. griffoniana</i>	154
III-1-4-Extraction et isolement des composés de <i>A. macrophylla</i>	154
III-1-5- Extraction et isolement des composés de <i>D.adscendens</i>	155
III-2- Méthode biologique.....	155
III-3- Caractéristiques physico-chimique des composés isolés.....	157
Bibliographie.....	161
Publication extraite de la thèse.....	179

ABREVIATIONS ET SYMBOLES

δ :	déplacement chimique
AcOEt :	Acetate d'ethyle
APCI :	Atmospheric Pressure Chemical Ionisation
CC :	Chromatographie sur Colonne
CCM :	Chromatographie sur Couche Mince
COSY :	Correlation Spectroscopy
<i>d</i> :	doublet (RMN)
<i>dd</i> :	doublet dedoublé (RMN)
DEPT :	Distorsionless Enhancement by Polarisation Transfer (RMN)
DMSO :	Dimethylsulfoxide
DMSO- d_6 :	Dimethylsulfoxide hexadeutééré
DZP :	Diazepam
EPM :	Elevated Plus Maze
ESI :	ElectroSpray Ionisation
FAB:	Fast Atom Bombardement
g:	gramme
HMBC :	Heteronuclear Multiple Bond Correlation
HSQC :	Heteronuclear Single Quantum Coherence
Hz:	Hertz
HPLC:	High performance Liquid Chromatography
HR:	High Resolution
<i>J</i> :	constante de couplage (RMN)
kg :	kilogramme
<i>m</i> :	multiplet (RMN)
m/z:	masse / charge électrique
MeOD :	Methanol deutérié
MS :	Mass Spectrometry
mg:	milligramme
NOE :	Nuclear Overhauser Effect
NOESY :	Nuclear Overhauser Enhancement Spectroscopy
ppm:	unité du δ (Parties par million)

OMS : Organisation Mondiale de la Santé
RMN : Résonance Magnétique Nucléaire
RMN ¹H : Résonance Magnétique Nucléaire du proton
RMN ¹³C : Résonance Magnétique Nucléaire du carbone
s : singulet (RMN)
t : triplet (RMN)
TMS : TetraMethylSilane
TOF : Time Of Flight

Les abréviations sont généralement sous la forme la plus utilisée dans la littérature.

LISTE DES FIGURES

Figure 1 : Repartition des Mimosoïdées d’Afrique.....	8
Figure 2 : Arbre, tronc et feuilles de <i>Newtonia griffoniana</i>	9
Figure 3 : Répartition géographique de <i>Newtonia griffoniana</i> , <i>Anthonotha macrophylla</i> et <i>Desmodium adscendens</i>	11
Figure 4 : Structure d’un alcane isolé des Mimosoïdées	12
Figure 5 : Structures de quelques alcaloïdes isolés des Mimosoïdées.....	12
Figure 6 : Structures de quelques composés phénoliques isolés des Mimosoïdées.....	13
Figure 7 : Structures des classes de flavonoïdes isolées des Mimosoïdées.....	15
Figure 8 : Structures de quelques esters d’acides gras isolés des Mimosoïdées.....	16
Figure 9 : Structures de quelques quinones isolées des Mimosoïdées.....	16
Figure 10 : Structure d’une coumarine isolée des Mimosoïdées.....	17
Figure 11 : Structures de quelques saponines isolées des Mimosoïdées.....	18
Figure 12 : Structures des stéroïdes isolés des Mimosoïdées.....	19
Figure 13 : Structures de quelques terpènes isolés des Mimosoïdées.....	20
Figure 14 : <i>Anthonotha Macrophylla</i> ou <i>macrobium macrophyllum</i>	23
Figure 15 : Structures de quelques alcaloïdes isolés des Césalpinioïdées.....	25
Figure 16 : Structures de quelques acides gras isolés des Césalpinioïdées.....	25
Figure 17 : Structures de quelques esters d’acides gras isolés des Césalpinioïdées.....	26
Figure 18 : Structures de quelques hydrates de carbones isolés des Césalpinioïdées.....	26
Figure 19 : Structures de quelques polyphénols isolés des Césalpinioïdées.....	27
Figure 20 : Structures de quelques flavonoïdes isolés des Césalpinioïdées.....	28
Figure 21 : Structures de quelques quinones isolées des Césalpinioïdées.....	29
Figure 22 : Structures de quelques terpènes isolés des Césalpinioïdées.....	30
Figure 23 : plante entière <i>Desmodium Adscendens</i>	31
Figure 24 : Structures des Flavonoïdes, Ptérocarpanes, anthraquinones et alcaloïdes isolés du genre <i>Desmodium</i>	36
Figure 25 : Structures de quelques types de composés anxiolytiques.....	39
Figure 26 : Structures de quelques composés anxiolytiques isolés des plantes.....	41
Figure 27 : Purification des composés MJ₁ , MJ₂ , MJ₃ , MJ₄ MJ₅ , MJ₆ à partir des Écorces de <i>N.griffoniana</i>	44
Figure 28.1 : Spectre de masse HR-ESI (+) de MJ₃	45
Figure 28.2 : unité erythritol de MJ₃	46

Figure 28.3 : Chaîne acyclique liée à un carbonyle de MJ₃	46
Figure 28.4 : Jonction erythritol et chaîne acyclique de MJ₃	47
Figure 28.5 : Spectre RMN H du composé MJ₃ (500 MHz, CD ₂ Cl ₂).....	48
Figure 28.6 : Spectre COSY du composé MJ₃ (CD ₂ Cl ₂).....	49
Figure 28.7 : Spectre RMN ¹³ C et DEPT 135 du composé MJ₃ (125 MHz, CD ₂ Cl ₂).....	50
Figure 28.8 : Spectre HSQC du composé MJ₃ (CD ₂ Cl ₂).....	51
Figure 28.9 : Spectre HMBC du composé MJ₃ (CD ₂ Cl ₂).....	52
Figure 29.1 : Spectre de masse HR-ESI (+) de MJ₁	53
Figure 29.2 : longue chaîne alcane substituée de MJ₁	54
Figure 29.3 : Fragment éthyle de MJ₁	54
Figure 29.4 : Jonction entre le Fragment éthyle et la chaîne alcane de MJ₁	54
Figure 29.5 : Spectre RMN H du composé MJ₁ (600 MHz, CDCl ₃).....	56
Figure 29.6 : Spectre RMN ¹³ C Jmod du composé MJ₁ (150 MHz, MeOD).....	56
Figure 29.7 : Spectre COSY du composé MJ₁ (CDCl ₃).....	57
Figure 29.8 : Spectre HSQC du composé MJ₁ (CDCl ₃).....	57
Figure 29.9 : Spectre HMBC du composé MJ₁ (CDCl ₃).....	58
Figure 30.1 : Spectre de masse HR-ESI (+) de MJ₆	59
Figure 30.2 : Epicatechine ou flavan-3-ol de MJ₆	60
Figure 30.3 : Aglycone de MJ₆	60
Figure 30.4 : Substituants de l'aglycone de MJ₆	61
Figure 30.5 : Jonction des substituants avec l'aglycone de MJ₆	63
Figure 30.6 : Spectre RMN H du composé MJ₆ (600MHz, CDCl ₃).....	64
Figure 30.7 : Spectre RMN ¹³ C du composé MJ₆ (150MHz, CDCl ₃).....	65
Figure 30.8 : Spectre COSY du composé MJ₆	66
Figure 30.9 : Spectre HSQC du composé MJ₆	66
Figure 30.10 : Spectre HMBC du composé MJ₆	67
Figure 30.11 : Spectre NOESY du composé MJ₆	67
Figure 31.1 : Unité glycérol de MJ₂	68
Figure 31.2 : Longue chaîne acyclique de MJ₂	69
Figure 31.3 : Spectre COSY du composé MJ₂ (CDCl ₃).....	70
Figure 31.4 : Spectre HSQC du composé MJ₂ (CDCl ₃).....	70
Figure 31.5 : Spectre HMBC du composé MJ₂ (CDCl ₃).....	71
Figure 32.1 : Unité glucosyle de MJ₅	72
Figure 32.2 : Fragment aromatique de MJ₅	73

Figure 32.3 : Jonction unité glucosyle et fragment aromatique de MJ₅	73
Figure 32.4 : Spectre RMN H du composé MJ₅ (600 MHz, MeOD).....	75
Figure 32.5 : Spectre RMN ¹³ C Jmod du composé MJ₅ (150 MHz, MeOD).....	75
Figure 32.6 : Spectre COSY du composé MJ₅ (MeOD).....	76
Figure 32.7 : Spectre HSQC du composé MJ₅ (MeOD).....	76
Figure 32.8 : Spectre HMBC du composé MJ₅ (MeOD).....	77
Figure 33.1 : Unité glucosyle de MJ₄	78
Figure 33.2 : Fragment aromatique de MJ₄	79
Figure 33.3 : Jonction unité glucosyle et fragment aromatique de MJ₄	79
Figure 33.4 : Spectre RMN H du composé MJ₄ (600 MHz, MeOD).....	81
Figure 33.5 : Spectre RMN ¹³ C Jmod du composé MJ₄ (150 MHz, MeOD).....	81
Figure 33.6 : Spectre COSY du composé MJ₄ (MeOD).....	82
Figure 33.7 : Spectre HSQC du composé MJ₄ (MeOD).....	82
Figure 33.8 : Spectre HMBC du composé MJ₄ (MeOD).....	83
Figure 34 : Purification des composés AK₁ , AK₂ , AK₃ , AK₄ , AK₅ , AK₆ , AK₇ et AK₈ à partir des écorces de <i>A. macrophylla</i>	85
Figure 35.1 : Spectre de masse HR-ESI (+) d' AK₇	86
Figure 35.2 : Fragments feruloylputrescine de AK₇	87
Figure 35.3 : Fragments glucosidique et diène conjugué de AK₇	88
Figure 35.4 : Jonction des différents fragments de AK₇	88
Figure 35.5 : Spectre RMN H du composé AK₇ (600MHz,DMSO).....	90
Figure 35.6 : Spectre RMN ¹³ C du composé AK₇ (150MHz,DMSO)	90
Figure 35.7 : Spectre COSY du composé AK₇	91
Figure 35.8 : Spectre HSQC du composé AK₇	91
Figure 35.9 : Spectre HMBC du composé AK₇	92
Figure 36.1 : Spectre de masse HR-ESI (+) d' AK₁	93
Figure 36.2 : longue chaine alcane substituée de AK₁	94
Figure 36.3 : Jonction entre le méthyle et la chaine alcane de AK₁	94
Figure 36.4 : Spectre RMN H du composé AK₁ (600MHz,CDCl ₃)	96
Figure 36.5 : Spectre RMN ¹³ C du composé AK₁ (150MHz,CDCl ₃).....	96
Figure 36.6 : Spectre COSY du composé AK₁	97
Figure 36.7 : Spectre HSQC du composé AK₁	97
Figure 36.8 : Spectre HMBC du composé AK₁	98
Figure 37.1 : Fragments hexoses de AK₈	99

Figure 37.2 : Corrélations HMBC et NOESY dans AK₈	100
Figure 37.3 : Spectre RMN H du composé AK₈ (600MHz, D ₂ O).....	102
Figure 37.4 : Spectre RMN ¹³ C du composé AK₈ (150MHz, D ₂ O).....	102
Figure 37.5 : Spectre COSY du composé AK₈	103
Figure 37.6 : Spectre HSQC du composé AK₈	103
Figure 37.7 : Spectre HMBC du composé AK₈	104
Figure 37.8 : Spectre NOESY du composé AK₈	104
Figure 38.1 : Chaîne acyclique liée à un carbonyle de AK₂	105
Figure 38.2 : unité glycérol de AK₂	106
Figure 38.3 : Jonction glycérol et chaîne acyclique de AK₂	106
Figure 38.4 : Spectre RMN H du composé AK₂ (500 MHz,CD ₂ Cl ₂).....	108
Figure 38.5 : Spectre RMN ¹³ C du composé AK₂ (125 MHz,CD ₂ Cl ₂).....	108
Figure 38.6 : Spectre COSY du composé AK₂ (CD ₂ Cl ₂).....	109
Figure 38.7 : Spectre HSQC du composé AK₂ (CD ₂ Cl ₂).....	109
Figure 38.8 : Spectre HMBC du composé AK₂ (CD ₂ Cl ₂).....	108
Figure 39.1 : Unité glucosyle de AK₅	111
Figure 39.2 : Fragment aromatique de AK₅	112
Figure 39.3 : Spectre RMN H du composé AK₅ (600MHz, MeOD).....	113
Figure 39.4 : Spectre RMN ¹³ C du composé AK₅ (150MHz, MeOD).....	113
Figure 40.1 : Unité glucosyle de AK₄	114
Figure 40.2 : Fragment aromatique de AK₄	115
Figure 40.3 : Spectre RMN H du composé AK₄ (500MHz, MeOD).....	117
Figure 40.4 : Spectre RMN ¹³ C du composé AK₄ (125MHz,MeOD).....	117
Figure 41.1 : Spectre RMN H du composé AK₃ (500 MHz,CDCl ₃).....	120
Figure 41.2 : Spectre DEPT 135 du composé AK₃ (125 MHz, CDCl ₃)	120
Figure 42 : Purification des composés JD₁ , JD₂ , JD₃ , JD₄ , JD₅ et JD₆ à partir des écorces de <i>D. adscendens</i>	122
Figure 43.1 : Spectre de masse HR-ESI (+) de JD₄	123
Figure 43.2 : Corrélations COSY et HMBC de la chaîne acyclique insaturée liée au carbonyle de JD₄	124
Figure 43.3 : Corrélations COSY et HMBC du fragment hexane-1,2-diol de JD₄	124
Figure 43.4 : Corrélation HMBC entre la longue chaîne insaturée carbonylée et le fragment hexane-1,2-diol de JD₄	125
Figure 43.5 : Spectre RMN H du composé JD₄ (400MHz, MeOD)	127

Figure 53: Effet de l'extrait de *N.griffoniana* (Ng) et Newtonoate (MJ3) sur le nombre de head dipping des souris sur le labyrinthe en croix surélevé.....147

Figure 54 : Protocole expérimental du test du labyrinthe en croix surélevés (EPM).....156

LISTE DES TABLEAUX

Tableau 1 : Localisation géographique de <i>N.griffoniana</i> au Cameroun.....	10
Tableau 2 : Localisation géographique de <i>A.macrophylla</i> au Cameroun.....	24
Tableau 3 : Localisation géographique de <i>D.adscendens</i> au Cameroun.....	34
Tableau 4 : Composés isolés du genre <i>Desmodium</i>	35
Tableau 5 : Composés anxiolytiques isolés de différentes espèces de plantes.....	40–41
Tableau 6 : Valeurs des déplacements chimiques (^1H et ^{13}C) de MJ₃ (CD_2Cl_2).....	60
Tableau 7 : Valeurs des déplacements chimiques (^1H et ^{13}C) de MJ₁ (CDCl_3).....	67
Tableau 8.1 : Valeurs des déplacements chimiques (^1H et ^{13}C) de l'aglycone de MJ₆	72
Tableau 8.2 : Valeurs des déplacements chimiques (^1H et ^{13}C) des substituants de l'aglycone de MJ₆	73
Tableau 9 : Valeurs des déplacements chimiques (^1H et ^{13}C) de MJ₂ (CDCl_3).....	68
Tableau 10 : Valeurs des déplacements chimiques (^1H et ^{13}C) de MJ₅ (MeOD).....	72
Tableau 11 : Valeurs des déplacements chimiques (^1H et ^{13}C) de MJ₄ (MeOD).....	78
Tableau 12 : Valeurs des déplacements chimiques (^1H et ^{13}C) de AK₇ (DMSO).....	88
Tableau 13 : Valeurs des déplacements chimiques (^1H et ^{13}C) de AK₁ (CDCl_3).....	93
Tableau 14 : Valeurs des déplacements chimiques (^1H et ^{13}C) de AK₈ (D_2O).....	98
Tableau 15 : Valeurs des déplacements chimiques (^1H et ^{13}C) de AK₂ (CD_2Cl_2).....	104
Tableau 16 : Valeurs des déplacements chimiques (^1H et ^{13}C) de AK₅ (MeOD).....	110
Tableau 17 : Valeurs des déplacements chimiques (^1H et ^{13}C) de AK₄ (MeOD).....	113
Tableau 18 : Valeurs des déplacements chimiques (^1H et ^{13}C) de AK₃ (CDCl_3).....	117
Tableau 19 : Valeurs des déplacements chimiques (^1H et ^{13}C) de JD₄ (MeOD).....	123
Tableau 20 : Valeurs des déplacements chimiques (^1H et ^{13}C) de JD₃ (CDCl_3).....	129
Tableau 21 : Valeurs des déplacements chimiques RMN ^1H (400 <i>MHz</i>) et ^{13}C (100 <i>MHz</i>) de JD₂ et MN ^1H (600 <i>MHz</i>) et ^{13}C (150 <i>MHz</i>) de JD₅	136
Tableau 22 : Effets de l'extrait MeOH de Ng et de MJ₃ sur les souris dans le test du labyrinthe en croix Surélevé (EPM).....	145

Résumé

La présente étude porte sur l'isolement, la caractérisation des métabolites secondaires isolés de *Newtonia griffoniana*, *Anthonotha macrophylla* et *Desmodium adscendens* (Légumineuses) et l'évaluation de l'activité anxiolytique des extraits bruts et des composés isolés. Grâce aux différentes techniques chromatographiques (CCM, CC, HPLC), vingt composés ont été isolés. Dix-sept de ces composés ont été caractérisés à partir des techniques spectroscopiques (RMN 1D et 2D, SM) dont huit sont nouveaux.

L'extrait méthanolique de *N. griffoniana*, soumis à une chromatographie flash successive sur gel de silice avec les systèmes Hexane/CH₂Cl₂/MeOH de gradients 1/1/0 ; 0/30 /1 ; 0/10/1 ; 0/1/1; 0/0/1 a donné six composés donc un alcane (5-éthylnonane), deux isocoumarines (tri-*O*-methylnorbergenine la bergénine), deux esters d'acide gras (tétracosanoate de 2,3-dihydroxypropyle et le pentatriacontanoate de 2,3,4-trihydroxybutyle) et une flavanolignane (3-(1-méthoxy-4-pentylphényl)-7-(1-méthoxy-4-propylphényl)-5''-phényl-6''-(hydroxyméthyl)-5'',6''-dihydro[1,4]dioxino[2'',3'':3',4']flavane).

L'extrait méthanolique de *A. macrophylla* a été soumis à une chromatographie flash successive sur silice avec les systèmes Hexane/CH₂Cl₂/MeOH de gradients 1/1/0 ; 0/30 /1 ; 0/10/1 ; 0/1/1; 0/0/1. Huit composés ont été isolés dont sept entièrement caractérisés dont un alcane (7-méthyltétradécane), deux isocoumarines (tri-*O*-methylnorbergenine et la bergénine), un ester d'acide gras (heptacosanoate de 2,3-dihydroxypropyle), un alcaloïde (4-glucoside-1,1-bis(N,N'-diferuloylputrescine)buta-1,3-diène), un stérol (glucoside de β-sitostérol) et un hydrate de carbone α-D-glucopyranosyl (1→2')-β-D-sorbopyranoside.

L'extrait méthanolique de *D. adscendens* a été soumis à une chromatographie flash successive sur gel de silice avec les systèmes Hexane/CH₂Cl₂/AE/MeOH de gradients 1/1/0/0 ; 0/0 /1/0 ; 0/1/0/1 ; 0/0/0/1. Six composés ont été isolés dont quatre entièrement caractérisés : deux stérols (β-sitostérol et le stigmastérol), un acide gras (acide heneicosanoïque), un ester d'acide gras (heneicosane-7,14-diénoate de 2-hydroxydodécyle).

L'activité anxiolytique de l'extrait brut et les composés isolés de *Newtonia griffoniana* a été évaluée par le test du labyrinthe en croix surélevé (EPM). Il en ressort que l'extrait méthanolique de *Newtonia griffoniana* montre une forte activité anxiolytique et le composé responsable de cette activité est le pentatriacontanoate de 2,3,4-trihydroxybutyle appelé Newtonoate. Par conséquent le Newtonoate pourrait faire l'objet d'études pharmacologiques plus approfondies dans le domaine de la recherche d'un candidat médicament plus puissant que ceux conventionnels (benzodiazépines et antihistaminiques).

Mots clés : *Newtonia griffoniana*, *Anthonotha macrophylla*, *Desmodium adscendens*, légumineuses, Newtonoate, esters d'acide gras, activité anxiolytique.

Abstract

The present study deals with the isolation, the characterization of secondary metabolites of *Newtonia griffoniana*, *Anthonotha macrophylla* and *Desmodium adscendens* (Legumes), the evaluation of the anxiolytic activity of the crude extracts and the isolated compounds.

Using various chromatographic (TLC, DC, HPLC), twenty compounds were isolated and spectroscopic (RMN 1D and 2D, MS) techniques, seventeen compounds were characterized eight of which are new.

From the methanolic extract of *N. griffoniana*, through Vacuum liquid chromatography on silica gel with Hexane/CH₂Cl₂/MeOH increasing polarities 1/1/0 ; 0/30 /1 ; 0/10/1 ; 0/1/1; 0/0/1, six compounds were isolated: an alkane (5 - ethylnonane), two isocoumarines (tri-*O*-methylnorbergenine and bergenine), two esters of fatty acid (2,3-dihydroxypropyltetracosanoate and the 2,3,4-trihydroxybutylpentatriacontanoate) and a flavanolignan 3-(1-methoxy-4-pentylphenyl)-7-(1-methoxy-4-propylphenyl)-5''-phenyl-6''-(hydroxymethyl)-5'',6''-dihydro[1,4]dioxino [2'',3'';3',4'] flavan).

From the methanolic extract of *A. macrophylla*, through successive Vacuum liquid chromatography on silica gel with Hexane/CH₂Cl₂/MeOH increasing polarities 1/1/0 ; 0/30 /1 ; 0/10/1 ; 0/1/1; 0/0/1,eight compounds were isolated whose seven were characterized : an alkane (7-methyltétradécane), two isocoumarines (tri-*O*-methylnorbergenine and bergenine), an ester of fatty acid (2,3-dihydroxypropyl heptacosanoate), an alkaloid (4-glucoside-1,1-bis(N,N'-diferuloylputrescine)buta-1,3-diène), a sterol (glucoside of β -sitosterol) and a carbohydrate α-D-glucopyranosyl (1→2')-β-D-sorbopyranoside .

From the methanolic extract of *D.adscendens*, through successive Vacuum liquid chromatography on silica gel with Hexane/CH₂Cl₂/AE/MeOH increasing polarities 1/1/0/0 ; 0/0 /1/0 ; 0/1/0/1 ; 0/0/0/1, six compounds were isolated whose four were characterized among which two sterols (β-sitosterol and the stigmasterol), a fatty acid (heneicosanoic acid), an ester of fatty acid (2-hydroxydodecylheneicosane-7,14-dièneoate).

The anxiolytic activity of the raw extract and the isolated compounds of *Newtonia griffoniana* was evaluated by the labyrinth test in cross heightened (EPM). It was found that the methanolic extract of *Newtonia griffoniana* shows a strong anxiolytic activity and the

compound responsible for this activity is the 2,3,4-trihydroxybutylpentatriacontanoate named *Newtonoate*. Consequently the *Newtonoate* could be the subject of more thorough pharmacological studies as this molecule is a potential drug for reducing the risks associated to the long term consumption of conventional drugs (benzodiazepin and antihistaminic).

Keywords: *Newtonia griffoniana*, *Anthonotha macrophylla*, *Desmodium adscendens*, legumes, *Newtonoate*, fatty acids esters, anxiolytic activity.

INTRODUCTION GENERALE

Selon les estimations de l’OMS, dans les situations d’urgence humanitaire et les conflits jusqu’à 1 personne sur 5 souffre de dépression ou d’anxiété. Cela coûte chaque année 1000 milliards de dollars à l’économie mondiale et près de 10% de la population mondiale serait touchée. Les symptômes spécifiques de l’anxiété sont le plus souvent pris en charge à l’aide de certains médicaments comme les benzodiazépines. Ceux-ci peuvent être remplacés par les antihistaminiques souvent mieux tolérés.

Dans l’optique d’étendre les options thérapeutiques, la recherche des anxiolytiques à partir des substances naturelles possédant des propriétés thérapeutiques comparables ou supérieures à ceux conventionnels contribuerait à diminuer les effets secondaires liés à une prise prolongée des médicaments conventionnels (addiction, prise de poids, irritabilité etc...). Ainsi les galphimines extraits de *galphimia glauca* (Malpighiaceae), les terpènes extraits de *salvia lavandulaefolia* (lamiaceae) et l’acide valerenique extrait de *Valeriana officinalis* (caprifoliaceae) entre autres ont montré une activité anxiolytique importante. Le Cameroun dispose d’une grande diversité floristique à laquelle s’ajoute une tradition séculaire d’utilisation traditionnelle des plantes parmi lesquelles celles appartenant à la famille des légumineuses.

En effet, les études phytochimiques antérieures sur cette famille ont permis d’isoler les classes de composés tel que les alcaloïdes, les huiles essentielles, les flavonoïdes, les terpènes, les coumarines, les saponines, les quinols, les quinones, les xanthones et beaucoup d’autres. Parmi ces familles de métabolites, les triterpènes, les alcaloïdes, les huiles essentielles, les xanthones pour ne citer que ceux-là ont présenté des activités anxiolytiques très intéressantes. Fort de ce constat nous avons entrepris dans le cadre de la thèse de Doctorat PhD en chimie organique, l’étude phytochimique de 03 plantes utilisées en médecine traditionnelle au Cameroun appartenant à la famille des légumineuses qui sont : *Newtonia griffoniana* (Mimosaceae), *Anthonotha macrophylla* (Césalpiniaceae) et *Desmodium adscendens* (Papilionaceae).

Ce travail a été reparté en trois principaux chapitres :

- Le premier chapitre est consacré à la revue bibliographique des plantes sélectionnées pour cette étude en abordant leurs aspects botaniques, les usages en médecine traditionnelle et l’aspect phytochimique.
- Le second chapitre est consacré aux résultats et à la discussion de l’étude phytochimique de *N. griffoniana* (Mimosaceae), *A. macrophylla* (Césalpiniaceae) et *D. adscendens* (Papilionaceae). Pour chacune des plantes nous allons décrire les étapes de fractionnement et d’identification des composés isolés. Puis nous amorcerons une évaluation de l’activité anxiolytique de l’extrait au méthanol et de l’un des composés isolés de *N. griffoniana*.
- Le troisième chapitre présente le matériel et méthodes employés au cours de l’étude phytochimique et pharmacologique.

- Enfin la liste de la littérature consultée pendant la rédaction de cette thèse, les annexes portant sur les communications liées à ce travail.

✓ **Problématique**

L'anxiété est la conséquence d'un stress mal géré. En effet, le stress est l'ensemble des réponses d'un organisme soumis à des pressions ou contraintes de son environnement. Lorsque les réponses sont inadaptées voir inappropriées cela entraîne l'anxiété. Celle-ci engendre une souffrance et des dysfonctions importantes chez l'individu lorsqu'elle se manifeste avec une intensité et une durée inhabituelles face à un stimulus. Dès cet instant, l'anxiété devient pathologique et requiert un traitement à base d'anxiolytiques. Les anxiolytiques sont des composés destinés à combattre les composantes psychiques et somatiques de l'anxiété. Tout comme les somnifères, les anxiolytiques peuvent induire une dépendance en traitement prolongé d'où la nécessité d'améliorer leur efficacité. Il s'agira pour nous dans cette étude de proposer des options thérapeutiques pour lutter contre le phénomène de dépendance en retrouvant des composés susceptibles de montrer une activité anxiolytique à partir des plantes appartenant à la famille des légumineuses. Les motivations qui ont guidées cette étude phytochimique sur les espèces *N. griffoniana*, *A. macrophylla* et *D. adscendens* partent des similitudes entre le profil phytochimique des légumineuses d'une part et celui des composés isolés des plantes ayant montrées une activité anxiolytique importante d'autre part.

✓ **Objectif Principal**

Isoler et Identifier les composés anxiolytiques possédant des propriétés thérapeutiques comparables ou supérieures à ceux conventionnels qui contribueraient à diminuer les effets secondaires d'une prise prolongée des médicaments conventionnels.

✓ **Objectifs spécifiques**

- Effectuer l'étude phytochimique des extraits méthanoliques des plantes sélectionnées (*N.griffoniana*, *A.macrophylla* et *D.adscendens*) afin d'isoler leurs constituants chimiques par des techniques chromatographiques ;
- Caractériser les composés isolés par des techniques spectroscopiques ;
- Evaluer de l'activité anxiolytique des extraits et des composés isolés des différentes plantes par le test du labyrinthe en croix surélevé (EPM).

Chapitre I

REVUE DE LA LITTERATURE

I – APERCU BOTANIQUE DES LEGUMINEUSES

Les Légumineuses représentent la 3^{ème} famille de plantes dans le monde entier. Elle comprend environ 730 genres et près de 19 500 espèces (Wojciechowski et al, 2006) et constitue une entité botanique bien caractérisée, tout en présentant des formes biologiques très diversifiées. Les espèces se rencontrent dans tous les milieux (forêt, savane, lisière ...) et sous de nombreuses formes biologiques (arbres, arbustes, buissons, lianes, herbacées) (Gillon et al, 1992). Toutes ces plantes vivent en forêt dense et humide, en savane ou en steppe sahélienne. Elles se caractérisent par des feuilles spirales, des fleurs en grappes, rarement solitaires, mais surtout zygomorphes, en général pentamères. Les fruits, le plus souvent issus d'un seul carpelle, renferment des graines, dont les cotylédons sont riches en amidon. La famille des Légumineuses renferme de nombreuses espèces comestibles (fève, pois chiche, pois, soja, haricot, arachide), ornementales (lupin, genêt, robinier, glycine, etc.), fourragères (trèfle, sainfoin, luzerne, gesse). Selon les classifications, on peut considérer comme appartenant à la famille des Légumineuses les Mimosacées, les Papilionacées et les Césalpiniciacées, ou considérer ces dernières comme des sous-familles (Mimosoïdées, Papilionoïdées, Césalpinioïdées) (Lectoure, 1982).

Sur le plan écologique, les légumineuses peuvent contracter une symbiose avec une bactérie du genre *Rhizobium*, pour permettre un accès privilégié à l'azote de l'air. Les bactéries du genre *Rhizobium* possèdent une enzyme, la nitrogénase, pour fixer l'azote atmosphérique, et le transformer en NH_4^+ directement exploitable par la plante. La légumineuse va, une fois la bactérie installée dans les nodules, piéger l'oxygène à proximité de la nitrogénase de la bactérie, pour éviter une accumulation ou une élévation de pression d' O_2 . Attirées par chimiotactisme des poils absorbants des légumineuses, les bactéries vont migrer dans la racine et former des nodules très organisés. La légumineuse va émettre des molécules de type flavonoïdes pour inciter le gène du *Rhizobium* à fabriquer l'enzyme nitrogénase (on parle de conversation moléculaire entre le *Rhizobium* et la plante). Par cette symbiose, les plantes de ces familles s'affranchissent de la teneur en azote dans le sol. Ainsi ces plantes sont capables de s'adapter à des sols très pauvres, et très dégradés. Ces plantes ont donc un rôle améliorateur des sols, en plus d'un intérêt alimentaire (Chalandre, 1999).

Les espèces *Newtonia griffoniana*, *Anthothona macrophylla* et *Desmodium adscendens* qui font l'objet de notre étude appartiennent respectivement aux Mimosoïdées, Césalpinioïdées et Papilionoïdées.

I – 1 – Présentation de *newtonia griffoniana* (Mimosoïdées)

I – 1 – 1 – Les Mimosoïdées.

Les Mimosoïdées forment un vaste ensemble essentiellement tropical et subtropical regroupant environ 3200 espèces réparties en 50 à 60 genres : *Abarema*, *Acacia*, *Albizia*, *Adenantha*, *Adenopodia*, *Affonsea*, *Amblygonocarpus*, *Archidendron*, *Archidendropsis*, *Aubrevillea*, *Calliandra*, *Calliandropsis*, *Calpocalyx*, *Cedrelinga*, *Cojoba*, *Cylicodiscus*, *Desmanthus*, *Dichrostachys*, *Elephantorrhiza*, *Entada*, *Enterolobium*, *Faidherbia*, *Fillaeopsis*, *Gagnebina*, *Goldmania*, *Havardia*, *Indopiptadenia*, *Lemurodendron*, *Leucaena*, *Lysiloma*, *Marmaroxylon*, *Mimosa*, *Mimozyanthus*, *Neptunia*, *Newtonia*, *Parapiptadenia*, *Paraarchidendron*, *Paraserianthes*, *Parkia*, *Pentaclethra*, *Piptadenia*, *Pipdadeiastrum*, *Piptadeniopsis*, *Pithecellobium*, *Plathymenia*, *Prosopidastrum*, *Prosopis*, *Pseudoentada*, *Pseudoprosopis*, *Schleinitzia*, *Serianthes*, *Stryphnodendron*, *Tetrapleura*, *Wallaceodendron*, *Xerocladia*, *Xylia*, *Zapoteca*, *Zygia*¹.

I – 1 – 1 – 1 – Position systématique

La classification scientifique des angiospermes la plus récente établie selon les travaux de l'Angiosperm Phylogeny Group place les Mimosoïdées dans le clan des Eurosidées, dans l'ordre des *Fabales* et dans la famille des Fabacées ou légumineuses (APG II, 2003).

I – 1 – 1 – 2 – Caractéristique botanique des Mimosoïdées

Ce sont généralement des arbres, des lianes ligneuses ou des arbrisseaux, caractérisés par la floraison valvaire de la corolle : les pétales sont dans le bouton, étroitement juxtaposés, sans se recouvrir. Les étamines, libres ou plus ou moins longuement soudées, sont très nombreuses ou réduites à dix, cinq ou à quatre. Les fleurs, très petites, blanches, jaunes, rouges sont groupées en épis ou en glomérules denses. Sur le continent africain, les Mimosoïdées présentent une très vaste plasticité écologique puisqu'on trouve des représentants dans tous les milieux depuis les zones sahéliennes jusqu'à la forêt dense humide. Une première observation permet de reconnaître une plus grande biodiversité au sein des savanes plutôt que dans les forêts denses chez les Mimosoïdées d'Afrique et de Madagascar (Villiers, 1994). La flore d'Afrique Centrale est constituée de 81 espèces réparties dans 19 genres. Cependant les genres *Acacia*, *Albizia*, *Entada*, *Newtonia* sont les plus représentatifs en nombre d'espèces (Lebrun et Stork, 1992).

I – 1 – 1 – 3 – Usages traditionnels des Mimosoïdées

Les Mimosoïdées sont fréquemment utilisées dans les pharmacopées traditionnelles, car elles sont reconnues pour leurs effets thérapeutiques.

¹<http://www.csd.tamu.edu/FLORA/cgi/gatewayfamily?fam=leguminosae> (avril 2009)

Les racines de *Prosopis africana* et plus particulièrement celles des jeunes plantules ont une excellente action dans diverses affections urinaires ; ce sont des diurétiques ou diurétiques spécifiques (favorisant l'élimination des urates, d'oxalates, de l'urée etc..) voire diurétiques anti-inflammatoires et désinfectants (cystites, gonococcies). Les écorces de *Piptadenia africana* sont utilisées dans le traitement des différents maux de ventre, des diarrhées et des vers intestinaux. Les feuilles et les écorces sont recommandées comme anti-odontalgique. L'écorce assez fortement colorée en rouge, serait active contre les caries dentaires. Les bains de vapeur à base de racines, de même que les cataplasmes de feuilles, sont utilisés dans différentes dermatoses et parasitoses externes, les mycoses et les filarioses. La macération de feuilles de *Piptadenia africana* est réputée pour ses effets bénéfiques sur les migraines, vertiges, le cuir chevelu (la teigne par exemple), les yeux, les oreilles, les dents et la fétidité de l'haleine (Adjanohoun, 1991). Au Cameroun, les décoctions des écorces d'*Albizia coriara* sont utilisées pour traiter la folie, l'épilepsie et les maladies bactériennes internes (Focho et al, 2009).

● **Mimosoïdées**

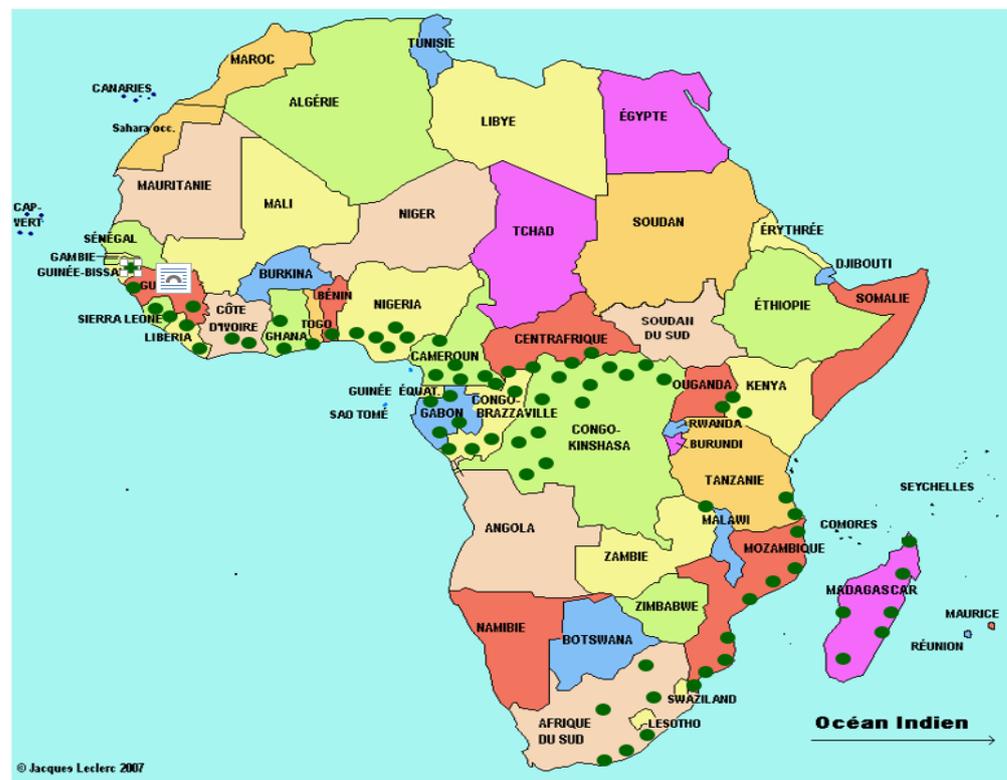


Figure 1: Repartition des Mimosoïdées d’Afrique (Villiers, 1994).

I – 1 – 2 – Le genre *Newtonia*

En Afrique le genre *Newtonia* comporte 14 espèces à savoir : *N. aubrevillei*, *N. buchananii*, *N. camerunensis*, *N. devredii*, *N. duparquetiana*, *N. elliotii*, *N. erlangeri*, *N. glandilifera*, *N. grandifolia*, *N. griffoniana*, *N. hidellbrantii*, *N. leucocarpa*, *N. paucijuga*, *N. scandens* (Villiers, 1990). On retrouve ces espèces dans le massif Camerouno-Congolais qui est le plus important d’Afrique de part sa superficie. Dans ce massif le genre *Newtonia* est plus représenté en forêt ombrophile qu’en savane. Un

nombre important d'espèces telles que *N. scandens*, *N. leucocarpa*, *N. devredii*, *N. glandilifera*, *N. grandifolia*, *N. griffoniana*. *N. leucocarpa* sont endémiques dans la zone parallèle à l'équateur tandis que *N. duparquetiana*, *N. scandens*, *N. devredii*, *N. glandilifera*, *N. grandifolia*, *N. griffoniana* sont endémiques à la bordure littorale atlantique (Van Der Maesen et al, 1996).

I – 1 – 3 – *Newtonia griffoniana*

I – 1 – 3 – 1 – Position systématique

Règne :	Végétal
Embranchement :	Magnolophytes
Classe :	Magnolopside
Ordre :	Fabales
Famille :	Leguminosae
Sous famille :	Mimosoidées
Genre :	<i>Newtonia</i>
Espèce :	<i>Newtonia griffoniana</i>



Figure 2 : Arbre, fruit et feuilles de *Newtonia griffoniana*.

I – 1 – 3 – 2 – Description botanique

Newtonia griffoniana est un arbre de grande taille sans épines ni aiguillons. Ses feuilles sont composées bipennées ; les axes foliaires sont munis d'une glande entre chaque paire de penna ; les folioles très nombreuses sont de petite taille. Les fleurs sont sessiles ou subsessiles disposées en épis ou racèmes étroits ; le calice est en forme de cloche, troqué à denticule, à segments valvaires ; les pétales sont plus ou moins soudées à la base et constituées de 10 étamines et de filets libres ; les anthères sont souvent munies au sommet d'une glande portée sur un pied court et rapidement caduque ; le carpelle forme un ovaire poilu, uniloculaire et à ovules nombreux. Les gousses sont étroitement oblongues et aplaties. Les graines sont oblongues, aplaties et entièrement entourées d'une aile étroite (J.F.Villiers, 1990).

I – 1 – 3 – 3 – Répartition géographique de *Newtonia griffoniana* au Cameroun.

Cette espèce a été recoltée dans plusieurs régions du Cameroun. La figure 13 et le tableau 1 montrent respectivement la répartition et la localisation géographique de *N.griffoniana* au Cameroun suivant les informations recoupées au niveau de l'Herbier National du Cameroun (HNC).

Tableau 1 : Localisation géographique de *N. griffoniana* au Cameroun.

Region	Localite	Station	N° Echantillon HNC
Sud	Kribi	33 Km de Kribi (route Kribi-Lolodorf)	N°1418/SRFK
		AFAN OVENG près de Kribi	N°1701/SRFK
		Forêt classée KIENKE SUD par Kribi	N°2647/SRFK
		2Km du campement forestier de NKOLBEWA route ZINGI par Kribi	N°2707/SRFK
	Mont elephant proche de Kribi	N°31312/HNC	
	Campo	Mivini a 37 Km à l'est de Campo	N°53859/HNC
Sud Ouest	Manfe	Bordure septentrionale du lac Ejackam a 37 Km de Manfe	N°37402/HNC
	Mudemba	Reserve forestière Korup proche de Mudemba	N°39710/HNC
Centre	Eseka	Route Messondo – Eseka	Non repertorié

I – 1 – 3 – 4 – Intérêt ethnopharmacologique de *Newtonia griffoniana*

N.griffoniana dont le nom vernaculaire est "male" en langue bassa, "ekop" en boulo est utilisée en médecine traditionnelle pour déboucher les trompes chez la femme, et pour lutter contre l'anxiété et les troubles de sommeil (non répertorié).



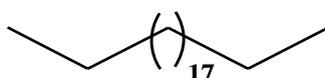
Figure 3 : Répartition géographique de *Newtonia griffoniana*, *Anthonotha macrophylla* et *Desmodium adscendens*.

I – 1 – 4 – Travaux chimiques antérieurs dans les Mimosoïdées

A ce jour aucune étude chimique conséquente n'a été effectuée sur le genre *Newtonia*. Cependant les mimosoïdées montrent des classes variées de composés tels que les alcanes, les alcaloïdes, les composés phénoliques, les flavonoïdes (flavones, isoflavones, flavonols, flavanones, chalcones, catéchines et hétérosides flavonoïdiques, les xanthones), les esters d'acide gras, les quinones, les saponines, les stéroïdes et les terpènes.

a) Les Alcanes

Ce sont des hydrocarbures saturés (constitués que d'atomes de carbone (C) et d'hydrogène (H), liés entre eux par des liaisons simples). Ainsi l'Eicosane (1) a été isolé de *Piptadenia africana* (Mbouangouere et al, 2007) (Figure 4).

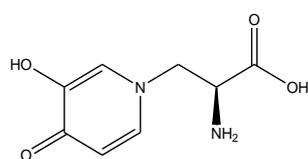


(1)

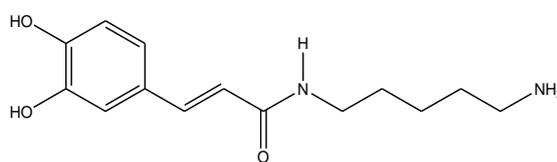
Figure 4 : Structure d'un alcane isolé des Mimosoïdées.

b) Les alcaloïdes

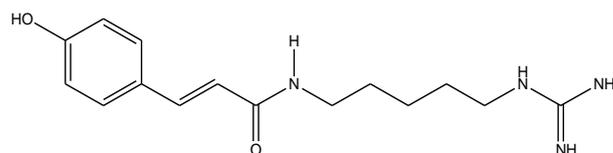
Ce sont des molécules à bases azotées, le plus souvent hétérocycliques, très majoritairement d'origine végétale. Parmi les alcaloïdes isolés dans les Mimosoïdées (Figure 5), on distingue la Mimosine (2) (*Leucaena leucocephala*) (Syed et al, 2010), Caffeoylputrescine (3) (*Pentaclethra macrophylla*) (Folefoc et al, 2004), *p*-coumarylagmatine (4) (*Schrankia leptocarpa*) (Lagnika et al 2012), [*N*-sulfonyl-L-tryptophan (5) et l'acide 3-(*N*-sulfonylindolyl)-*D*-lactique (6)] (*Entada rheedei*) (Nzowa et al, 2013).



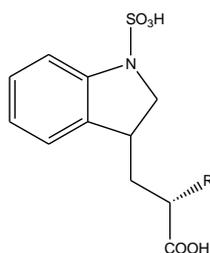
(2)



(3)



(4)



R
(5) : α -NH₂

(6) : β -OH

Figure 5 : Structures de quelques alcaloïdes isolés des Mimosoïdées.

c) Les composés phénoliques

Ce sont des substances chimiques comprenant au moins un noyau aromatique, portant un ou plusieurs groupes hydroxyles, en plus d'autres constituants. Parmi ceux isolés des Mimosoïdees, on distingue :

- des quinols et des acides phenoliques tel que : [l'acide protocatechuic (**7**) et l'acide vanillique (**8**)] (*Entada phaseolides*) (Yuqiong Dong et al, 2012), methyl 3,4,5 - trihydroxybenzoate (**9**) (*Entada abyssinica*) (Teke et al, 2011), benzene-1, 2,3-triol (**10**) (*Parkia bicolor*)(Fotie et al, 2004) et (*Entada abyssinica*) (Teke et al, 2011), acide Gallique (**11**) (*Parkia bicolor*) (Fotie et al, 2004) et (*Acacia nilotica*) (El-toumy et al, 2011), 2-hydroxy-4-methoxy-6-n-propylbenzoate (**12**) (*Pentaclethra eetveldeana*) (Byla et Herz, 1996), [2-(2,5-dihydroxyphenyl) ethanoate de methyle (**13**), Acide 2-(2,5-dihydroxyphenyl) acetique (**14**) et 5-O-β-D glucopyranosyl-acide 2-hydroxyphenylacetique (**15**)] (*Entada rheedei*) (Nzowa et al, 2013) (figure 6).
- Des diarylheptanoïdes et dérivés d'acide chlorogéniques tel que : le 5-hydroxy-1,7-bis (4-hydroxyphenyl)heptan-3-one(**16**), le 1,7-bis-(4-hydroxyphenyl)-3-hepten-5-one (**17**), l'Ethyl-1-chlorogénate (**18**), le Methyl -1-chlorogénate(**19**) et l'acide caffeique (**20**) (*Schrankia leptocarpa*) (Lagnika et al, 2012) (figure 6).

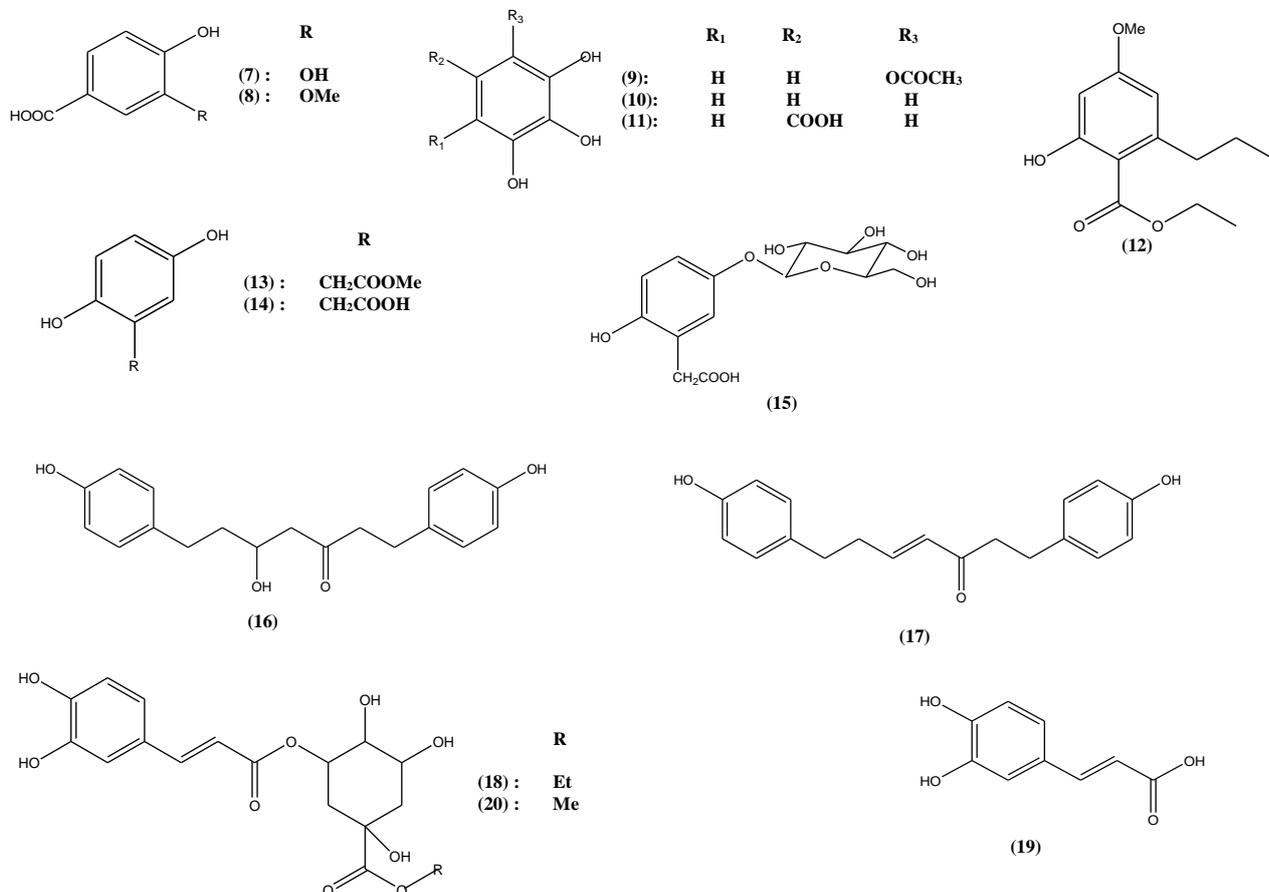


Figure 6 : Structures de quelques composés phénoliques isolés des Mimosoïdees.

d) Les flavonoïdes

Ce sont des composés partageant tous une même structure de base formée par deux cycles aromatiques reliés par trois carbones : C₆-C₃-C₆, chaîne souvent fermée en un hétérocycle oxygéné hexa- ou pentagonal. Plusieurs classes de flavonoïdes ont été isolées des mimosoïdées, on distingue :

- Les flavones tel que : le 7,8-dimethoxy-3',4'-methylenedioxyflavone (**21**), 7,2',4'-trimethoxyflavone (**22**) et flavone, 7,4'-dimethoxy-3'-hydroxyflavone (**23**) (*Albizia adorissima*) (Koteswara et al, 2002) ; (7,3',4'-tetrahydroxyflavone) (**24**) (*Parkia bicolor*) (Fotie et al, 2004) ; apigenin (**25**), (7,4'-dihydroxyflavone) (**26**), luteolin (**27**) [*Parkia bicolor*] (Fotie et al, 2004) et (*Entada phaseolides*) (Yuqiong et al, 2012)] et 3',5,5',7-tetrahydroxyflavanone (**28**) (*Entada phaseolides*) (Yuqiong et al, 2012) (figure 7) ;
- Les flavanols tel que : Epigallocatechin 3-O-(3,5-dimethyl) gallate (**29**) et Epigallocatechin 3-O-(3-methoxy-4-hydroxybenzoate) (**30**) (*Stryphnodendron adstringens*) (Palazzo et al, 1996) ; catechin (**31**) [*Acacia nilotica*] (El-toumy et al, 2011) et (*Entada phaseolides*) (Yuqiong et al, 2012)] ; catechin 7-O- gallate (**32**) (*Acacia nilotica*) (El-toumy et al, 2011) ; epicatechin (**33**), epigallocatechin (**34**), dehydrodicatchin A (**35**) (*Entada phaseolides*) (Yuqiong et al, 2012) ; (figure 7)
- Les flavanonols tel que : quercetin (**36**) [*Acacia nilotica*] (El-toumy et al, 2011) et (*Entada phaseolides*) (Yuqiong et al, 2012)] ; 4', 5,7-trihydroxy-3,6-dimethoxyflavone (**37**) (*Piptadenia stipulacea*) (Queiroz et al. 2010) ; 3,4',7-trimethylquercetin (**38**), 5-hydroxy-3,4',7-trimethoxyflavone (**39**), rhamnocitrin (**40**),4',5,7-trihydroxy-3'-methoxyflavonol (**41**), galangin (**42**) (*Entada phaseolides*) (Yuqiong et al, 2012); (figure 7)
- Les flavanones tel que : naringenin (**43**) [*Acacia nilotica*] (El-toumy et al, 2011) et (*Entada phaseolides*) (Yuqiong et al, 2012)] ; 3,3',5',5,7-pentahydroxyflavanone (**44**) , dihydrokaempferol (**45**) (*Entada phaseolides*) (Yuqiong et al, 2012) ; Rotenone (**46**) (*Entada africana*) (Sangare, 2005); (figure 7)
- Les xanthones tel que :1-hydroxy-5-methoxyxanthone (**47**) (*Pentaclethra eetveldeana*) (Byla et Herz, 1996) ;1-hydroxy-8-methyl-3,6-dimethoxyxanthone (**48**) (*Parkia bicolor*) (J. Fotie et al, 2004) ; (figure 6)
- Les hétérosides flavonoïdiques tel que : quercetin 3-O- β-glucopyranoside (**49**),quercetin 3-O-β- glucoside (2→1) glucopyranoside (**50**) , naringenin 7-O-β- glucopyranoside (**51**) chalconaringenin 4'-O-β-glucopyranoside (**52**) (*Acacia nilotica*) (El-toumy et al, 2011) ; Mauritianin (**53**), Quercetin 3-neohesperidoside (**54**) Quercetin 3-rhamnosyl-(1→2) [rhamnosyl-(1→6)-glucoside ou Manghasline (**55**) (*Schrankia leptocarpa*) (Lagnika et al, 2012) ; rutin (**56**), , 2',5,5'-trihydroxy-3,4',7-trimethoxyflavone-2'-O-β-D-glucoside (**57**) (*Entada phaseolides*) (Yuqiong et al, 2012) ; (figure 7)

- Une chalcone tel que 3-deoxysappanchalcone (**58**) (*Entada phaseolides*) (Yuqiong et al, 2012) (figure 7).

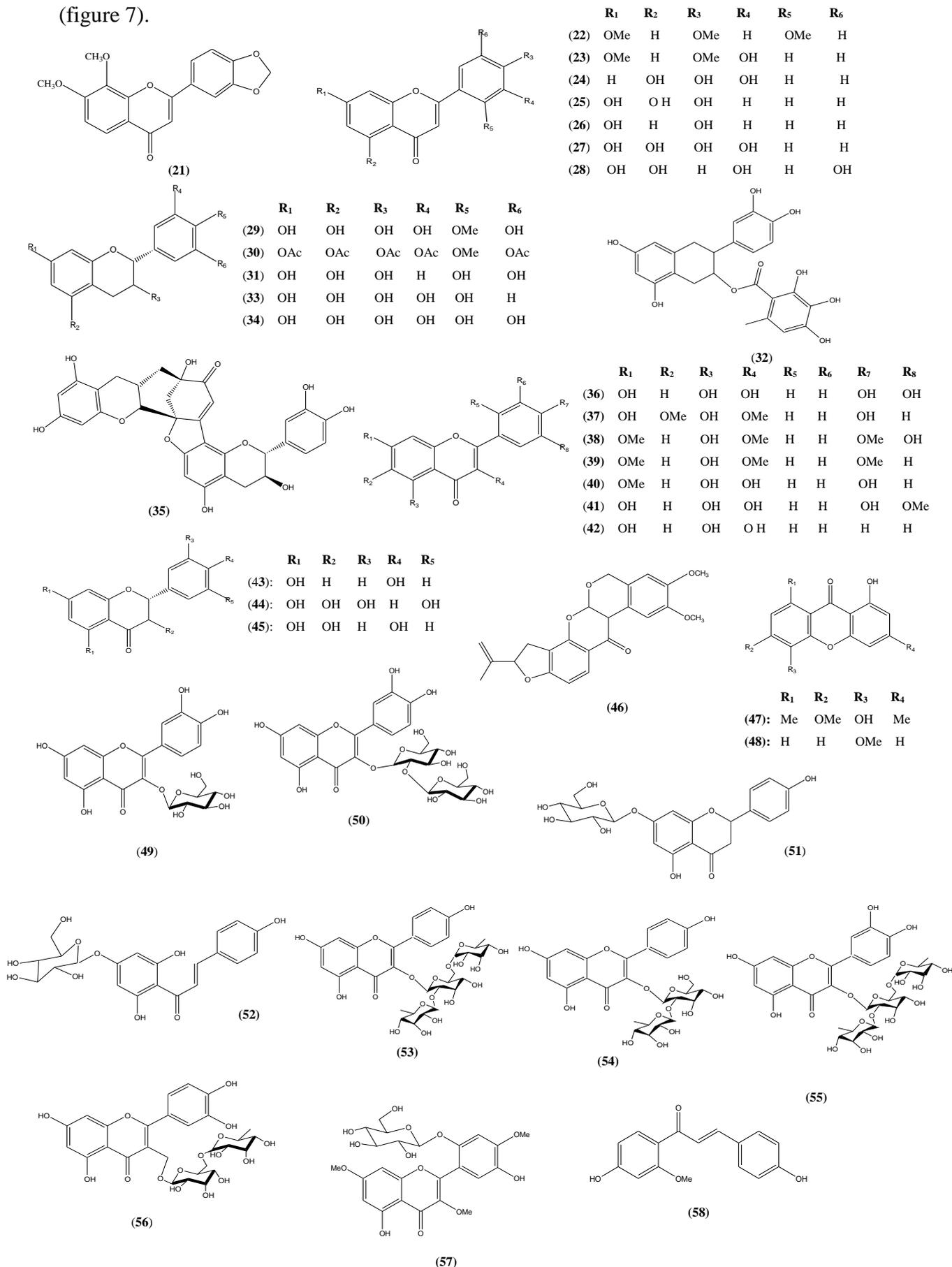


Figure 7: Structures des classes de flavonoïdes isolées des Mimosoïdées.

e) Les esters d'acide gras

Ce sont des dérivés des acides carboxyliques à chaîne aliphatique, ils résultent très généralement de l'action d'un alcool sur ces acides avec élimination d'eau. Plusieurs d'entre eux ont été isolés dans les Mimosoïdées tel que le Glyceryl monotetracosanoate (**59**) [(*Pentaclethra macrophylla*) (Folefoc et al, 2004) et (*Parkia bicolor*) (Fotie et al, 2004)]; 1-(26-hydroxyhexacosanoyl) glycerol (**60**) (*Pentaclethra eetveldeana*) (Byla et Herz, 1996) et (*Parkia bicolor*) (Fotie et al, 2004)]; Glyceryl-1-Octacosanoate (**61**) (*Parkia bicolor*) (Fotie et al, 2004); 2,3-dihydroxypropyltriacontanoate (**62**) (*Entada abyssinica*) (Teke et Lunga, 2011); Glyceryl-1-hexacosanoate (**63**) (*Piptadenia africana*) (Mbouangouere et al, 2007); 1-(26-ferulyloxyhexacosanoyl) glycerol (**64**) (*Pentaclethra eetveldeana*) (Byla et Herz, 1996); Piptadenol A(**65**), Piptadenol B (**66**) et Piptadenol C (**67**) (*Piptadenia africana*) (Mbouangouere et al, 2008) (figure 8).

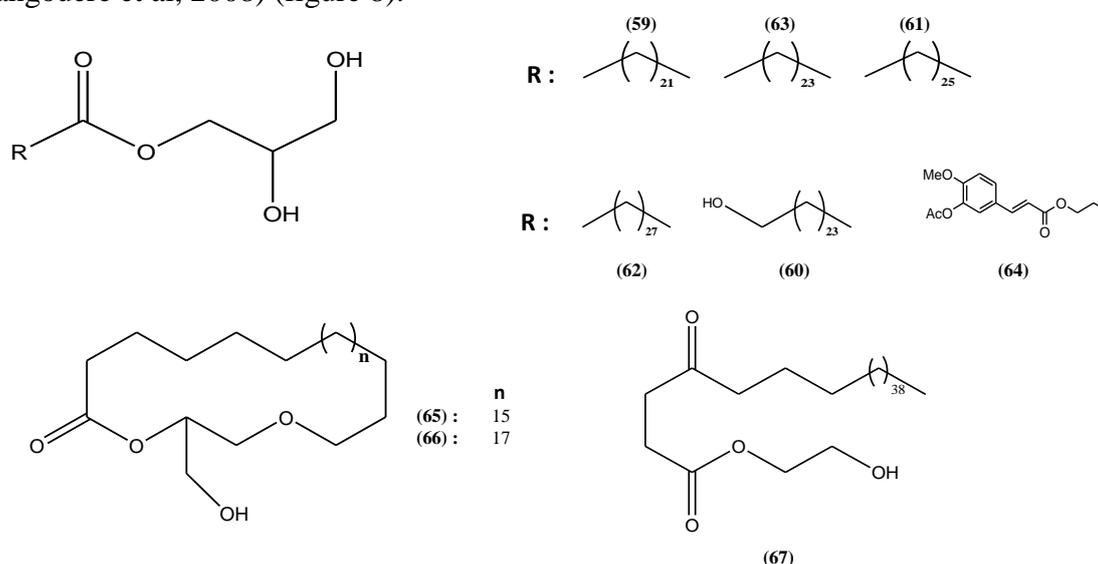


Figure 8 : Structures de quelques esters d'acides gras isolés des Mimosoïdées.

f) Les quinones

Elles constituent une série de diènes plutôt que des composés aromatiques comportant un noyau de benzène sur lequel deux atomes d'hydrogène sont remplacés par deux atomes d'oxygènes formant deux liaisons carbonyles (dicétones éthyléniques conjuguées cycliques). Ainsi le 2,6-diméthoxy-1-acétyl-1-hydroxyquinone (**68**) et le 2,6-diméthoxybenzoquinone (**69**) (*Pentaclethra eetveldeana*) (Byla and Herz., 1996) ont été isolés dans les Mimosoïdées (figure 9).

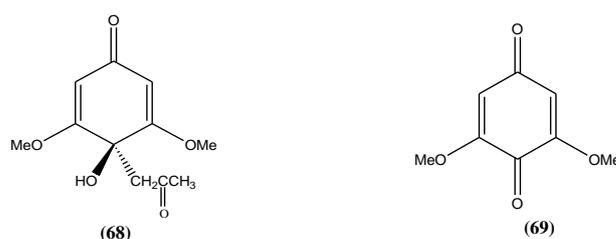
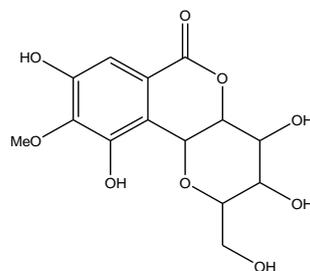


Figure 9 : Structures de quelques quinones isolées des Mimosoïdées.

g) Les coumarines

Les coumarines sont des substances naturelles organiques aromatiques connue dans la nomenclature internationale comme 2H-1-benzopyrane-2-one qui peut être considérée en première approximation, comme une lactone de l'acide 2-hydroxy-Z-cinnamique. Dans les Mimosoïdées une isocoumarine (1H-2-benzopyran-1-one ou 3,4-benzo-2-pyrone) isomère de la coumarine a été isolée : la Bergenine (**70**) (*Pentaclethra macrophylla*) (Folefoc et al, 2004) (figure 10).



(70)

Figure 10 : Structure d'une coumarine isolée des Mimosoïdées.

h) Les saponines

Les saponosides constituent un ensemble complexe chimiquement très diversifié de molécules stéroïdiques ou triterpéniques constituées d'une partie aglycone hydrophobe liée à une chaîne mono ou polysaccharide hydrophile (Oleszek, 2002). Les saponosides isolées des Mimosoïdées ont un squelette de type triterpénique tel que : l'acide 3-O- $\{\beta$ -D-glucopyranosyl (1 \rightarrow 2)- $[\alpha$ -L-arabinopyranosyl (1 \rightarrow 6)]- β -D-glucopyranosyl}-oleanolique (**71**), β -D-glucopyranosyl (1 \rightarrow 2)- β -D-glucopyranosyl 3-O- $\{\beta$ -D-glucopyranosyl (1 \rightarrow 2)- $[\alpha$ -L-arabinopyranosyl (1 \rightarrow 6)]- β -D-glucopyranosyl}-oleanolate (**72**) (*Albizia gummifera*) (Debella et al, 2000); acide 3-O- β -D-glucopyranosiduronique (1 \rightarrow 2)- β -D-glucopyranosyloxy]-machaerinique γ -lactone (**73**) acide 3 β - $\{O$ -D-glucopyranosyl-(1 \rightarrow 2)- $[\alpha$ -L-arabinopyranosyl(1 \rightarrow 6)] β -D-glucopyranosyloxy}-machaerinique γ -lactone (**74**) (*Albizia gummifera*, et *Albizia lebeck*) (Pal et al, 1995); Pithelucoside A (**75**), Pithelucoside B (**76**), Pithelucoside C (**77**), Prosapogenin-10 (**78**), Julibroside J29 (**79**), (*Pithecellobium lucidum*) (Ma et al, 2008); acide 3-O- $\{6-O-[(2E,6S)-2,6$ -dimethyl-6-hydroxyocta-2,7-dienoyl]- β -D-glucopyranosyl-(1 \rightarrow 2)- β -D-glucopyranosyl-(1 \rightarrow 3)- β -D-glucopyranosyl-(1 \rightarrow 4)- $[\beta$ -D-glucopyranosyl-(1 \rightarrow 2))- β -D-glucopyranosyl}-3,27-dihydroxyoleanolique (**80**), acide 3-O- $\{\beta$ -D-glucopyranosyl-(1 \rightarrow 2)-6-O-[(E)-feruloyl]- β -D-glucopyranosyl-(1 \rightarrow 3)- β -D-glucopyranosyl-(1 \rightarrow 4)- $[\beta$ -D-glucopyranosyl-(1 \rightarrow 2)]- β -D-glucopyranosyl}-3,27-dihydroxyoleanolique (**81**) (*Tetrapleura tetraptera*) (Note et al, 2009); grandibracteosides A (**82**), grandibracteosides B (**83**), grandibracteosides C (**84**), (*Albizia grandibracteata*) (Krief et al, 2005); 22 α -hydroxyolean-12-en-3 β -yl- β -D galactopyranoside (**85**);

24-hydroxyolean-12-en-3 β -yl- β -D-glucopyranoside **(86)** (*Cylicodiscus gabunensis*) (Mkounga *et al*, 2010) (figure 11).

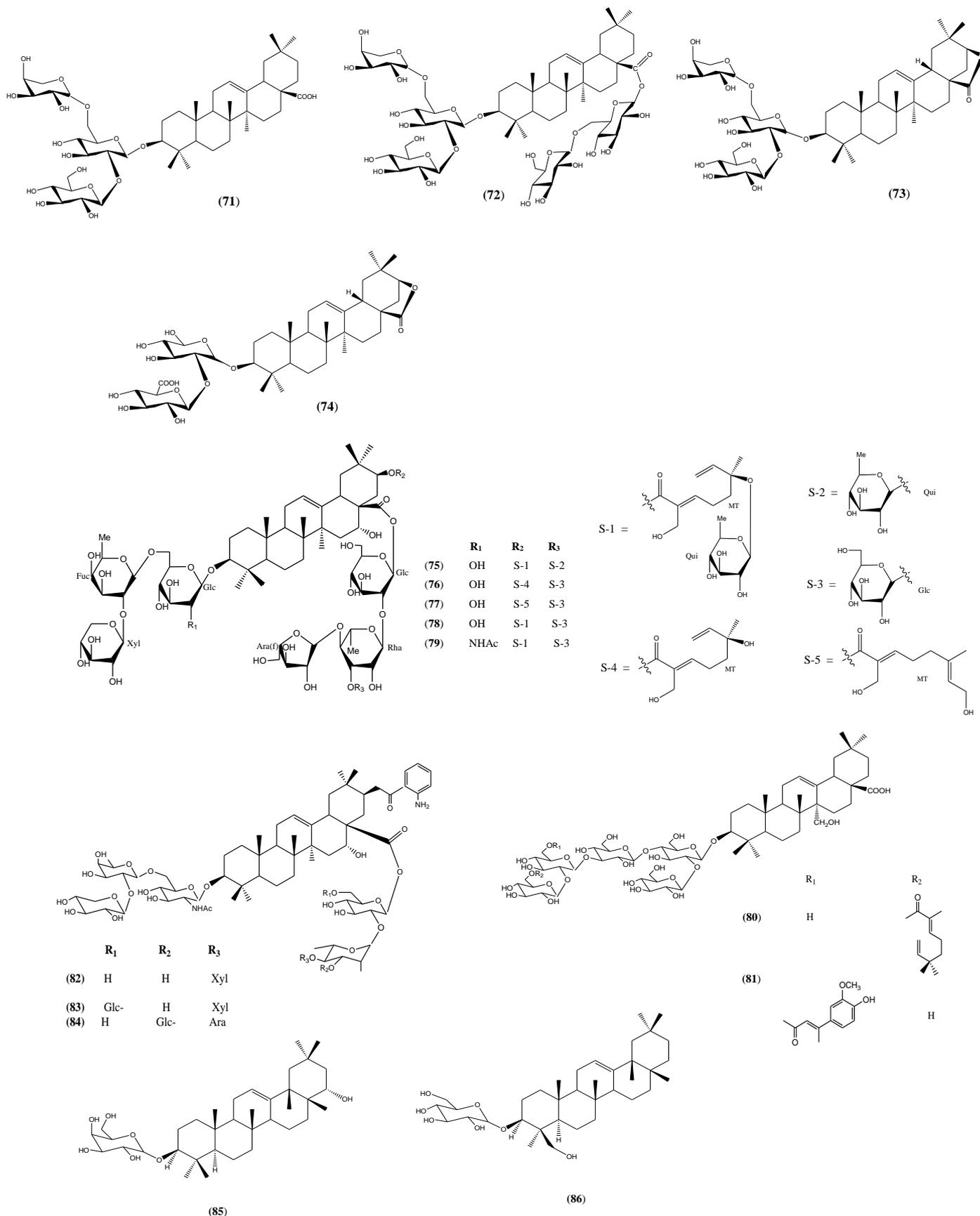


Figure 11 : Structures de quelques saponines isolées des Mimosoïdées.

i) Les stéroïdes

C'est un groupe de lipides dérivant des triterpénoïdes qui se caractérise par un noyau cyclopentanophénanthréinique (stérane) hydrophobe partiellement ou totalement hydrogéné. Quelques stéroïdes ont été isolés des Mimosoïdées en l'occurrence le 3-*O*-β-D-glucopyranosyl-β-sitosterol (**87**) (*Entada rheedei*) (Nzowa et al, 2013), le 3-*O*-β-D-glucopyranosyl-stigmasterol (**88**) (*Pentaclethra macrophylla*) (Folefoc et al,2005) et le β-sitosterol (**89**) [(*Piptadenia africana*) (Mbouangouere et al,2007) et (*Parkia bicolor*) (Fotié et al, 2004) (figure 12).

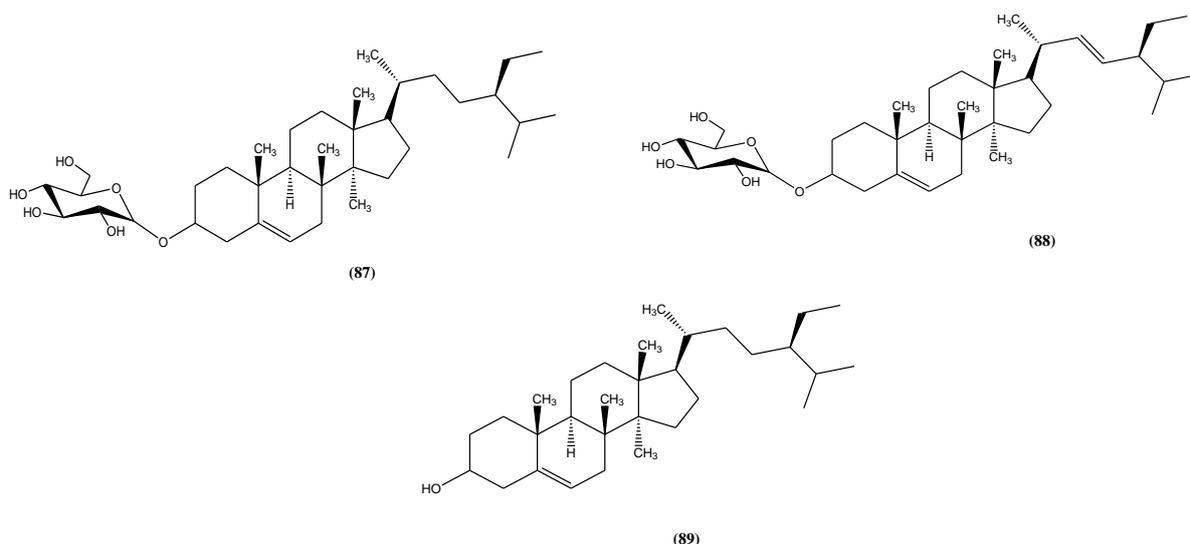


Figure 12 : Structures des stéroïdes isolés des Mimosoïdées.

j) Les terpènes

Ce sont des hydrocarbures végétaux de formule de base $(C_5H_8)_n$. En fonction du nombre n (entier) d'unités pentacarbonées (en C_5) ramifiées, on peut distinguer les monoterpènes ($n = 2$), les sesquiterpènes ($n = 3$), les diterpènes ($n = 4$), les sesquiterpènes ($n = 5$), les triterpènes ($n = 6$), les tétraterpènes ($n = 8$) et les polyterpènes ($n > 8$). La plupart d'entre eux constituent le principe odoriférant à cause de la libération des molécules très volatiles contenant 10,15, 20 atomes de carbones. Différents terpènes ont été isolés des mimosoïdées en l'occurrence l'acide A-homo-3 α -oxa-5 β -olean-12-en-3-one-28-oïque (**90**) (*Albizia gummifera*) (Debella et al, 2000), acide (5S,6R,8aR)-5-(carboxyméthyl)-3,4,4a,5,6,7,8,8a-octahydro-5,6,8a Triméthyl-naphthalénecarboxylique (**91**) (*Entada abyssinica*) (Teke et al, 2011), paucine (**92**) (*Entada africana*) (Sangare, 2005), β -amyrin-*n*-nonyl ether (**93**) (*Cylicodiscus gabunensis*) (Mkouna et al, 2010), secopentaclethrolide (**94**), secopentaclethroside (**95**) (*Pentaclethra macrophylla*) (Folefac et al, 2004), lupeol (**96**) [(*Parkia bicolor*) (Fotie et al, 2004) et (*Acacia cedilloi*) (Pech et al, 2002)], resinone ou 16β-hydroxylup-20(29)-en-3-one, (**97**) et lupenone (**98**) (*Acacia cedilloi*) (Pech et al, 2002), 3β-palmitoxy-13-β-hydroxyoleanane (**99**), acide 24-palmitoxyoleanonique (**100**) et lupeylstearyl ether (**101**) (*Pentaclethra eetveldeana*) (Byla et Herz, 1996) (Figure 13).

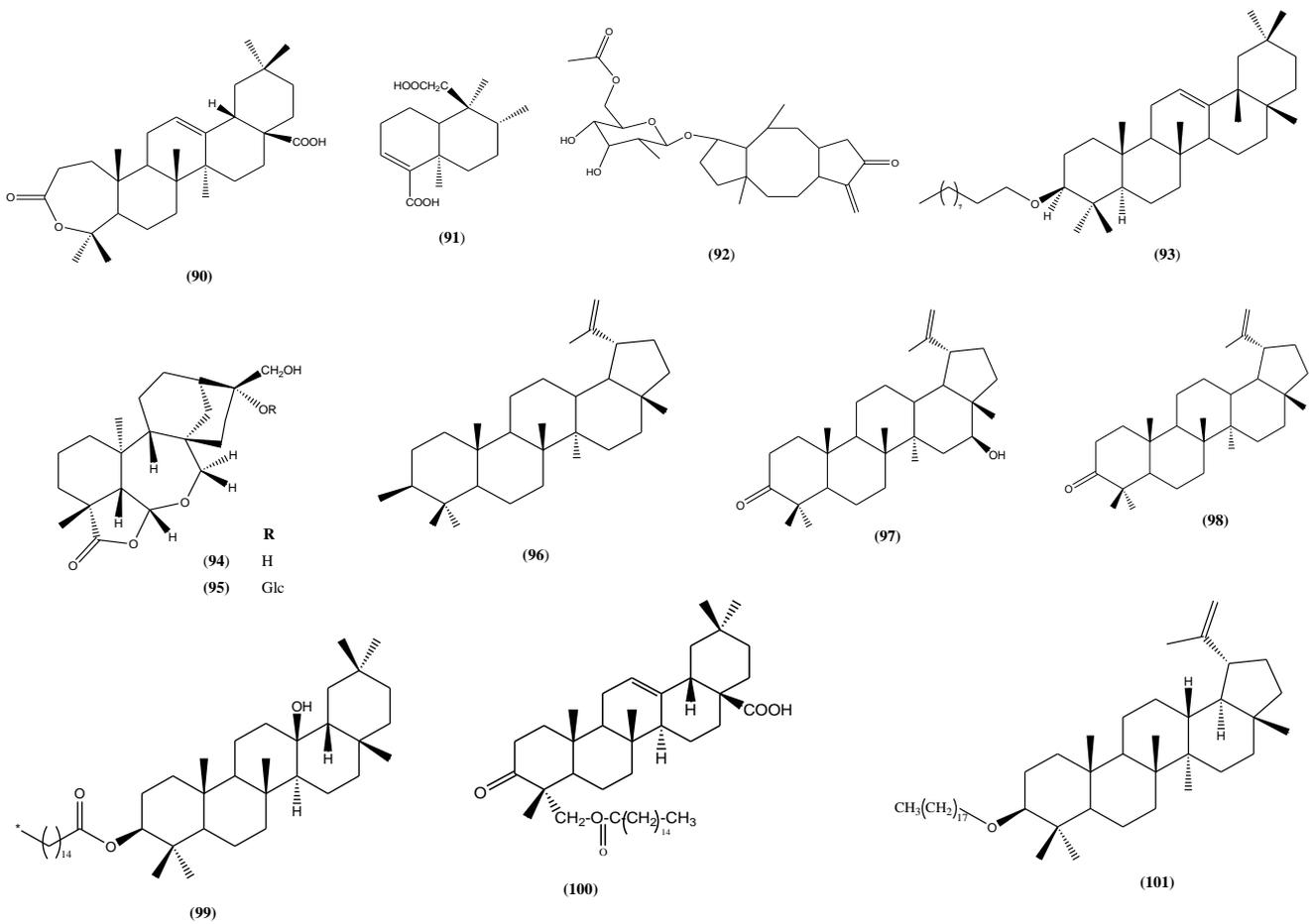


Figure 13 : Structures de quelques terpènes isolés des Mimosoïdées.

I – 2 – Présentation d’*Anthonotha macrophylla* (Césalpinioïdées)

I – 2 – 1 – Les Césalpinioïdées

Les Césalpinioïdées sont l’une des grandes divisions de la famille des Légumineuses ; elles sont surtout présentes dans les régions tropicales (très peu sont adaptées aux pays à hiver froid). On distingue 5 tribus (Césalpiniées, Amherstiées, Cassiées, Cercidées, Detariées) représentées par environ 2 500 espèces et rassemblées en 140 genres parmi lesquels : *Afzelia*, *Amherstia*, *Anthonotha*, *Bauhinia*, *Berlinia*, *Brachystegia*, *Brenierea Brownea*, *Caesalpinia*, *Cassia*, *Ceratonia*, *Cercis Chamaecrista*, *Copaifera*, *Crudia*, *Daniellia*, *Delonix*, *Detarium*, *Dialium*, *Dicymbe*, *Dimorphandra*, *Elizabetha*, *Eperua*, *Erythrophleum*, *Gilbertiodendron*, *Gleditsia*, *Guibourtia*, *Gymnocladus*, *Haematoxylon*, *Hoffmannseggia*, *Isoberlinia*, *Julbernardia*, *Labichea*, *Macrolobium*, *Microberlinia*, *Monopetalanthus*, *Parkinsonia*, *Pterolobium*, *Sclerolobium*, *Senna*, *Tachigali*, *Tamarindus*².

I – 2 – 1 – 1 – Position systématique

Les Césalpiniacées sont une famille de l'ordre des *Fabales*. Cette famille existe dans la classification classique (Cronquist, 1981). Mais selon la classification phylogénétique (APG II, 2003), cette famille est abaissée au rang de sous-famille : la sous-famille des *Césalpinioïdées*.

I – 2 – 1 – 2 – Caractéristiques botaniques des Césalpinioïdées

Les Césalpinioïdées sont des arbres, des lianes ligneuses, des arbustes et exceptionnellement des herbes vivaces à couche subligneuse. Le plan floral, remarquablement constant, est caractérisé par la disposition des pétales dans le bouton (préfloraison) : le pétale supérieur (dorsal) est recouvert sur ses deux bords par les pétales latéraux, eux-mêmes recouverts par les pétales antérieurs (imbrication ascendante, contraire à celle des tuiles d'un toit) ; les étamines sont au nombre de dix. Mais ce plan floral est, suivant les genres, sujet à de nombreuses variations (fleurs hermaphrodites ou unisexuées ; le réceptacle est plus ou moins différencié ; la corolle présente tous les degrés de zygomorphie, un avortement de pétales ou d'étamines et une gousse typique ou atypique). Les racines sont faiblement nodulées. Les expressions très diverses et hésitantes d'un plan floral caractéristique, l'absence de formes herbacées à cycle court, le faible développement des nodosités racinaires, la rareté des Césalpinioïdées hors des tropiques donnent à penser que cette sous-famille constitue le groupe des légumineuses le plus ancien et le moins spécialisé³.

I – 2 – 1 – 3 – Usages traditionnels des Césalpinioïdées

Elles sont fréquemment utilisées dans les pharmacopées traditionnelles, et leurs effets thérapeutiques sont bien connus. C'est le cas de *Cassia alata* ou *Senna alata* qui est un remède universel contre diverses dermatoses : dartre, ulcère, eczéma, mycoses, taches de Lothas, etc. La poudre des feuilles a été conseillée contre l'herpès dans de nombreux pays tropicaux. En Martinique,

²<http://www.cosmovisions.com/cesalpiniacees.htm>

³ <http://www.universalis.fr/encyclopedie/legumineuses/2-division-systematique/>

tout comme dans la plupart des pays de la Caraïbe, la décoction est réputée laxative et rafraîchissante en cas d'inflammation. La pulpe des graines fut prescrite comme purgatif. Les feuilles macérées dans l'eau sont utilisées en gargarisme contre les maux de gorge. Aux Antilles, l'infusion des feuilles, considérée comme dépurative, est destinée à nettoyer le sang. L'infusion des fleurs ou des feuilles de *Cassia alata* est proposée dans les affections hépatiques (Adjanooun, 1989). Au Cameroun les écorces de *Guibourtia tessmannii* interviennent dans le traitement du paludisme, *Berlinia polyphylla* (écorces) et *Anthonotha macrophylla* (écorces) sont utilisées pour le traitement des vers intestinaux, *Erythrophleum suaveolens* (écorces) rentre dans le traitement des filarioses, *Cassia obtusifolia* est utilisée dans le traitement des pédiculoses, *Cassia occidentalis* et *Cassia hirsuta* sont utilisées dans le traitement des fièvres d'origines diverses (CE-FAO, 1999).

I – 2 – 2 – Le genre *Anthonota*

Le genre *Anthonotha* comporte 17 espèces à savoir : *A. cladantha*, *A. ferruginea*, *A. lamprophylla*, *A. noldeae*, *A. trunciflora*, *A. wijmacampensis*, *A.xanderi*, *A. mouandzae*, *A. crassifolia*, *A. pynaertii*, *A. macrophylla*, *A. stipulacea*, *A. acuminata*, *A. sassandraensis*, *A. brieyi*, *A. fragrans*; *A.gilletii*; (White, 1979). Les 17 espèces sont presque confinées dans la région guinéo-congolaise, seuls *A. crassifolia*, *A. noldeae*, *A. pynaertii* sont aussi présentes dans la partie sud de l'Angola et de la rivière Congo. *A. noldeae*, *A. cladantha* et *A. crassifolia* ont une distribution remarquablement décousue à l'est de la tanzanie. Toutes les 17 espèces sont présentes dans le département de basse guinée dans lequel 08 espèces sont endémiques. Le Gabon compte le plus d'espèces soit 12 présentes dont 05 endémiques puis viennent le Cameroun avec 10 espèces dont 02 endemiques, le Congo et la Guinée suivent respectivement avec 08 et 04 espèces non endémiques. La plupart des espèces du genre *Anthonotha* sont limitées à une altitude de 1200 m excepté *A. noldeae* qui est à une altitude comprise entre 900 – 2000 m (Breteler, 2010).

I – 2 – 3 – *Anthonota macrophylla* ou *macrolobium macrophyllum*

I – 2 – 3 – 1 – Position systématique

Règne :	Végétal
Embranchement :	Magnolophyte
Classe :	Magnolopsides
Ordre :	Fabales
Famille :	léguminosae
Sous famille :	Césalpinioïdées
Genre :	<i>Anthonotha</i>
Espèce :	<i>Anthonotha macrophylla</i>

I – 2 – 3 – 2 – Description botanique

A. macrophylla est un arbuste ou un arbre de taille moyenne atteignant 20 m de haut, avec souvent plusieurs tiges poussant en zigzag, rarement lianescent ; le fût, souvent cylindrique atteint 60 cm de diamètre ; l'écorce externe de couleur grisâtre est légèrement fissurée et se desquame alors que l'écorce interne orange-brun ou rouge sécrète un exsudat brun ; la cime est étalée et les rameaux sont recouverts de poils courts argentés à brun pâle. Les feuilles disposées en spirale sont composées paripennées à (2–)3(–4) paires de folioles ; les stipules d'environ 2 mm de long sont ovales-elliptiques et rapidement caduques ; le pétiole a une longueur d'environ (1–)2–3(–7) cm et le rachis de 2,5–11(–16) cm de long ; les pétiolules ont (4–)5–8(–15) mm de long ; les folioles sont opposées, obovales-elliptiques, arrondies et faiblement cunéiformes à la base, acuminées à l'apex, à poils courts argentés à brun pâle au-dessous et atteignent 20(–30) cm × 7(–16) cm. Les Fleurs sont bisexuées ou fonctionnellement mâles, zygomorphes, 5-mères, à 2 bractéoles solides et elliptiques et atteignent 8 mm × 6 mm à la base ; les pédicelles ont de 3–8 mm de long ; les sépales sont ovales-triangulaires à oblongs et peuvent atteindre jusqu'à 5 mm de long; les pétales sont inégaux, un est de grande taille muni d'onglet de 3,5–4(–6) mm de long et d'un limbe profondément lobé de 3–4,5 mm × 4–6 mm et les autres sont de petites tailles environ 1–2(–5) mm de long ; les étamines sont différentes trois ont une longueur entre 10–13 mm et six étamines rudimentaires atteignent 1,5 mm de long ; l'ovaire à poils veloutés est supère et sessile et a une longueur comprise entre 3–5 mm ; le loculaire est légèrement plus long que les étamines. Le fruit de gousse oblongue, quelque fois légèrement cintrée, de (8–)15–26(–34) cm × 5–7 cm, en pointe à l'apex, à nervures exsertes, brune et presque noire, à poils courts, renferme jusqu'à 7 graines. Les graines sont elliptiques, aplaties, de 5–6 cm × 3,5–5,5 cm, à tégument fin, cassant et mat. La plantule à germination est hypogée ; l'épicotyle est poilu et a une longueur comprise entre 6–8 (Breteler, 2010).



Figure 14 : *Anthonotha Macrophylla* ou *macrolobium macrophyllum*.

I – 2 – 3 – 3 – Répartition géographique au Cameroun.

Cette espèce a été récoltée dans plusieurs régions du Cameroun (Figure 3). Le tableau 2 nous donne la localisation géographique d'*A. macrophylla* au Cameroun suivant les informations recoupées au niveau de l'Herbier National du Cameroun (HNC).

Tableau 2 : Localisation géographique d'*A. macrophylla* au Cameroun.

Région	Localité	Station	N° Echantillon HNC
Centre	Nanga Eboko	Piste forestière METEP-NGOAJOU par Nanga Eboko	N°3035/SRFK
	Yoko	Meteni vers Yoko	N°3034/SRFK
	Yaoundé	Km 15 route Yaoundé - Nkizok	N°1883/SFRK
Est	Yokadouma	Entre Weso et Medoum (K, 33 et 70 piste Yokadouma – Lomie)	N°6488/SRF/Cam
Adamaoua	Tibati	Près de Mbatibang vers Tibati	N°3027/SFRK
Littoral	Edéa	Campement des eaux et forêt de Magombe près d'Edéa	N°2882/SFRK
Sud	Mengueme		N°3036/SFRK/Cam

I – 2 – 3 – 4 – Intérêt ethnopharmacologique d'*Anthonotha macrophylla*

Les différentes parties d'*Anthonotha macrophylla* ou *Macrolobium macrophyllum* sont diversement utilisées. Au Liberia, les graines sont consommées et constituent un aliment du bétail nutritif. Au Nigéria, on extrait des feuilles un colorant de couleur rouge. Dans l'Est du Nigeria, *Anthonotha macrophylla* est planté sur les terres en jachère pour restaurer la fertilité du sol. Une fois fendus, les rameaux servent à faire des liens. Sur le plan médicinal, en Sierra Leone, l'infusion de feuilles et d'écorce d'*A. macrophylla* est consommée en cas de jaunisse. On frictionne les furoncles avec un cataplasme de feuilles pour soulager la douleur et favoriser la formation de pus. Les feuilles soignent la dysenterie et les morsures de serpents tandis que la décoction de feuilles se boit pour atténuer les maux de dents. Au Liberia, on applique un cataplasme de feuilles sur les brûlures. Au Liberia comme au Nigéria, l'exsudat d'écorce sert de liniment. En Côte d'Ivoire, la décoction d'écorce se boit pour soigner le paludisme, en Centrafrique et au Gabon comme vermifuge, et en R.D. du Congo en cas de hernie (Burkill, 1995). Au Cameroun *A. macrophylla* a plusieurs appellations en langue vernaculaire soit Enak en bulu, Ikumbogol en Bassa, Nnomesabem en Ewondo, Pokolo en Baka et est utilisée comme vermifuge (Mbita Messi, 1999).

I – 2 – 4 – Travaux chimiques antérieurs dans les Césalpinioïdées.

A ce jour aucune étude chimique n'a été effectuée sur le genre *Anthonotha*. Cependant les césalpinioïdées montrent des classes variées de composés tels que les alcaloïdes, les phénols simples, les flavonoïdes (flavones, les flavanones, les stilbènes, les chalcones et les hétérosides flavonoïdiques et les xanthonés), les acides gras, les esters d'acide gras, les hydrates de carbone, les quinones, les saponines, les stéroïdes et les terpènes.

a) Les alcaloïdes

Plusieurs d'entre eux ont été isolés des césalpinioïdées, on distingue : la cassaine (102), erythroplamine (103) (*Erythrophleum suaveolens*) (Pelletier, 2001); erythropléguine (104), erythroplamide (105), norcassamidime (106) (*Erythrophleum suaveolens*) (Manfouo et al, 2005), 4-(4-chlorobenzyl)-2,3,4,5,6,7-hexahydro-7-(2-ethoxyphenyl)benzo[h][1,4,7]triazecin-8(1H)-one (107) (*Cassia auriculata*) (M. Esakkirajan et al, 2014) (Figure 15).

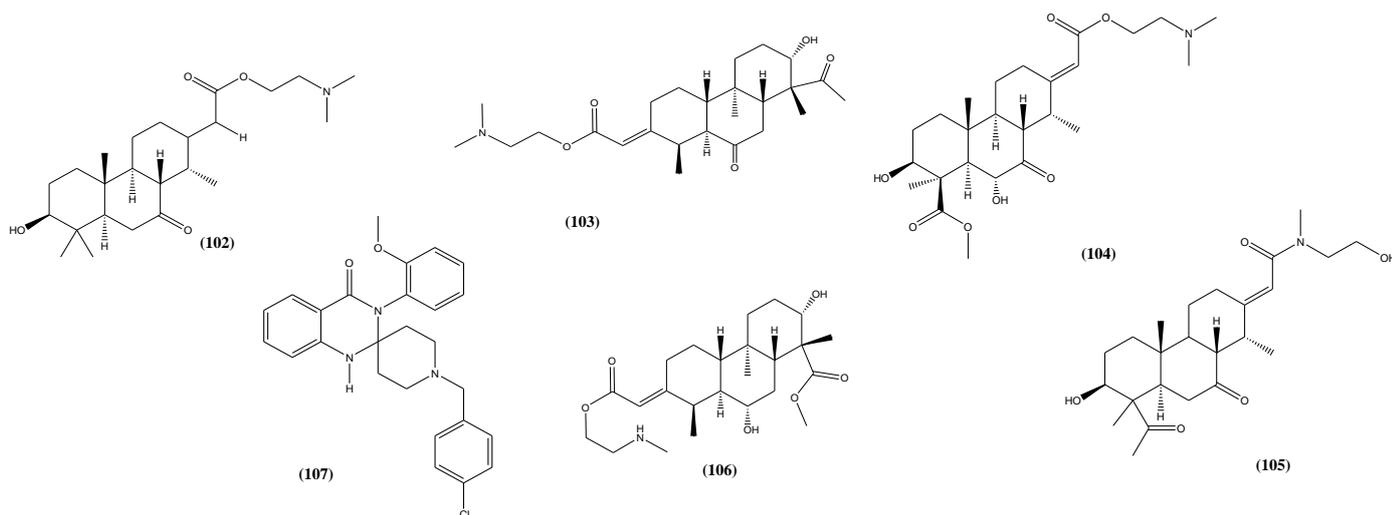


Figure 15 : Structures de quelques alcaloïdes isolés des Césalpinioïdées.

b) Les acides gras

Ce sont des acides carboxyliques à chaîne aliphatique. Ils désignent également tous les acides carboxyliques à chaîne hydrocarbonée non-cyclique. Quelques composés de cette classe ont été isolés des Césalpinioïdées tel que : l'acide docosanoïque (108), acide octadec-9-énoïque (109), acide octadeca-9,12-diénoïque (110), acide crepenyninique (111) et acide dehydrocrepenyninique (112) (*Afzelia cuanzensis*) (Vlahov, 1996); l'acide stéarique (113) et acide palmitique (114) (*Afzelia cuanzensis et Cassia alata*) (Vlahov, 1996 et Liu A et al, 2009) (Figure 16).

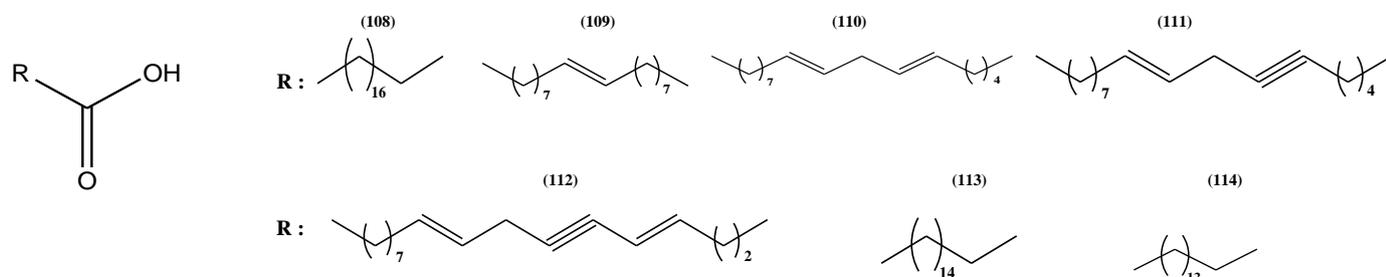


Figure 16 : Structures de quelques acides gras isolés des Césalpinioïdées.

c) Les esters d'acides gras

Quelques-uns de ces composés ont été isolés des Césalpinioïdées, on peut citer : l'heptadecanoate d'hexacosane (115) (*Cassia alata*) (Liu et al,2009) ; 1- (docosanoyl) glycerol (116), 1-(13-methyltetradecanoyl) glycerol (117), 1- (pentadecanoyl) glycerol (118) (*Berlinia confusa*) (Lasisi & Idowu ,2012); 1- (tetracosanoyl)glycerol (119) (*Berlinia confusa*) (Lasisi & Adesomoju , 2012) (figure 17).

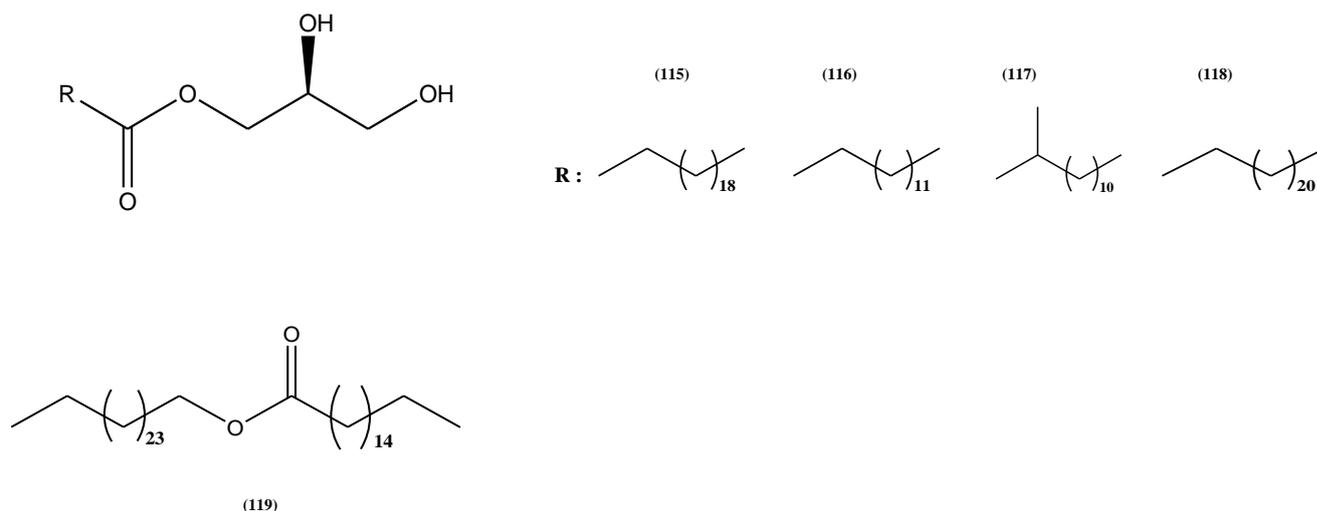


Figure 17 : Structures de quelques esters d'acides gras isolés des Césalpinioïdées.

d) Les hydrates de carbones

Ce sont des glucides, des sucres. On en trouve dans les céréales sous forme d'amidon et certains légumes. Quelques hydrates de carbone ont été isolés des césalpinioïdées tel que : le L-quinol-1,5-lactone (L-quinide) (120), D-(-)-bornesitol (121), D-pinitol (122) et *myo*-inositol (123) (*Detarium microcarpum*) (Abreu et Relva, 2002)(figure 18).

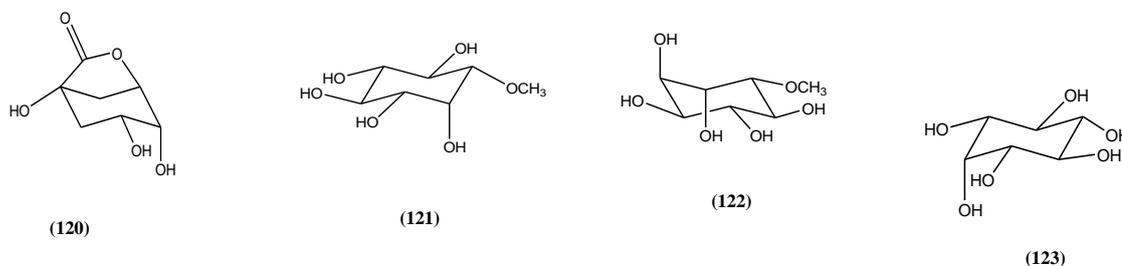


Figure 18 : Structures de quelques hydrates de carbones isolés des Césalpinioïdées.

e) Les polyphénols

Certains de ces composés ont été isolés des Césalpinioïdées parmi lesquels des phénols simples comme le (*E*)-2-ethoxyvinylphenol (**124**) et l'ethyl 4-hydroxycinnamate (**125**) (*Copaifera langsdorffii*) (Sousa et al, 2012); les stilbènes tel que la parkintin (**126**) (*Parkinsonia aculeata*) (Shaiq Ali et al 2005) ; 3,5-dimethoxy-4'-*O*-(β -rhamnopyranosyl-(1 \rightarrow 6)- β - glucopyranoside) stilbene (**127**) et pterostilbene (**128**) (*Guibourtia tessmanii*) (Fuendjiep et al, 2002) (figure 19).

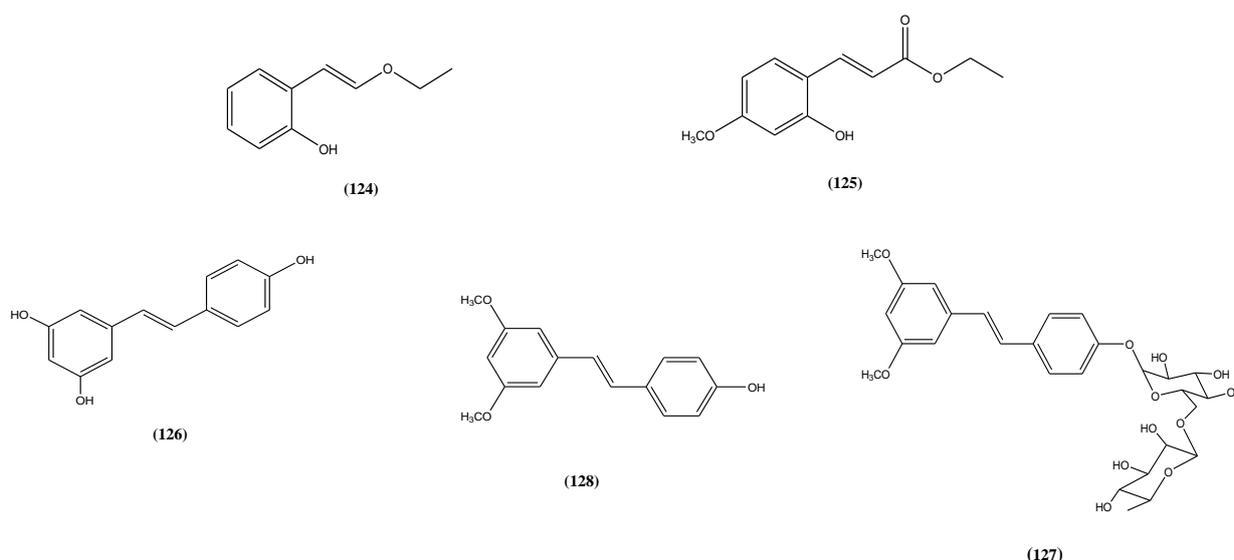


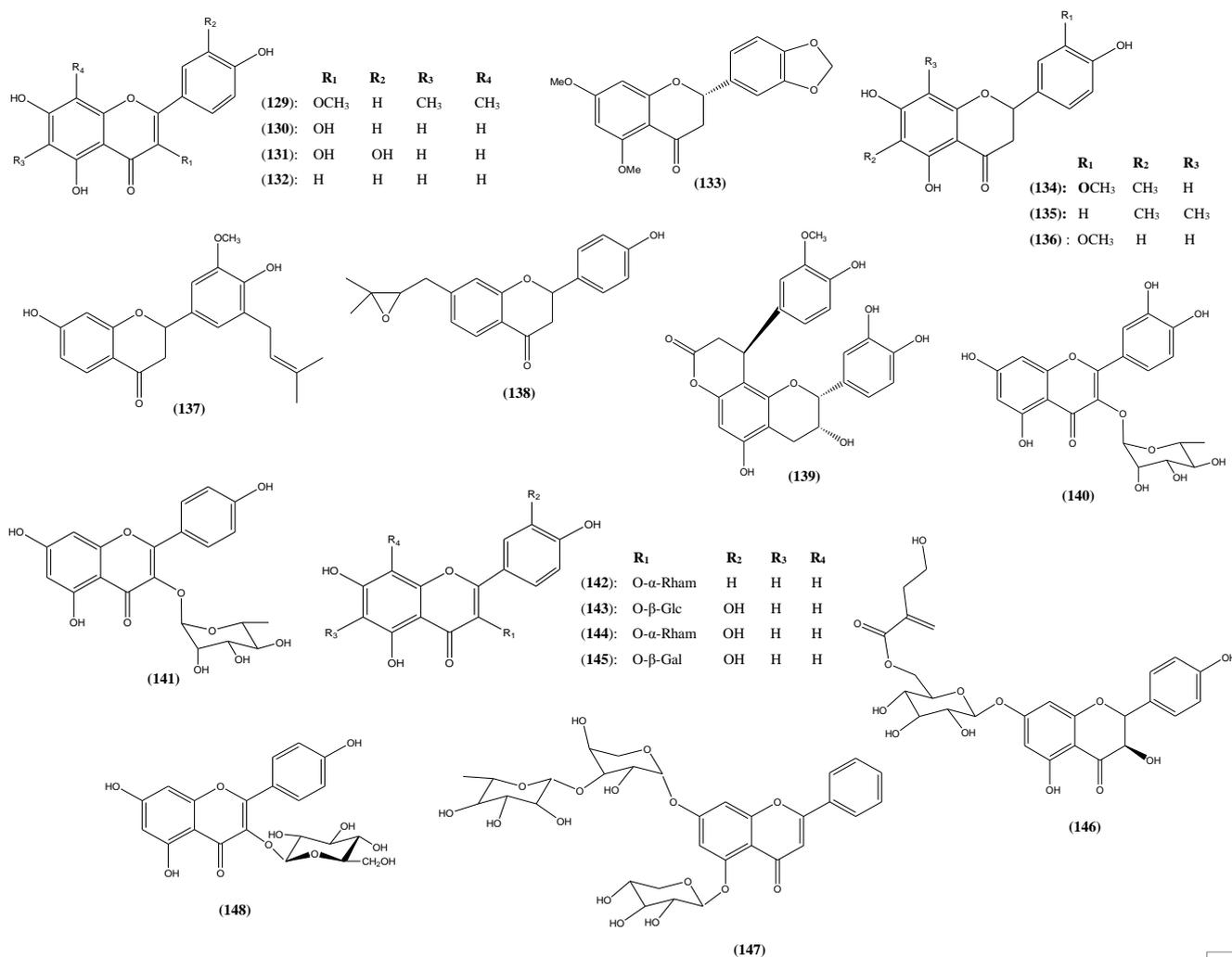
Figure 19 : Structures de quelques polyphénols isolés des Césalpinioïdées.

f) Les flavonoïdes

Plusieurs classes de flavonoïdes ont été isolées des césalpinioïdées tel que :

- Les flavones comme le 4',5,7- trihydroxy-3-methoxy-6,8-diméthylflavone (**129**), 3,4',5,7- tetrahydroxyflavone (**130**) et 3,3',4',5,7- pentahydroxyflavone (**131**) (*Bauhinia malabarica*) (Kaewamatawong et al, 2008) ; Lutéoline (**132**) (*Erythrophleum suaveolens*) (Metche, 1993) (figure 20);
- Les flavanones tel que : le 5,7- diméthoxy-3',4'-méthylènedioxyflavanone (**133**)(*Bauhinia variegata*) (Mopuru et al, 2003) ; 4',5,7- trihydroxy-3'-méthoxy-6-méthylflavanone (**134**), 4',5,7- trihydroxy-6,8-diméthylflavanone (**135**) et le 4',5,7- trihydroxy-3'-méthoxyflavanone (**136**) (*Bauhinia glauca*) (WU et al, 2009) ; 5-Deoxyabyssinin II (**137**) (*Erythrina abyssinica*) (Yenesew et al, 2004), Epicatechin-(7,8-bc)-9 β -(3-méthoxy-4-acéthoxyphényl)-dihydro-2(3H)-pyranone (**138**) (*Guibourtia coleosperma*) (Bekker et al,2006) (figure 20);
- Un flavanol : l'epicatechin-(7,8-bc)-9 β -(3-méthoxy-4-acéthoxyphényl)-dihydro-2(3H)pyranone (**139**) (*Guibourtia coleosperma*) (Bekker et al,2006) (figure 20)

- Les hétérosides de flavonoïdiques tel que : la Quercitrin (**140**), Afzelin ou kaempferol-3-*O*- α -L-rhamnopyranoside (**141**) (*Copaifera langsdorffii*) (Sousa et al, 2012) 4',5,7- trihydroxy-3-*O*- α -rhamnopyranosylflavone (**142**), 3',4',5,7- tetrahydroxy-3-*O*- β -glucopyranosylflavone (**143**), 3',4',5,7- tetrahydroxy-3-*O*- α -rhamnopyranosylflavone (**144**), 3',4',5,7- tetrahydroxy-3-*O*- β -galactopyranosylflavone (**145**) (*Bauhinia malabarica*) (Kaewamatawong et al, 2008), 2R,3R-trans-aromadendrin-7-*O*- β -D-glucopyranose-6''-(4'''-hydroxy-2'''methylènebutanoate (**146**) (*Afzelia bella*) (Orawatoyin et al, 2001) ; 5-*O*- α -xylopyranosyl-7-(*O*- α -rhamnopyranosyl(1-3)- α -xylopyranosyl) flavone (**147**) (*Cassia occidentalis*) (Yadava et Satnami, 2011) Kaempferol 3-glucopyranoside (**148**) (*Detarium microcarpum*) (Lajide et al, 1995), 2',4-dihydroxy-4'-methoxy-6'-*O*- β -glucopyranoside dihydrochalcone (**149**) (*Guibourtia tesmanii*) (Fuendjiep et al, 2002), 7-*O*- β -D-xylopyranosyl-epicatechin (**150**) >epicatechin-(4 β 8)-7-*O*- β -D-xylopyranosyl-epicatechin (**151**), (*Guibourtia coleosperma*) (Bekker et al, 2006) ; 7-hydroxy-4'-methoxy-5-(*O*- β -glucopyranosyl)dihydrochalcone (**152**), 5- hydroxy-4'-methoxy-7-(*O*- β -glucopyranosyl)dihydrochalcone (**153**) (*Bauhinia glauca*) (Wu et al,2009) (figure 20) ;
- Une dihydrochalcone tel que : 5,7- dihydroxy-4'-methoxydihydrochalcone (**154**) (Wu et al, 2009) et une chalcone : le 5-Prenylbutein (**155**) (*Erythrina abyssinica*) (Yenesew et al, 2004) (figure 20).



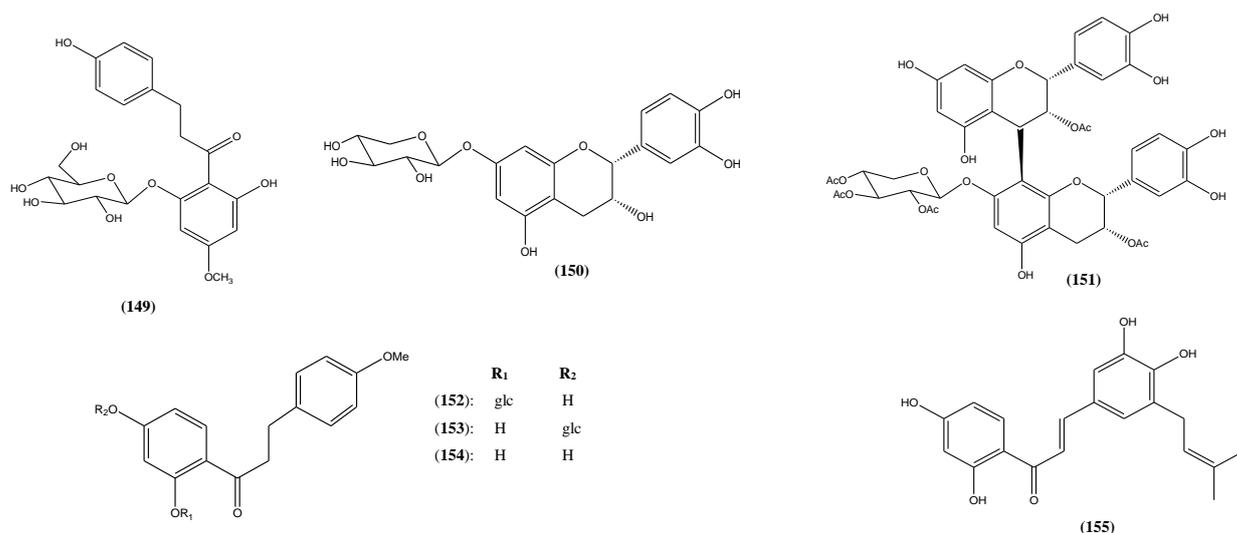


Figure 20 : Structures de quelques flavonoïdes isolés des Césalpinioïdées.

g) Les quinones

Quelques molécules de cette classe de composé ont été isolées des Césalpinioïdées tel que : le 2,7-dimethoxy-3-methyl-9,10-dihydrophenanthrene-1,4-dione (**156**) (*Bauhinia variegata*) (Zhao et al, 2005) ; acide Fistulique (**157**), Chrysophanol (**158**), Rhein (**159**), Emodin (**160**), Physcion (**161**), Sennoside (**162**) (*Cassia fistula*) (Bahorun et al 2005) (Figure 21).

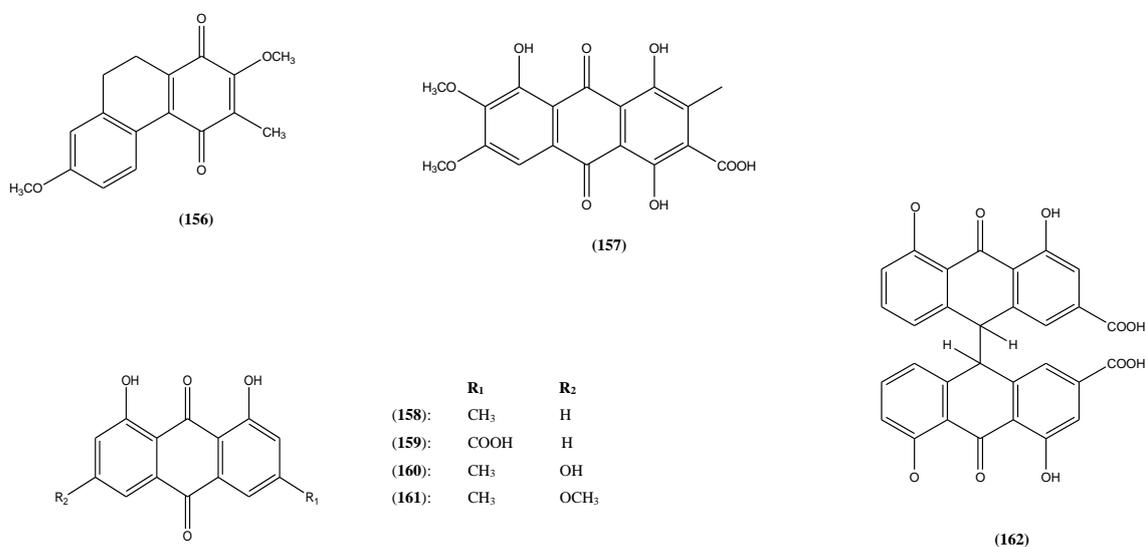


Figure 21 : Structures de quelques quinones isolées des Césalpinioïdées.

h) Les stéroïdes

Dans les Césalpinioïdées, un stéroïde a été isolé il s'agit du D- glucoside de β - sitosterol (**87**) (*Berlinia confusa*) (Lasisi & Idowu, 2012) (Figure 11).

i) Les terpènes

Plusieurs molécules de cette classe de composé ont été isolées dans les Césalpinioïdées, on peut citer : l'acide betulinique ou acide 3 β -Hydroxyl-lup-20(29)-en-2-oïque (**163**) (*Berlinia confusa*) (Lasisi & Idowu , 2012); acide Kaurenolique (**164**)[(*Copaifera langsdorffii*)(Costa-Lotufoa et al, 2002 ; Sousa et al, 2012)]; Sclareol (**165**), manool (**166**) acide copalique (**167**), acide acetoxycopalique (**168**) , acide hydroxycopalique (**169**) et acide agathique (**170**) (*Copaifera langsdorffii*) (Souza et al, 2011); *ent*-labda-7,13-dien-15-oïque acid (**171**), acide 2-hydroxy-*ent*-labda-7,13-dien-15-oïque, (**172**), caryophyllène oxide (**173**) et kaurenol (**174**) (*Copaifera langsdorffii*) (Sousa et al, 2012); acide 3,13*E*-clerodien-15-oïque (**175**) acide 4,(18)13*E*—clerodien-15-oïque (**176**) acide 18—oxo-3,13*E*—clerodien-15-oïque (**177**) acide 2—oxo-3,13*E*—clerodien-15-oïque (**178**) (*Detarium microcarpum*) (Lajide et al, 1995) (Figure 22).

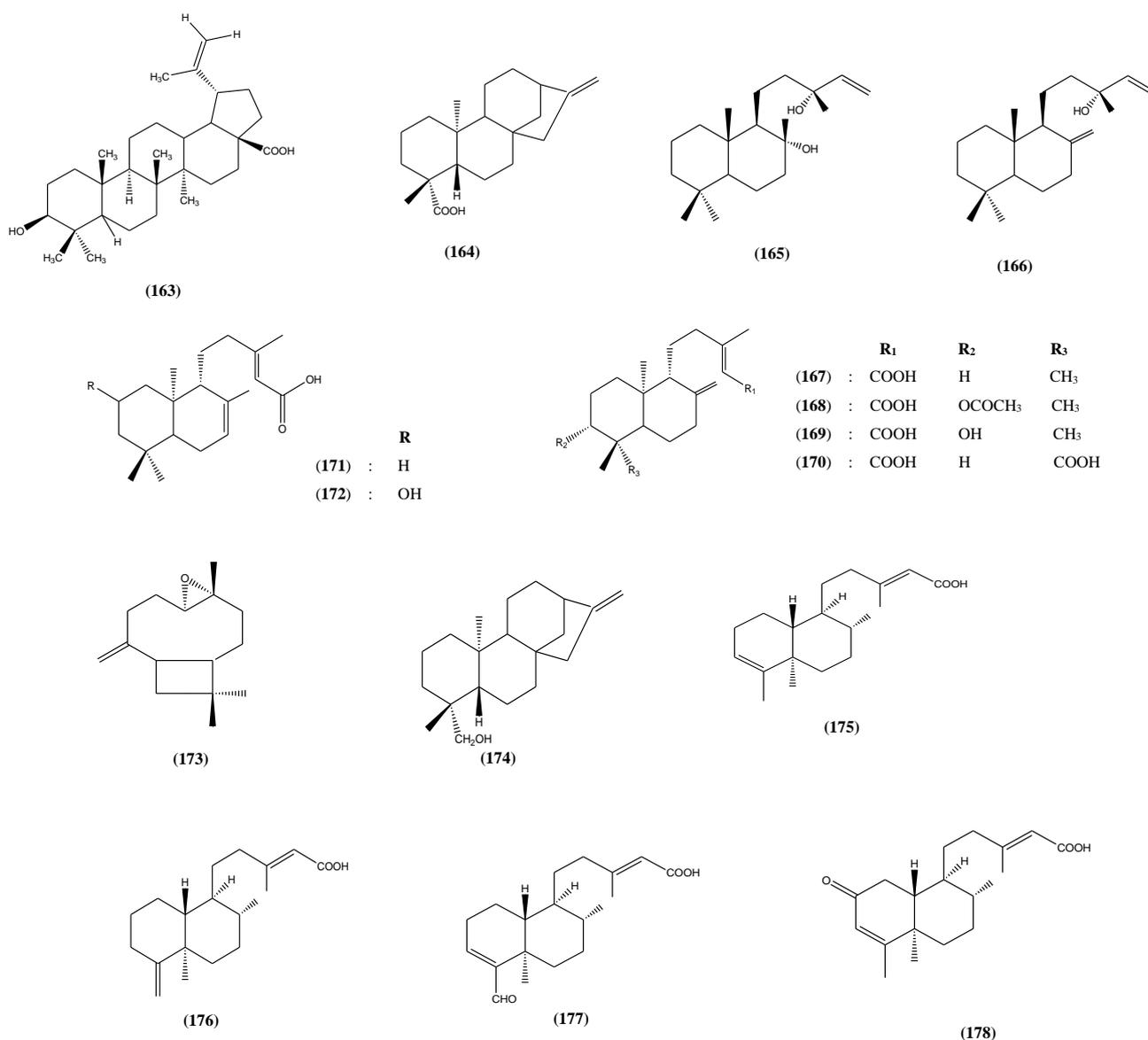


Figure 22 : Structures de quelques terpènes isolés des Césalpinioïdées.

I – 3 – Présentation de *Desmodium adscendens* (Papilionoïdées)

I – 3 – 1 – Les Papilionoïdées

La sous-famille des Papilionoïdées est certainement celle la plus étudiée, en raison du grand nombre de plantes appartenant à cette famille. Elle est particulièrement abondante en zone tempérée, mais est aussi présente dans les régions tropicales et subtropicales. Les Papilionoïdées compte entre 13600 et 14000 espèces réparties en 478 genres dont les plus importants en nombre d'espèces sont : *Adenocarpus*, *Adesmia*, *Amicia*, *Ammodendron*, *Anagyris*, *Anthyllis*, *Apios*, *Arachis*, *Argyrolobium*, *Astracantha*, *Astragalus*, *Baptisia*, *Bolusanthus*, *Bowdichia*, *Brongniartia*, *Calia*, *Callerya*, *Campylotropis*, *Canavalia*, *Castanospermum*, *Centrosema*, *Chamaecytisus*, *Chorizema*, *Cicer*, *Cladrastis*, *Clitoria*, *Collaea*, *Colutea*, *Coronilla*, *Crotalaria*, *Dalbergia*, *Dalea*, *Daviesia*, *Derris*, ***Desmodium***, *Dillwynia*, *Dipteryx*, *Erythrina*, *Eutaxia*, *Flemingia*, *Fordia*, *Galega*, *Genista*, *Gliricidia*, *Glycine*, *Gompholobium*, *Hardenbergia*, *Harpalyce*, *Hedysarum*, *Hippocrepis*, *Hovea*, *Hymenolobium*, *Indigofera*, *Inocarpus*, *Jacksonia*, *Lablab*, *Laburnum*, *Lathyrus*, *Lens*, *Lessertia*, *Lonchocarpus*, *Lotus*, *Lupinus*, *Medicago*, *Melilotus*, *Millettia*, *Mirbelia*, *Myroxyton*, *Onobrychis*, *Ononis*, *Ormocarpum*, *Oxytropis*, *Phaseolus*, *Phyllodium*, *Pisum*, *Platysepalum*, *Pterocarpus*, *Rhodopis*, *Rhynchosia*, *Robinia*, *Sesbania*, *Sophora*, *Spartium*, *Stylosanthes*, *Styphnolobium*, *Sutherlandia*, *Swainsona*, *Swartzia*, *Thermopsis*, *Trifolium*, *Trigonella*, *Tripodion*, *Ulex*, *Vavilovia*, *Vicia*, *Vigna*, *Wisteria* (Lewis et al.2005; Heywood et al. 2007) .

I – 3 – 1 – 1 – Position systématique

Cette sous-famille n'existe pas en classification classique (Cronquist, 1981), qui élève ce groupe à l'échelon de la famille des *Fabaceae* (*stricto sensu*) ou *Papilionaceae*.

I – 3 – 1 – 2 – Caractéristiques botaniques des Papilionoïdées

Les Papilionoïdées sont des plantes herbacées, des arbustes, des arbres ou des lianes. Ces plantes ont des feuilles alternes, composées ou palmées et en général pourvues de stipules. Leurs fleurs hermaphrodites sont surtout zygomorphes et en général pentamères, car elles sont formées d'un calice gamosépale souvent bilabié et d'une corolle dite papilionacée parce que sa forme rappelle celle d'un papillon. La corolle qui, du reste, ne présente pas ce type de structure dans l'ensemble de la famille, renferme les étamines et le pistil. Les étamines sont au nombre de 10. Le fruit, issu d'un seul carpelle, est typiquement sec. A maturité, il peut s'ouvrir suivant une ou deux lignes longitudinales. Mais parfois il ne s'ouvre pas du tout et est divisé en autant de loges qu'il y a de graines. Parmi les genres mentionnés plus haut les plus riches sont : *Tephrosia* (50 espèces), *Eriosema* (60 espèces), *Indigofera* (100 espèces), *Crotalaria* (200 espèces), *Erythrina* et ***Desmodium*** (Letouzey, 1982)

I – 3 – 1 – 3 – Usage traditionnel des Papilionoïdées

Elles sont fréquemment utilisées dans les pharmacopées traditionnelles et leurs effets thérapeutiques sont bien connus. Parmi les Papilionoïdées une place particulière peut être accordée à

Erythrina glauca dont les racines préparées en décoction par les Créoles sont bues comme sudorifique par les malades fiévreux (grippe et paludisme); les fleurs, préparées et utilisées de la même façon, sont un antitussif. *Trigonella foenum graecum* (**fenugrec**) est utilisé dans le traitement des plaies, diarrhées, acnée, déshydratation, anémie, bronchite, rhumatismes, maux d'estomac, hypertension artérielle et constipation. Cette plante est également consommée comme fortifiant par les femmes après l'accouchement. Les graines ont des propriétés nutritives importantes et des effets hypocholestérolémiants ; elles sont traditionnellement utilisées comme stimulant de l'appétit et pour la prise de poids. *Cicer arietinum* (pois chiche) a des propriétés stimulantes, soigne les plaies, la diarrhée et l'acnée. Les graines de *Vicia faba* (fève) en usage interne soignent les gastralgies et le pyrosis, en usage externe elles sont mâchées puis appliquées localement pour soigner les abcès. *Ceratonia siliqua* dont le nom vernaculaire « Kharrouba » (graine de caroube) est connue pour ces propriétés antidiarrhétiqes et émoullients. L'huile *Arachis hypogaea* L. (Arachide) est utilisée comme solvant médicamenteux ; Il a également des propriétés vitaminiques P : action antihémorragique au niveau des capillaires (Bézanger et al, 1986). La décoction de *Pterocarpus soyauxii* est recommandée dans tous les cas de dysenterie (diarrhée), dans certaines affections des voies respiratoires et pour guérir les plaies en usage externe (arnone et al, 1977). L'infusion de la partie aérienne de *Crotolaria podocarpa* est prescrite contre les affections génitales (Baoux et al, 1976). Le *Melilotus alba* à fleurs blanches et le *Melilotus officinalis* à fleurs jaunes possèdent des propriétés diurétiques, antispasmodiques et antiseptiques des voies urinaires (Bruneton, 1993).

I – 3 – 2 – Le genre *Desmodium*

Majoritairement composé d'herbes, les plantes du genre *Desmodium* se rencontrent dans les buissons et présentent des tiges prostrées ou dressées (Troupin, 1983). Dans le monde 350 à 400 espèces du genre *Desmodium* ont été répertoriées (Allen & Allen, 1981). On les retrouve dans les régions chaudes et tempérées du monde. Ces plantes sont généralement reconnues par leurs feuilles composées-pennées et renfermant soit 1,3 à 5 folioles. Les stipules sont libres ou parfois soudées et striées. Les inflorescences sont en racèmes, simples ou paniculées et présentent des bractées. Les fleurs à calice herbacé se présentent sous forme de cloche et sont constituées de deux lèvres inégales. La corolle est à étendard. La carène est composée de deux pétales particulièrement soudées. Les étamines sont nombreuses et soudées en bloc de 9 ou 10. Les ovules sont en nombre variable (1 ou 2). Les gousses, planes avec des segments, disposent d'un pied et sont indéhiscentes (Troupin, 1983). Au Cameroun 14 espèces ont été recensées dans différentes régions à savoir : *D. adscendens*, *D. barbatum*, *D. canum*, *D. gangeticum*, *D. hirtum*, *D. initortum*, *D. mauritianum*, *D. ramossissimum*, *D. repandum*, *D. salicifolium*, *D. setigerum*, *D. tortuosum*, *D. triflorum*, *D. uncinatum*, *D. velutinum* (HNC).

I – 3 – 3 – *Desmodium adscendens*

I – 3 – 3 – 1 – Position systématique

Règne :	Plantae
Sous règne :	Trachéobionta
Embranchement :	Magnolophyta
Classe :	Magnolopsida
Sous classe :	Rosidae
Ordre :	Fabales
Famille :	Léguminosae
Sous famille :	Papilionoidées
Tribu :	Desmodieae
Genre :	<i>Desmodium</i>
Espèce :	<i>Desmodium adscendens</i>



Figure 23 : plante entière *Desmodium Adscendens*

I – 3 – 3 – 2 – Description botanique

Desmodium adscendens encore appelé *Desmodium procumbens* (vocalbe faisant allusion à ses longues tiges rampantes, qui peuvent s'enrouler sur la base des troncs d'arbres ou autres supports rigides) est une plante herbacée originaire des zones équatoriales d'Afrique et d'Amérique latine. C'est l'une des espèces constituées de plantes rampantes dans les lieux humides ou de plantes se dressant contre la base des palmiers à huile. Les feuilles sont trifoliolées alternes. Les folioles obovales sont longues de 15 à 50 mm et larges de 10 à 30 mm. La foliole médiane est nettement arrondie au sommet. Elle contient 5 à 7 nervures latérales et un pétiole long de 15 à 20 mm. La tige et le pétiole sont peu pubescents et à poils appliqués. Les fleurs sont lâchement disposées sur un racème axillaire ou

terminal long de 10 à 15 cm. La corolle blanchâtre ou violacée est petite. Les fruits sont des gousses articulées longues de 10 à 25 mm et larges de 3mm (Berhaut , 1976).

I – 3 – 3 – 3 – Répartition géographique au Cameroun

Cette espèce a été recoltée dans plusieurs régions du Cameroun. La figure 13 et le tableau 3 montrent respectivement la répartition et la localisation géographique de *D. adscendens* au Cameoun suivant les informations recoupées au niveau de l’Herbier National du Cameroun (HNC).

Tableau 3 : Localisation géographique de *D.adscendens* au Cameroun.

Region	Localite	Station
Centre	Yaoundé	Quartier Melen
	Yaoundé	Quartier Nkolbisson
	Yaoundé	Près de l’aéroport
Est	Yokadouma	13 Km Sud Est de Yokadouma
	Mboy	A 6 Km au Sud de Mboy I (45 Km à l'Est de Yokadouma)
	Lomié	3 Km au Nord de Lomié
	Bertoua	Dans la ville de Bertoua
Adamaoua	Tignere	16 Km Sud Ouest de Tignère
Nord	Anmbarang	55 Km Nord Ouest de BelakaMbere
Sud	Nyete	Nye'ete environ 40 Km au Sud Est de Kribi
	Ilende	Ilendé Dibé (20 Km Sud Kribi)
Sud Ouest	Mamfé	Dans la ville de Mamfe
Ouest	Foumbot	5 Km de Foumbot

I – 3 – 3 – 4 – Intérêt ethnopharmacologique de *Desmodium adscendens*

Les tribus de la forêt amazonienne utilisent aujourd'hui le *Desmodium* «amor seco». En effet, un thé fait avec ses feuilles est donné en cas de nervosité et un bain traite les infections vaginales. Une décoction des racines séchées de la plante est un remède populaire dans les tribus pour soigner la malaria. Les indigènes de la tribu Garifuna, au Nicaragua, emploient des décoctions de ses feuilles pour traiter la diarrhée et les maladies vénériennes ainsi que pour faciliter la digestion. Au Venezuela les tradipraticiens l'utilisent pour le traitement de l'épilepsie. En Afrique, le *Desmodium* est traditionnellement utilisé pour protéger le foie. Les tradipraticiens l'emploient dans le traitement de différentes maladies du foie incluant l'hépatite virale et pour contrôler les crises d'asthme. Au Ghana le Centre de recherche médicale en plantes médicales l'utilise chez des patients souffrant d'asthme tandis qu'en Côte d'Ivoire, au Cameroun et au Sénégal, il est employé pour traiter des ulcères d'estomac et la constipation (Heard, 1994).

Sur le plan pharmacologique, des évaluations anti-allergiques et hépatoprotectrices ont été effectuées. En effet, des extraits aqueux et éthanolique de *D. adscendens* qui administrés per os, réduisent les contractions anaphylactiques, s'opposent aux contractions induites par l'histamine et réduisent la quantité de substance stimulant le muscle lisse des tissus pulmonaires du cobaye (Addy et Dzanu, 1986). De plus l'évaluation de 3 fractions au n-butanol issues d'un extrait aqueux de *D.*

adscendens suggère l'existence de plusieurs substances actives au plan pharmacologique inhibant la contraction allergique du muscle lisse en de multiples endroits, y compris la synthèse et (ou) l'activité des leucotriènes bronchoconstricteurs (Addy et Burka ,1990). L'activité hépato-protectrice de *Desmodium adscendens* a été évaluée par des tests au tétrachlorure de carbone (CCl₄) sur des rats. En effet, l'administration per os pendant 4 jours d'un lyophilisât de décoction de *Desmodium adscendens* (équivalent à 100 mg de plante sèche par kg) induit une diminution significative de l'alanine-aminotransférase (Heard, 1994).

I – 3 – 4 – Travaux chimiques antérieurs sur le genre *Desmodium*

L'étude chimique entreprise sur les plantes du genre *Desmodium* a conduit à l'isolement et à la caractérisation de plusieurs composés appartenant pour la plupart à des classes de composés tels que les anthraquinones, les ptérocarpanes, les alcaloïdes et les flavonoïdes (tableau 4 et la figure 24).

Tableau 4: Composés isolés du genre *Desmodium*.

Espèces	Composés	Classes	Références
<i>Desmodium adscendens</i>	Vitexine (179) ; Isovitexine (180) ; Pelargonidine (181) ; Cyanidine (182)	Flavonoïdes	(Addy, 1992)
<i>Desmodium canum</i>	5,7,2'-trihydroxy-6,6-diméthyl-6''-(4-méthylpent-3-enyl)pyrano(2'',3'' :4',5')-isoflavanone (183) 5,7, 2', 4'-tétrahydroxy-6-méthyl-5'- (3,7-diméthyl-2,6 - octadiényle) isoflavanone (184) 5,2', 4'-trihydroxy-7- méthoxy-6-méthyl-8-(3-méthyl-2-butényle)-isoflavanone (185)		(Monache et al, 1996)
<i>Desmodium lanceolatum</i>	5, 7,3' - trihydroxy-4',5' - (2', 2' - diméthylpyran)-8,2'-di (3-méthyl-2-butényle)-(2 <i>S</i>)-flavanone (186) 5, 7,3' - trihydroxy-4'-méthoxy-8,2'-di (3-méthyl-2-butényle)- (2 <i>S</i>)-flavanone. (187) 7,3',4' - trihydroxy-6-méthoxy- 8,2'-di (3-méthyl-2-butényle)-(2 <i>S</i>)-flavane (188) 4'-hydroxy-7,8-(2'',2''-diméthylpyran) flavane (189)		(Kanokmedhakul et al, 2004)
<i>Desmodium gangeticum</i>	Gangetinine (190), Desmodine (191)		(Purushothaman et al, 1975)
<i>Desmodium pulchellum</i>	(192)	Quinones	(Tiwari et Bansal, 1971)
<i>Desmodium adscendens</i> & <i>Desmodium tiliaefolium</i>	Tyramine (193) Hordenine (194) 3,4-diméthoxy- β -phénéthylamine (195), <i>N,N</i> -diméthyl-3,4'-diméthoxyphénéthylamine (196) <i>N</i> -méthyl-3,4-diméthoxy- β -hydroxyphénéthylamine (197), Salsoline (198), Salsolidine (199), Hypaphorine(200)	Alcaloïdes	(Addy ,1992; Ghosal et Srivastava, 1973)
<i>Desmodium tiliaefolium</i>	Tryptamine (201) ; Abrine (202)		(Ghosal et Srivastava, 1973)
<i>Desmodium triflorum</i>	Acide indole-3-acétique (203); α -phényléthylamine (204) Tyramine (205)		(Ghosal S. et al, 1971)

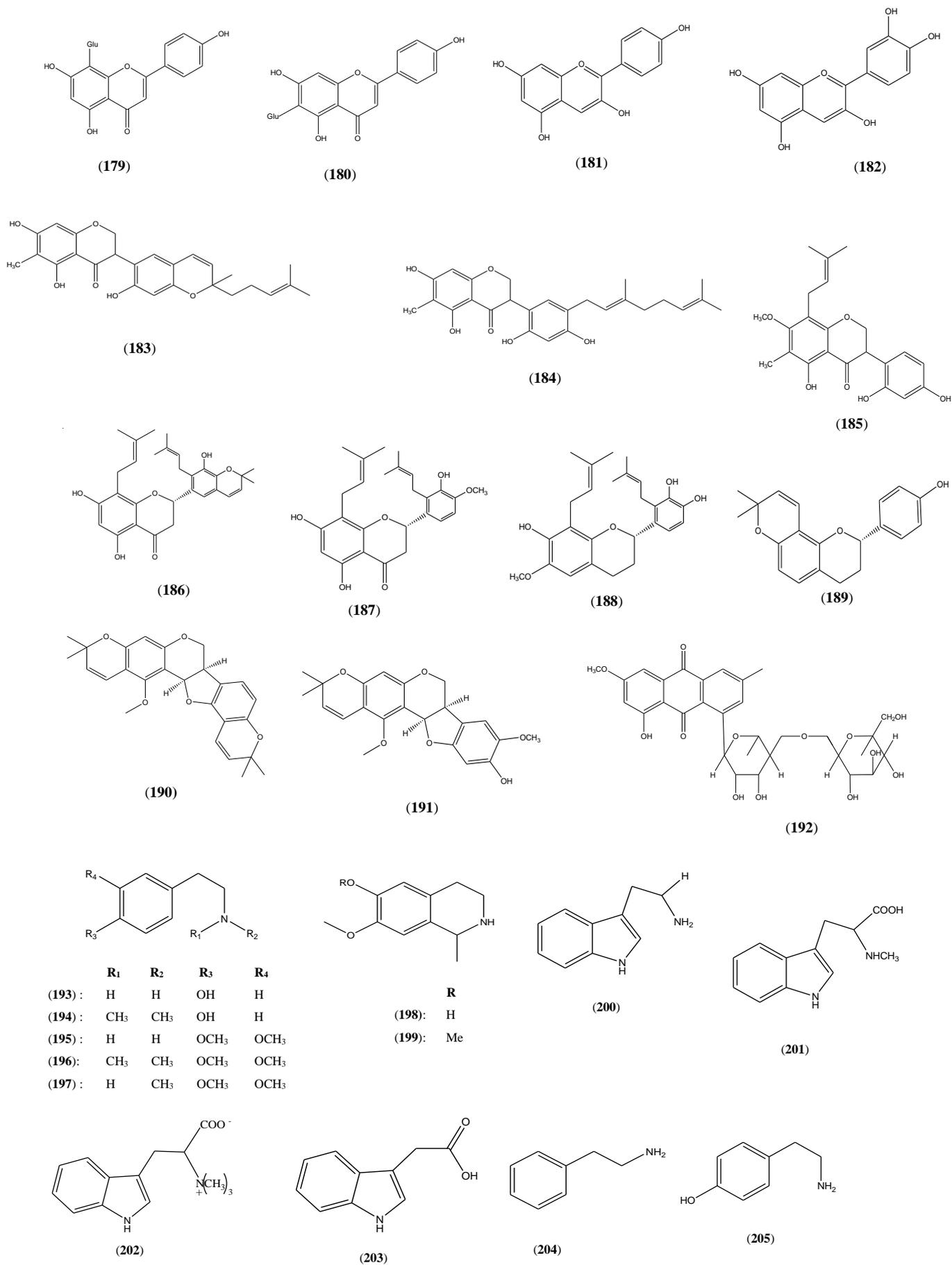


Figure 24 : Structures des Flavonoïdes, anthraquinones et alcaloïdes isolés du genre *Desmodium*.

I – 4 – Conclusion sur l'étude phytochimique des légumineuses

Il ressort de la littérature qu'il existe des similitudes en termes de classes de composés isolés dans les Mimosoïdées, les Césalpinioïdées et le genre *Desmodium*. Ainsi on a constaté que :

- Les acides gras se comptent en plus grand nombre dans les Césalpinioïdées, mais absent des Mimosoïdées et du genre *Desmodium* ;
- Les alcaloïdes, se trouvent en nombre réduit dans les Césalpinioïdées et des Mimosoïdées mais en nombre considérable dans le genre *Desmodium* ;
- les flavonoïdes et leurs hétérosides se comptent en grand nombre dans les Césalpinioïdées et des Mimosoïdées mais aussi dans le genre *Desmodium* ;
- Les coumarines sont absentes des Césalpinioïdées et du genre *Desmodium* mais on fait leur apparition dans les Mimosoïdées ;
- Les quinones se retrouvent dans les Mimosoïdées, les Césalpinioïdées et le genre *Desmodium*
- Les phénols simples, les esters d'acide gras et les saponines se comptent en plus grand nombre dans des Mimosoïdées que dans les Césalpinioïdées mais absents du genre *Desmodium* ;
- Les xanthones et les hydrates de carbone ou saccharides sont respectivement répertoriées uniquement dans les Mimosoïdées et les Césalpinioïdées;
- 3-O-β-D-glucopyranosyl-β-sitosterol a été isolé dans les Mimosoïdées et Césalpinioïdées mais pas dans le genre *Desmodium*.

Les alcaloïdes, les flavonoïdes et leurs hétérosides, les phénols simples sont les classes de composés parmi d'autres ayant montrés des propriétés anxiolytiques intéressantes (Sarris et al, 2013). Comme on les retrouve en grand nombre dans la famille des plantes étudiées nous entreprendrons d'effectuer l'évaluation de l'activité anxiolytique des extraits et des composés qu'on aura isolés. Pour cela nous allons donner un aperçu sur l'anxiété.

I – 5 – Aperçu sur l’Anxiété

I – 5 – 1 – Définition, causes et symptômes

L’anxiété est définie comme une sensation de danger imminent et d’origine indéterminée, qui allie des symptômes émotionnels, somatiques, cognitifs et comportementaux. Elle est caractérisée par un sentiment de peur anticipant un événement menaçant et est souvent exprimée par le patient sous forme de nervosité ou de soucis. Elle peut être provoquée par des facteurs de stress (ensemble des réponses d’un organisme soumis à des pressions ou contraintes de la part de son environnement). L’anxiété généralisée se caractérise surtout par une inquiétude excessive qui domine dans la vie du sujet et qui concerne différents aspects de sa vie (travail, situation financière, famille, santé). La personne qui souffre d’anxiété généralisée maîtrise difficilement son inquiétude et présente au moins trois des six symptômes suivants : fébrilité, fatigue, difficulté de concentration, irascibilité, tension musculaire et trouble du sommeil (American Psychiatric Association, 2005).

I – 5 – 2 – Les conséquences

L’anxiété est une émotion qu’on peut considérer comme normale ou pathologique. Normale lorsqu’elle joue un rôle essentiel dans l’aptitude d’un individu à faire face aux situations de danger ou de crise. L’anxiété constitue alors un signal naturel informant l’individu d’un danger imminent et l’amenant à développer ses capacités d’adaptation. Lorsqu’elle se manifeste avec une intensité et une durée inhabituelles face à un stimulus et qu’elle engendre une souffrance et des dysfonctions importantes chez l’individu susceptibles de créer d’autres problèmes de santé notamment : les ulcères, problèmes cardiovasculaires, troubles respiratoires, affaiblissement du système immunitaire etc.), l’anxiété cesse de jouer un rôle adaptatif pour devenir pathologique et requiert un traitement (Mendlowicz et al, 2000).

I – 5 – 3 – Les traitements conventionnels

I – 5 – 3 – 1 – Les médicaments anxiolytiques

Les anxiolytiques ou tranquillisants mineurs sont, comme leur nom l’indique, des substances destinées à combattre l’anxiété et le stress, en agissant sur certains médiateurs cérébraux. Ils sont sédatifs mais à plus fortes doses que les somnifères (Goulay, 2009). Ce sont des médicaments psychotropes destinés à traiter les manifestations psychiques et somatiques de l’anxiété pathologique; la plupart des anxiolytiques partagent des propriétés pharmacologiques communes: sédation, anxiolyse, effets anti-convulsivants et myorelaxants (Haidara, 1985).

I – 5 – 3 – 2 – Mécanisme d’action des anxiolytiques

Au niveau biochimique, la mise en évidence du mode d’action des anxiolytiques a franchi en 1977 une étape capitale avec la découverte simultanée par Braestrup et Collaborateurs, au Danemark et par Mohler et Okada en Suisse, de récepteurs cérébraux spécifiques pour les benzodiazepines (BZD).

Chez l'homme, ces récepteurs sont disséminés dans l'ensemble du système nerveux central, principalement localisés au niveau des neurones et particulièrement concentrés au niveau du cortex cérébral et du système limbique, dont certaines parties ont depuis longtemps été associées à la régulation des comportements émotionnels (Pieri et Kirkiacharian, 1986). Le récepteur des BZD ne serait qu'une partie d'un complexe supramoléculaire comprenant également le récepteur GABA et les canaux membranaires ou ionosphères du chlore. En agissant au niveau de leurs récepteurs, les BZD faciliteraient l'action des GABA, acide aminé inhibiteur responsable de l'inhibition pré- et post-synaptiques et augmenteraient la perméabilité de la membrane aux ions chlore. En agissant au niveau de leurs récepteurs, les BZD faciliteraient l'action des GABA, acide aminé inhibiteur responsable de l'inhibition pré- et post-synaptiques et augmenteraient la perméabilité de la membrane aux ions chlore (Kanadji, 2005). La potentialisation de l'activité GABA-ergique par les BZD est probablement responsable de leurs activités anti-convulsivante et myorelaxante mais des doutes subsistent encore quant à l'intervention du GABA dans la genèse de leurs effets anxiolytiques (Askia, 1984).

I – 5 – 3 – 3 – Différents types de médicaments anxiolytiques

La classification des médicaments anxiolytiques repose aujourd'hui sur la structure chimique, des différents modes d'action des molécules utilisées, les produits de famille chimique agissant le plus souvent de manière similaire au niveau neurobiologique. On distingue entre autre les anxiolytiques à action GABA et ceux à action sérotoninergiques (Haidara, 1985). Le groupe des tranquillisants est dominé par la famille des Benzodiazépines (BZD) tel que le chlordiazepoxide (**206**), le diazépam ou valium (**207**), le clobazam ou urbanyl (**208**) le tofisopam ou sériel (**209**) (Askia, 1984). Les tranquillisants non Benzodiazépines sont en nombre très restreint on distingue : Les carbamates tels que le méprobamate (**210**), les Pipérazines (**211**), les Azapirones tels que la buspirone ou buspar (**212**), les Imidazopyridines tel que le zolpidem ou Stilnox (**213**) et les Betacarbolines (**214**) (Morstti et Zarifian, 1992 ; Kanapadji, 2005 ; Pieri et Kirkiacharian, 1986).

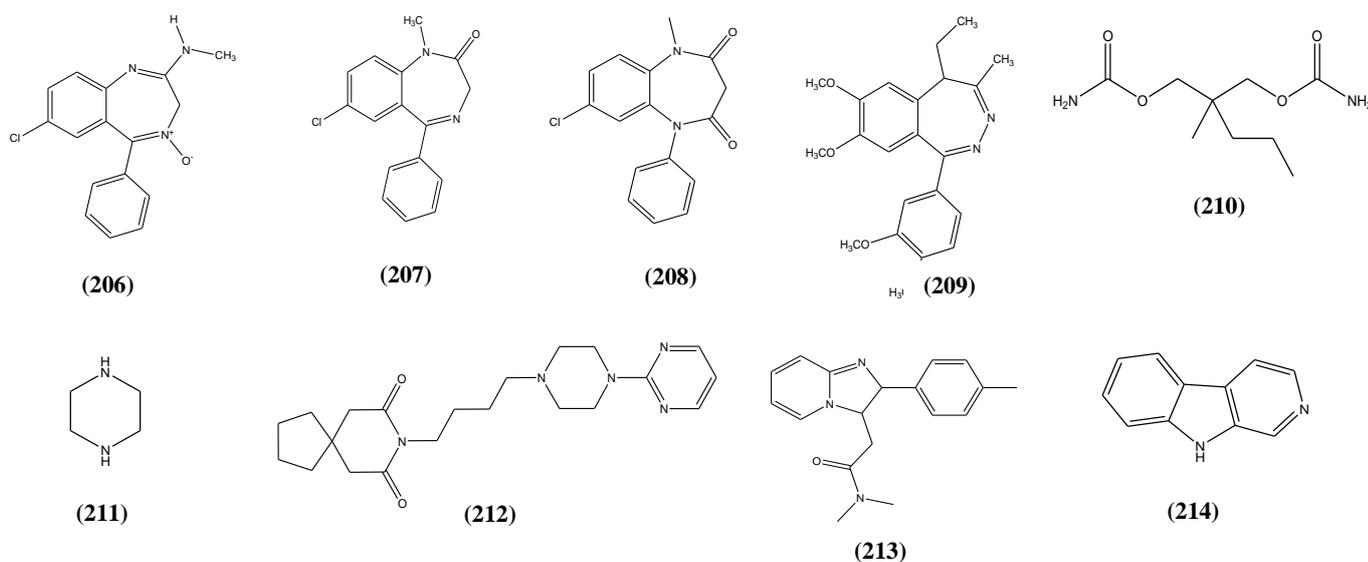


Figure 25 : Structures de quelques types de composés anxiolytiques.

Les anxiolytiques à dose normale entraînent une somnolence qui les rend incompatibles avec la conduite d'un véhicule. Tout comme les somnifères, ils peuvent induire une dépendance en traitement prolongé (Goulay, 2009). Les problèmes engendrés par une addiction peuvent être d'ordre physique, psychologique, relationnel, familial et social. La dégradation progressive et continue à tous ces niveaux rend souvent le retour à une vie libre de plus en plus problématique d'où la nécessité d'explorer les plantes médicinales qui pourraient être une alternative certaine par l'isolation et la caractérisation des composés contenus dans celles-ci.

I – 5 – 4 – Les anxiolytiques dérivés des plantes.

Des études phytochimiques et pharmacologiques antérieures sur les différentes parties des plantes (feuilles, graines, écorces et racines) ont permis de répertorier 18 espèces appartenant à 13 familles. Ces plantes ainsi que certains composés qui en ont été isolés ont montré des propriétés anxiolytiques intéressantes (Sarris et al, 2013) (tableau 5 et Figure 26).

Tableau 5 : Composés anxiolytiques isolés de différentes espèces de plantes.

Plantes	Composés anxiolytiques	Références
<i>Bacopa monnieri</i> (Scrophulariaceae)	Bacoside A (215)	(Charles et al, 2011 ; Pase et al, 2012 ; Calabrese et al, 2008 ; Stough et al, 2001)
<i>Cannabis sativa/indica</i> (Cannabaceae)	Cannabidiol (216)	(Campos et al, 2008 ; Resstel et al, 2009 ; Bergamaschi et al, 2011)
<i>Centella asiatica</i> (Mackinlayaceae)	Asiaticoside, flavonoides	(Chen et al, 2005 ; Bradwejn et al, 2000 ; Jana et al, 2010)
<i>Citrus aurantium</i> (Rutaceae)	Huiles Volatiles, flavonoides	(Saiyudthong et al, 2011 ; Akhlaghi et al, 2011)
<i>Echinacea spp.</i> (Asteraceae)	Alkylamides	(Haller et al, 2010 ; Haller et al, 2013 ; Gertsch et al, 2004 ; Tambaro et al, 2012)
<i>Echium amoenum</i> (Boraginaceae)	alkaloides Pyrrolizidine	(Sayyah et al, 2009 ; Rabbani et al, 2004)
<i>Hypericum perforatum</i> (Clusiaceae)	Hyperforin (217), hypericin (218), Pseudohypericin	(Butterweck et al, 2007 ; Nathan et al, 2001 ; Taylor et al, 2000)
<i>Ginkgo biloba</i> (Gingkoaceae)	Ginkgolides (219 - 223)	Yoshitake et al, 2010 ; Fehske et al, 2009 ; Kuribara et al, 2003 ; Woelk et al, 2007)
<i>Matricaria recutita</i> (Asteraceae)	Flavonoids (apigenin) (224)	(Herrera-Ruiz et al, 2006a ; Herrera-Ruiz et al, 2006b ; Herrera-Arellano et al, 2007)
<i>Galphimia glauca</i> (Malpighiaceae)	Nor-seco-triterpene (galphimine B)(225)	(Jimenez-Ferrer et al, 2011 ; Herrera-Ruiz et al, 2006c ; Herrera-Arellano et al, 2007 ; Herrera-Arellano et al, 2012)
<i>Melissa officinalis</i> (Lamiaceae)	Flavonoides, huiles volatiles, triterpenes	(Cases et al, 2011 ; Awad et al, 2009)
<i>Piper methysticum</i> (Piperaceae)	Kavaine (226), dihydrokavaine (227)	(Sarris et al, 2009 ; Sarris et al, 2011)
<i>Passiflora incarnata</i> (Passifloraceae)	Amino acides, chrysine (228), β -carboline, alkaloides, flavonoides	Aslanargun et al, 2012 ; Akhondzadeh et al, 2001 ; Movafegh et al, 2008)
<i>Psychotria viridis</i> (Rubiaceae)/ <i>Banisteriopsis caapi</i> (Malpighiaceae)	<i>N,N</i> -dimethyltryptamine (229)	McKenna et al, 2004 ; Riba et al, 2003 ; Grob et al, 1996 ; Callaway et al, 1994 ; Santos et al, 2007)
<i>Psilocybe spp.</i> (Strophanaceae)	4-Phosphoryloxydimethyltryptamine (230)	(Griffiths et al, 2011 ; Studerus et al, 2011 ; Halberstadt et al, 2011 ; Vollenweider et al, 1998 ; Vollenweider et al, 2010 ; Grob et al, 2011 ; Moreno et al, 1997 ; Moreno et al, 2006 ;

		Matsushima et al, 2009)
<i>Salvia spp.</i> (Lamiaceae)	α -pinene (231), β -pinene(232), 1,8-cineole (233), thujone (234), camphor ou geraniol (235)	(Rabbani et al, 2011 ; Perry et al, 2001 ; Kennedy et al, 2011 ; Herrera-Ruiz et al, 2006 ; Hosseinzadeh et al, 2008 ; Rabbani et al, 2005 ; Kennedy et al, 2006 ; Tildesley et al, 2005)
<i>Valeriana spp.</i> (valerianaceae)	AcideValerenique (236), valepotriates	(Benke et al, 2009 ; Andreatini et al, 1994 ; Miyasaka et al, 2006 ; Andreatini et al, 2002)
<i>Rhodiola rosea</i> (Crassulaceae)	composés Phenylpropanes (rosavins) et dérivés phenylethane (salidroside 237)	(Panossian et al, 2010 ; Perfumi et al, 2007 ; Bystritsky et al, 2008)
<i>Scutellaria lateriflora</i> (Lamiaceae)	Scutelaterine A, baicaline (238)	(Awad et al, 2003 ; Li et al, 2012 ; Zhang et al, 2009 ; Kuroda et al, 2012 ; Yaghmai et al, 1988;HuiK et al, 2002 ; Wolfson et al, 2003)
<i>Silybum marianum</i> (Asteraceae)	Flavonolignanes (silymarine 239)	(Sayyah et al, 2010 ; Osuchowski et al, 2004 ; Mazzio et al, 1998)
<i>Withania somnifera</i> (solanaceae)	Glycowithanolides	(Andrade et al, 2000)

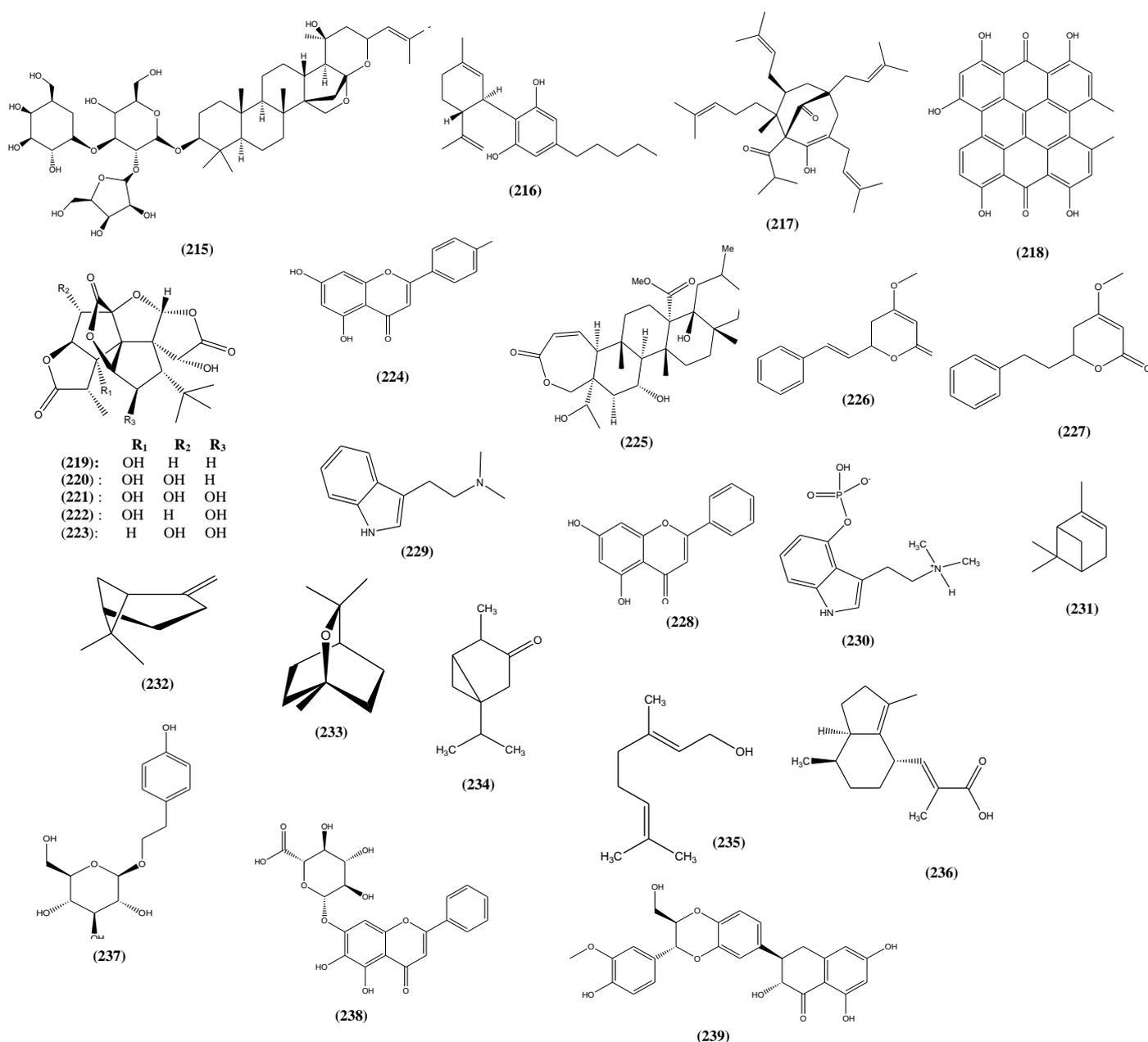


Figure 26 : Structures de quelques composés anxiolytiques isolés des plantes.

Chapitre II

RESULTATS ET DISCUSSION

II – 1 – Etude phytochimique de *Newtonia griffoniana*

II – 1 – 1 – Extraction et isolement

Les écorces du tronc de *N. griffoniana* ont été récoltées dans le village Sokellé sur la route POUMA – MESSONDO le 08 Janvier 2008. Elles ont été ensuite séchées, découpées et broyées en poudre fine. La poudre obtenue a été extraite par du méthanol à froid. L'extrait méthanolique, évaporé à sec a donné un résidu marron. Le résidu marron a été soumis à une chromatographie flash successive sur silice avec les systèmes Hexane/CH₂Cl₂/MeOH de gradients 1/1/0 ; 0/30 /1 ; 0/10/1 ; 0/1/1; 0/0/1. Nous avons ainsi isolé 6 composés dont un alcane **MJ₁ (12,3 mg)** deux esters d'acide gras **MJ₂ (71,6 mg)** et **MJ₃ (268 mg)**, deux C-glycosides **MJ₄ (3,3 g)** et **MJ₅ (523 mg)** et un flavanolignane **MJ₆ (7,2 mg)**.

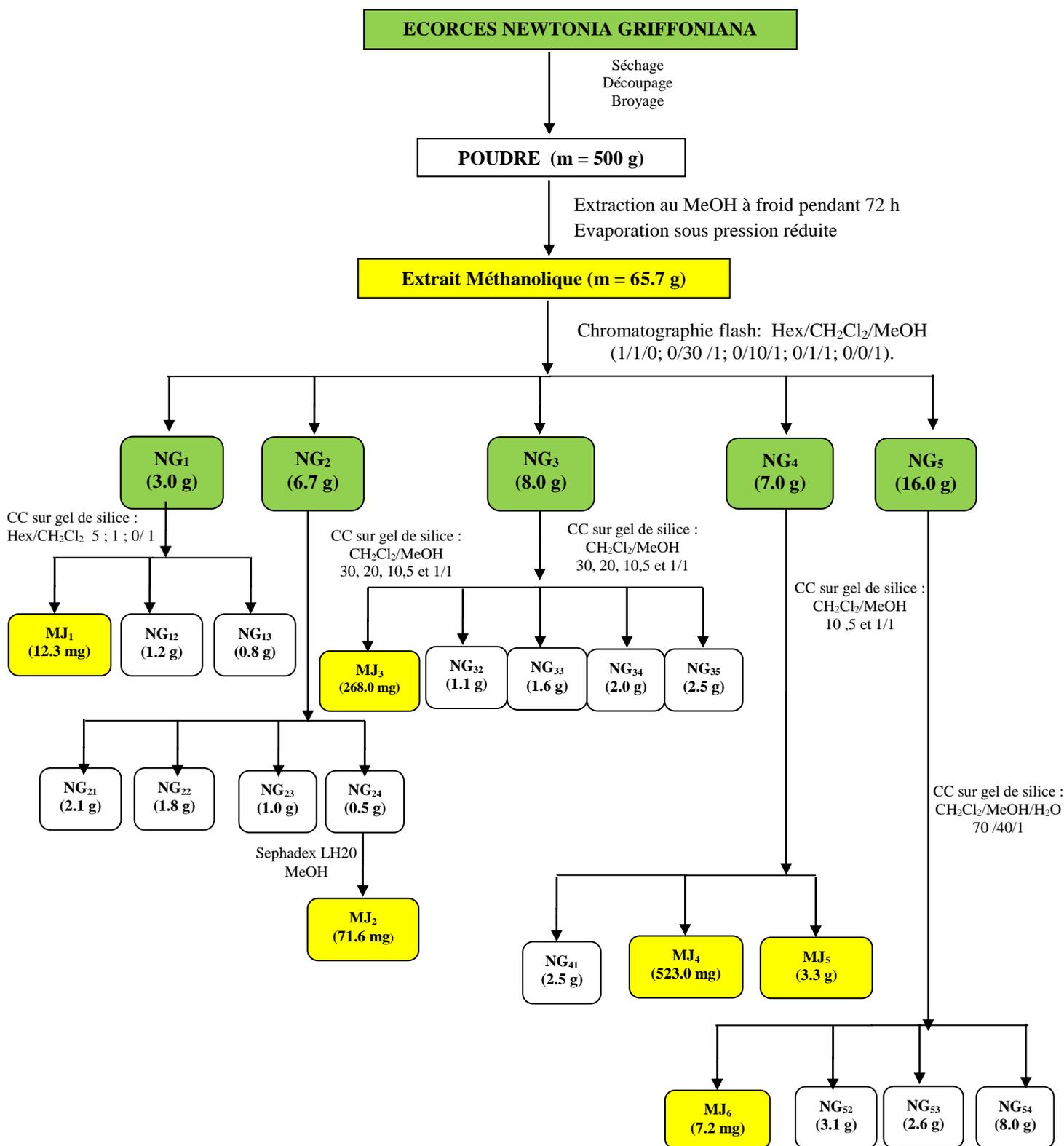


Figure 27 : Purification des composés MJ₁, MJ₂, MJ₃, MJ₄, MJ₅, MJ₆ à partir des écorces de *N. griffoniana*.

II – 1 – 2 – Caractérisation des composés

II – 1 – 2 – 1 – Détermination de la structure MJ₃

MJ₃ a été obtenu sous forme de poudre blanche. L'analyse de son spectre de masse haute résolution ESI mode positif (figure 28.1), permet d'observer un ion pseudo-moléculaire à m/z 649.0972 [M+Na]⁺ (calculée 649.5749), en accord avec la formule brute C₃₉H₇₈O₅Na.

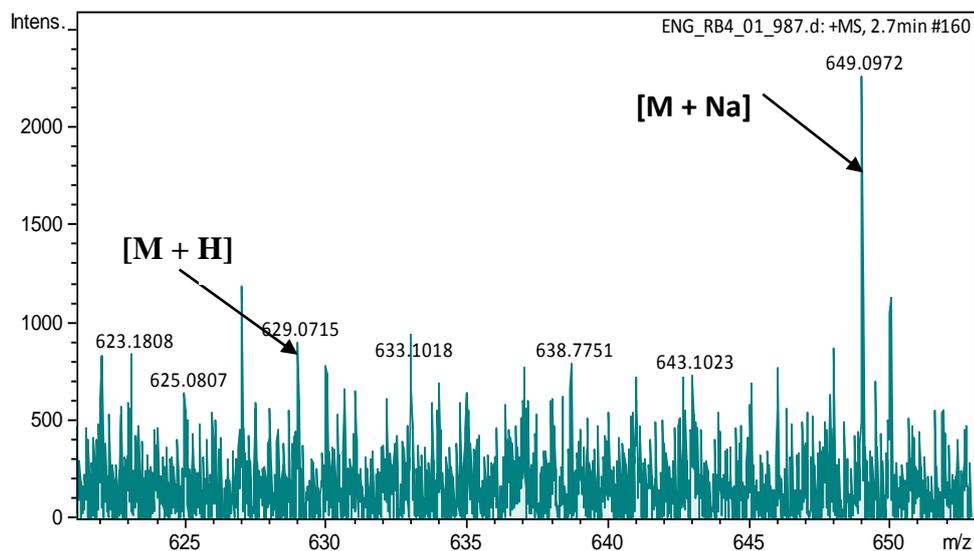


Figure 28.1 : Spectre de masse HR- ESI (+) de MJ₃.

L'analyse du spectre RMN ¹³C de MJ₃ et celui en mode DEPT (Figure 28.7) nous permet de distinguer les signaux à δ_C 174.7 (C-1) du carbonyle d'un ester, deux carbones méthylènes portant chacun un atome d'oxygène à δ_C 65.5 (C-1') et δ_C 63.4 (C-4'), deux carbones méthines hydroxylés à δ_C 70.2 (C-2') et δ_C 71.7 (C-3'), deux carbones méthylènes respectivement en α et β du carbonyle à δ_C 34.2 (C-2) et à δ_C 25.1 (C-3), un carbone terminal méthyle à δ_C 14.0 (C-35) et un large nombre de carbones méthylènes entre δ_C 22.2 et 32.2 (31CH₂) (Tableau 6).

L'analyse du spectre RMN ¹H de MJ₃ (Figure 28.5) nous révèle la présence de signaux de protons méthines portant chacun un hydroxyle à δ_H 3.85 (1H, m, H-2') et δ_H 3.53 (1H, m, H-3') qui corrélient sur le spectre HSQC (Figure 28.8) respectivement avec les carbones à δ_C 70.2 (C-2') et δ_C 71.7 (C-3'), deux méthylènes oxygénés à [δ_H 4.06 (1H, dd, J = 11.3; 4.6 Hz, H-1'a) et 4.12 (1H, dd, J = 11.3; 6.0 Hz, H-1'b)] et [δ_H 3.57 (1H, dd, J = 11.4; 6.0 Hz, H-4'a) et 3.60 (1H, dd, J = 11.4; 4.6 Hz, H-4'b)] qui corrélient sur le spectre HSQC respectivement avec les carbones à δ_C 65.5 (C-1') et δ_C 63.4 (C-4'). De plus, les corrélations entre les protons à δ_H 4.12 (H-1') et δ_H 3.85 (H-2'), δ_H 3.85 (H-2') et δ_H 3.53 (H-3'), δ_H 3.53 (H-3'), et δ_H 3.60 (H-4') sur le spectre COSY (Figure 28.6) suggèrent la présence d'une unité erythritol (Figure 28.2).

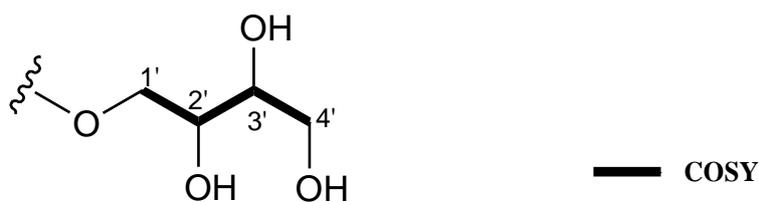


Figure 28.2 : unité erythritol de **MJ₃**.

Par ailleurs sur le spectre RMN ^1H de **MJ₃** (Figure 28.5) on observe la présence de signaux de protons méthylènes à δ_{H} 2.35 (2H, t, $J = 7.4$ Hz, H-2 $_{\alpha}$ / H-2 $_{\alpha}'$) et δ_{H} 1.63 (2H, m, H-3 $_{\beta}$ / H-3 $_{\beta}'$) qui corrént sur le spectre HSQC (Figure 28.8) respectivement avec les carbones à δ_{C} 34.2 (C-2) et à δ_{C} 25.1 (C-3), un large signal de protons méthylènes entre δ_{H} 1.26 – 1.32 (64H, m) qui corréle sur le spectre HSQC avec les carbones entre δ_{C} 22.2 et 32.2 (31CH₂) et un signal de protons méthyles terminaux à δ_{H} 0.87 (3H, t, $J = 7.6$ Hz, H-35) qui corrént sur le spectre HSQC avec le carbone à δ_{C} 14.0 (C-35). De plus, les corrélations entre les signaux de protons à δ_{H} 0.87 (H-35) et δ_{H} 1.30 (H-34), δ_{H} 2.35 (H-2) et δ_{H} 1.63 (H-3) observées dans le spectre COSY (Figure 28.6), celles observées entre les protons et les carbones à δ_{H} 2.35 (H-2) et δ_{C} 174.7 (C-1), δ_{H} 0.87 (H-35) et δ_{C} 32.2 (C-33) sur le spectre HMBC (Figure 28.9) une longue chaîne acyclique liée à un carbonyle (Figure 28.3).

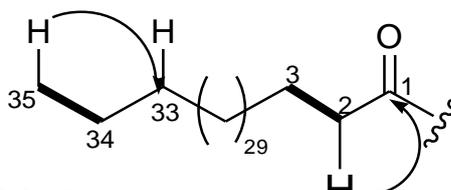


Figure 28.3 : Chaîne acyclique liée à un carbonyle de **MJ₃**.

Tableau 6 : Valeurs des déplacements chimiques (^1H et ^{13}C) de **MJ₃**(CD₂Cl₂).

N°	δ_{H} ppm (multi., J Hz)	δ_{C} ppm	DEPT
1	—	174.7	C
2	2.35 (t, $J = 7.4$ Hz)	34.2	CH ₂
3	1.63 (m)	25.1	CH ₂
4–32	1.26–1.32 (m)	29.4–30.0	CH ₂ –CH ₂
33	1.22 (m)	32.2	CH ₂
34	1.30 (m)	22.9	CH ₂
35	0.87 (t, $J = 7.0$ Hz)	14.0	CH ₃
1'	4.12 (dd, $J = 11.3; 6.0$ Hz), 4.06 (dd, $J = 11.3; 4.6$ Hz)	65.5	CH ₂
2'	3.85 (m)	70.2	CH
3'	3.50 (m)	71.7	CH
4'	3.60 (dd, $J = 11.4; 4.6$ Hz), 3.57 (dd, $J = 11.4; 6.0$ Hz)	63.4	CH ₂

La structure de **MJ₃** a été complétée sur la base de la corrélation observée dans le spectre HMBC (Figure 28.8). Ainsi, la corrélation entre le proton à δ_H 4.12 (H-1') et le carbone à δ_C 174.7 (C-1) nous permet de relier l'unité erythritol à la longue chaîne acyclique (Figure 28.4).

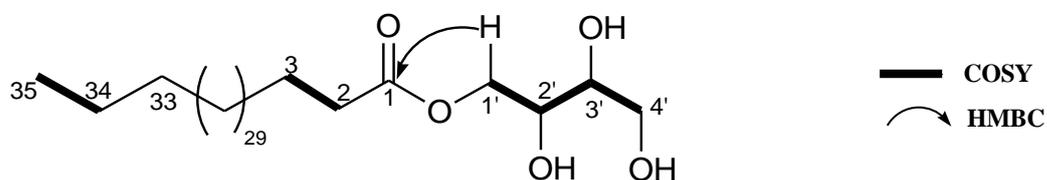
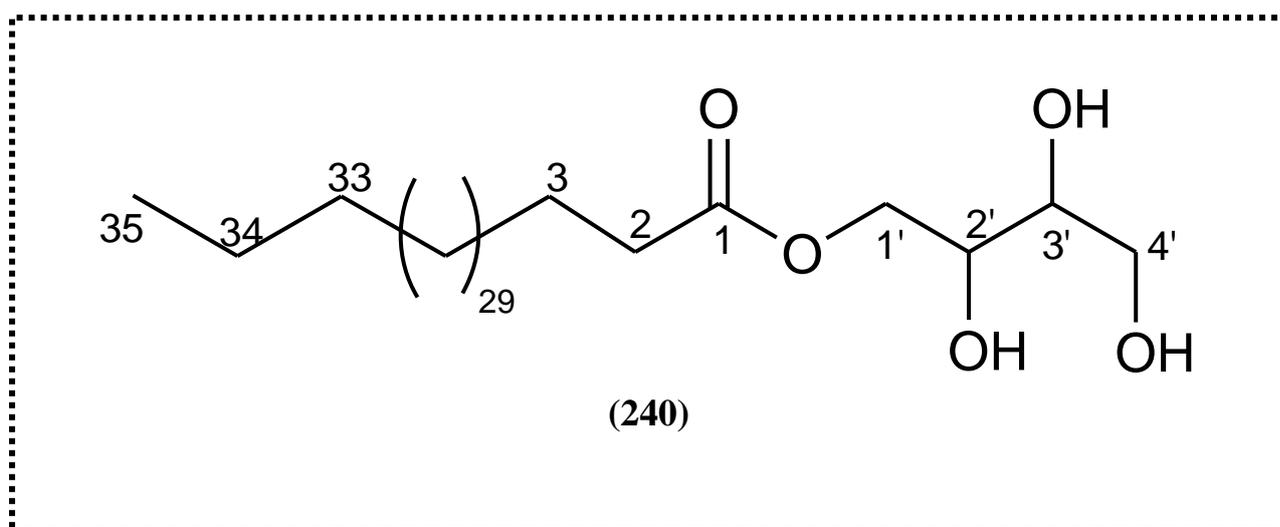


Figure 28.4 : Jonction erythritol et chaîne acyclique de **MJ₃**.

L'ensemble des données précédentes a permis d'établir la structure de **MJ₃** comme étant le pentatriacontanoate de 2,3,4-trihydroxybutyle, nouvel ester d'érythritol avec une longue chaîne acyclique appelé Newtonoate.



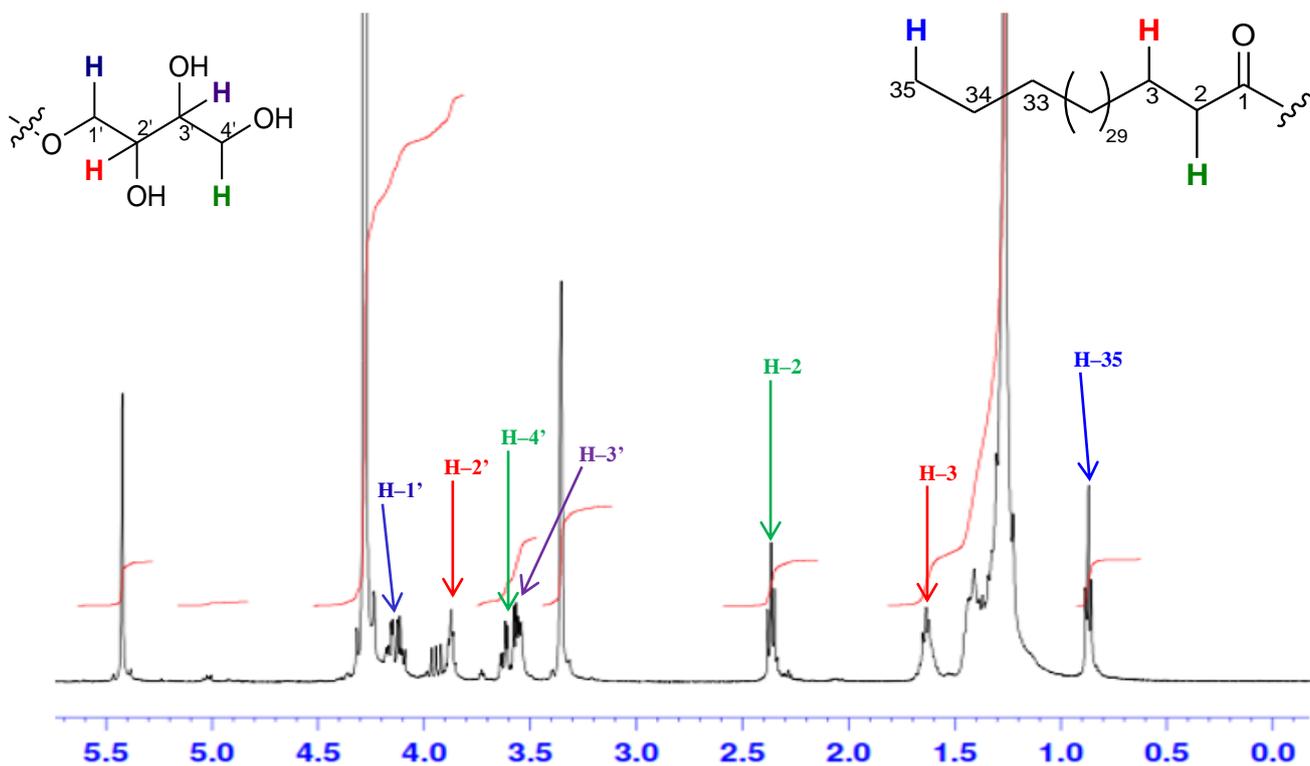


Figure 28.5 : Spectre RMN H du composé **MJ₃** (500 MHz, CD₂Cl₂)
CD₂Cl₂)

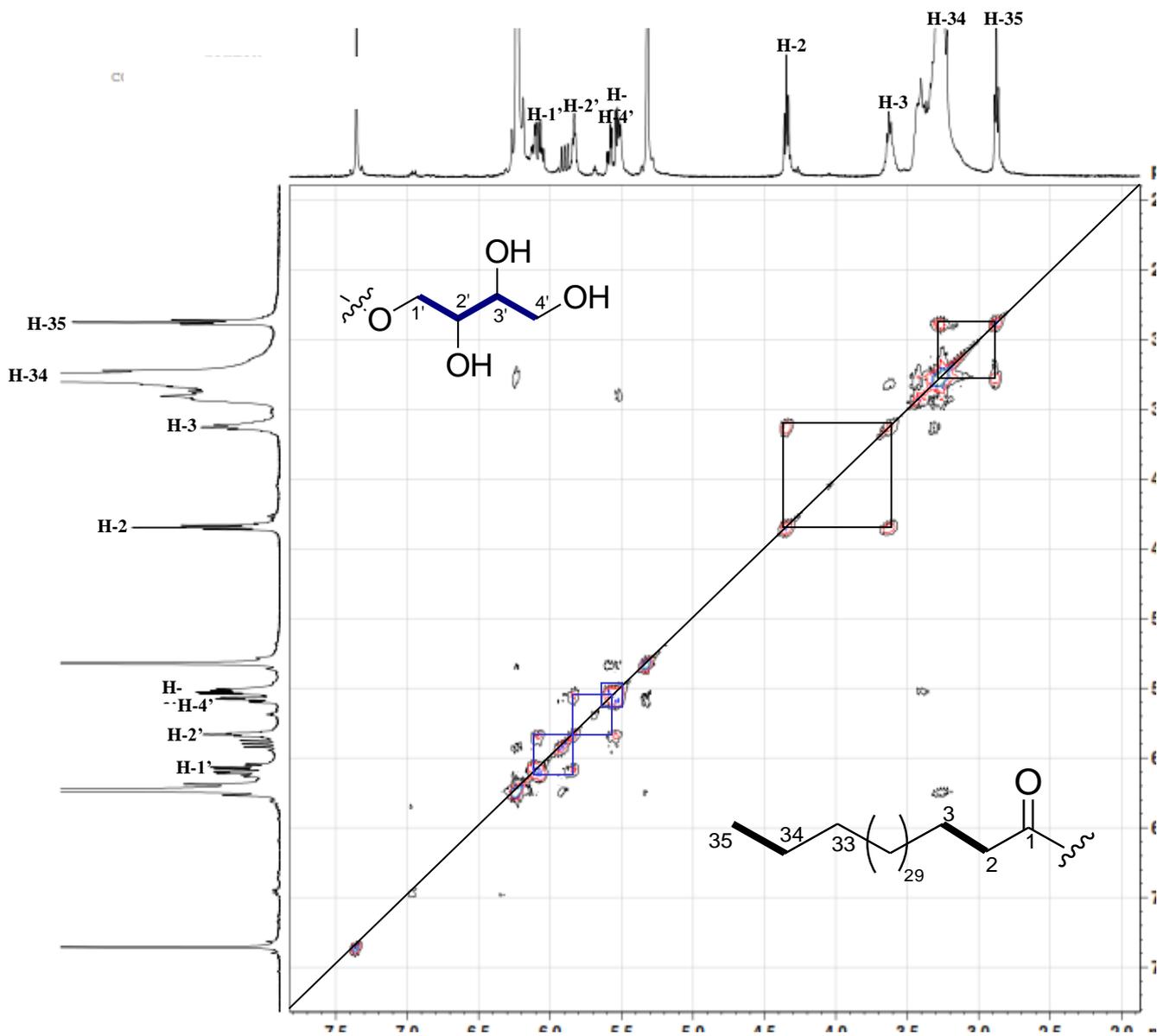


Figure 28.6 : Spectre COSY du composé **MJ₃**(CD₂Cl₂)

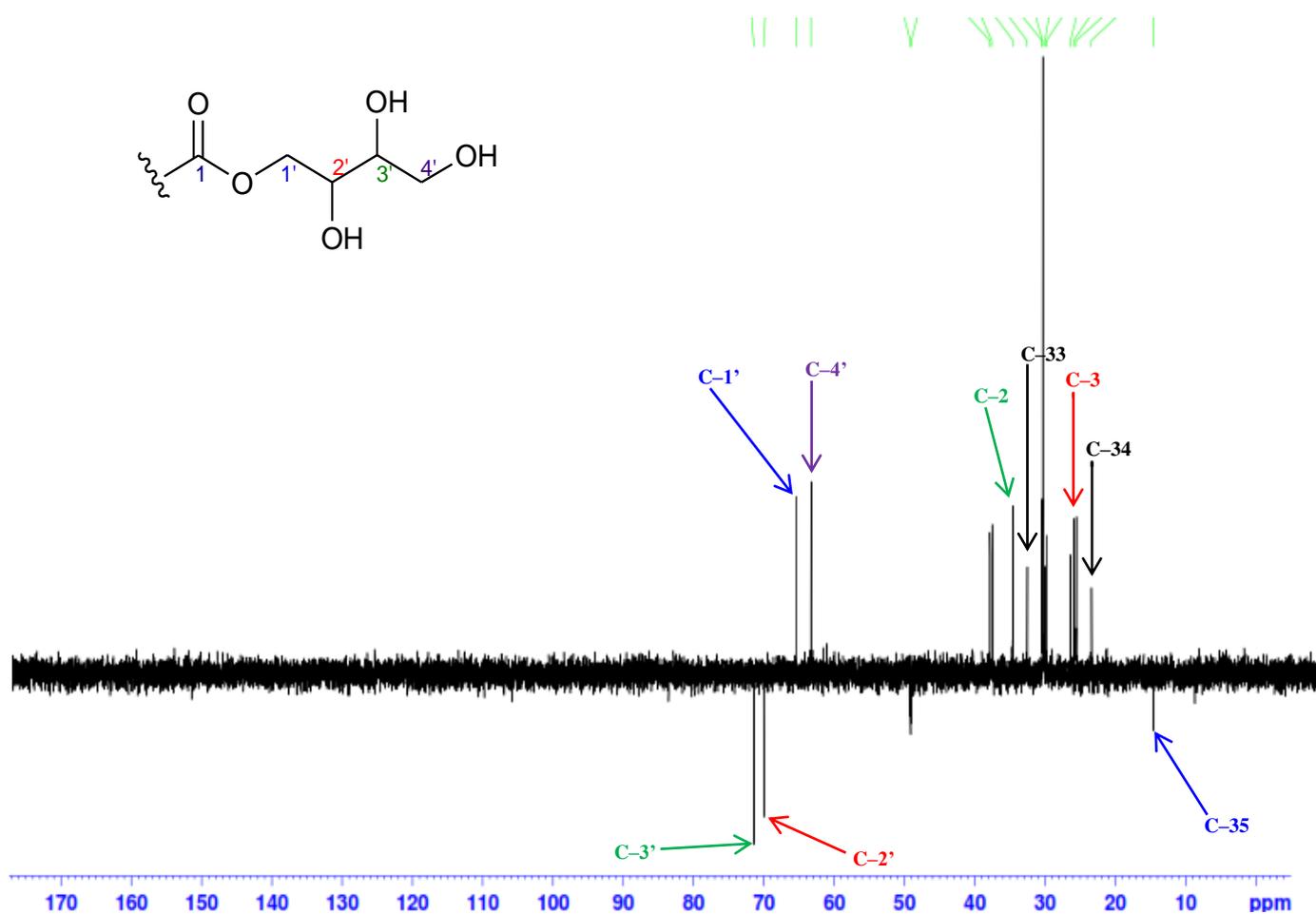
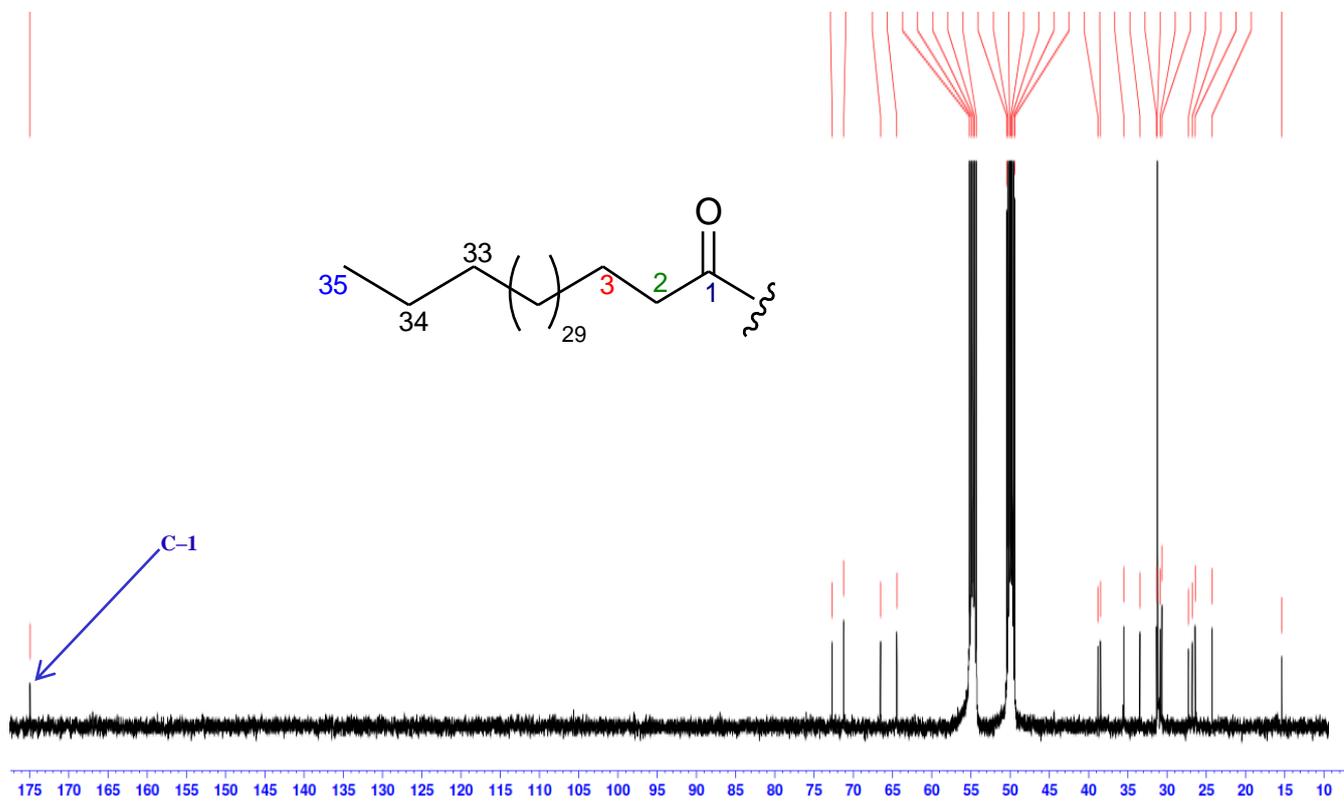


Figure 28.7 : Spectre RMN ¹³C et DEPT 135 du composé MJ₃ (125 MHz,

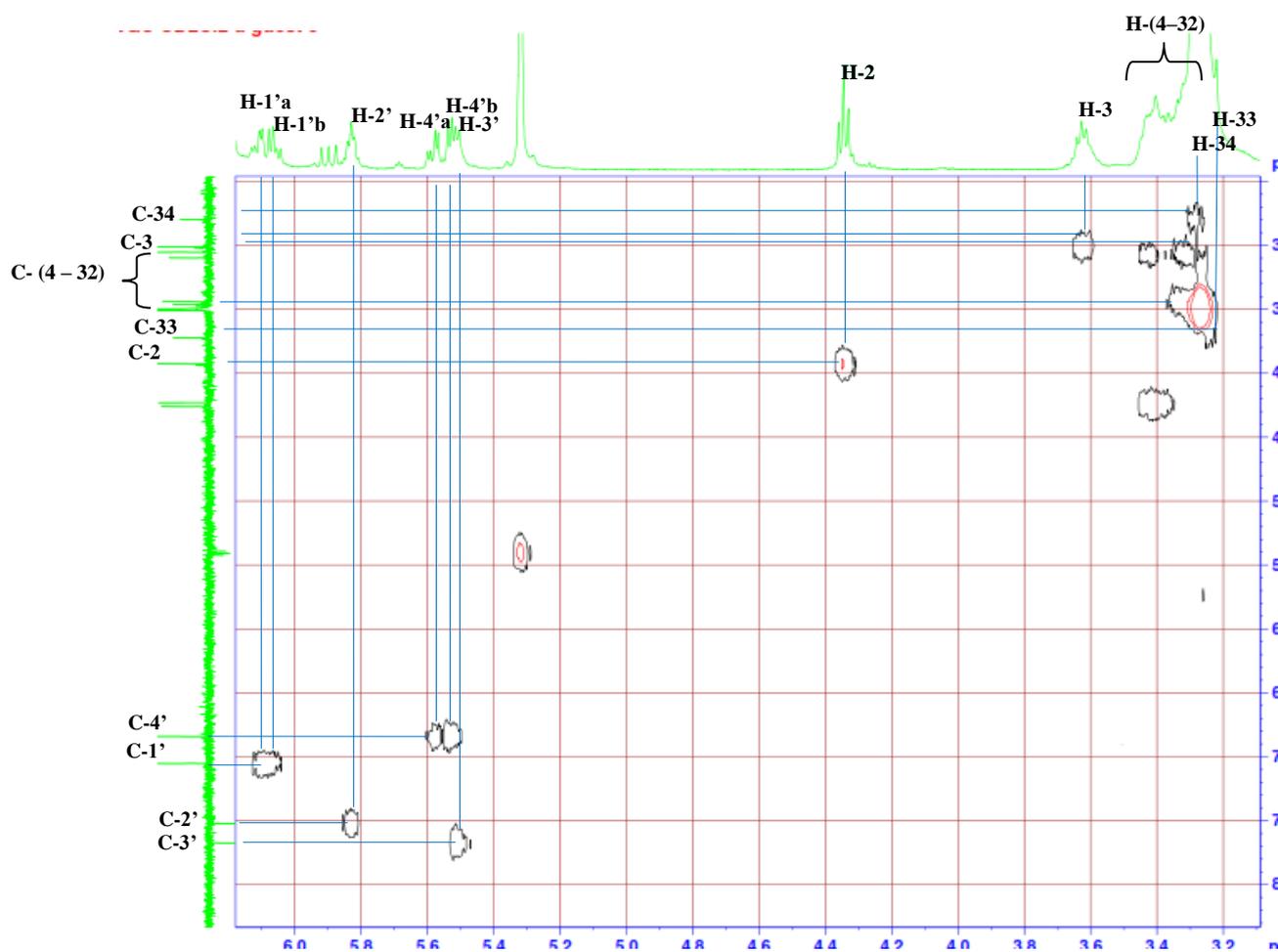
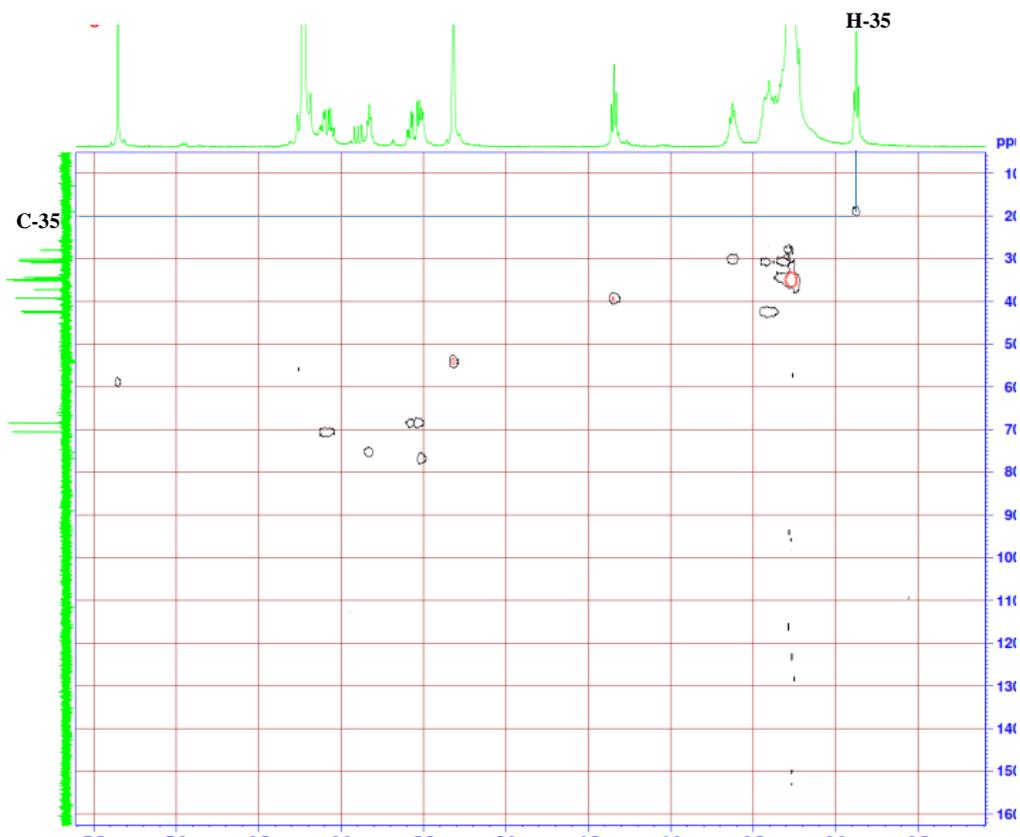


Figure 28.8 : Spectre HSQC du composé MJ₃(CD₂Cl₂)

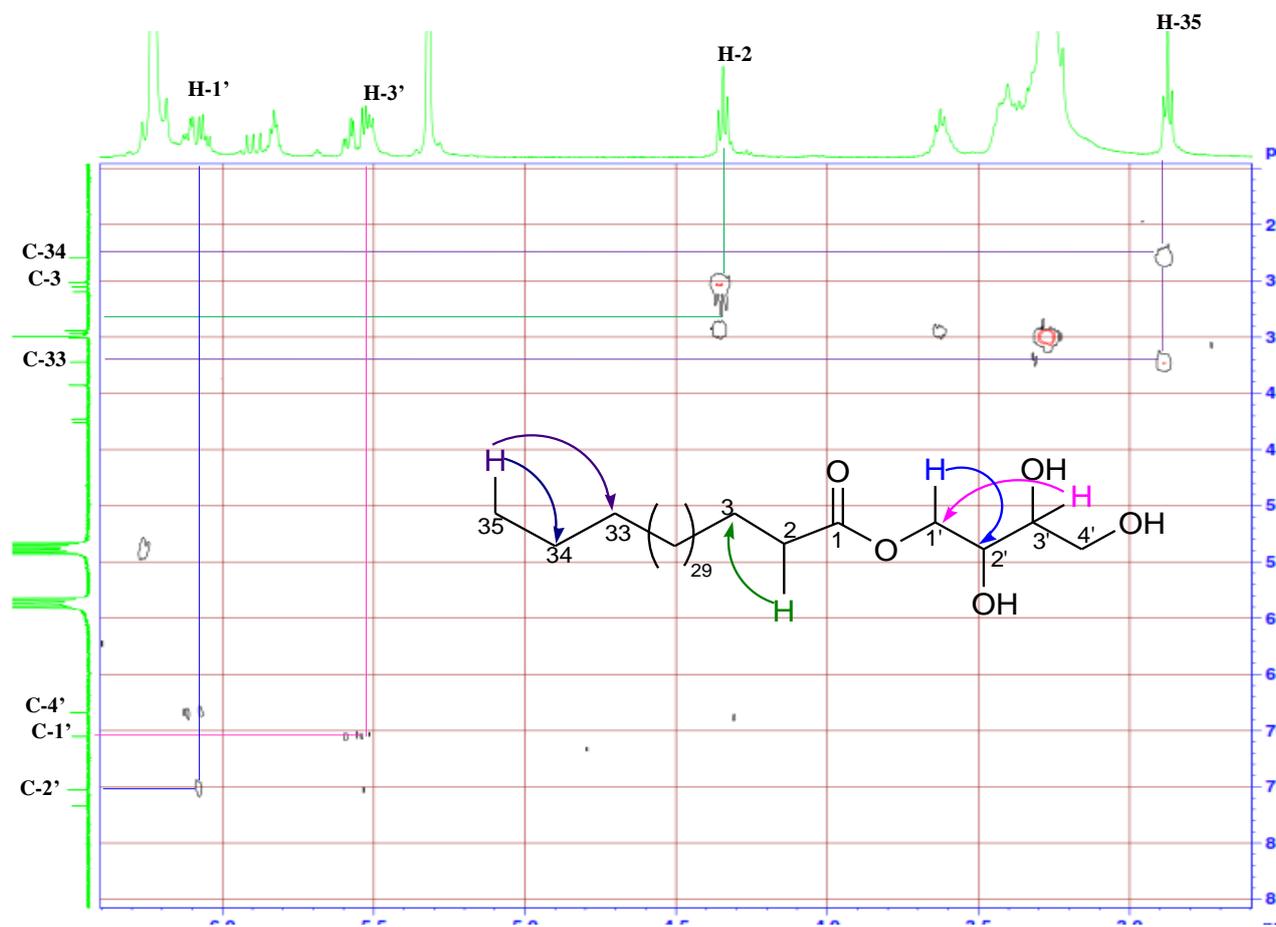
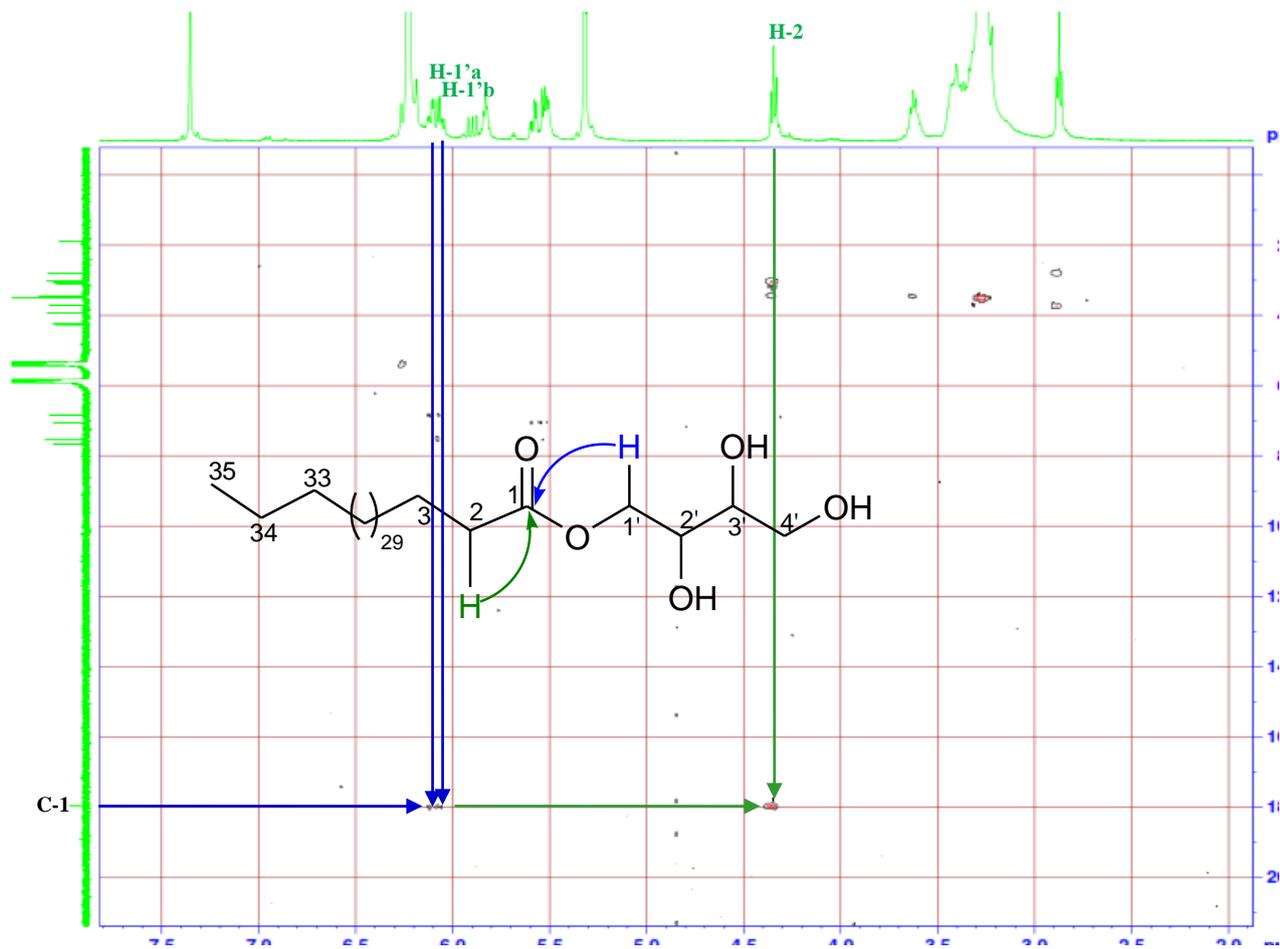


Figure 28.9 : Spectre HMBC du composé MJ₃ (CD₂Cl₂)

II – 1 – 2 – 2– Détermination de la structure MJ₁

MJ₁ a été isolé sous forme de solide amorphe jaune. L'analyse de son spectre de masse haute résolution ESI mode positif (figure 29.1) permet d'observer un ion pseudo-moléculaire à m/z 179.0887 [M + Na]⁺ (calculée 179,3006), en accord avec la formule brute C₁₁H₂₄Na.

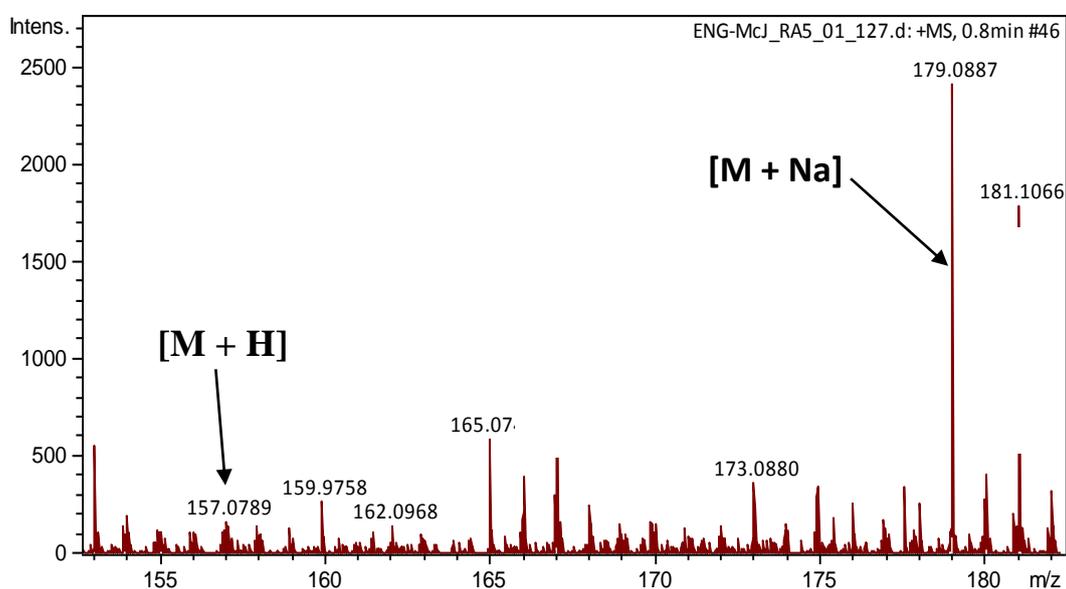


Figure 29.1 : Spectre de masse HR-ESI (+) de MJ₁

L'analyse du spectre RMN ¹³C de MJ₁ (Figure 29.6) nous permet de distinguer un signal de carbone méthine à δ_C 37.1 (C-5), quatre signaux de carbones méthylènes à [δ_C 22.7 (C-2, C-8), 27.1 (C-1'), 29.7 (C-4,C-6) et 31.9 (C-3, C-7)] et deux signaux de carbones méthyles à δ_C 14.1 (C-1, C-9) et 19.7 (C-2').(Tableau 7).

L'analyse du spectre RMN ¹H de MJ₁ (Figure 29.5) nous révèle la présence d'un signal de protons méthylènes à δ_H 1.30 (H-2 et H-8) qui corrént sur le spectre HSQC (Figure 29.8) avec les carbones à δ_C 22.7 (C-2, C-8), un large signal de protons méthylènes δ_H 1.27 (H-3, H-4, H-6 et H-7) et méthine à δ_H 1.27 (H-5) qui corrént sur le spectre HSQC respectivement avec les carbones à δ_C 29.7 (C-4,C-6), 31.9 (C-3 et C-7) et δ_C 37.1 (C-5) ; un signal de protons méthyles terminaux à δ_H 0.91 (t, $J=6.7$ Hz, H-1 et H-9) qui corrént sur le spectre HSQC avec les carbones à δ_C 14.1 (C-1 et C-9). De plus, les corrélations entre les protons à δ_H 0.91 (H-1,H-9) et à δ_H 1.27 (H-2, H-8) observées dans le spectre COSY (Figure 29.6) et celles entre les signaux de protons et des carbones à δ_H 1.27 (H-3,H-7) / δ_C 29.7 (C-4, C-6), δ_H 1.30 (H-2, H-8) / δ_C 31.9 (C-3, C-7) et δ_H 0.91 (H-1, H-9) / δ_C 14.1 (C-1, C-9) observées sur le spectre HMBC (Figure 29.9) suggèrent la présence dans MJ₁ d'une chaîne alcane substituée (Figure 29.2).

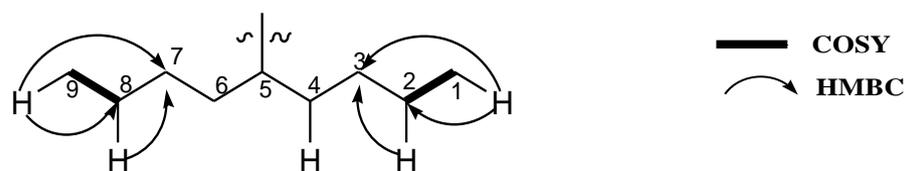


Figure 29.2 : longue chaine alcane substituée de **MJ₁**

Par ailleurs le spectre RMN ^1H de **MJ₁** (Figure 29.5) nous révèle la présence d'un signal de protons méthylènes à δ_{H} 1.27 (H-1') qui corrélient sur le spectre HSQC (Figure 29.8) avec le carbone à δ_{C} 27.1 (C-1'), un signal de protons méthyles terminaux à δ_{H} 0.86 (t, $J= 6.7$ Hz, H-2') qui corrélient sur le spectre HSQC avec le carbone à δ_{C} 19.7 (C-2'). De plus, les corrélations entre les protons à δ_{H} 0.86 (H-2') et à δ_{H} 1.27 (H-1') observées sur le spectre COSY (Figure 29.7) suggèrent la présence d'un fragment éthyle dans **MJ₁** (Figure 29.3).

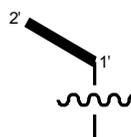


Figure 29.3 : Fragment éthyle de **MJ₁**

La structure de **MJ₁** a été complétée sur la base de la corrélation observée sur le spectre HMBC (Figure 29.9). Ainsi La corrélation entre le proton à δ_{H} 0.91 (H-2') et le carbone à δ_{C} 37.1 (C-5) a permis de relier le fragment éthyle à la longue chaîne alcane (position C-5) (Figure 29.4).

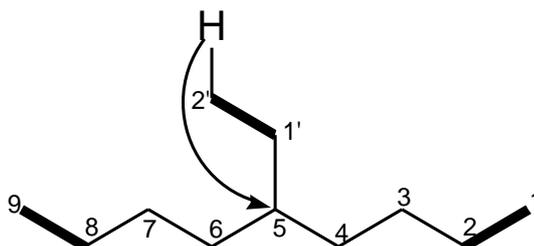
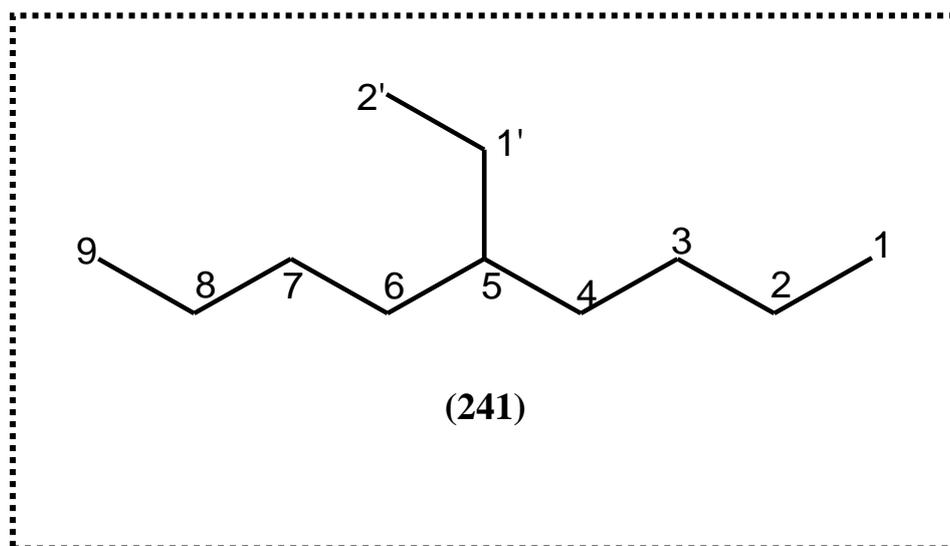


Figure 29.4 : Jonction entre le Fragment éthyle et la chaîne alcane de **MJ₁**

Tableau 7 : Valeurs des déplacements chimiques (^1H et ^{13}C) de **MJ₁** (CDCl_3).

N°	δ_{H} ppm (multi., J Hz)	δ_{C} ppm	DEPT
1	0.91 (t, $J = 6.7$ Hz)	14.1	CH_3
2	1.30	22.7	CH_2
3	1.27	31.9	CH_2
4	1.27	29.7	CH_2
5	1.27	37.1	CH
6	1.27	29.7	CH_2
7	1.27	31.9	CH_2
8	1.30 (m)	22.7	CH_2
9	0.91 (t, $J = 6.7$ Hz)	14.1	CH_3
1'	1.27 (m)	27.1	CH_2
2'	0.86 (t, $J = 6.7$ Hz)	19.7	CH_3

L'ensemble des données précédentes a permis d'établir la structure de **MJ₁** comme étant le 5-ethylnonane, nouvel alcane.



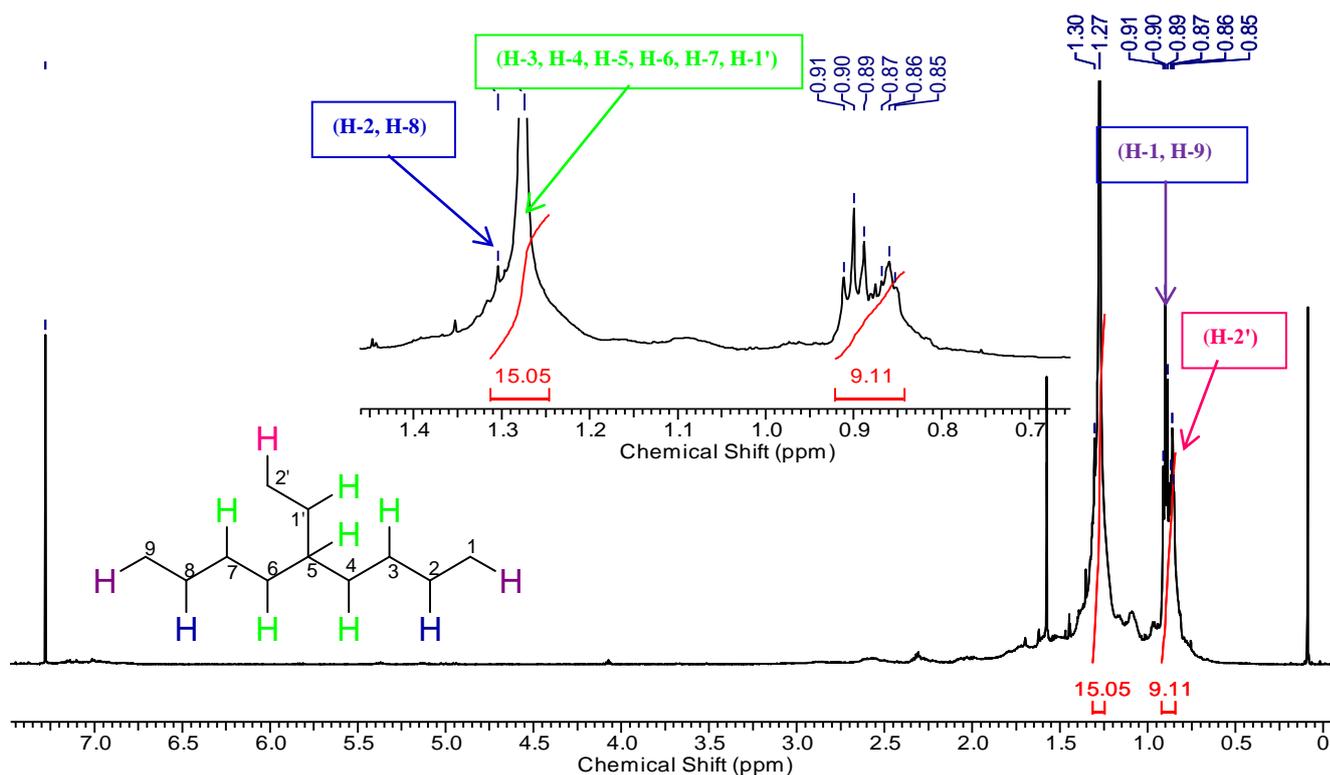


Figure 29.5 : Spectre RMN H du composé **MJ₁** (600 MHz, CDCl_3)

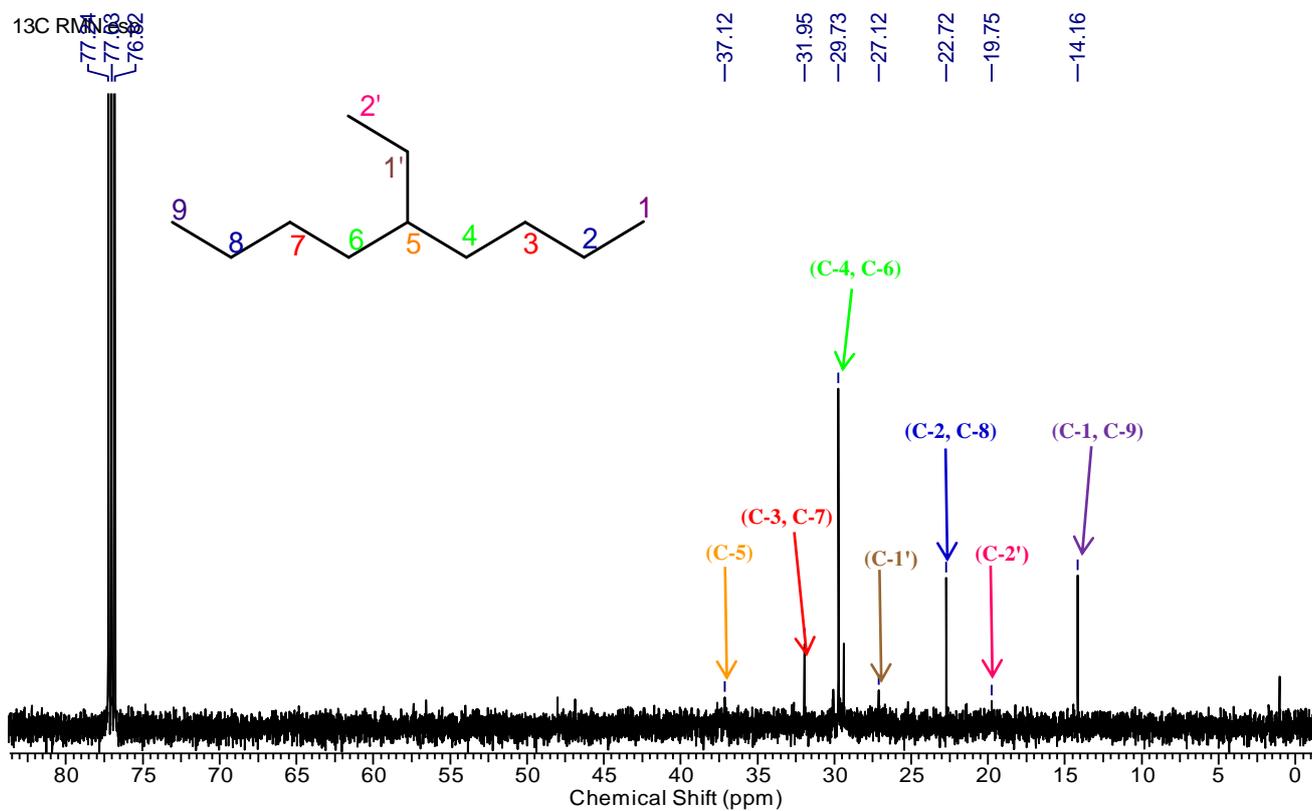


Figure 29.6 : Spectre RMN ^{13}C Jmod du composé **MJ₁** (150 MHz, MeOD)

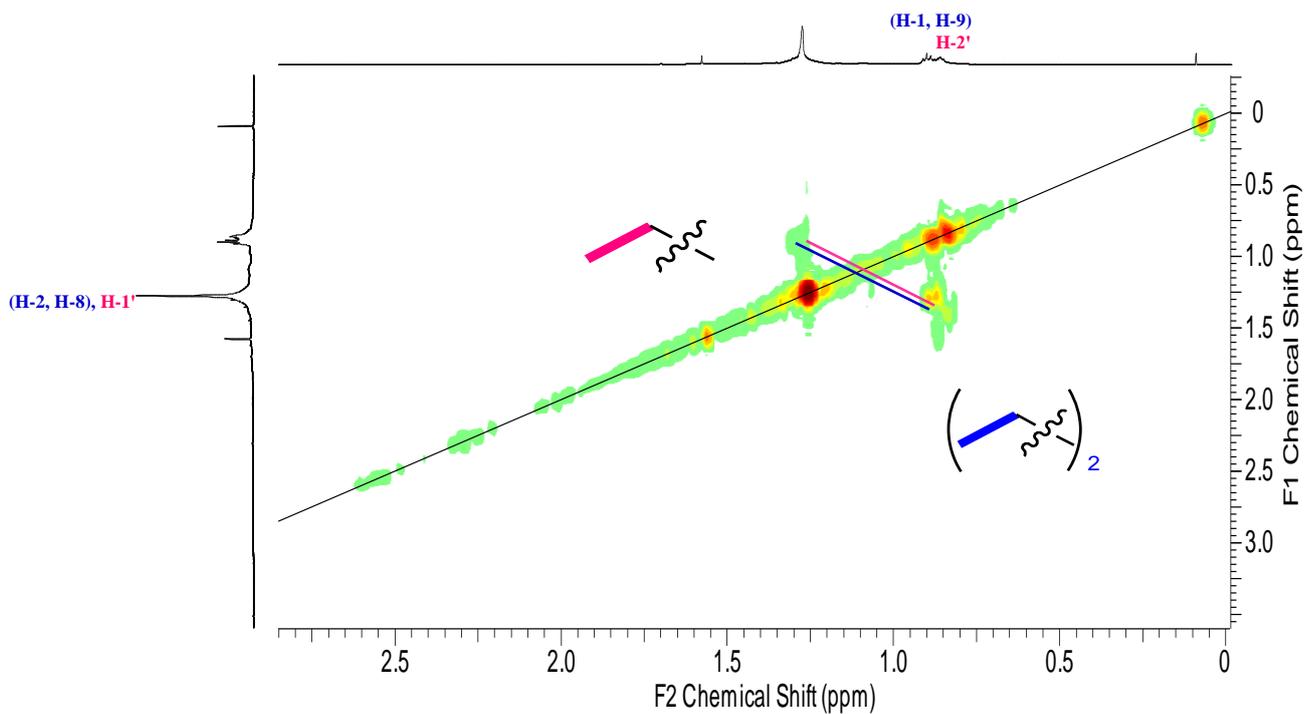


Figure 29.7 : Spectre COSY du composé **MJ₁** (CDCl₃)

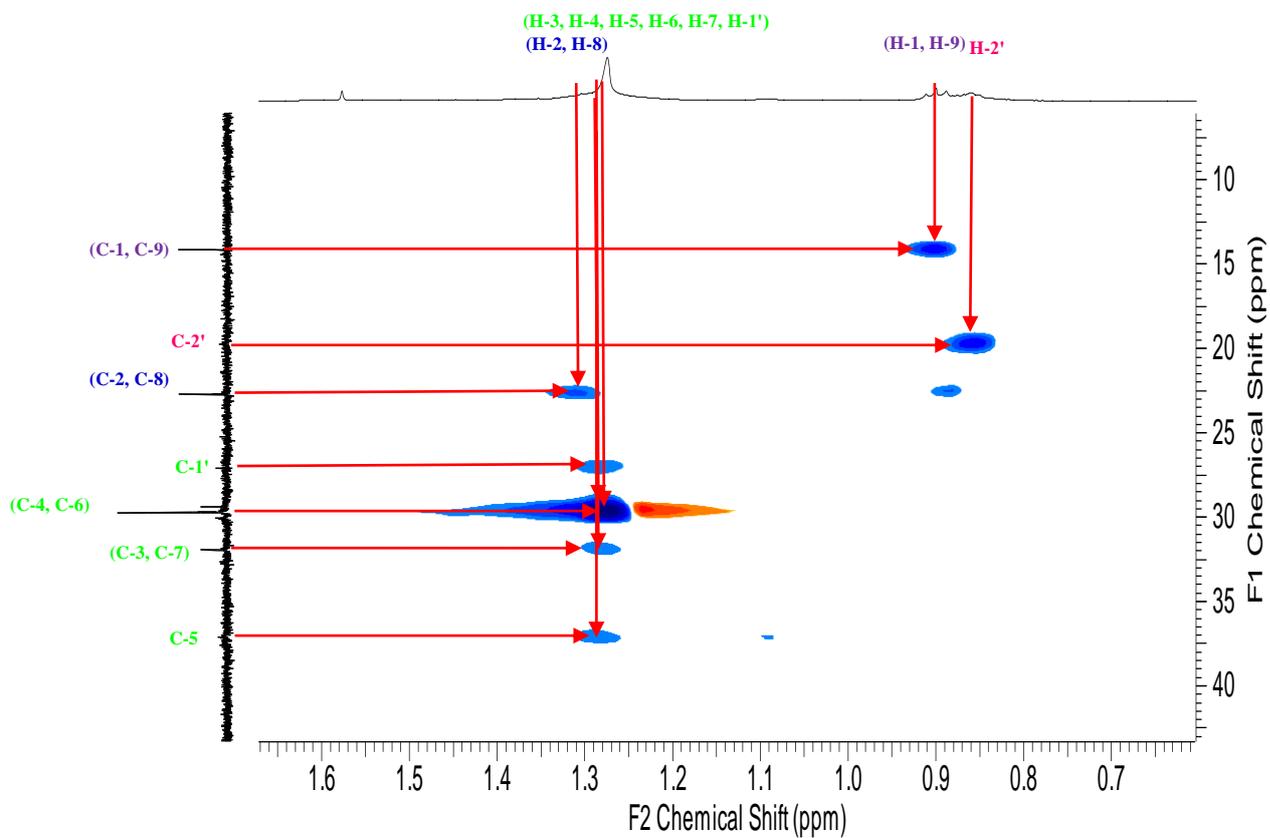


Figure 29.8 : Spectre HSQC du composé **MJ₁** (CDCl₃)

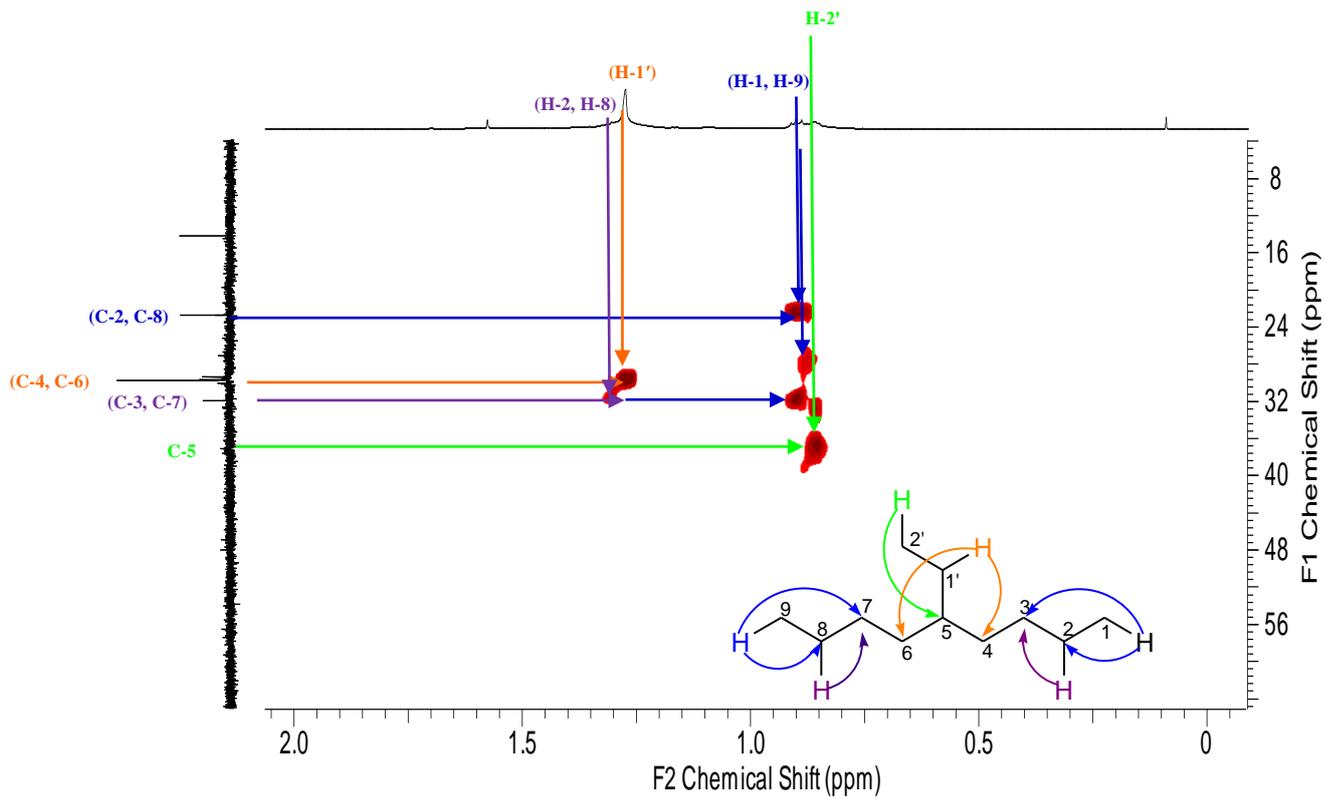


Figure 29.9 : Spectre HMBC du composé MJ₁ (CDCl₃)

II – 1 – 2 – 3– Détermination de la structure de MJ₆

MJ₆ a été obtenu sous forme de poudre blanche. L'analyse de son spectre de masse haute résolution ESI mode positif (Figure 30.1) permet d'observer un ion pseudo-moléculaire à m/z 737.1602 [$M + Na$]⁺ (calculée 737,8840), en accord avec la formule brute C₄₆H₅₀O₇Na.

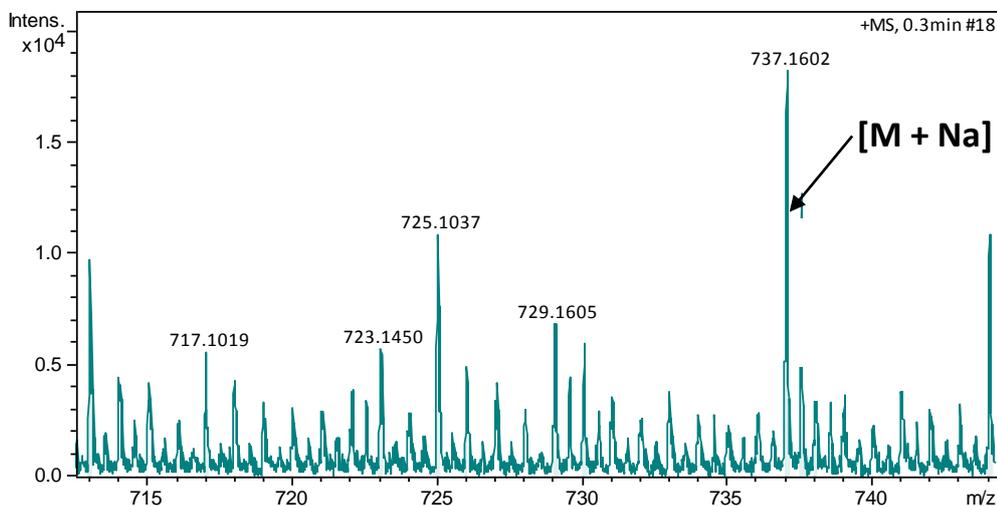


Figure 30.1 : Spectre de masse HR-ESI (+) de **MJ₆**

L'analyse du spectre RMN ¹³C de **MJ₆** (Figure 30.7) nous révèle la présence de signaux de 15 carbones dont douze aromatiques [δ_C 93.7 (C-6), 94.3 (C-8), 102.3 (C-10), 113.7 (C-2'), 114.9 (C-5'), 120.5 (C-6'), 132.3 (C-1'), 148.8 (C-3' et C-4'), 155.3 (C-9), 157.6 (C-5) et 158.7(C-7)], deux oxyméthines [δ_C 74.5 (C-3) et 80.1(C-2)] et un méthylène δ_C 26.0 (C-4) (Tableau 8.1).

L'analyse du spectre RMN ¹H de **MJ₆** (Figure 30.6) nous révèle la présence de cinq signaux de protons aromatiques dont deux à δ_H 6.26 (1H, d, 2.2 Hz, H-6) et δ_H 6.22 (1H, d, 2.2 Hz, H-8) qui corrélerent sur le spectre HSQC (Figure 30.8) avec les carbones à δ_C 93.7 (C-6), 94.3 (C-8) et qui suggèrent la présence d'un cycle aromatique 1,2,3,5 tetrasubstitué (noyau A) et trois à δ_H 7.00 (1H, d, 1.5 Hz, H-2'), δ_H 6.95 (1H, d, 9.4 Hz, H-5') et δ_H 6.93 (1H, dd, 1.5 ; 9.4 Hz, H-6') qui corrélerent sur le spectre HSQC avec les carbones à δ_C 113.7 (C-2'), δ_C 114.9 (C-5'), δ_C 120.5 (C-6') et suggèrent la présence d'un cycle aromatique 1,3,4-trisubstitué (noyau B). D'autres signaux caractéristiques des protons oxyméthines à δ_H 4.78 (1H, d, 5.2 Hz, H-2) et (δ_H 3.72, 1H, ddd, 5.2, 5.6 et 8.6 Hz, H-3) et celui des protons méthylènes [δ_H 2.69 (1H, dd, 8.6 et 16.5 Hz, H-4) et δ_H 3.06 (1H, dd, 5.2 et 16.5 Hz, H'-4)] sont observées (noyau C). La constante de couplage ($J = 5.2$ Hz) entre H-2 et H-3 du noyau C suggère une stéréochimie trans (Tableau 8.1). Ces données nous permettent de suggérer la présence d'un fragment epicatechine (Morimoto et al, 1986) (Figure 30.2).

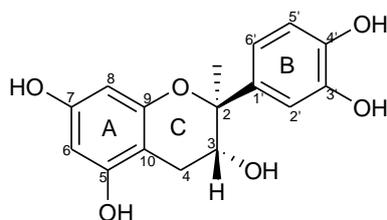


Figure 30.2 : Epicatechine ou flavan-3-ol de **MJ₆**

Cependant l'analyse du spectre COSY (Figure 30.8) montre les corrélations des protons δ_H 5.22 (H-5'') et δ_H 5.14 (H-6'') ce qui suggère la présence d'un fragment 1,2-dihydroxyethane. L'analyse du spectre HMBC (Figure 30.10) nous montre les corrélations entre les protons à δ_H 5.22 (H-5'') et δ_H 5.14 (H-6'') avec les carbones à δ_C 148.8 (C-3' et C-4') ce qui suggère le lien entre le fragment 1,2-dihydroxyethane et le noyau B du fragment epicatechine. L'aglycone de **MJ₆** a ainsi été identifié comme étant celui d'un flavanolignane portant différents substituants (Figure 30.3).

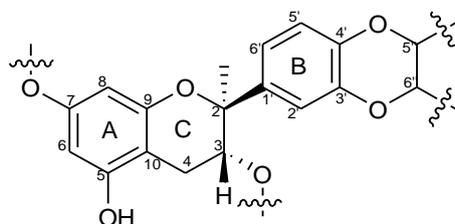


Figure 30.3 : Aglycone de **MJ₆**

Tableau 8.1: Valeurs des déplacements chimiques (1H et ^{13}C) de l'aglycone de **MJ₆**

N°	δ_H ppm (multi., J Hz)	δ_C ppm	DEPT
2	4.78 (d, $J = 5.2$ Hz)	80.1	CH
3	3.72 (ddd $J = 5.2, 5.6$ et 8.6 Hz,)	74.5	CH
4	2.69 (dd, $J = 8.6$ et 16.5 Hz)	26.0	CH ₂
	3.06 (dd, $J = 5.2$ et 16.5 Hz)		
5	—	157.6	C
6	6.26 (d, $J = 2.2$ Hz)	93.7	CH
7	—	158.7	C
8	6.22 (d, $J = 2.2$ Hz)	94.3	CH
9	—	155.3	C
10	—	102.3	C
1'	—	132.3	C
2'	7.00 (d, $J = 1.5$ Hz)	113.7	CH
3'	—	148.8	C
4'	—	148.8	C
5'	6.95 (d, $J = 9.4$ Hz)	114.9	CH
6'	6.93 (dd, $J = 9.4$ et 1.5 Hz)	120.5	CH
5''	5.22 (d, $J = 6.4$ Hz)	71.3	CH
6''	5.14 (dd, $J = 6.4$ et 12.0 Hz)	71.0	CH

Les déplacements chimiques des différents substituants de l'aglycone de **MJ₆** ont été complètement attribués à l'aide des expériences RMN 1D, COSY, HSQC et HMBC.

Par ailleurs le spectre RMN ¹H de **MJ₆** (Figure 30.6) nous révèle la présence de huit autres signaux aromatiques dont quatre à δ_H 7.04 (1H, dd, 1.8 et 7.1 Hz, H-2 γ), δ_H 7.24 (1H, dd, 1.5 et 7.1 Hz, H-3 γ), δ_H 7.26 (1H, dd, 1.5 et 7.1 Hz, H-5 γ) et δ_H 7.06 (1H, dd, 1.8 et 7.1 Hz, H-6 γ) qui corrélient sur le spectre HSQC avec les carbones à δ_C 127.5 (C-2 γ et C-6 γ), δ_C 127.9 (C-3 γ et C-5 γ) et qui suggèrent la présence d'un cycle aromatique 1,4 disubstitué (noyau D) et quatre autres à δ_H 7.33 (1H, dd, 1.5 et 7.9 Hz, H-2 α) δ_H 7.38, 1H, dd, 1.5 et 7.1 Hz, H-3 α) δ_H 7.34, 1H, dd, 1.5 et 7.1 Hz, H-5 α) et δ_H 7.22, 1H, dd, 1.5 et 7.9 Hz, H-6 α) qui corrélient sur le spectre HSQC avec les carbones à δ_C 128.2 (C-2 α), δ_C 128.6 (C-3 α), δ_C 128.4 (C-5 α) et δ_C 127.8 (C-6 α) et qui suggèrent la présence d'un cycle aromatique 1,4 disubstitué (noyau F). On observe également cinq autres signaux aromatiques à δ_H 7.46 (1H, m, H-2 β), δ_H 7.35 (1H, m, H-3 β), δ_H 7.41, 1H, m, H-4 β), δ_H 7.33, 1H, m, H-5 β) et δ_H 7.48, 1H, m, H-6 β) qui corrélient sur le spectre HSQC avec les carbones à δ_C 127.2 (C-2 β et C-6 β), δ_C 128.5 (C-3 β et C-5 β), δ_C 127.3 (C-4 β) et qui suggèrent la présence d'un cycle aromatique monosubstitué (noyau E) (Figure 30.4) ; deux signaux de protons oxyméthylènes sont observés à δ_H 5.00 (2H, dd, 6.4 et 12.0 Hz, H- γ) et [δ_H 4.12 (1H, d, 11.6 Hz, H- α) et δ_H 4.29 (1H, d, 5.6 Hz, H'- α)] qui corrélient sur le spectre HSQC avec les carbones à δ_C 69.9 (C- γ) et δ_C 71.6 (C- α) ; un signal de protons hydroxy méthylènes à δ_H 5.10 (2H, d, 12.0 Hz, H- β) qui corréle sur le spectre HSQC avec le carbone à δ_C 70.1 (C- β) ; Deux larges signaux de protons méthylènes sont observés à δ_H 1.27 (8H, m, H-1a, H-2a, H-3a et H-1b) et δ_H 1.32 (4H, m, H-2b et H-4a) qui corrélient sur le spectre HSQC avec les carbones à δ_C 29.3–37.1 (C-1a, C-1b, C-2a, C-3a) et δ_C 22.7 (C-10a, C-2b) δ_C 69.9 (C- γ) ; deux signaux de protons méthyles à δ_H 0.86 (3H, t, $J=7.5$, H-3b) et δ_H 0.91 (3H, t, $J=7.1$ Hz, H-5a) qui corrélient sur le spectre HSQC avec les carbones à δ_C 14.1 (C-3a, C-5b) (Tableau 8.2).

De plus, le spectre RMN ¹³C montre six autres carbones dont cinq aromatiques quaternaires à δ_C 137.0 (C-1 β), δ_C 137.1 (C-1 α), δ_C 137.2 (C-4 α), δ_C 136.9 (C-1 γ) et δ_C 137.9 (C-4 γ). (Tableau 8.2). Le spectre HMBC révèle la présence des fragments propyle et butyle qui occupent chacun l'une des positions 1,4 des noyaux D et F. La corrélation entre le proton à δ_H 5.00 (H- γ) avec δ_C 127.5 (C-2 γ) suggère un fragment oxyméthylène-phenyle (noyau D), la corrélation entre le proton à δ_H 4.12 (H- α) avec δ_C 127.8 (C-6 α) suggère un fragment oxyméthylène-phenyle (noyau E) (Figure 30.4).

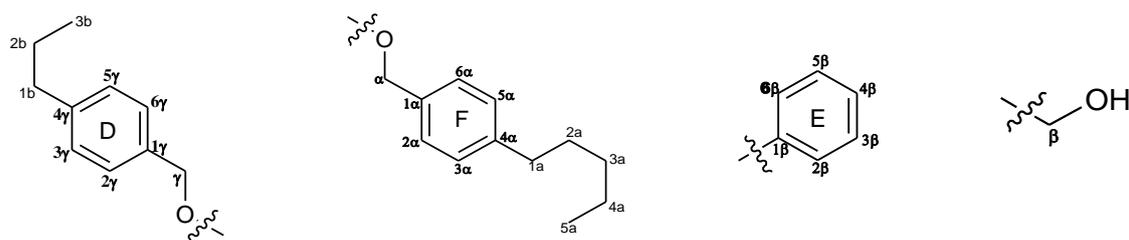


Figure 30.4 : Substituants de l'aglycone de **MJ₆**

Tableau 8.2: Valeurs des déplacements chimiques (^1H et ^{13}C) des substituants de l'aglycone de **MJ6**

N°	δ_{H} ppm (multi., J Hz)	δ_{C} ppm	DEPT
α	4.12 (d, $J = 11.6$ Hz) 4.29 (d, $J = 5.6$ Hz)	71.6	CH_2
β	5.10 (d, $J = 12.0$ Hz)	70.1	CH_2
γ	5.00 (dd, $J = 6.4$ et 12.0 Hz)	69.9	CH_2
1 α	—	137.1	C
2 α	7.33 (dd, $J = 7.9$ et 1.5 Hz)	128.2	CH
3 α	7.38 (dd, $J = 7.1$ et 1.5 Hz)	128.6	CH
4 α	—	137.2	C
5 α	7.34 (dd, $J = 7.1$ et 1.5 Hz)	128.4	CH
6 α	7.22 (dd, $J = 7.9$ et 1.5 Hz)	127.8	CH
1a	1.27	37.1	CH_2
2a	1.27	29.7	CH_2
3a	1.27	31.9	CH_2
4a	1.32 (m)	22.7	CH_2
5a	0.91 (t, $J = 7.1$ Hz)	14.1	CH_3
1 β	—	137.0	C
2 β	7.44 (m)	127.2	CH
3 β	7.35 (m)	128.5	CH
4 β	7.41 (m)	127.3	CH
5 β	7.33 (m)	128.5	CH
6 β	7.48 (m)	127.2	CH
1 γ	—	136.9	C
2 γ	7.04 (dd, $J = 1.8$ et 7.1 Hz)	127.5	CH
3 γ	7.24 (dd, $J = 1.5$ et 7.1 Hz)	127.9	CH
4 γ	—	137.9	C
5 γ	7.26 (dd, $J = 1.5$ et 7.1 Hz)	127.9	CH
6 γ	7.06 (dd, $J = 1.8$ et 7.1 Hz)	127.5	CH
1b	1.27	37.1	CH_2
2b	1.32 (m)	22.7	CH_2
3b	0.86 (t, $J = 7.5$ Hz)	14.1	CH_3

La structure de **MJ6** a été complétée sur la base des expériences COSY, HSQC, HMBC et NOESY.

- ✓ la corrélation observée sur le spectre COSY (figure 30.8) entre le proton à δ_{H} 5.14 (H-6'') et à δ_{H} 5.10 (H- β) permet de relier le fragment hydroxy méthylène à notre aglycone (Figure 40.4) ;
- ✓ la corrélation observée sur le spectre HMBC (figure 30.10) entre le proton à δ_{H} 5.00 (H- γ) et le carbone à δ_{C} 158.7 (C-7) suggère que le fragment oxyméthylène-phényle (noyau D) est lié à l'aglycone en position (C-7) ;
- ✓ la corrélation observée sur le spectre HMBC entre le proton à δ_{H} 4.12 (H- α) et le carbone à δ_{C} 74.5 (C-3) suggère que le fragment oxyméthylène-phényle (noyau F) est lié à l'aglycone en position (C-3) (Figure 30.5) ;
- ✓ les corrélations observées sur le spectre HMBC entre le proton à δ_{H} 5.22 (H-5'') et les carbones à δ_{C} 137.0 (C-1 β) et δ_{C} 127.2 (C-6 β) suggèrent que le fragment oxyméthylène-phényle (noyau E) est lié à l'aglycone en position (C-5'') (Figure 30.5) ;
- ✓ la corrélation observée sur le spectre NOESY (Figure 30.11) entre les signaux de protons à δ_{H} 5.00 (H- γ) et δ_{H} 6.22 (H-8) confirme que le fragment oxyméthylène-phényle (noyau D) est lié à l'aglycone en position (C-7), celle entre δ_{H} 7.00 (H-2') et δ_{H} 5.10 (H- β) confirme que le

fragment hydroxy méthylène est lié à notre aglycone en position (C-6'') et celle entre δ_H 6.95 (H-5') et δ_H 7.48 (H-6 β) confirme que le fragment oxyméthylène-phenyle (noyau E) est lié à l'aglycone en position (C-5'') (Figure 30.5).

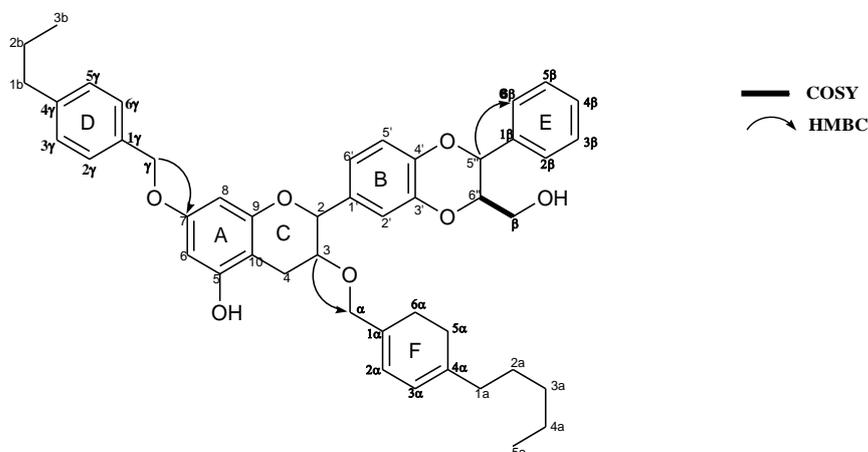
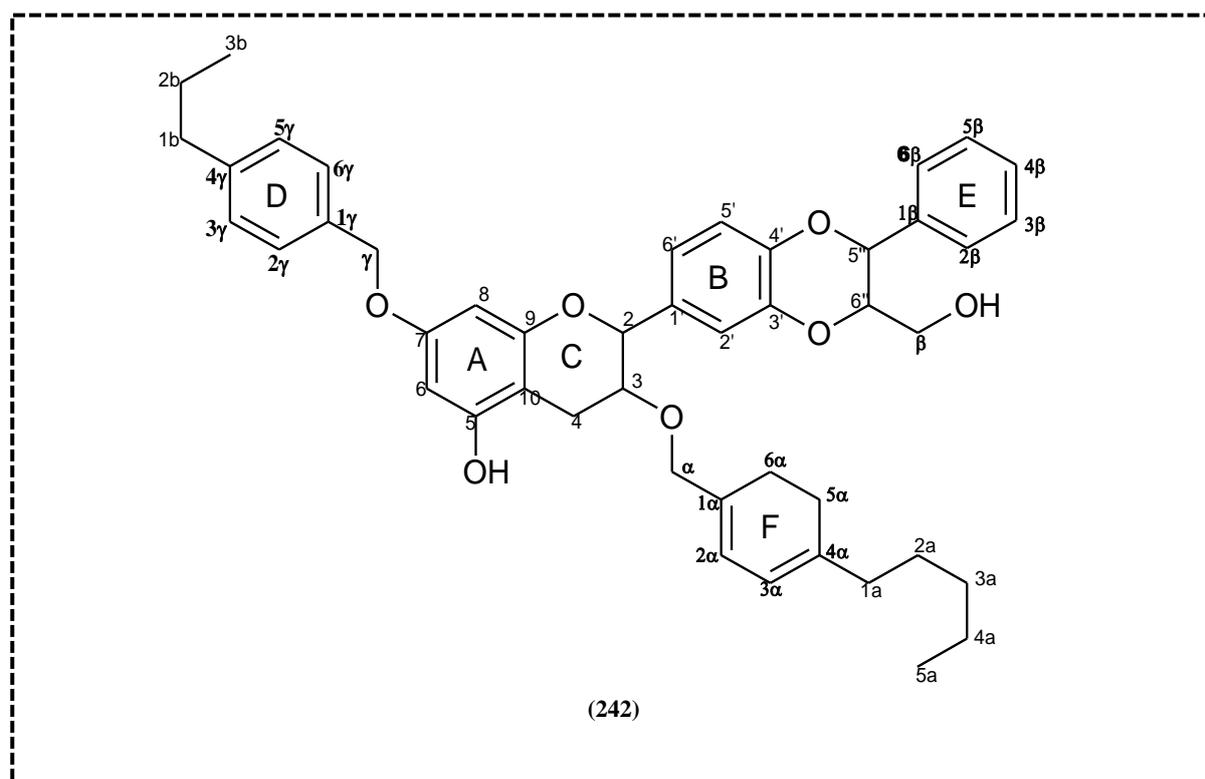


Figure 30.5 : Jonction des substituants avec l'aglycone de **MJ6**.

L'ensemble des données précédentes a permis d'établir la structure de **MJ6** comme étant le 3-(1-methoxy-4-pentylphenyl)-7-(1-methoxy-4-propylphenyl)-5''-phenyl-6''-(hydroxyméthyl)-5'',6''-dihydro[1,4]dioxino[2'',3'':3',4'] flavane ou 3-(1-methoxy-4-pentylphenyl)-2-[3-(hydroxyméthyl)-2-phenyl]-1,4-benzodioxin-6-yl]-2,3-dihydro-2H-1-[5-hydroxy-7-(1-methoxy-4-propylphenyl)pyrane une nouvelle flavanolignane.



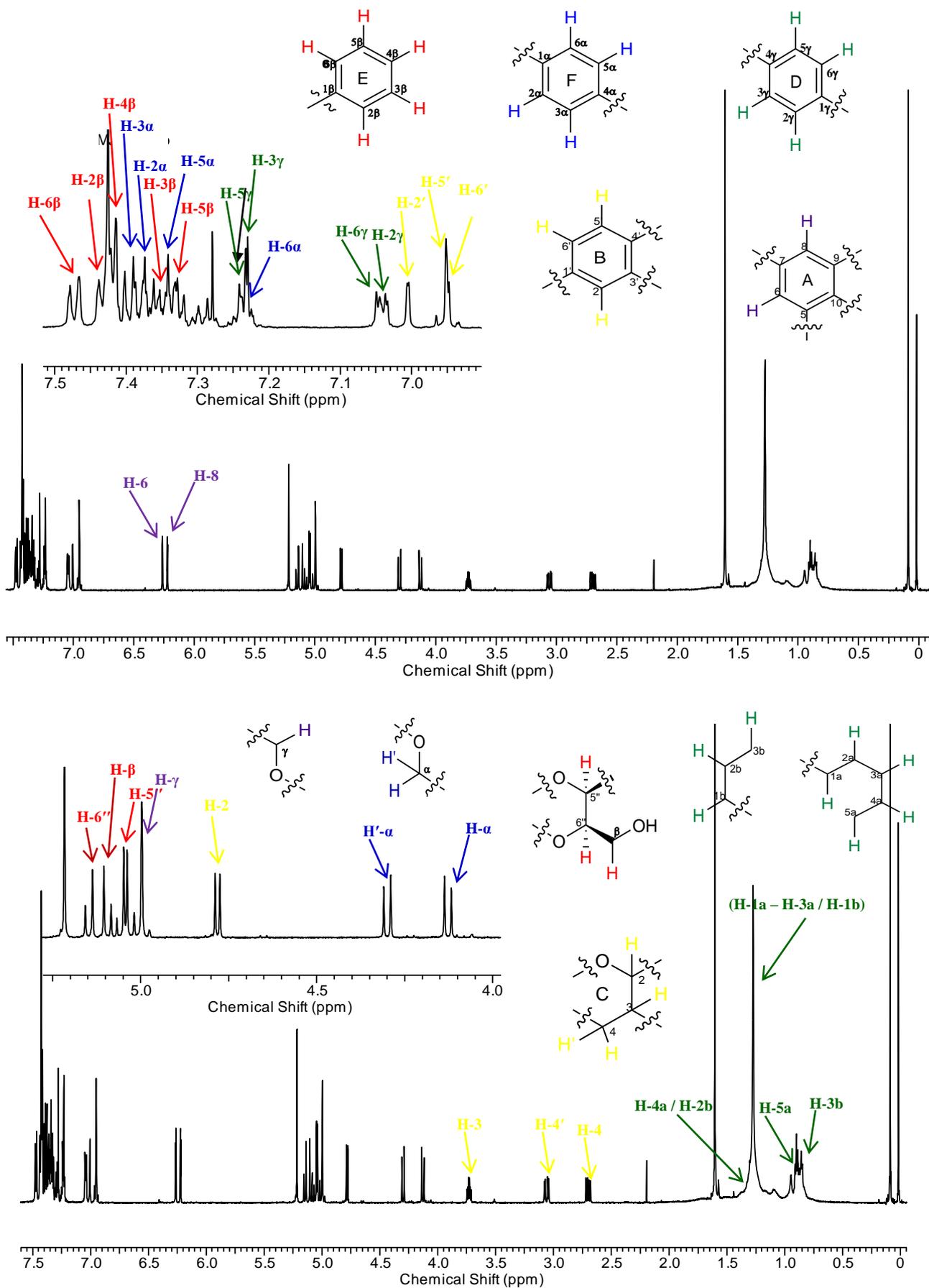


Figure 30.6 : Spectre RMN H du composé **MJ6** (600MHz, CDCl_3)

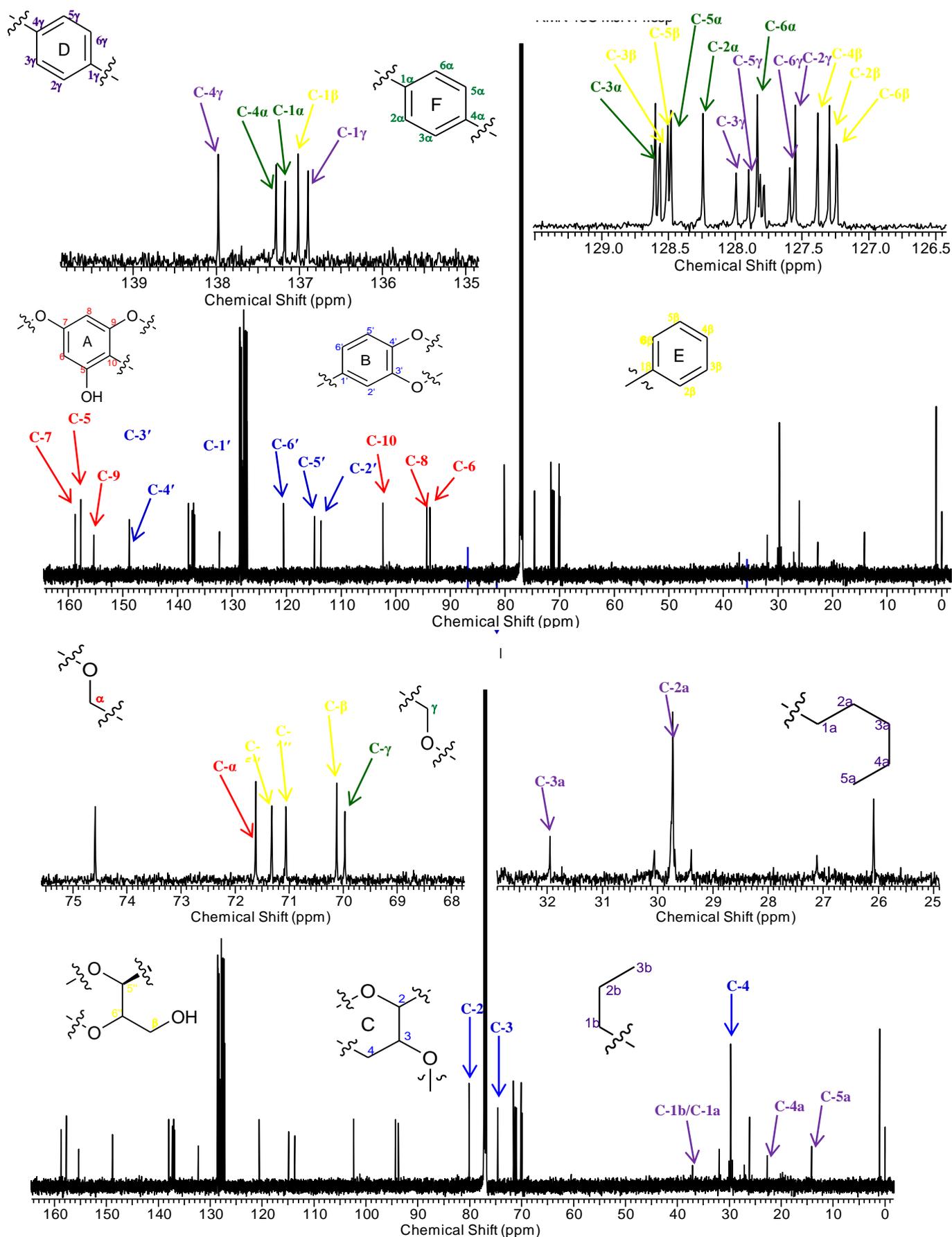


Figure 30.7 : Spectre RMN ^{13}C du composé MJ_6 (150MHz, CDCl_3)

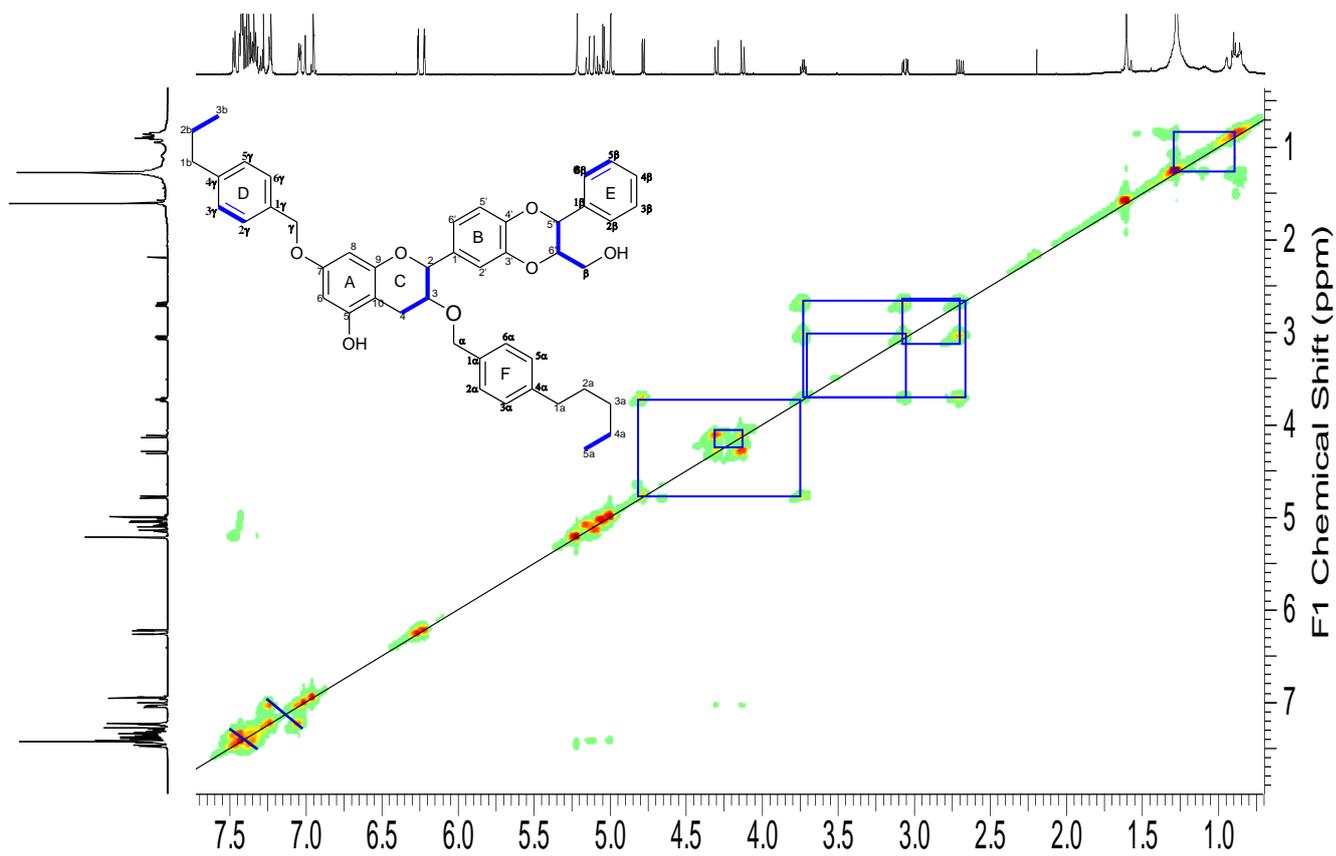


Figure 30.8 : Spectre COSY du composé MJ6

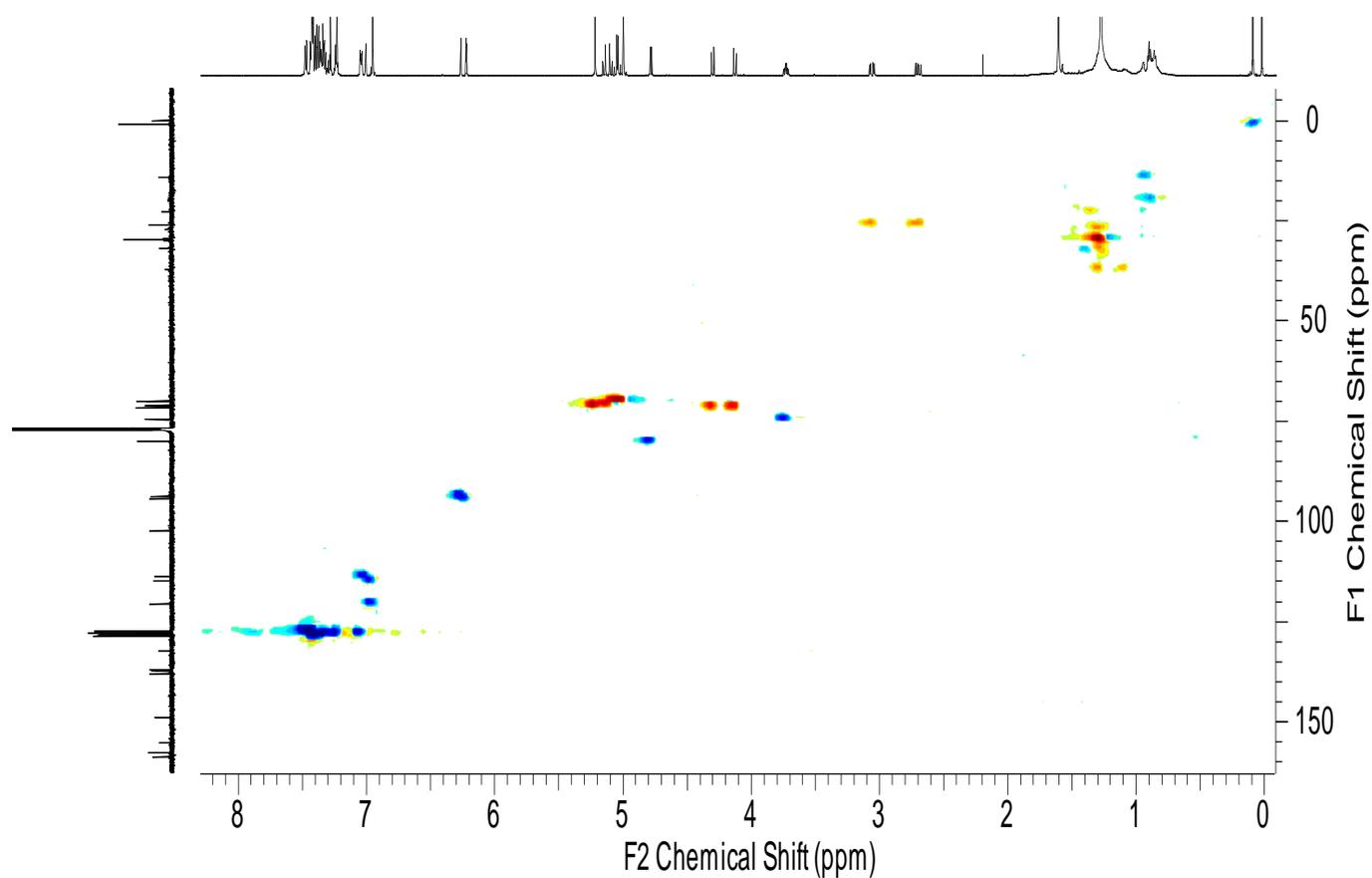


Figure 30.9 : Spectre HSQC du composé MJ6

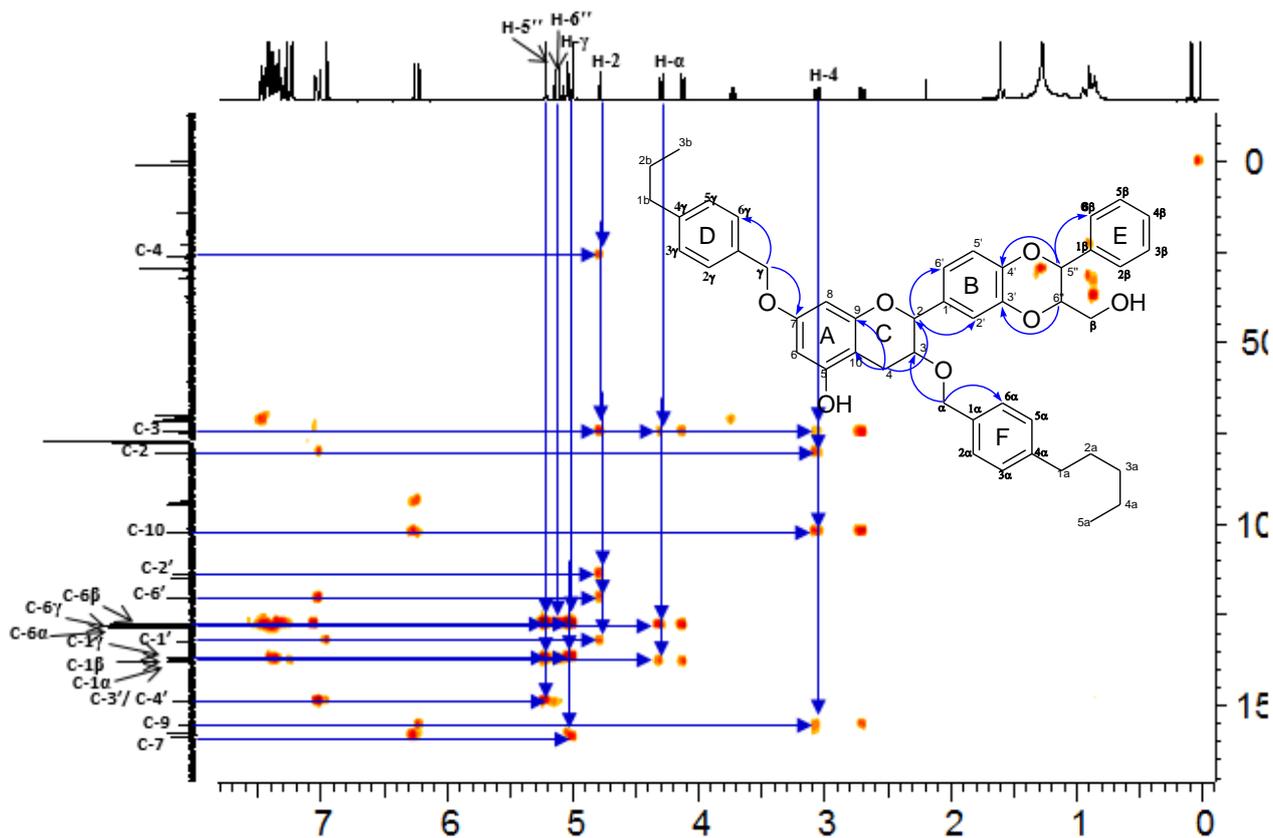


Figure 30.10 : Spectre HMBC du composé MJ₆

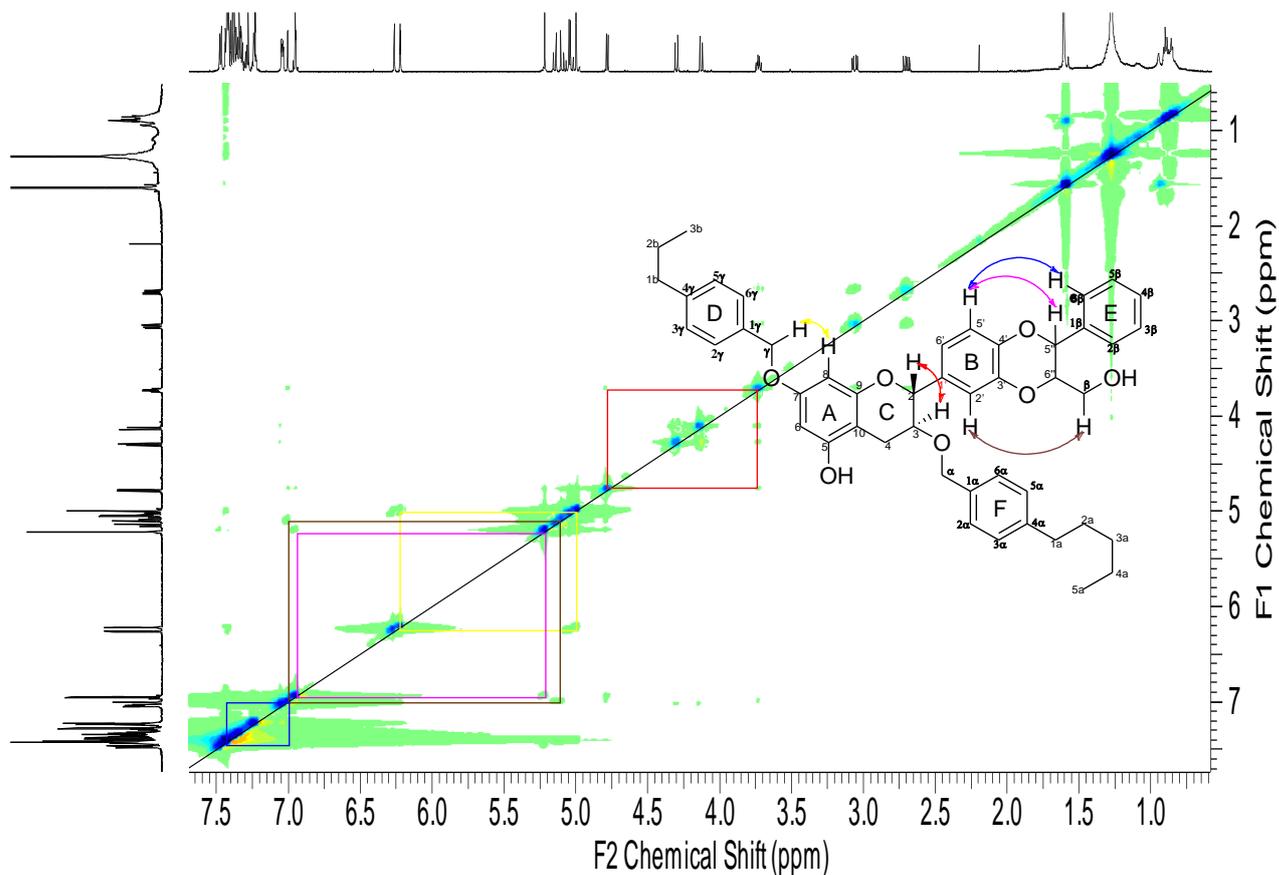


Figure 30.11 : Spectre NOESY du composé MJ₆

II – 1 – 2 – 4 – Identification de la structure MJ₂

MJ₂ a été isolé sous forme de poudre blanche. L'analyse de son spectre de masse haute résolution ESI (mode positif), permet d'observer un ion pseudo-moléculaire à m/z 465.3919 [$M+Na$]⁺ (calculée 465.7096), en accord avec la formule brute C₂₇H₅₄O₄Na.

L'analyse de son spectre RMN ¹H de **MJ₂** nous révèle la présence d'un groupement méthine hydroxylé sous forme de multiplet à δ_H 3.83 (1H, m, H-2') qui corrèle sur le spectre HSQC (Figure 31b) avec le carbone à δ_C 70.4 (C-2'), deux groupements méthylène portant chacun un atome d'oxygène à [δ_H 4.06 (1H, dd, J = 11.4; 6.1 Hz, H-1'_a) et 4.11 (1H, dd, J = 11.4; 4.8 Hz, H-1'_b)] et à [δ_H 3.60 (1H, dd, J = 11.4; 6.0 Hz, H-3'_b) et 3.70 (1H, dd, J = 11.4; 4.6 Hz, H-3'_a)] qui corrélerent sur le spectre HSQC respectivement avec les carbones à δ_C 65.6 (C-1') et δ_C 63.4 (C-3'). De plus, les corrélations observées entre les protons à δ_H 4.11 (H-1') et δ_H 3.83 (H-2'), δ_H 3.83 (H-2') et δ_H 3.70 (H-3') sur le spectre COSY (Figure 31.3) nous conduit à suggérer une unité glycérol (Figure 31.1).

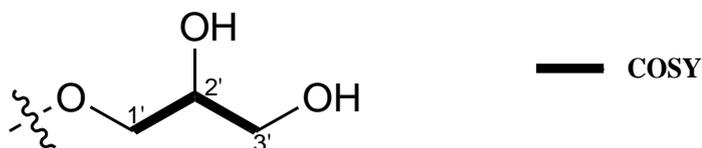


Figure 31.1 : unité glycérol de **MJ₂**

Par ailleurs, le spectre RMN ¹H de **MJ₂** nous révèle la présence de signaux de protons α -méthylènes à δ_H 2.35 (2H, t, J = 7.7 Hz, H-2 _{α} / H-2 _{α'}) et β -méthylène à δ_H 1.60 (2H, m, H-3 _{β} / H-3 _{β'}) qui corrélerent sur le spectre HSQC (Figure 31.4) respectivement avec les carbones à δ_C 34.5 (C-2) et à δ_C 25.3 (C-3), un large signal de protons méthylènes entre δ_H 1.22 – 1.32 (38H, m, H₄₋₂₃) qui corrélerent sur le spectre HSQC avec les carbones entre δ_C 23.1 and 32.3 (19 CH₂) et un signal de protons méthyles terminaux à δ_H 0.87 (3H, t, J = 7.6 Hz, H-24) qui corrélerent sur le spectre HSQC avec le carbone δ_C 14.1 (C-24) (Tableau 9). Le spectre RMN ¹³C montre également un signal du carbonyle d'un ester à δ_C 174.4 (C-1). De plus, les corrélations observées entre les signaux de protons à δ_H 0.87 (H-24) et δ_H 1.30 (H-23), δ_H 2.35 (H-2) et δ_H 1.63 (H-3), δ_H 1.63 (H-3) et δ_H 1.26 (H-4) sur le spectre COSY (Figure 31.3) et les corrélations observées entre les protons et les carbones à δ_H 2.35 (H-2) et δ_C 25.3 (C-3), δ_C 29.5 (C-4), δ_H 1.60 (H-3) et δ_C 29.5 (C-4), δ_H 0.87 (H-24) et δ_C 23.1 (C-23), δ_C 32.3 (C-22) sur le spectre HMBC (Figure 31.5) suggèrent une longue chaîne acyclique liée à un carbonyle (Figure 31.2).

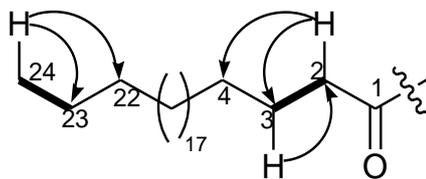
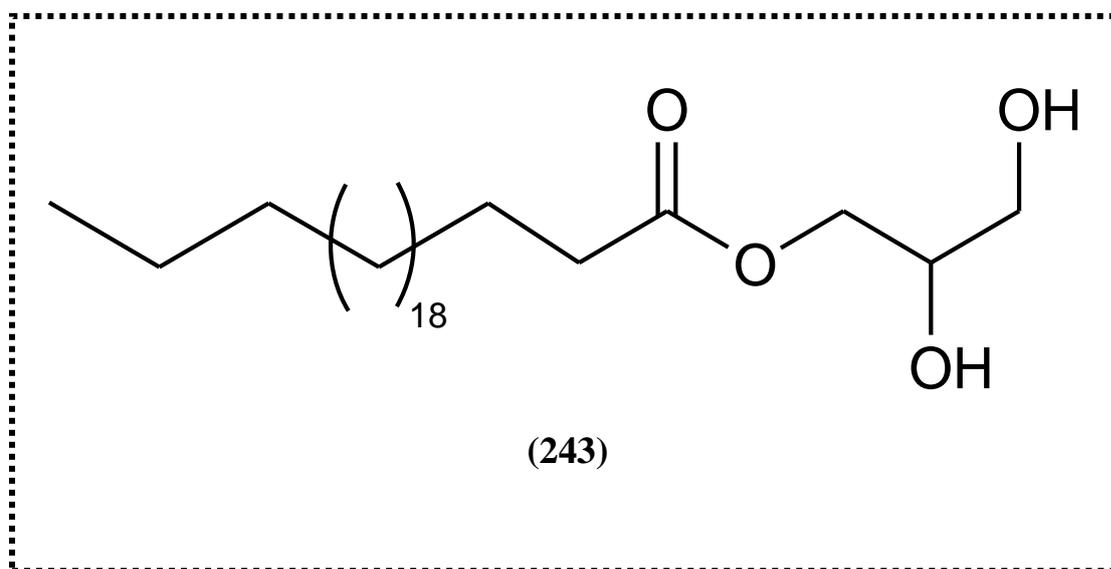


Figure 31.2 : longue chaîne acyclique de **MJ₂**

Tableau 9 : Valeurs des déplacements chimiques (¹H et ¹³C) de **MJ₂**(CDCl₃).

N°	δ _H ppm (multi., <i>J</i> Hz)	δ _C ppm	DEPT
1	—	174.4	C
2	2.35 (t, <i>J</i> = 7.7 Hz)	34.5	CH ₂
3	1.60 (m)	25.3	CH ₂
4–21	1.26–1.32 (m)	29.5–30.1	CH ₂ – CH ₂
22	1.22 (m)	32.3	CH ₂
23	1.30 (m)	23.1	CH ₂
24	0.87 (t, <i>J</i> = 6.8 Hz)	14.1	CH ₃
1'	4.11 (dd, <i>J</i> = 11.4; 4.8 Hz), 4.06 (dd, <i>J</i> = 11.4; 6.1 Hz)	65.5	CH ₂
2'	3.83 (m)	70.4	CH
3'	3.70 (dd, <i>J</i> = 11.4; 4.6 Hz), 3.60 (dd, <i>J</i> = 11.4; 6.0 Hz)	63.4	CH ₂
OH	3.30 (s)	—	—

L'analyse complète des spectres RMN 1D et 2D de **MJ₂** et la comparaison des données obtenues avec celles de la littérature nous ont permis d'établir sa structure comme étant le tetracosanoate de 2,3-dihydroxypropyle, un monoglycéride connu, précédemment isolé de *Pentaclethra macrophylla* (Folefoc et al, 2004 ; Folefoc et al, 2005).



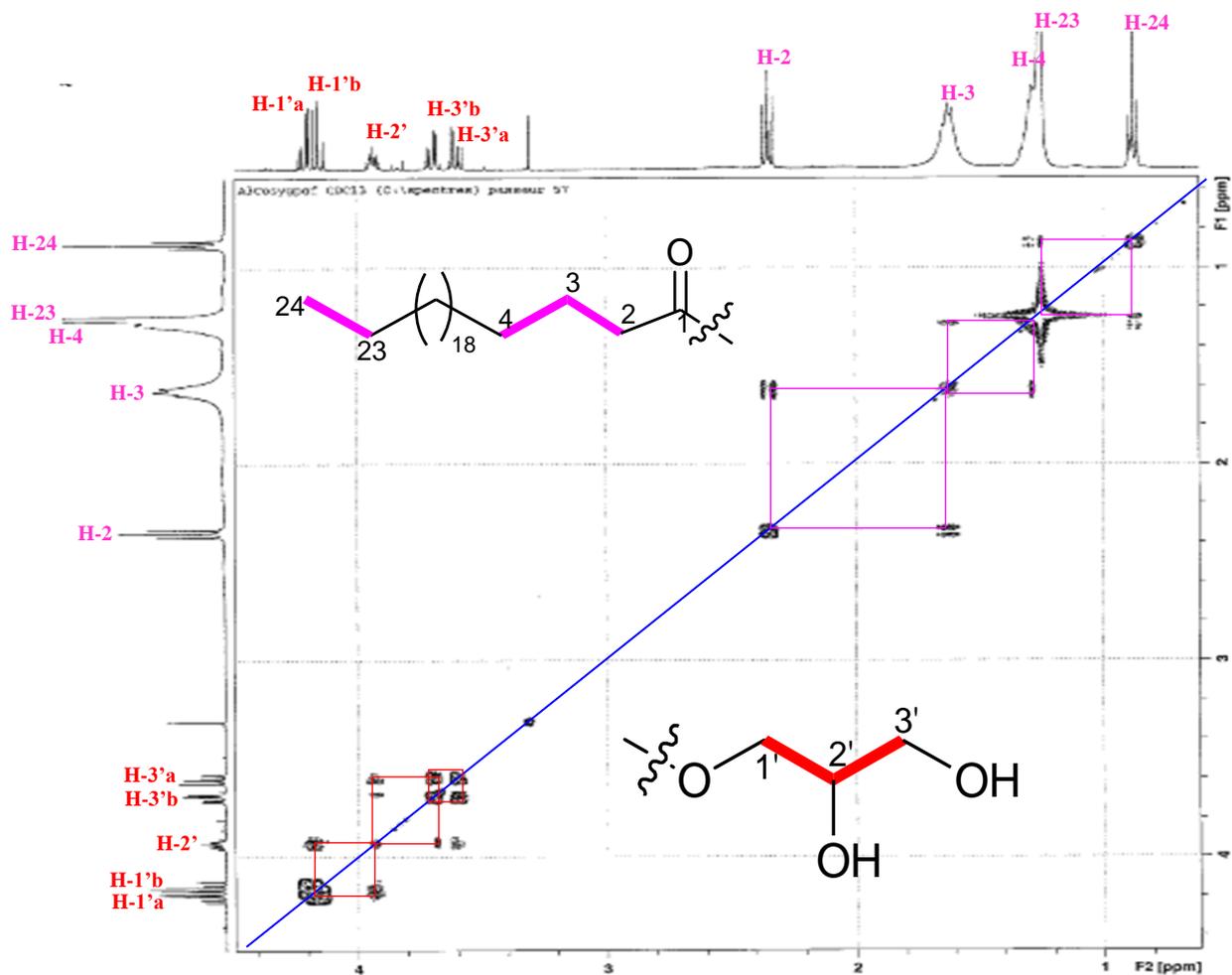


Figure 31.3 : Spectre COSY du composé MJ₂(CDCl₃)

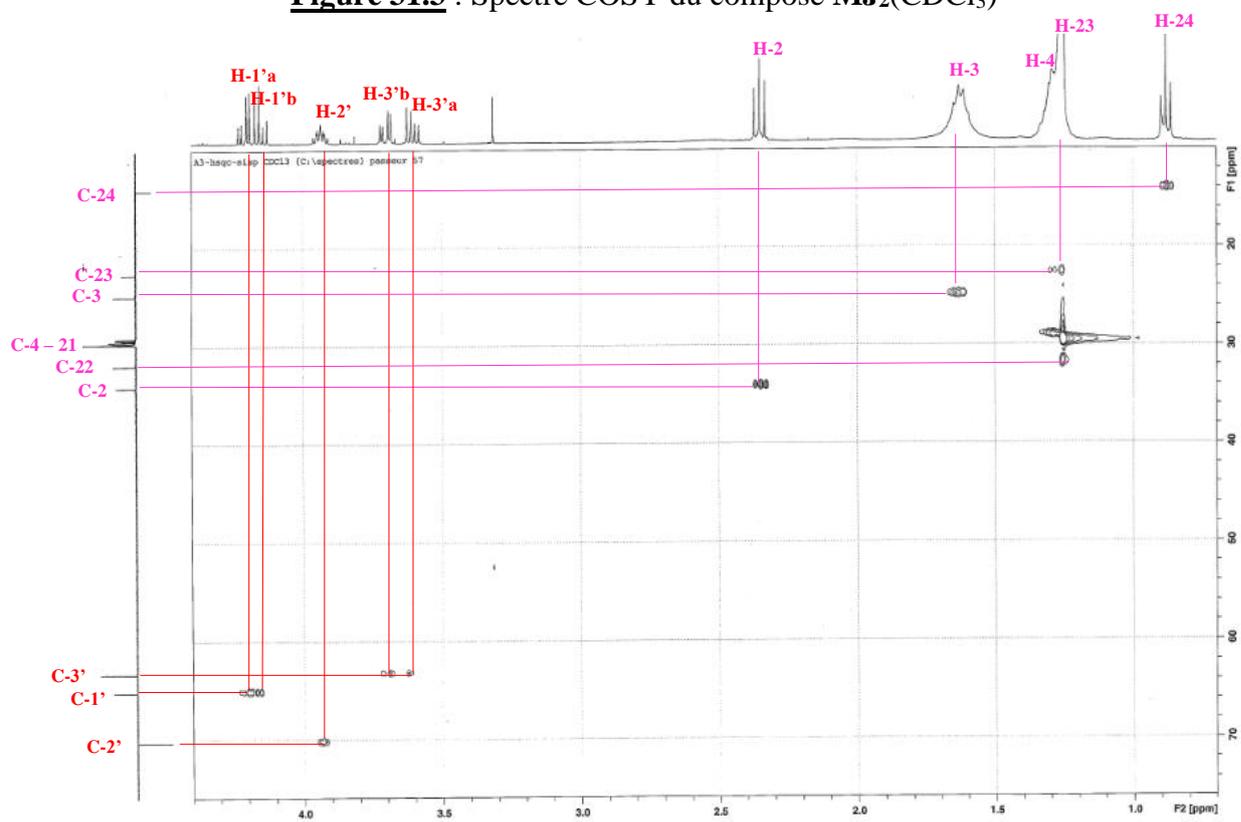


Figure 31.4 : Spectre HSQC du composé MJ₂(CDCl₃)

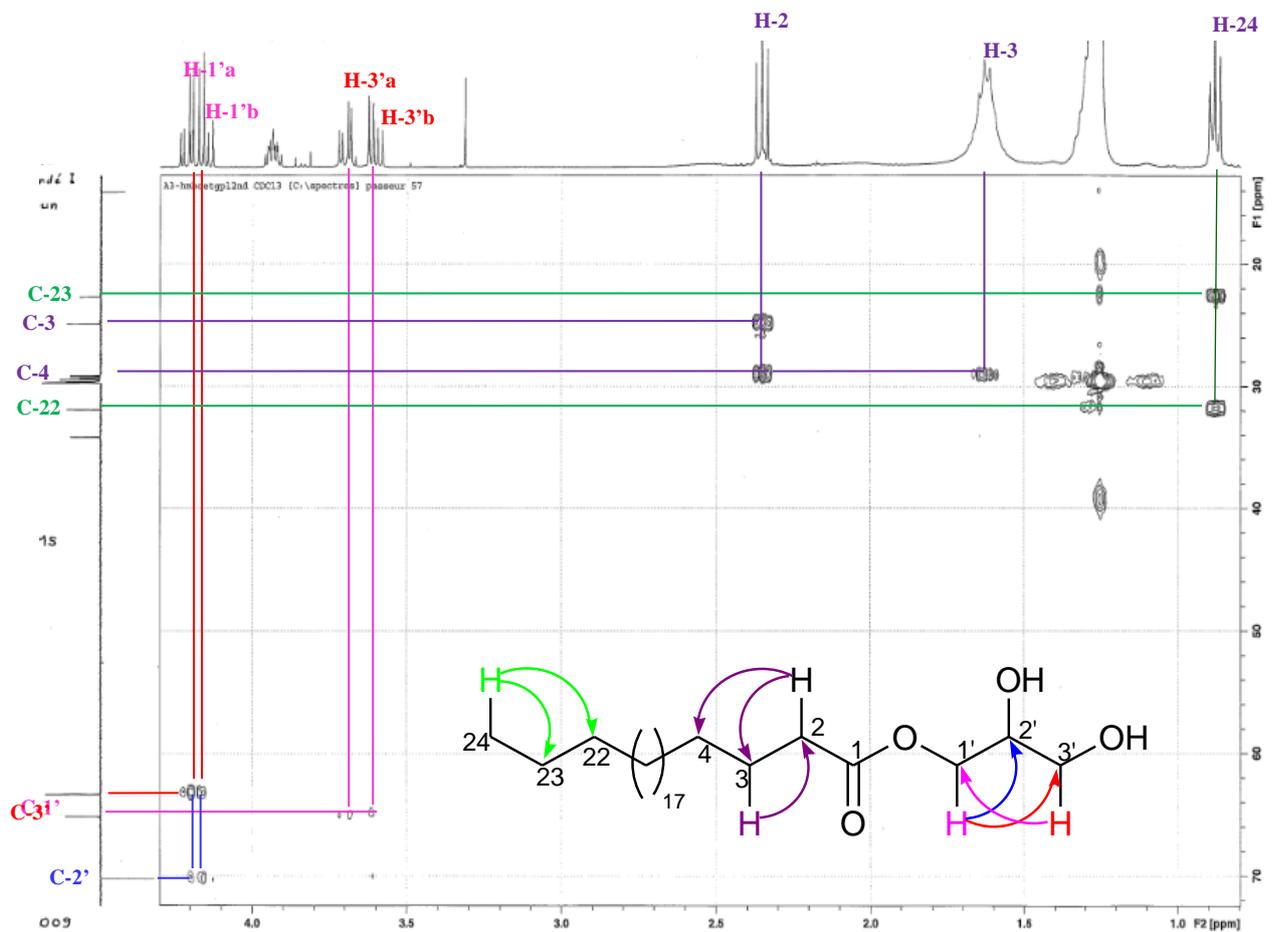


Figure 31.5 : Spectre HMBC du composé MJ₂(CDCl₃)

II – 1 – 2 – 5 – Identification de la structure **MJ5**

MJ5 a été isolé sous forme de cristaux blancs (PF : 236°C). L'analyse de son spectre de masse haute résolution ESI (mode positif), permet d'observer un ion pseudo-moléculaire à m/z 351.0895 $[M+Na]^+$ (calculée 351,2614), suggérant la formule moléculaire $C_{14}H_{16}O_9Na$.

L'analyse du spectre RMN 1H (Figure 32.4) de **MJ5** nous révèle la présence de cinq protons méthine liés chacun à un oxygène respectivement à δ_H 3.45 (1H, dd, $J = 8.5 ; 11.8$ Hz, H-4'), δ_H 3.68 (1H, ddd, $J = 2.0 ; 7.7 ; 11.8$ Hz, H-5'), 3.83 (1H, dd, $J = 8.5 ; 9.4$ Hz, H-3'), δ_H 4.08 (1H, dd, $J = 9.4 ; 10.4$ Hz, H-2') et δ_H 4.98 (1H, d, $J = 10.4$ Hz, H-1') qui corrént sur le spectre HSQC (Figure 32.7) respectivement aux carbones δ_C 70.4 (C-4'), δ_C 81.6 (C-5'), δ_C 80.0 (C-2'), δ_C 74.2 (C-3') et δ_C 72.8 (C-1'), deux protons méthylènes à δ_H 3.70 (1H, dd, $J = 7.7 ; 11.8$ Hz, H-6'a) et à δ_H 4.03 (1H, dd, $J = 2.0 ; 11.8$ Hz, H-6'b) qui corrént avec le carbone à δ_C 61.2 (C-6') (Tableau 10). De plus, les corrélations observées entre les signaux de protons à δ_H 4.98 (H-1') et δ_H 4.08 (H-2'), δ_H 4.08 (H-2') et δ_H 3.83 (H-3') ; δ_H 3.83 (H-3') et δ_H 3.45 (H-4'), δ_H 3.45 (H-4') et δ_H 3.68 (H-5'), δ_H 3.68 (H-5') et δ_H 3.72 (H-6'a) sur le spectre COSY (Figure 32.6) et celles observées entre les signaux de protons et carbones à δ_H 4.08 (H-2') et δ_C 72.8 (C-1')/ δ_C 74.2 (C-3'), δ_H 3.45 (H-4') et δ_C 80.0 (C-2')/ δ_C 81.6 (C-5') , δ_H 3.83 (H-3') et δ_C 70.4 (C-4')/ δ_C 72.8 (C-1'), δ_H 4.98 (H-1') et δ_C 74.2 (C-3') sur le spectre HMBC (Figure 32.8) suggèrent la présence dans **MJ5** d'une unité glucosyle (Figure 32.1)

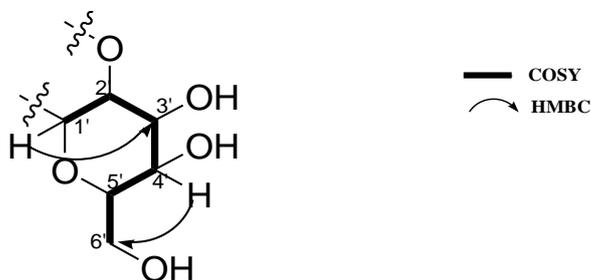


Figure 32.1 : Unité glucosyle de **MJ5**

Par ailleurs, le spectre RMN 1H (Figure 32.4) révèle la présence d'un proton aromatique à δ_H 7.09 (1H, s, H-6) qui corrént sur le spectre HSQC (Figure 32.7) avec un carbone à δ_C 109.6 (C-6), un méthoxyle à δ_H 3.91 (3H, s) qui corrént sur le spectre HSQC avec le carbone à δ_C 59.5. De plus, le spectre RMN ^{13}C (Figure 32.5) de **MJ5** nous montre un signal d'un carbonyle des esters à δ_C 164.4 (C-7) et cinq signaux de carbones quaternaires à δ_C 115.8 (C-2), δ_C 150.9 (C-5), δ_C 140.8 (C-4), δ_C 148.0 (C-3) et δ_C 118.0 (C-1) (Tableau 10). Les corrélations observées sur le spectre HMBC (Figure 32.8) entre le signal du proton à δ_H 7.09 (H-6) et les carbones à δ_C 164.4 (C-7)/ δ_C 140.8 (C-4)/ δ_C 150.9 (C-5)/ δ_C 115.8 (C-2) et entre δ_H 3.91 (3H, s) et δ_C 140.8 (C-4) suggèrent la présence d'un noyau aromatique penta substitué lié à un carbonyle en position (C-1) et à un méthoxyle (OMe) en position (C-4) (**Figure 32.2**).

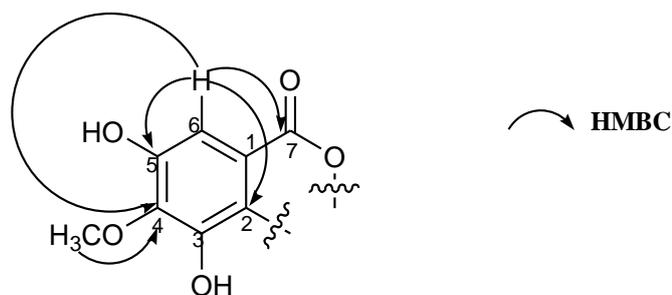


Figure 32.2 : Fragment aromatique de **MJ5**

La structure de **MJ5** a été complétée sur la base des corrélations observées sur le spectre HMBC (Figure 32.8). Ainsi les corrélations observées entre les signaux de protons et carbones à δ_H 4.98 (H-1')/ δ_C 118.0 (C-1) et δ_H 4.08 (H-2')/ δ_C 115.8 (C-2) nous permettent de relier l'unité glucosyle au fragment aromatique (Figure 32.3)

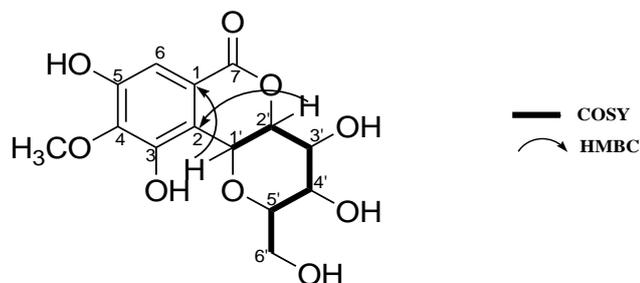
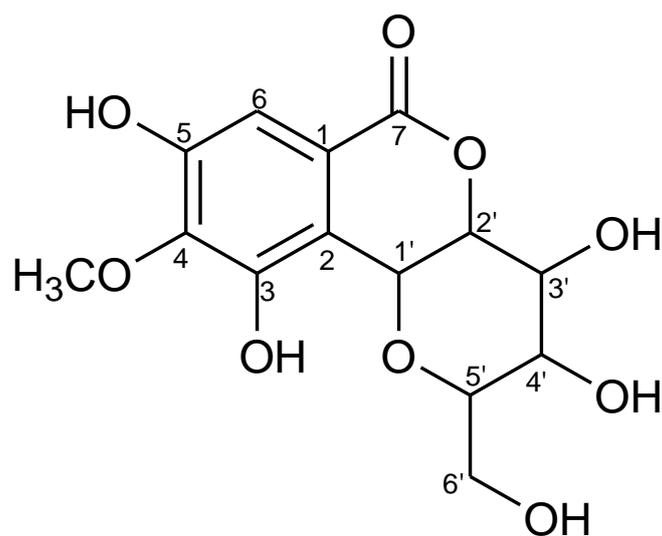


Figure 32.3 : Jonction unité glucosyle et fragment aromatique de **MJ5**.

Tableau 10 : Valeurs des déplacements chimiques (1H et ^{13}C) de **MJ5** (MeOD).

1	—	118.0	C
2	—	115.8	C
3	—	148.0	C
4	—	140.8	C
5	—	150.9	C
6	7.09 (s)	109.6	CH
7	—	164.4	C=O
1'	4.98 (d, $J = 10.4$ Hz)	72.8	CH
2'	4.08 (dd, $J = 9.4; 10.4$ Hz)	80.0	CH
3'	3.83 (dd, $J = 8.5; 9.4$ Hz)	74.2	CH
4'	3.45 (dd, $J = 8.5; 9.4$ Hz)	70.4	CH
5'	3.68 (ddd, $J = 2.0; 7.7; 8.5$ Hz)	81.6	CH
6'	3.72 (dd, $J = 7.7; 11.8$ Hz); 4.03 (dd, $J = 2.0; 11.8$ Hz)	61.2	CH ₂
4-OMe	3.91(s)	59.5	CH ₃

L'analyse complète des spectres RMN 1D et 2D de **MJ₅** et la comparaison des données obtenues avec celles de la littérature nous ont permis d'établir sa structure comme étant la bergénine, composé connu, précédemment isolé de *Saxifraga stolonifera* (Taneyama et al, 1983).



(244)

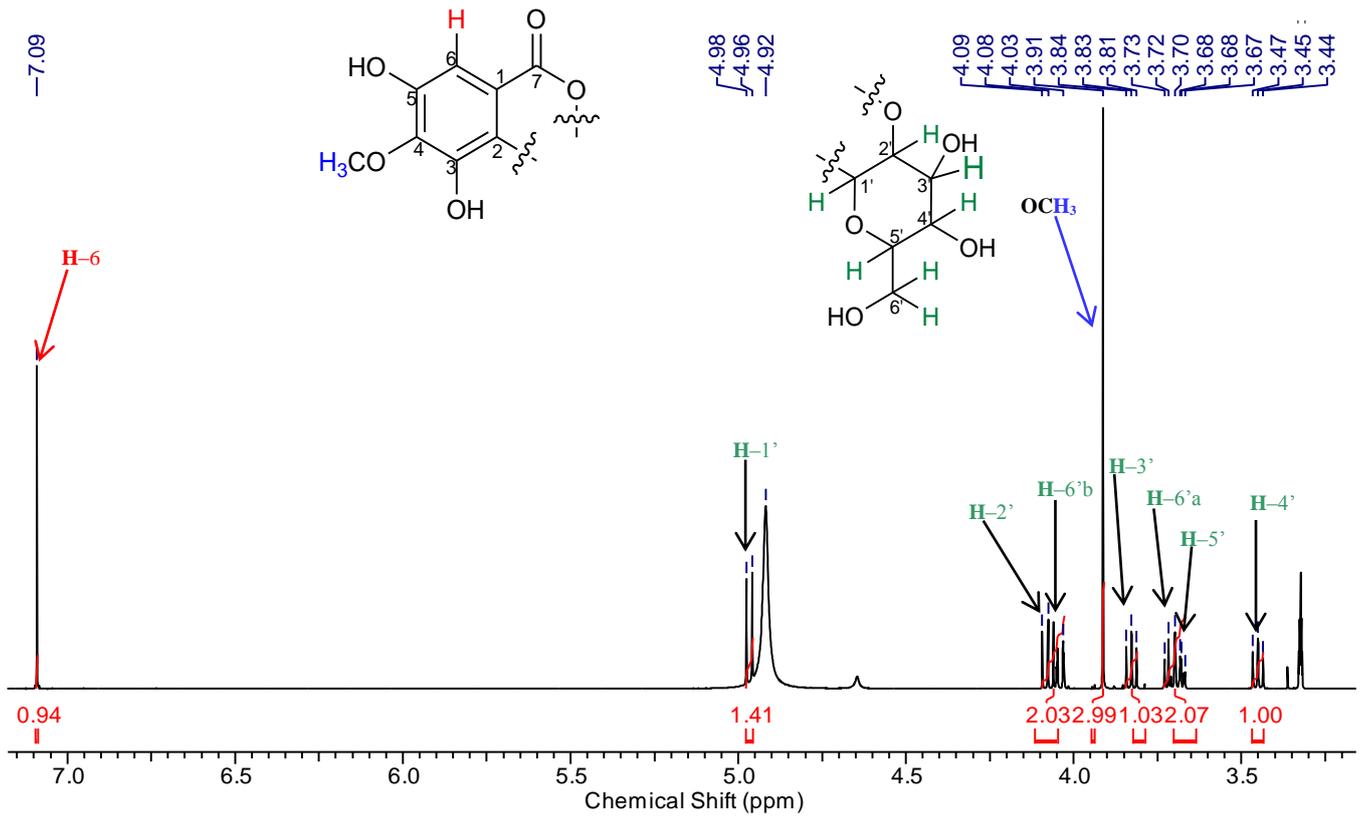


Figure 32.4 : Spectre RMN ¹H du composé **MJ₅** (600 MHz, MeOD)

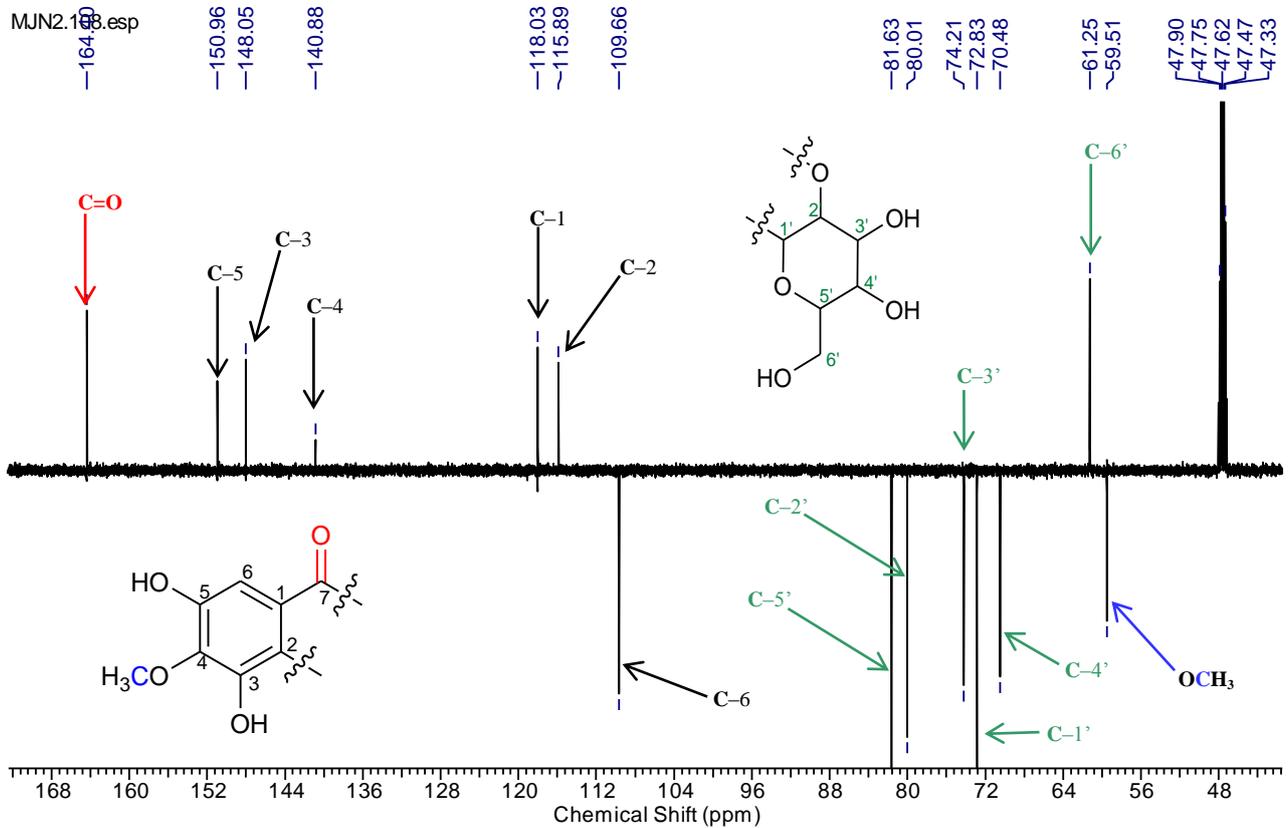


Figure 32.5 : Spectre RMN ¹³C Jmod du composé **MJ₅** (150 MHz, MeOD)

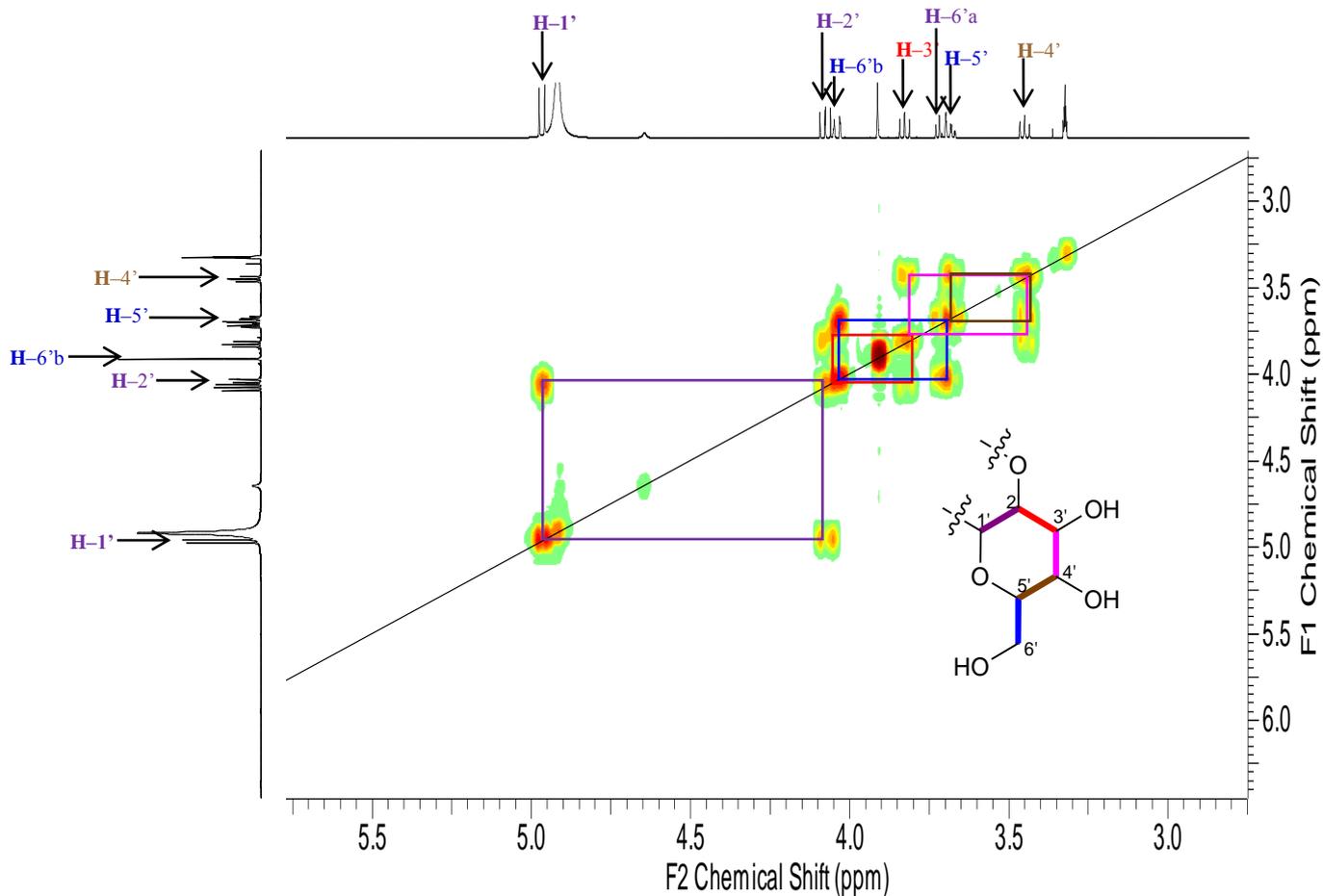


Figure 32.6 : Spectre COSY du composé MJ5 (MeOD)

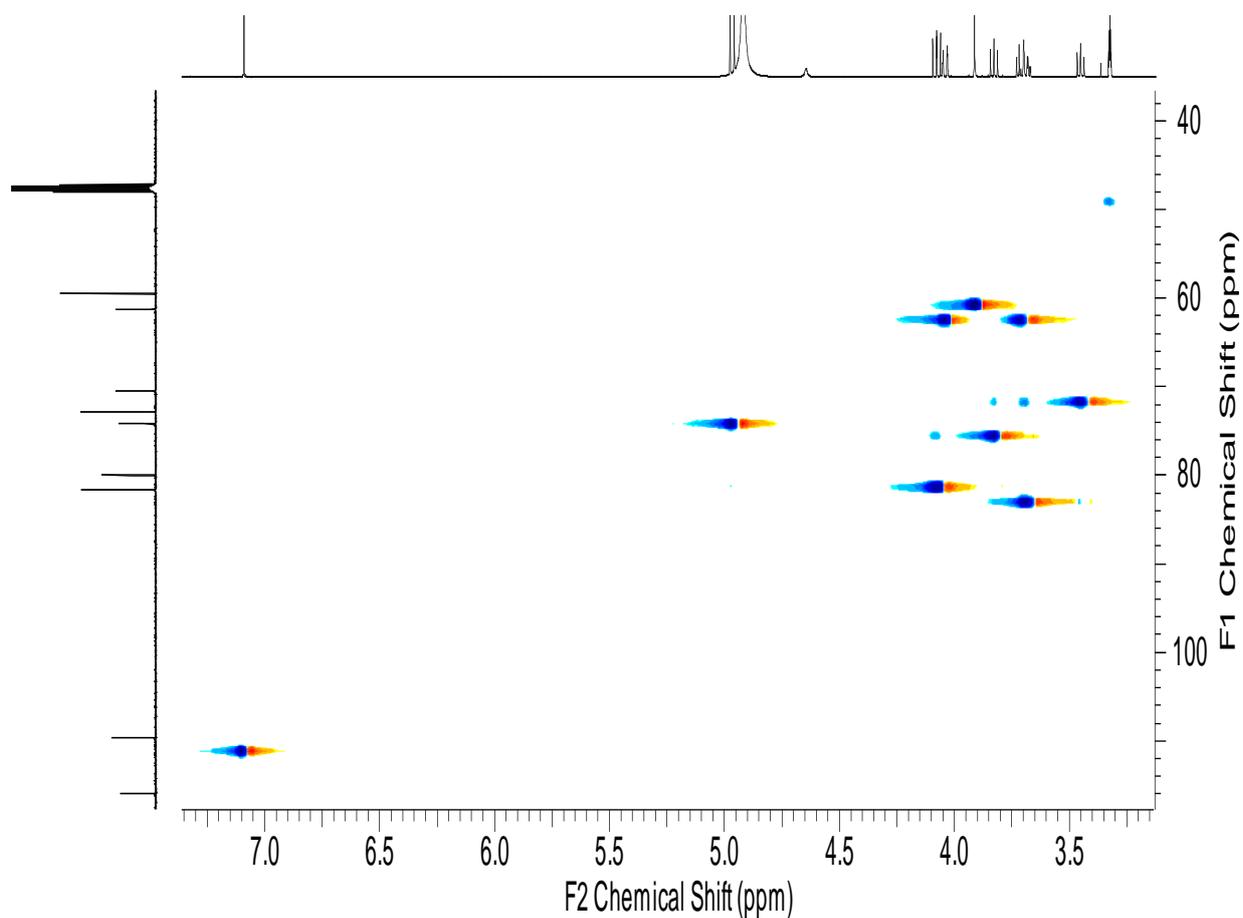


Figure 32.7 : Spectre HSQC du composé MJ5 (MeOD)

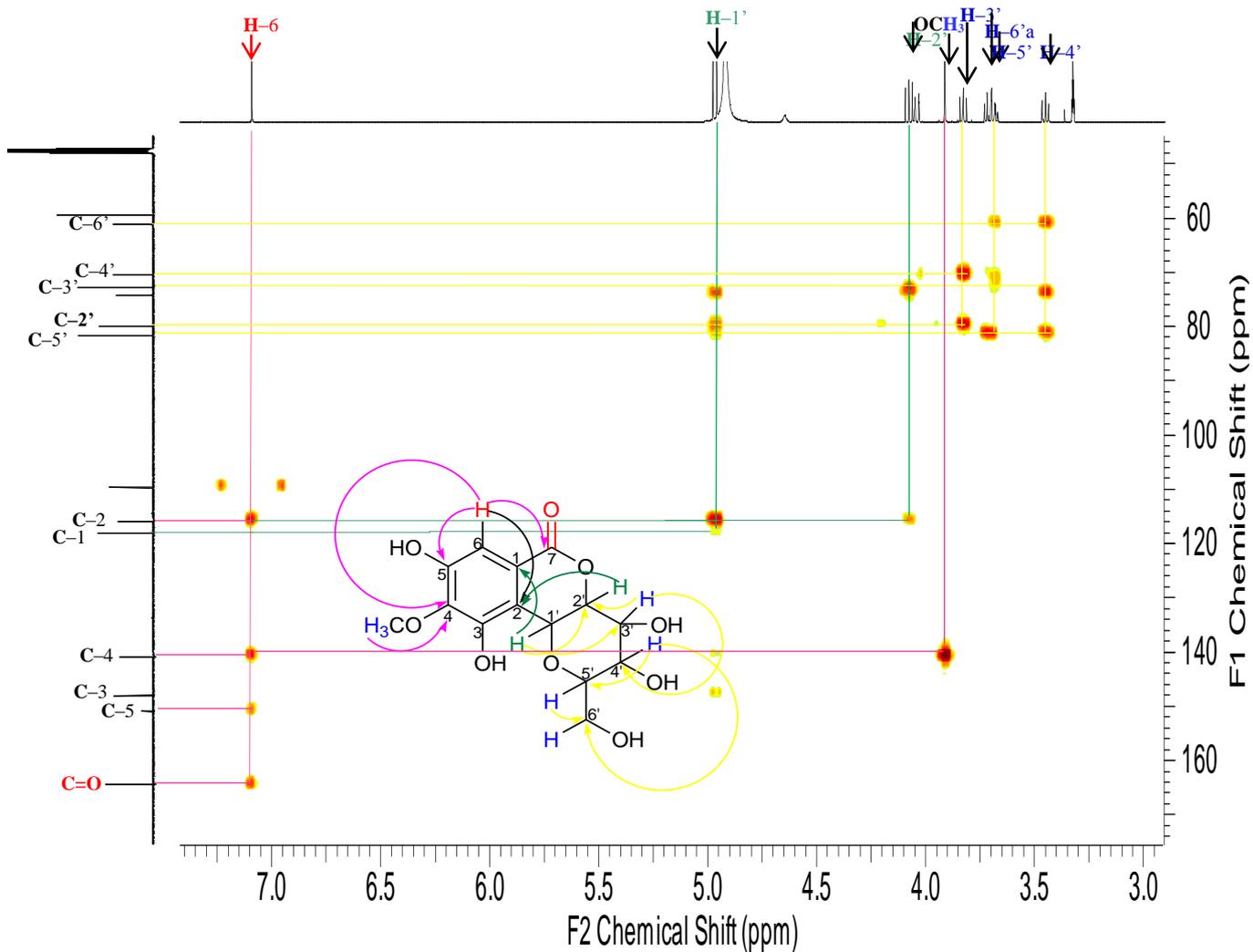


Figure 32.8 : Spectre HMBC du composé MJ₅ (MeOD)

II – 1 – 2 – 6– Identification de la structure MJ4

MJ4 a été isolé sous forme de cristaux blancs scintillant (PF : 195°C). L'analyse de son spectre de masse haute résolution ESI (mode positif) permet d'observer un ion pseudo-moléculaire à m/z 379,2217 $[M+Na]^+$ (calculée 379,3150), suggérant la formule moléculaire $C_{16}H_{20}O_9Na$.

L'analyse du spectre RMN 1H (Figure 33.4) de **MJ4** nous révèle la présence de cinq protons méthine liés chacun à un oxygène respectivement à δ_H 3.55 (1H, dd, $J = 8.5 ; 11.8$ Hz, H-4'), δ_H 3.54 (1H, ddd, $J = 2.0 ; 7.7 ; 11.8$ Hz, H-5'), 3.88 (1H, dd, $J = 8.5 ; 9.4$ Hz, H-3'), δ_H 4.01 (1H, dd, $J = 9.4 ; 10.4$ Hz, H-2') et δ_H 4.80 (1H, d, $J = 10.4$ Hz, H-1') qui corrént sur le spectre HSQC (Figure 33.7) respectivement aux carbones δ_C 70.2 (C-4'), δ_C 81.1 (C-5'), δ_C 80.4 (C-2'), δ_C 74.3 (C-3') et δ_C 71.7 (C-1'), deux protons méthylènes à δ_H 3.82 (1H, dd, $J = 7.7 ; 11.8$ Hz, H-6'a) et à δ_H 3.98 (1H, dd, $J = 2.0 ; 11.8$ Hz, H-6'b) qui corrént avec le carbone à δ_C 61.1 (C-6) (Tableau 11). De plus les corrélations observées sur le spectre COSY (Figure 33.6) entre les signaux de protons à δ_H 4.80 (H-1') et δ_H 4.00 (H-2'), δ_H 4.00 (H-2') et δ_H 3.88 (H-3'), δ_H 3.82 (H-6') et δ_H 3.54 (H-5')] et celles observées entre les signaux de protons et carbones à δ_H 4.00 (H-2') et δ_C 70.2 (C-4')/ δ_C 74.3 (C-3'), δ_H 3.55 (H-4') et δ_C 74.3 (C-2')/ δ_C 81.1 (C-5'), δ_H 4.80 (H-1') et δ_C 74.3 (C-3')/ δ_C 81.1 (C-5'), δ_H 3.82 (H-6') et δ_C 70.2 (C-4') sur le spectre HMBC (Figure 33.8) suggèrent la présence dans **MJ4** d'une unité glucosyle (Figure 33.1).

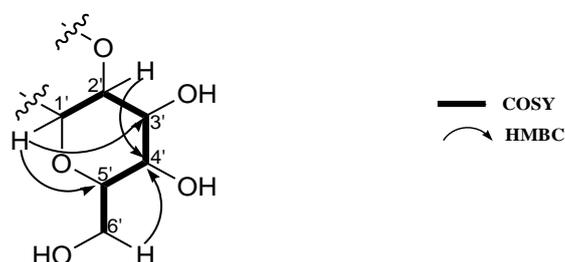


Figure 33.1 : Unité glucosyle de **MJ4**.

Par ailleurs, le spectre RMN 1H (Figure 33.4) révèle la présence d'un proton aromatique à δ_H 7.33 (1H, s, H-6) qui corréle sur le spectre HSQC (Figure 33.7) avec un carbone à δ_C 113.7 (C-6), trois méthyles liés chacun à un oxygène à δ_H 3.94 (3H, s), δ_H 3.88 (3H, s) et δ_H 3.83 (3H, s) qui corrént sur le spectre HSQC avec les carbones à δ_C 59.9 (4-OMe) et δ_C 60.5 (3-OMe et 5-OMe). De plus, le spectre RMN ^{13}C (Figure 33.5) de **MJ4** nous montre un signal d'un carbonyle des esters à δ_C 164.7 (C-7), cinq signaux de carbones quaternaires à δ_C 119.0 (C-2), δ_C 151.7 (C-5), δ_C 147.4 (C-4), δ_C 151.1 (C-3) et δ_C 124.0 (C-1) (Tableau 11). Les corrélations observées sur le spectre HMBC (Figure 33.8) entre le signal du proton à δ_H 7.33 (H-6) et δ_C 164.7 (C-7)/147.4 (C-4)/ δ_C 124.0 (C-1)/ δ_C 151.7 (C-5), δ_H 3.94 (OMe) et δ_C 147.4 (C-4), δ_H 3.88 (OMe) et δ_C 151.1 (C-3) δ_C 151.7 (C-5) suggèrent la présence d'un noyau aromatique penta substitué lié à un carbonyle en position (C-1) et à trois méthoxyles (OMe) en position (C-3), (C-4) et (C-5) (Figure 33.2).

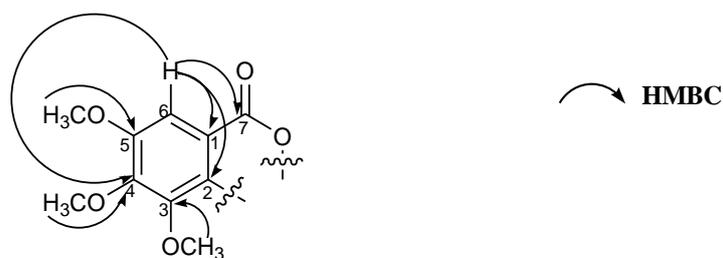


Figure 33.2 : Fragment aromatique de **MJ4**

La structure de **MJ4** a été complétée sur la base des corrélations observées sur le spectre HMBC (Figure 33.8). Ainsi Les corrélations observées entre les signaux de protons et carbones dans le spectre et HMBC entre δ_H 4.80 (H-1') et δ_C 124.0 (C-1), δ_H 4.00 (H-2') et δ_C 119.0 (C-2) nous permet de relier l'unité glucosyle avec le fragment aromatique (Figure 33.3)

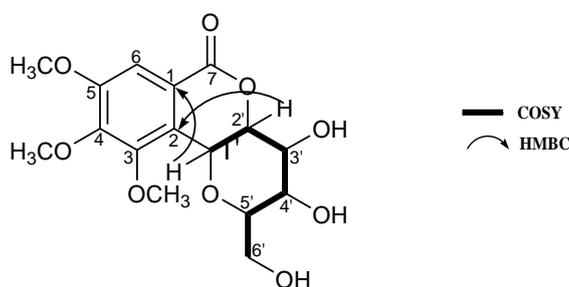
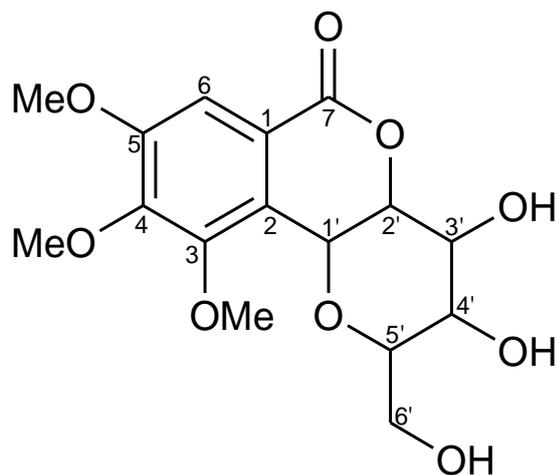


Figure 33.3 : Jonction unité glucosyle et fragment aromatique de **MJ4**.

Tableau 11 : Valeurs des déplacements chimiques (1H et ^{13}C) de **MJ4** (MeOD).

N°	δ_H ppm (multi., J Hz)	δ_C ppm	DEPT
1	—	124.0	C
2	—	119.0	C
3	—	151.1	C
4	—	147.4	C
5	—	151.7	C
6	7.33 (s)	113.7	CH
7	—	164.7	C=O
1'	4.80 (d, $J = 10.4$ Hz)	71.7	CH
2'	4.00 (dd, $J = 9.4; 10.4$ Hz)	80.4	CH
3'	3.88 (dd, $J = 8.5; 9.4$ Hz)	74.3	CH
4'	3.55 (dd, $J = 8.5; 9.4$ Hz)	70.2	CH
5'	3.54 (ddd, $J = 2.0; 7.7; 8.5$ Hz)	81.1	CH
6'	3.82 (dd, $J = 7.7; 11.8$ Hz); 3.98 (dd, $J = 2.0; 11.8$ Hz)	61.1	CH ₂
4-OMe	3.94(s)	59.9	CH ₃
3-OMe	3.88(s)	60.5	CH ₃
5-OMe	3.83(s)	60.5	CH ₃

L'analyse complète des spectres RMN 1D et 2D de **MJ₄** et la comparaison des données obtenues avec celles de la littérature nous ont permis d'établir sa structure comme étant la tri-*O*-methylnorbergenine, composé connu, précédemment isolé de *Saxifraga stolonifera* (Taneyama et al, 1983).



(245)

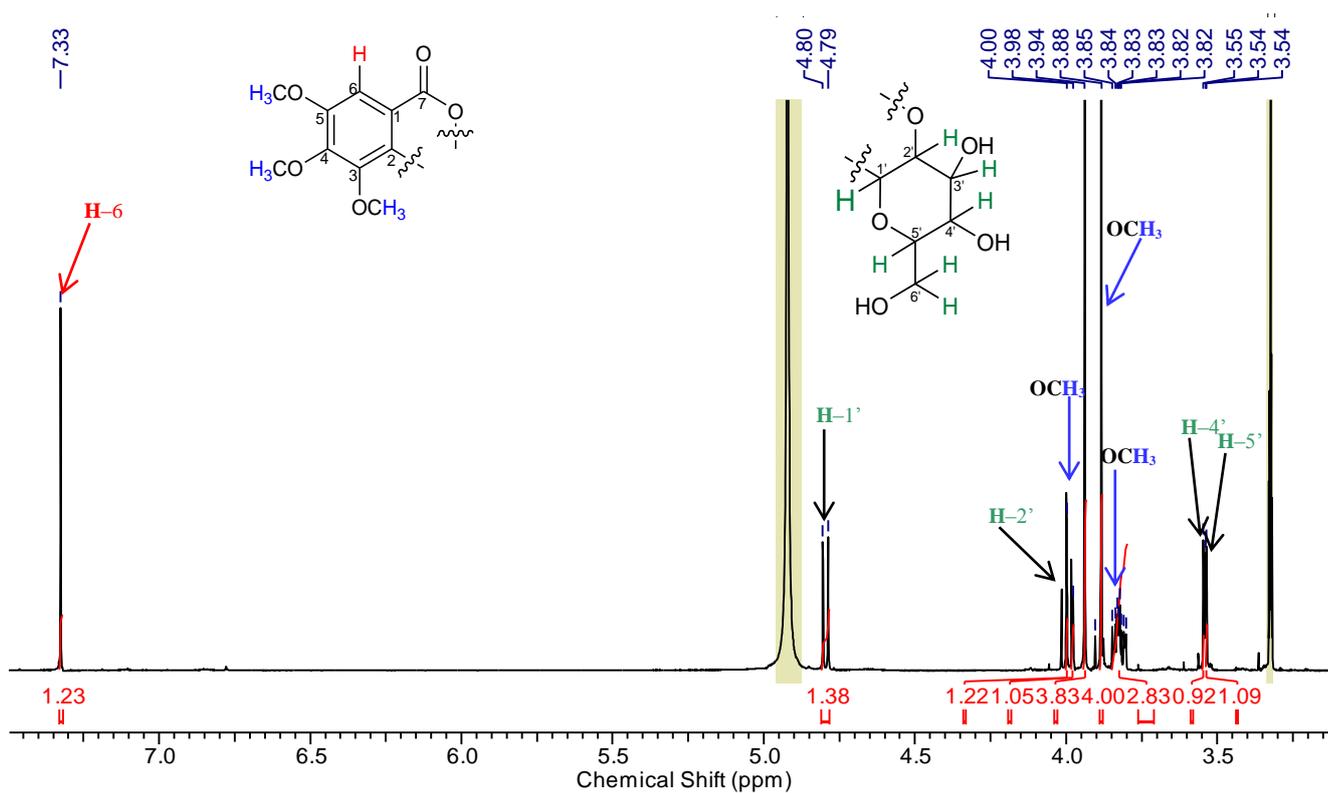


Figure 33.4 : Spectre RMN H du composé MJ4 (600 MHz, MeOD)

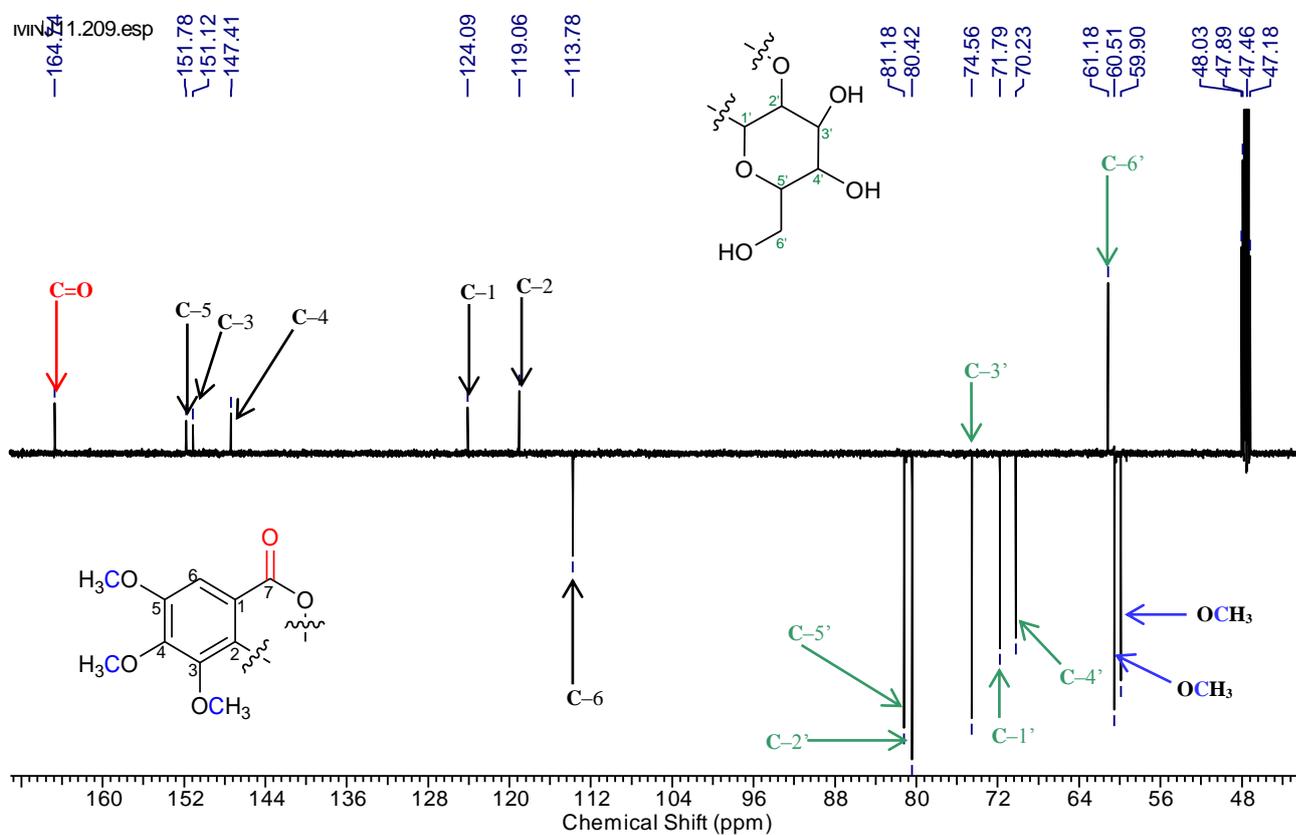


Figure 33.5 : Spectre RMN ¹³C Jmod du composé MJ4 (150 MHz, MeOD)

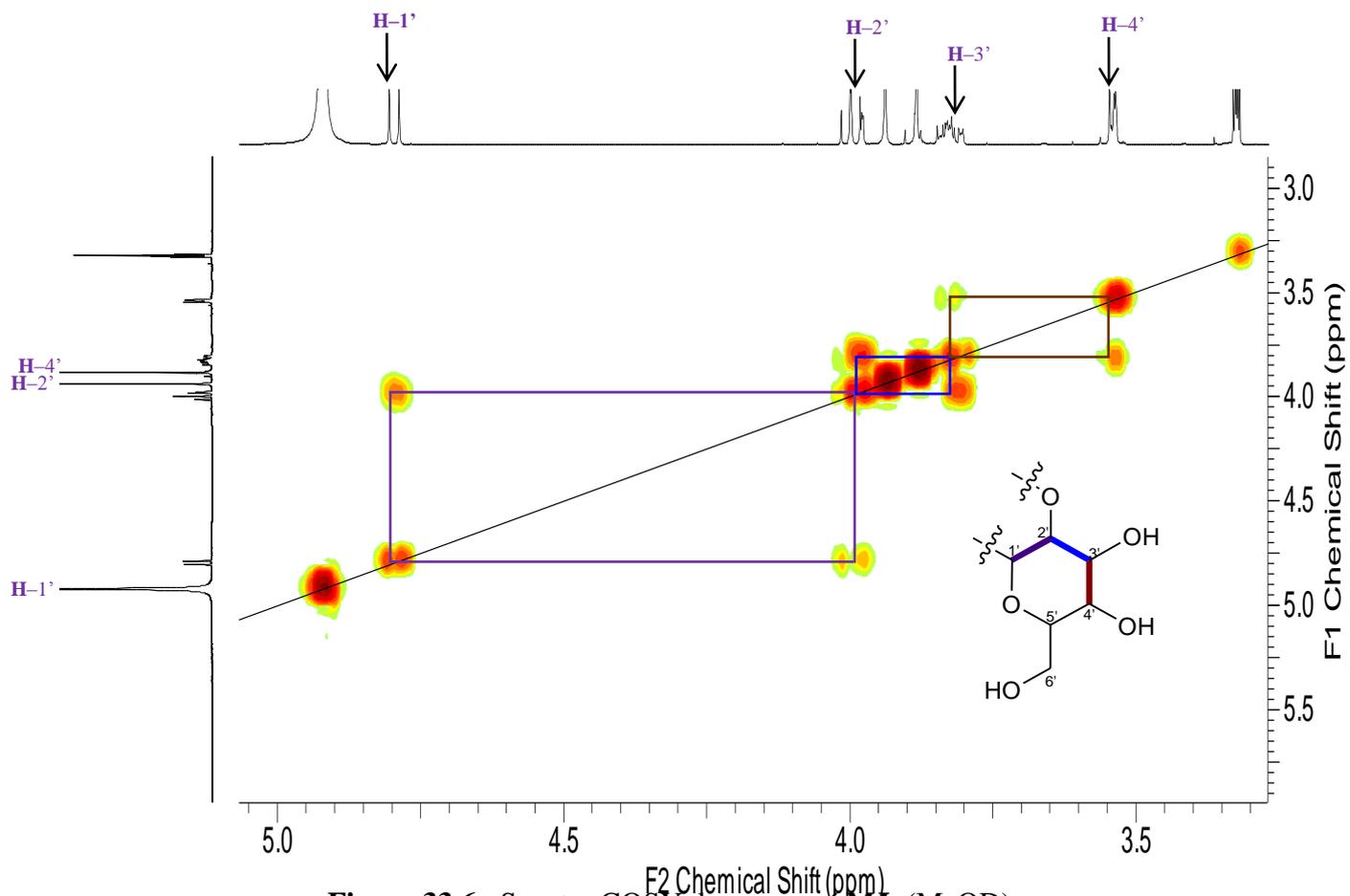


Figure 33.6 : Spectre COSY du composé MJ4 (MeOD)

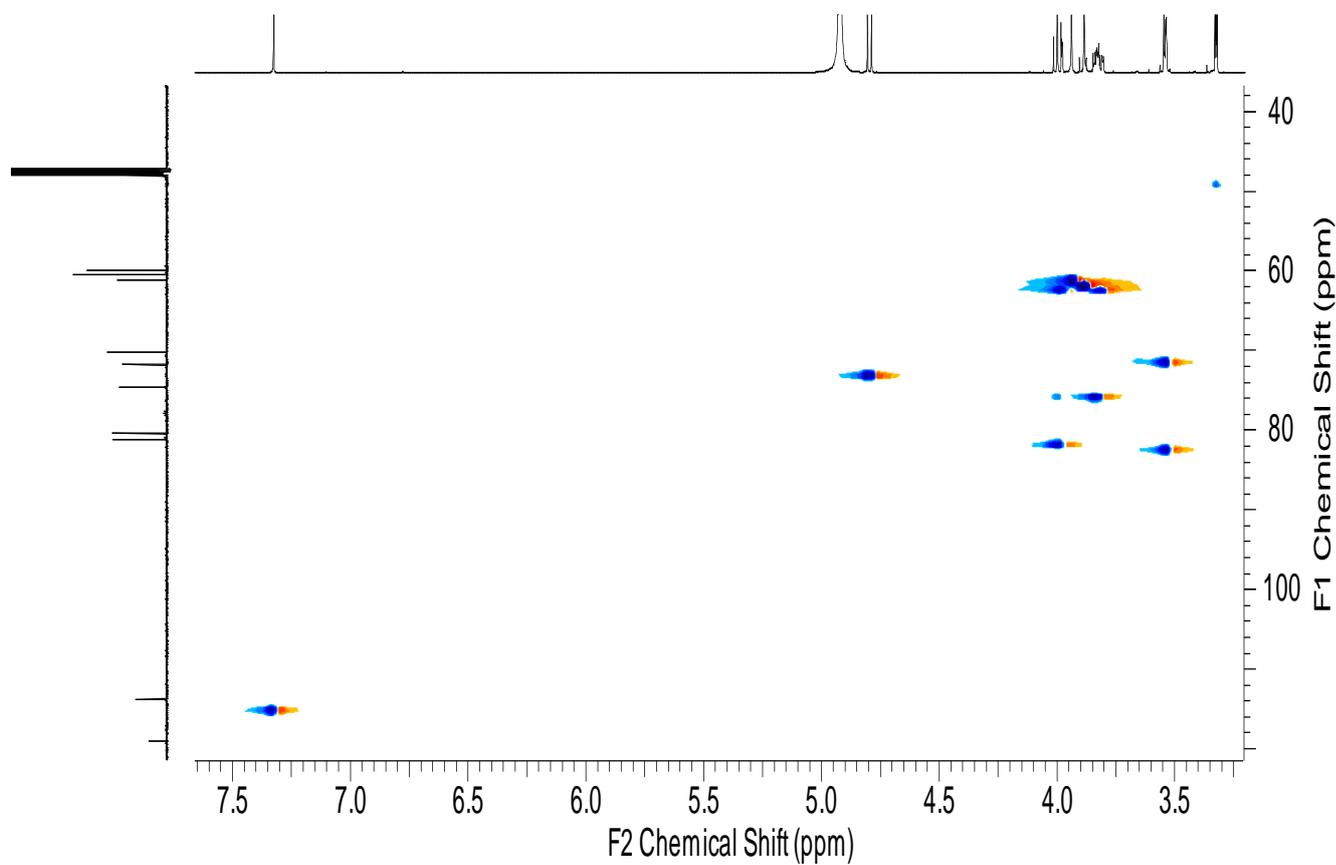


Figure 33.7 : Spectre HSQC du composé MJ4 (MeOD)

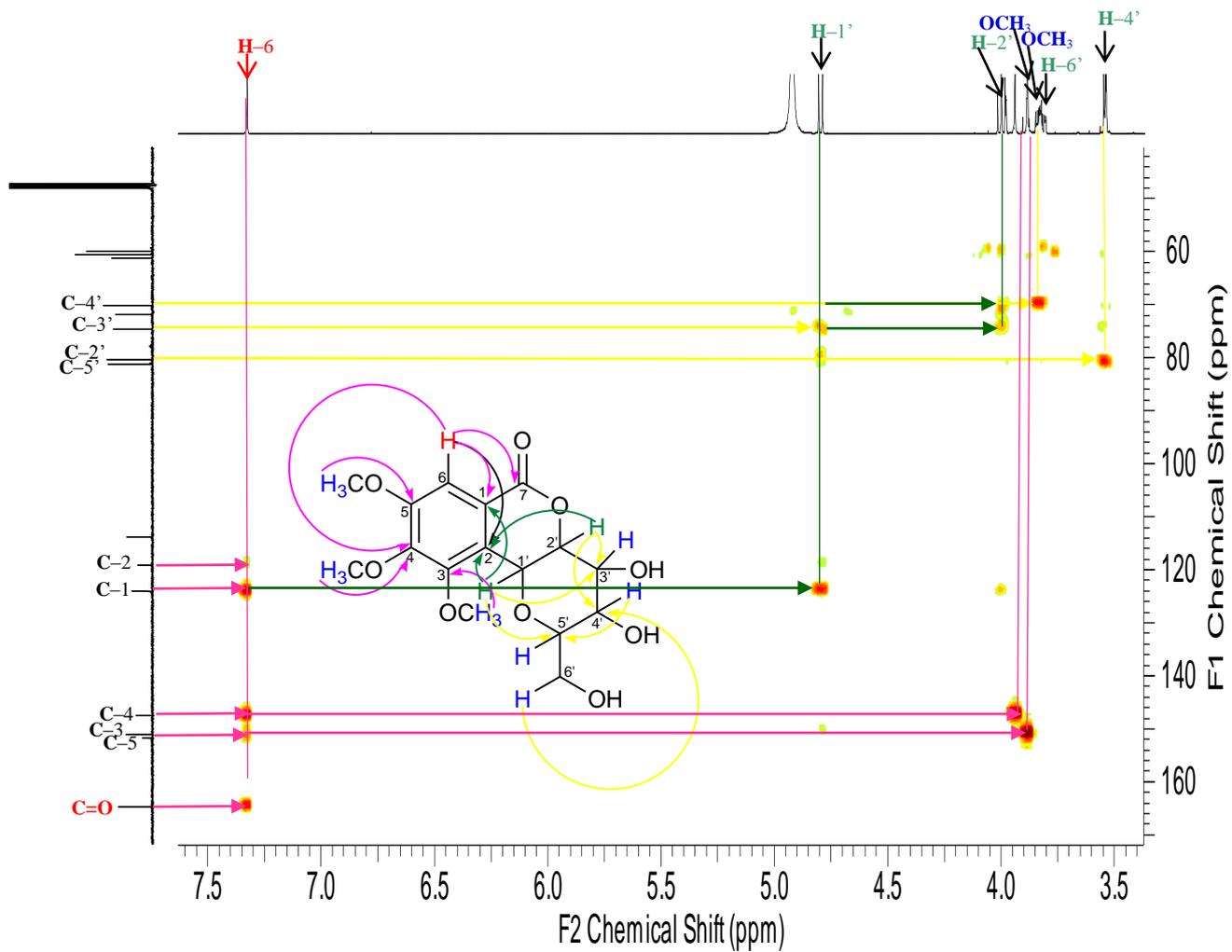


Figure 33.8 : Spectre HMBC du composé MJ4 (MeOD)

II – 2 – Etude phytochimique d'*Anthonotha macrophylla*

II – 2 – 1 – Extraction et purification

Les écorces du tronc d'*A. macrophylla* ont été récoltées dans le village Sokellé sur la route POUMA – MESSONDO le 08 Janvier 2008. Elles ont été ensuite séchées, découpées et broyées en poudre fine. La poudre obtenue a été extraite par du méthanol à froid. L'extrait méthanolique, évaporée à sec a donné un résidu marron. Le résidu marron a été soumis à une chromatographie flash successive sur silice avec Hexane/CH₂Cl₂/MeOH (1/1/0 ; 0/30 /1 ; 0/10/1 ; 0/1/1; 0/0/1). Nous avons ainsi isolé 8 composés dont un alcane **AK₁** (15 mg), un ester d'acide gras **AK₂** (10 mg), un glycoside de stérol **AK₃** (100 mg), deux C-glycosides **AK₄** (1.5 g) et **AK₅** (200 mg), **AK₆** (08 mg), un alcaloïde **AK₇** (3,3 mg) et un hydrate de carbone **AK₈** (2,5 mg).

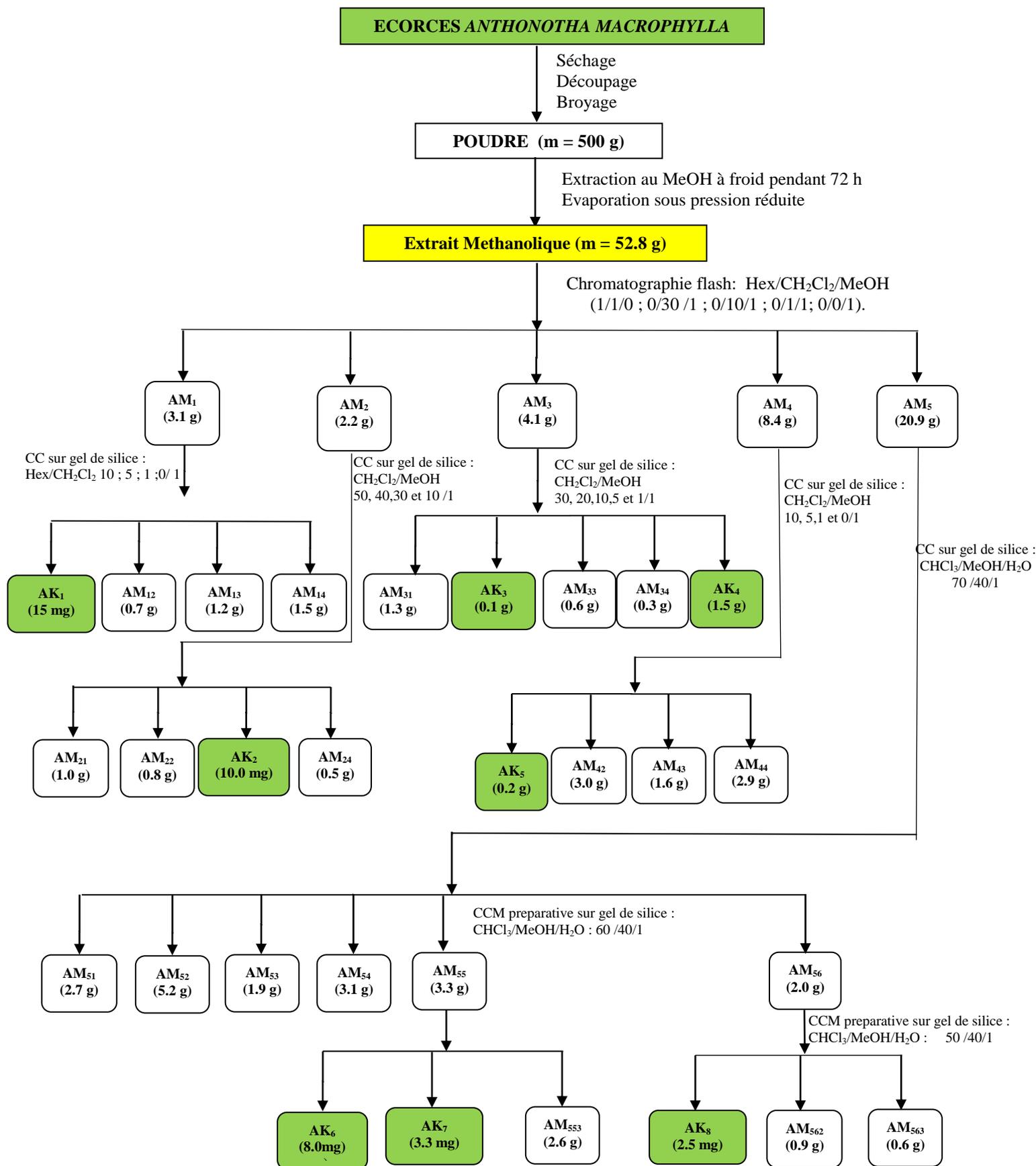


Figure 34 : Purification des composés AK₁, AK₂, AK₃, AK₄, AK₅, AK₆, AK₇ et AK₈ à partir des écorces d'*A. macrophylla*.

II – 2 – 2 – Caractérisation des composés

II – 2 – 2 – 1 – Détermination de la structure AK₇

AK₇ a été obtenu sous forme de poudre blanche. L'analyse de son spectre de masse haute résolution ESI mode positif (Figure 35.1) permet d'observer un ion pseudo-moléculaire à m/z 677.3727 [M + Na]⁺ (calculée 677,7048), en accord avec la formule brute C₃₄H₄₂O₁₁N₂Na.

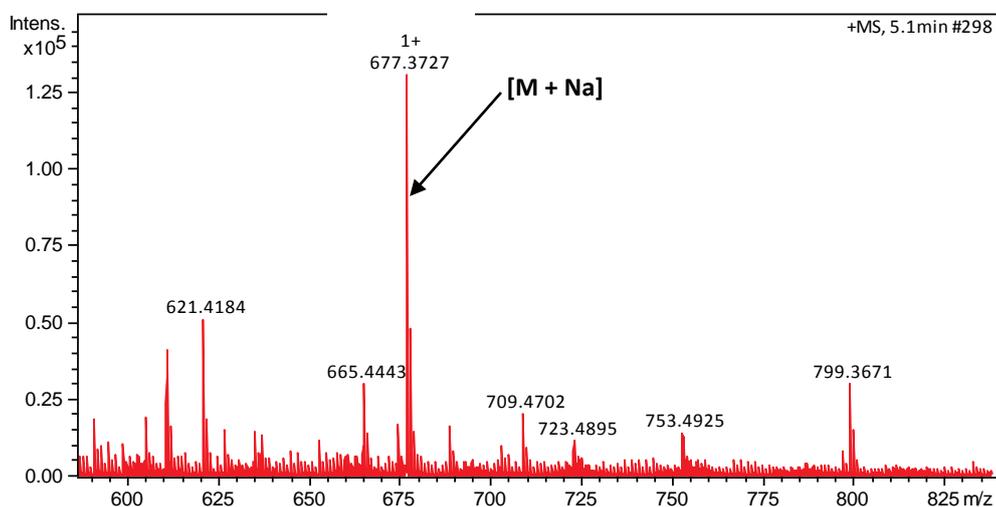


Figure 35.1 : Spectre de masse HR-ESI (+) d'AK₇.

L'analyse du spectre RMN ¹³C de AK₇ (Figure 35.6) révèle la présence de 24 signaux de carbones dont douze aromatiques [δ_C 111.1 (C-2'), δ_C 114.6 (C-2''), δ_C 115.2 (C-5''), δ_C 116.0 (C-5'), δ_C 121.9 (C-6'), δ_C 124.7 (C-6''), δ_C 126.8 (C-1'), δ_C 127.1 (C-1''), δ_C 147.2 (C-4''), δ_C 147.7 (C-3'), δ_C 148.2 (C'-4) et δ_C 148.6 (C-3'')], deux méthoxyles [δ_C 55.9 (4''-OMe et 4'-OMe)], quatre méthylènes à [δ_C 28.8 (C-12''), δ_C 28.6 (C-12'), δ_C 39.2 (C-11'') et δ_C 39.1 (C-11')], quatre méthines oléfiniques [δ_C 139.3 (C-7''), δ_C 139.3 (C-7'), δ_C 121.5 (C-8'') et δ_C 119.5 (C-8')], et deux carbonyles des amides δ_C 165.7 (C-9'), δ_C 166.7 (C-9'') (Tableau 12).

L'analyse du spectre RMN ¹H (Figure 35.5) de AK₇ révèle la présence d'un signal de protons à δ_H 8.04 (2H, t, 5.6 Hz), quatre signaux correspondant à quatre groupes de protons méthylènes à δ_H 2.61 (2H, t, 7.5 Hz, H''₁₂), δ_H 2.63 (2H, t, 7.5 Hz, H'₁₂), δ_H 3.40 (2H, m, H''₁₁) et δ_H 3.41 (2H, m, H'₁₁) qui corrélient sur le spectre HSQC (Figure 35.8) respectivement avec le carbone à δ_C 28.8 (C-12''), δ_C 28.6 (C-12'), δ_C 39.2 (C-11''), δ_C 39.1 (C-11'), suggèrent la présence d'un groupe putrescine (-NH-CH₂CH₂)₂; six signaux de protons aromatiques dont trois à δ_H 6.72 (1H, d, 8.2 Hz, H''₅), δ_H 6.79 (1H, d, 8.2 Hz, H'₅), δ_H 6.98 (1H, dd, 1.8 et 8.2 Hz, H'₆), δ_H 7.08 (1H, dd, 1.8 et 8.2 Hz, H''₆), δ_H 7.13 (1H, d, 1.8 Hz, H'₂), δ_H 7.74 (1H, d, 1.8 Hz, H''₂), qui corrélient sur le spectre HSQC respectivement avec les carbones à δ_C 115.2 (C-5''), δ_C 116.0 (C-5'), δ_C 121.9 (C-6'), δ_C 124.7 (C-6''), δ_C 111.1 (C-2') et δ_C 114.6 (C-2'') et qui suggèrent deux système ABX (noyaux aromatiques A et B); un signal de six protons méthoxyles à δ_H 3.80 (6H, s, OMe), quatre signaux de protons oléfiniques à δ_H 7.33 (1H, d, 15.4 Hz, H''₇), δ_H 7.30 (1H, d, 15.4 Hz, H'₇), δ_H 6.45 (1H, d, 15.4 Hz, H''₈) et δ_H 6.42 (1H, d, 15.4 Hz,

H₈) qui corrént sur le spectre HSQC respectivement avec les carbones à δ_C 139.3 (C-7'', C-7'), δ_C 121.5 (C-8'') et δ_C 119.5 (C-8') (Tableau 12). La constante de couplage ($J = 15.4$ Hz) entre H-7'' et H-8'', H-7' et H-8' oléfiniques suggère une stéréochimie *E*. De plus, les corrélations observées entre les protons à δ_H 6.45 (H-8'') et δ_H 7.33 (H-7''), δ_H 6.42 (H-8') et δ_H 7.30 (H-7'), δ_H 6.73 (H-5'') et δ_H 7.08 (H-6''), δ_H 6.79 (H-5') et δ_H 6.98 (H-6'), δ_H 2.61 (H-12'') et δ_H 3.40 (H-11'') dans le spectre COSY (Figure 35.7) et celles observées sur le spectre HMBC (Figure 35.9) entre les signaux de protons et carbones [δ_H 6.42 (H-8') et δ_C 126.8 (C-1') / δ_C 165.7 (C-9') ; δ_H 6.45 (H-8'') et δ_C 127.1 (C-1'') / δ_C 166.7 (C-9'') ; δ_H 6.73 (H-5'') et δ_C 127.1 (C-1'') / δ_C 147.2 (C-4'') ; δ_H 6.79 (H-5') et δ_C 126.8 (C-1') / δ_C 148.2 (C-4') ; δ_H 6.98 (H-6') et δ_C 111.1 (C-2') / δ_C 139.3 (C-7') / δ_C 148.2 (C-4'), δ_H 3.80 (4'-OMe) et δ_C 148.2 (C-4'), δ_H 3.80 (4-OMe) et δ_C 147.2 (C-4''), δ_H 3.40 (H-11'') et δ_C 28.8 (C-12'') / δ_C 166.7 (C-9'') δ_H 2.63 (H-12') et δ_C 39.1 (C-11'), δ_H 7.08 (H-6'') et δ_C 114.6 (C-2'') / δ_C 147.2 (C-4'') ; δ_H 7.13 (H-2') et δ_C 148.2 (C-4') / δ_C 121.9 (C-6') / δ_C 139.3 (C-7') ; δ_H 7.30 (H-7') et δ_C 111.1 (C-2') / δ_C 121.9 (C-6') / δ_C 165.7 (C-9') ; δ_H 7.33 (H-7'') et δ_C 121.5 (C-8'') / δ_C 166.7 (C-9'') ; δ_H 7.74 (H-2'') et δ_C 124.7 (C-6'') / δ_C 147.2 (C-4'')] suggèrent la présence de deux fragments N-feruloylputrescine et N'-feruloylputrescine (Loa et al,2009) (Figure 35.2).

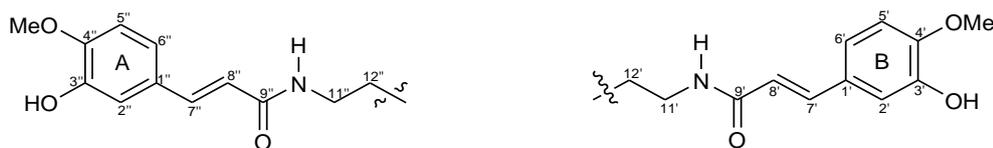


Figure 35.2 : Fragments feruloylputrescine d'AK7.

Par ailleurs, le spectre RMN ¹H (Figure 35.5) de AK7 permet de distinguer dans la zone des sucres un signal de protons anomérique à δ_H 5.04 (1H, dd, 1.5 et 9.0 Hz, H''₁) qui corrént sur le spectre HSQC (Figure 35.7) avec le carbone à δ_C 85.7 (C-1'''), quatre signaux de protons méthines à δ_H 3.17 (1H, dd, 1.8 et 6.7, H''₄) δ_H 3.30 (1H, dd, 1.8 et 6.7 Hz, H''₃), δ_H 3.32 (1H, m, H''₅), et δ_H 3.47 (1H, dd, $J = 9.0$ et 3.0 Hz, H''₂) qui corrént respectivement avec les carbones à δ_C 77.6 (C-3'''), δ_C 70.1 (C-4'''), δ_C 80.1 (C-5''') et δ_C 77.6 (C-2'''), un signal de protons méthylènes hydroxylés à δ_H 3.44 et 3.67 (2H, dd, $J = 2.6$ et 11.6 Hz, H''₆) qui corrént avec le carbone à δ_C 61.3 (C-6'''). De plus, les corrélations observées entre les signaux de protons à δ_H 3.44 (H-6'''a) et δ_H 3.67 (H-6'''b), δ_H 3.32 (H-5''') et δ_H 3.17 (H-4'''), δ_H 5.04 (H-1''') et δ_H 3.47 (H-2'''), δ_H 3.32 (H-5''') et δ_H 3.44 (H-6'''a), δ_H 3.47 (H-2''') et δ_H 3.30 (H-3'''), δ_H 3.30 (H-3''') et δ_H 3.17 (H-4''') sur le spectre COSY (figure 35.7), celles observées dans le spectre HMBC entre le proton à δ_H 3.30 (H-3''') et les carbones δ_C 72.9 (C-3''') / δ_C 70.1 (C-4''') suggèrent la présence d'un fragment glucosidique (Figure 35.3). Trois autres signaux de protons oléfiniques sont observés à δ_H 7.06 (1H, dd, 7.9 et 8.2 Hz, H₃), δ_H 7.68 (1H, dd, 1.5 et 8.2 Hz, H₄) et δ_H 7.69 (1H, d, 7.9 Hz, H₂), qui corrént sur le spectre HSQC respectivement avec les carbones à δ_C 114.5 (C-3), δ_C 136.9 (C-4) et δ_C 114.5 (C-2) (tableau 13). De plus, le spectre RMN ¹³C

(Figure 35.6) d'**AK**₇ montre un signal de carbone quaternaire à δ_C 139.2 (C-1). Les corrélations observées sur le spectre COSY entre les protons δ_H 7.69 (H-2) et δ_H 7.06 (H-3), δ_H 7.68 (H-4) et δ_H 7.06 (H-3) et les corrélations observées sur le spectre HMBC (Figure 35.9) entre les protons et les carbones à δ_H 7.69 (H-2) et δ_C 139.2 (C-1) / δ_C 136.9 (C-4) ; δ_H 7.68 (H-4) et δ_C 114.5 (C-2) et δ_H 7.06 (H-3) et δ_C 139.2 (C-1) / δ_C 136.9 (C-4) nous suggèrent la présence d'un fragment diène conjugué. La constante de couplage ($J = 8.2$ Hz) entre H-3 et H-4, H-7' oléfiniques suggère une stéréochimie Z. Les corrélations entre δ_H 5.04 (H-1''') et δ_C 114.5 (C-3)/ δ_C 136.9 (C-4), permettent de relier notre fragment glucosidique avec le diène conjuguée (Figure 35.3).

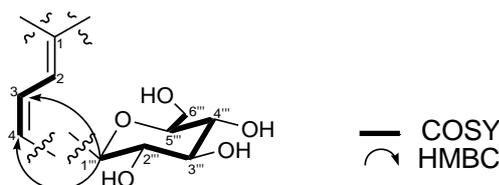


Figure 35.3 : Fragments glucosidique et diène conjugué d'**AK**₇.

La structure d'**AK**₇ a été complétée sur la base de la corrélation observée sur le spectre HMBC (Figure 35.9). Ainsi, les corrélations observées dans le spectre HMBC entre les signaux protons et carbones [δ_H 2.63 (H-12') et δ_C 139.2 (C-1) / δ_C 114.5 (C-2), δ_H 2.61 (H-12'') et δ_C 139.2 (C-1) / δ_C 114.5 (C-2)] nous permettent de relier nos deux fragments feruloyl putrescine à notre diène glucosylé en position C-1 (Figure 35.4).

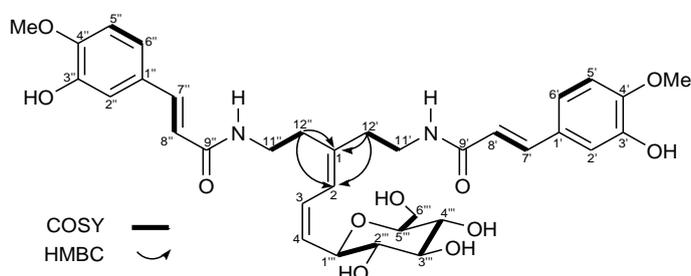


Figure 35.4 : Jonction des différents fragments d'**AK**₇.

L'ensemble des données précédentes a permis d'établir la structure de **AK**₇ comme le 4-glucoside-1,1-bis(*N,N'*-diferuloylputrescine)buta-1,3-diène, un nouvel alcaloïde.

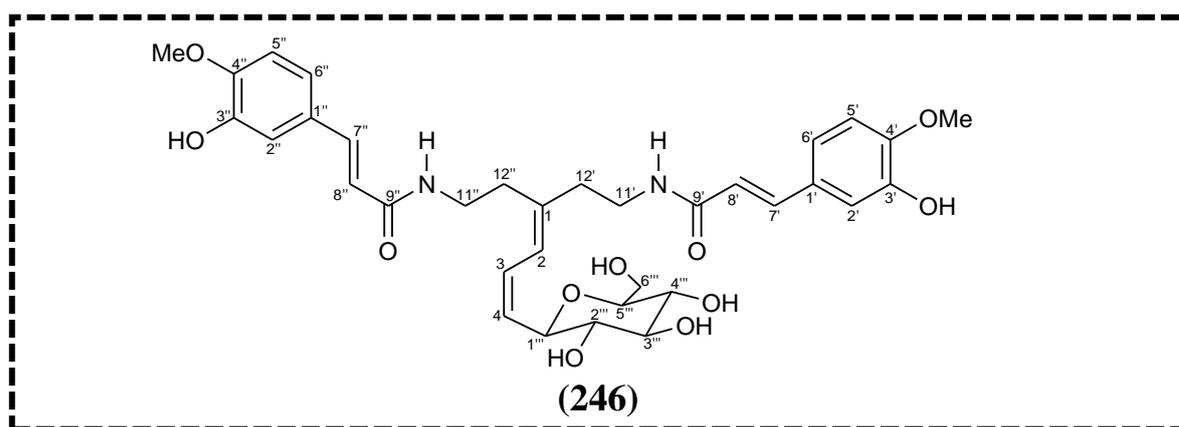


Tableau 12: Valeurs des déplacements chimiques (^1H et ^{13}C) d'**AK**₇ (DMSO).

N°	δ_{H} ppm (multi., J Hz)	δ_{C} ppm	DEPT
1	—	139.2	CH
2	7.69 (d, $J = 7.9$ Hz)	114.5	CH
3	7.06 (dd, $J = 7.9$ et 8.2 Hz)	114.5	CH
4	7.68 (d, $J = 1.5$ et 8.2 Hz)	136.9	CH
1'	—	126.8	C
2'	7.13 (d, $J = 1.8$ Hz)	111.1	CH
3'	—	147.7	C
4'	—	148.2	C
5'	6.79 (d, $J = 8.2$ Hz)	116.0	CH
6'	6.98 (d, $J = 1.8$ Hz)	121.9	CH
7'	7.30 (d, $J = 15.4$ Hz)	139.3	CH
8'	6.42 (d, $J = 15.4$ Hz)	119.5	CH
9'	—	165.7	C
9'–NH	8.04 (t, $J = 5.6$ Hz)	—	—
11'	3.41 (m)	39.1	CH ₂
12'	2.63 (t, $J = 7.5$ Hz)	28.6	CH ₂
1''	—	127.1	C
2''	7.74 (d, $J = 1.8$ Hz)	114.6	CH
3''	—	148.6	C
4''	—	147.2	C
5''	6.72 (d, $J = 8.2$ Hz)	115.2	CH
6''	7.08 (dd, $J = 1.8$ et 8.2 Hz)	124.7	CH
7''	7.33 (d, $J = 15.4$ Hz)	139.3	CH
8''	6.45 (d, $J = 15.4$ Hz)	121.5	CH
9''	—	166.7	C
9'' –NH	8.06 (t, $J = 5.6$ Hz)	—	—
11''	3.40 (m)	39.2	CH ₂
12''	2.61 (t, $J = 7.5$ Hz)	28.8	CH ₂
1'''	5.04 (dd, $J = 1.5$ et 9.0 Hz)	85.7	CH
2'''	3.47 (dd, $J = 9.0$ et 3.0 Hz)	72.9	CH
3'''	3.30 (dd, $J = 1.8$ et 3.0 Hz)	77.6	CH
4'''	3.17 (dd, $J = 1.8$ et 6.7 Hz)	70.1	CH
5'''	3.32 (m)	80.1	CH
6'''	3.44 (dd, $J = 2.6$ et 11.6 Hz)	61.3	CH ₂
	3.67 (dd, $J = 2.6$ et 11.6 Hz)		
4' – OMe	3.80 (s)	55.9	—
4'' – OMe	3.80 (s)	55.9	—

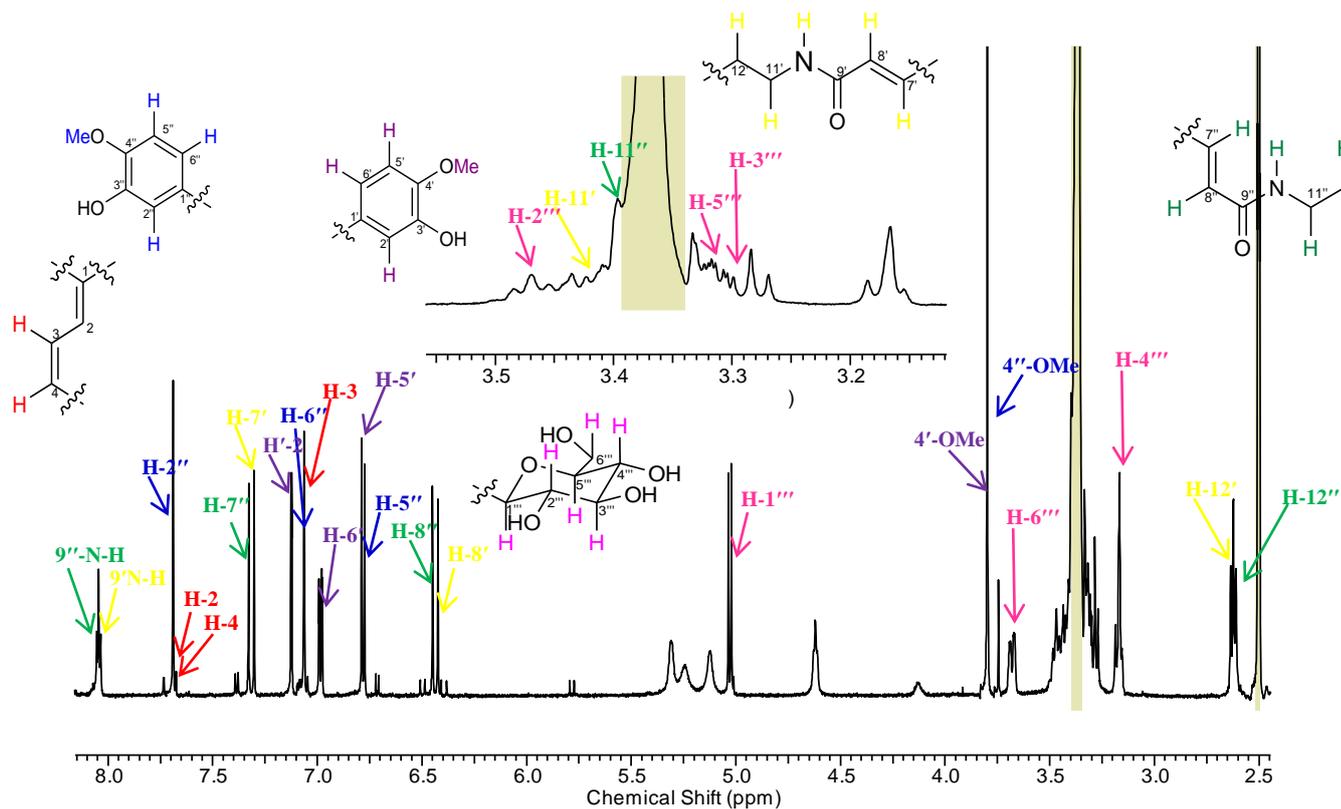


Figure 35.5 : Spectre RMN H du composé **AK₇** (600MHz,DMSO)

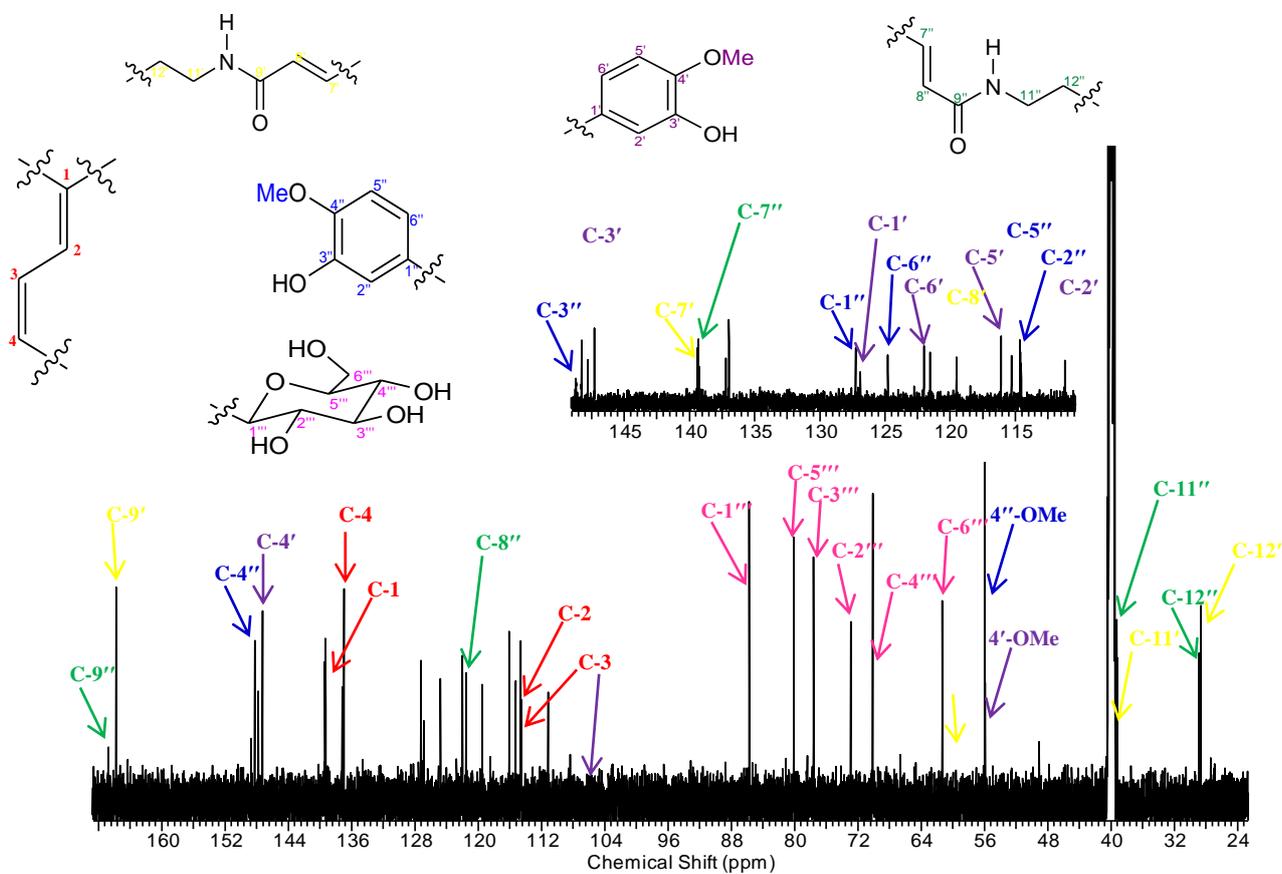


Figure 35.6 : Spectre RMN ¹³C du composé **AK₇** (150MHz,DMSO)

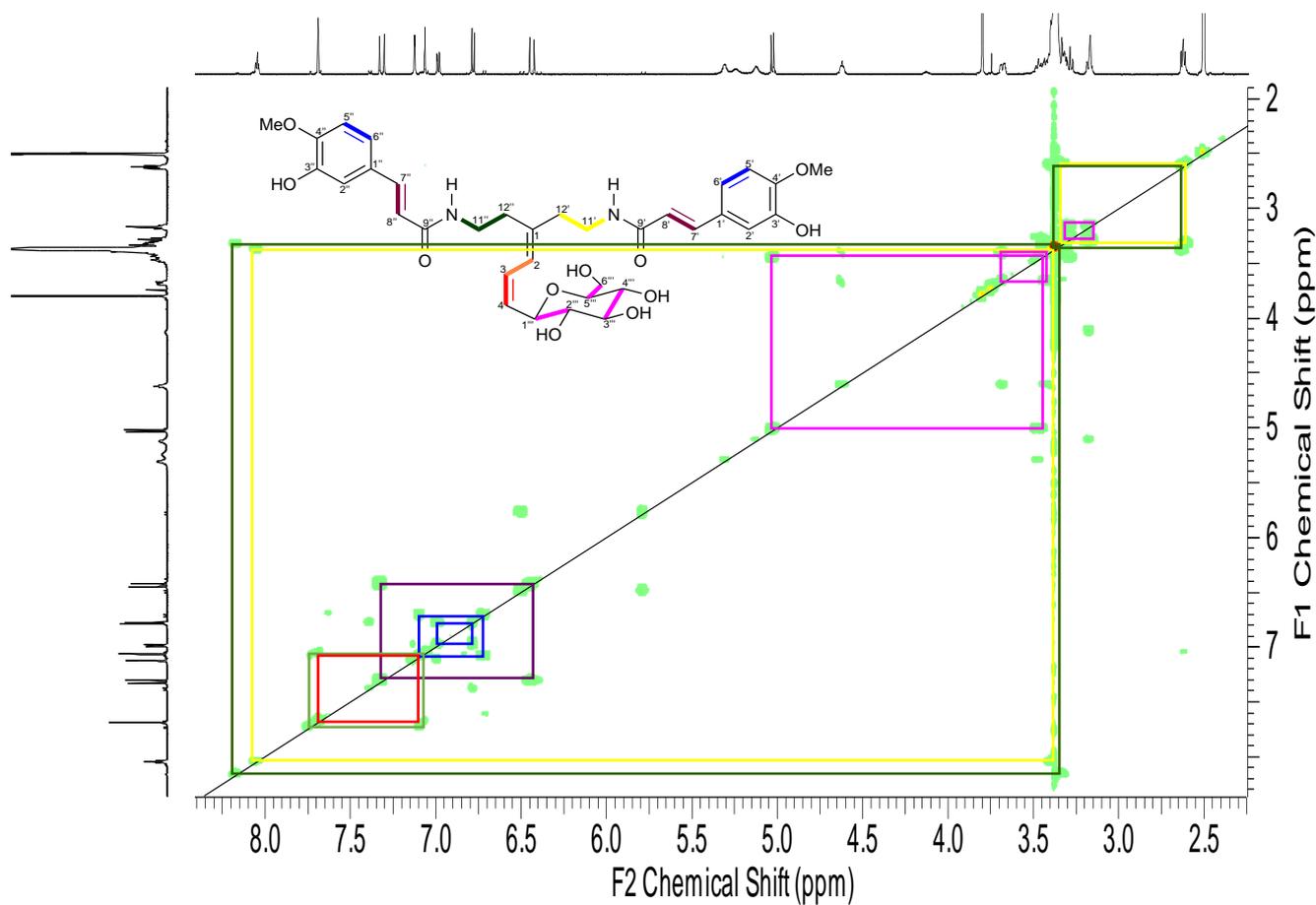


Figure 35.7 : Spectre COSY du composé AK7

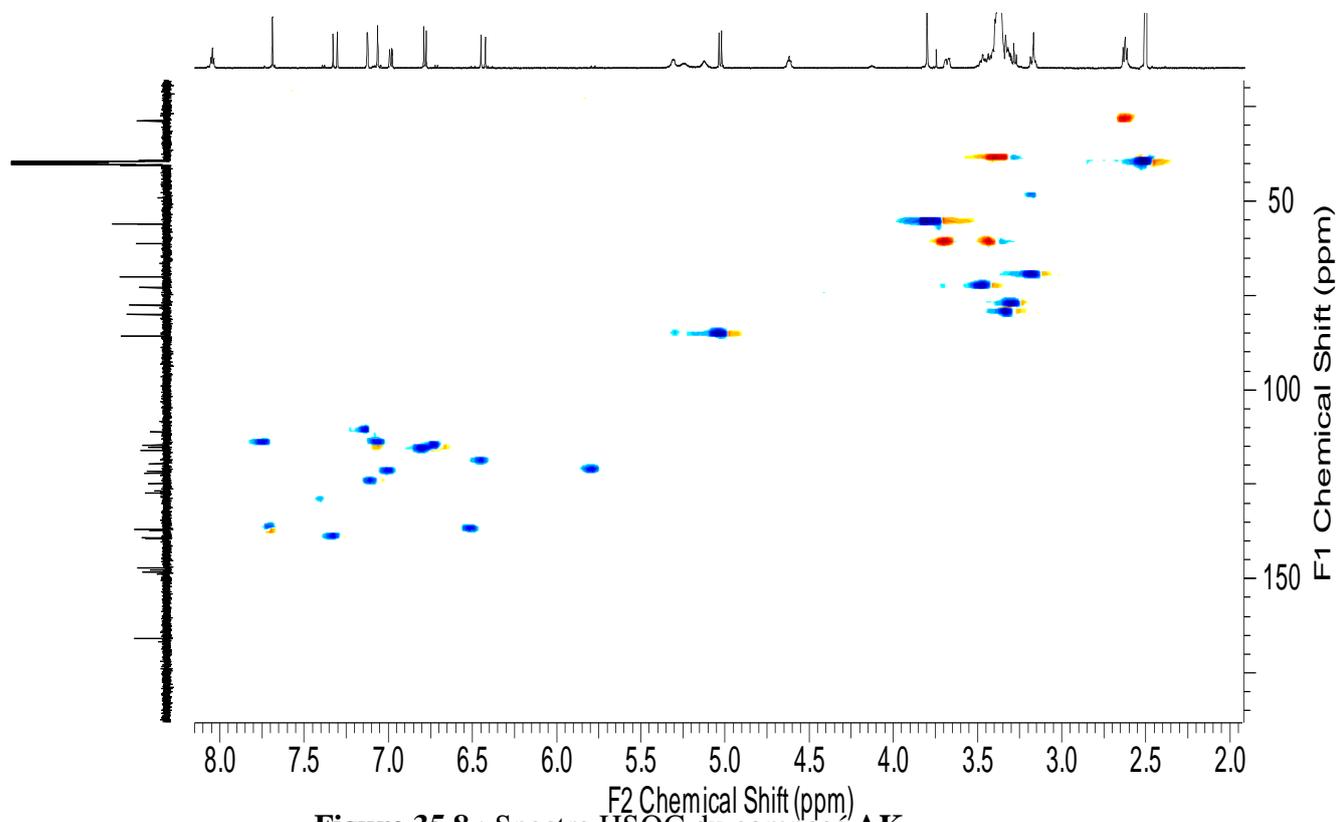


Figure 35.8 : Spectre HSQC du composé AK7

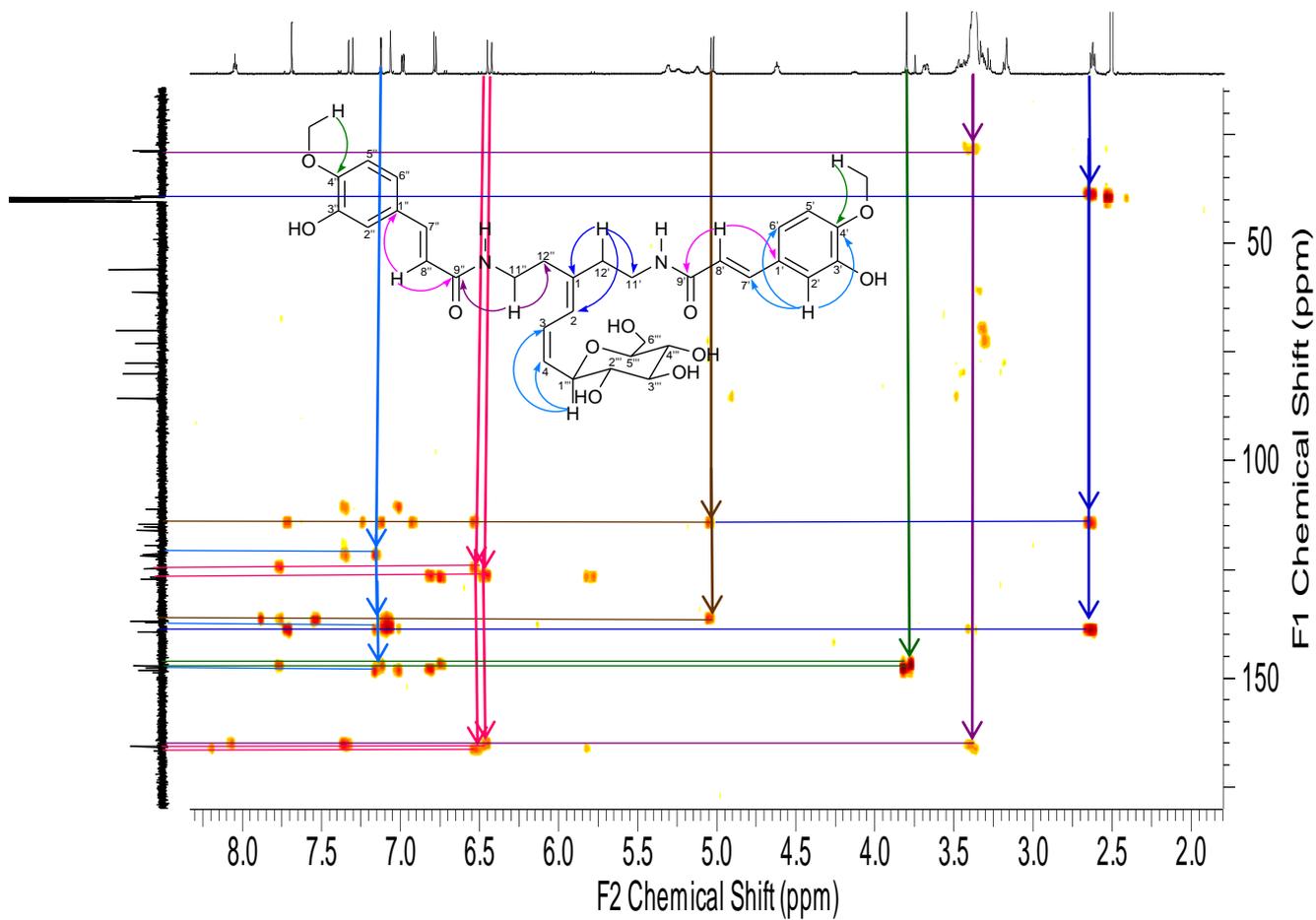


Figure 35.9 : Spectre HMBC du composé **AK₇**

II – 2 – 2 – 2– Détermination de la structure AK₁

AK₁ a été isolé sous forme de poudre blanche. L'analyse de son spectre de masse haute résolution ESI (mode positif) (Figure 36.1) permet d'observer un ion quasi moléculaire à m/z 235.1666 [M+Na] (calculée, 235.4078), en accord avec la formule brute C₁₅H₃₂Na.

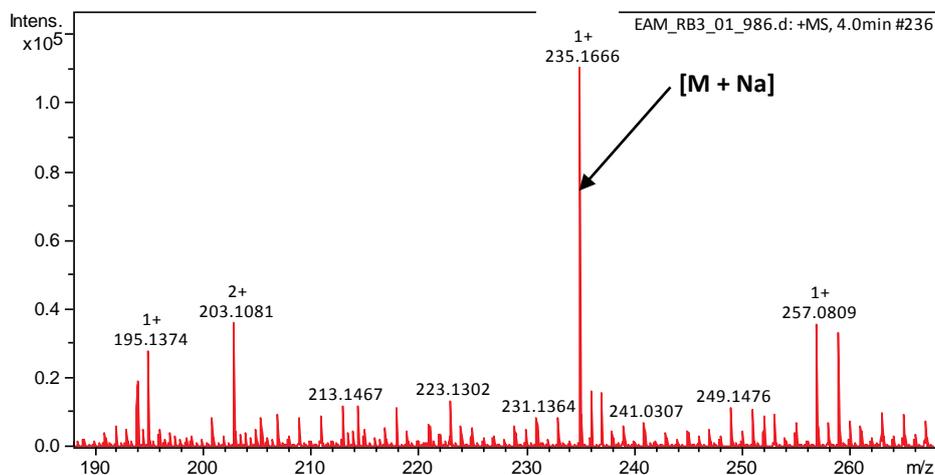


Figure 36.1 : Spectre de masse HR-ESI (+) d'AK₁

L'analyse du spectre RMN ¹³C de AK₁ (Figure 36.5) permet d'observer dix signaux de carbones dont un méthine δ_C 32.8 (C-7), sept méthylènes [δ_C 22.7 (C-2 et C-13), δ_C 31.9 (C-3, C-12), δ_C 29.7 (C-4, C-10), δ_C 29.3 (C-11), δ_C 27.1 (C-5, C-9), δ_C 37.1 (C-6, C-8), δ_C 29.7 (C-1')] et deux signaux de carbones méthyles [δ_C 19.7 (C-1') et δ_C 14.1 (C-1 et C-14)] (Tableau 13).

L'analyse du spectre RMN ¹H de AK₁ (Figure 36.4) révèle la présence un signal d'un proton méthine à δ_H 1.35 (1H, H-7) qui corrèle sur le spectre HSQC (Figure 36.7) avec le carbone à δ_C 32.8 (C-7), un signal de protons méthylènes à δ_H 1.30 (4H, H-2 et H-13) qui corrént sur le spectre HSQC avec les carbones à δ_C 22.7 (C-2 et C-13), un large signal de protons méthylènes à δ_H 1.27 (18H, H-3, H-4, H-5, H-6, H-8, H-9, H-10, H-11, H-12) qui corrént sur le spectre HSQC respectivement avec les carbones à δ_C 31.9 (C-3, C-12), δ_C 29.7 (C-4, C-10), δ_C 29.3 (C-11), δ_C 27.1 (C-5, C-9), δ_C 37.1 (C-6, C-8) et δ_C 37.1 (C-3), un signal d'un proton méthine à δ_H 1.35 (1H, H-7) qui corrèle sur le spectre HSQC avec le carbone à δ_C 32.8 (C-7) ; un signal de protons méthyles terminaux à δ_H 0.91 (t, J= 6.7 Hz, H-1 et H-14) qui corrént sur le spectre HSQC avec les carbones à δ_C 14.1 (C-1 et C-14) (Tableau 13). De plus, les corrélations observées entre les signaux de protons δ_H 0.91 (H-1, H-14) et δ_H 1.27 (H-2, H-13) sur le spectre COSY (Figure 36.6) et celles observées sur le spectre HMBC (Figure 36.8) entre les signaux de protons et des carbones à δ_H 1.27 (H-3,H-12) / δ_C 29.7 (C-4, C-10), δ_H 1.30 (H-2, H-13) / δ_C 31.9 (C-3, C-12) et δ_H 0.91 (H-1, H-14) / δ_C 31.9 (C-3, C-11) suggèrent une longue chaîne alcane substituée (Figure 36.2).

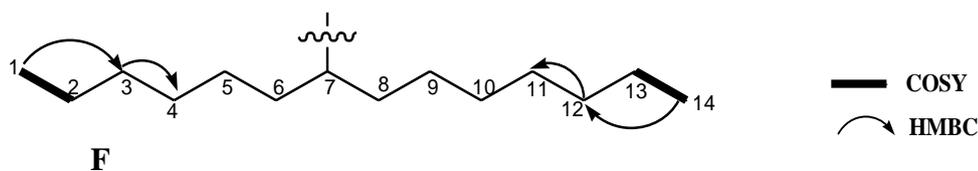


Figure 36.2 : longue chaine alcane substituée d'AK₁

Par ailleurs, le spectre RMN ¹H (Figure 36.4) d'AK₁ révèle la présence d'un signal de protons méthyles terminaux à δ_H 0.86 (t, $J = 6.7$ Hz, H-1') qui corrèlent sur le spectre HSQC (Figure 36.6) avec le carbone à δ_C 19.7 (C-1'). De plus, la corrélation observée entre les signaux de protons δ_H 0.86 (H-1') et δ_H 1.35 (H-7) sur le spectre COSY (Figure 36.6) et celle observée sur le spectre HMBC (Figure 36.8) entre le proton à δ_H 0.86 (H-1') et les carbones à δ_C 37.1 (C-6, C-8) ont permis de relier la longue chaine alcane et le méthyle (position C-7) (Figure 36.3).

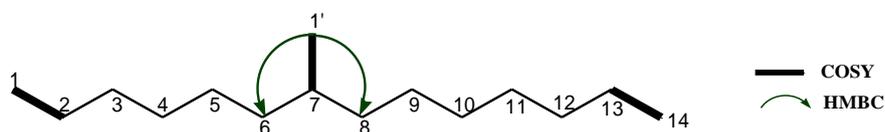
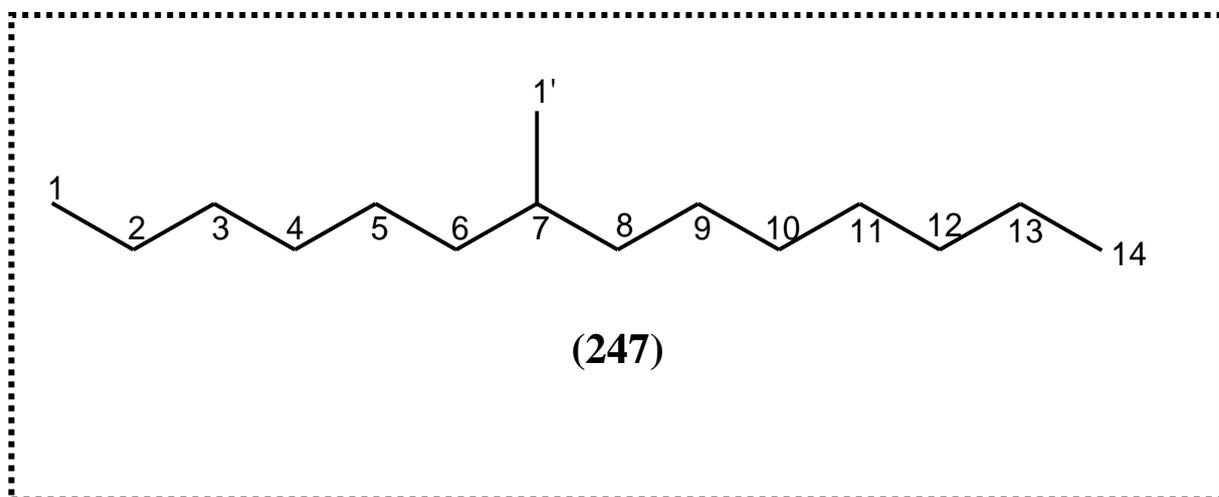


Figure 36.3 : Jonction entre le méthyle et la chaine alcane d'AK₁

Tableau 13: Valeurs des déplacements chimiques (¹H et ¹³C) d'AK₁ (CDCl₃).

N°	δ_H ppm (multi., J Hz)	δ_C ppm	DEPT
1	0.91 (t, $J = 6.7$ Hz)	14.1	CH ₃
2	1.30	22.7	CH ₂
3	1.27	31.9	CH ₂
4	1.27	29.7	CH ₂
5	1.27	27.1	CH ₂
6	1.27	37.1	CH ₂
7	1.35	32.8	CH
8	1.27	37.1	CH ₂
9	1.27	27.1	CH ₂
10	1.27	29.7	CH ₂
11	1.27	29.3	CH ₂
12	1.27	31.9	CH ₂
13	1.30	22.7	CH ₂
14	0.91 (t, $J = 6.7$ Hz)	14.1	CH ₃
1'	0.86 (t, $J = 6.7$ Hz)	19.7	CH ₃

L'ensemble des données précédentes a permis d'établir **AK₁** comme étant le **7-methyltétradécane**, un alcane nouveau.



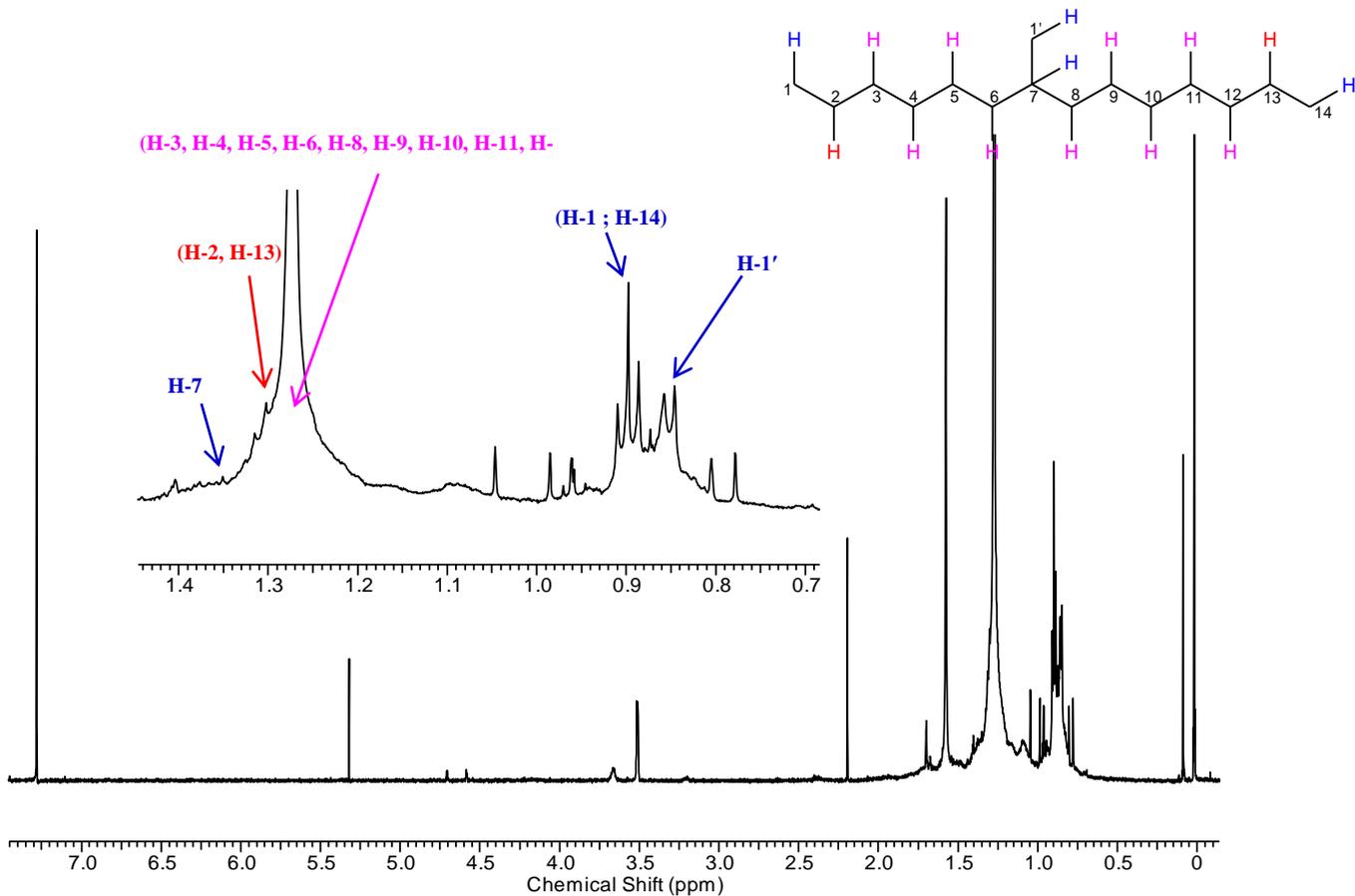


Figure 36.4 : Spectre RMN H du composé **AK₁** (600MHz, CDCl_3)

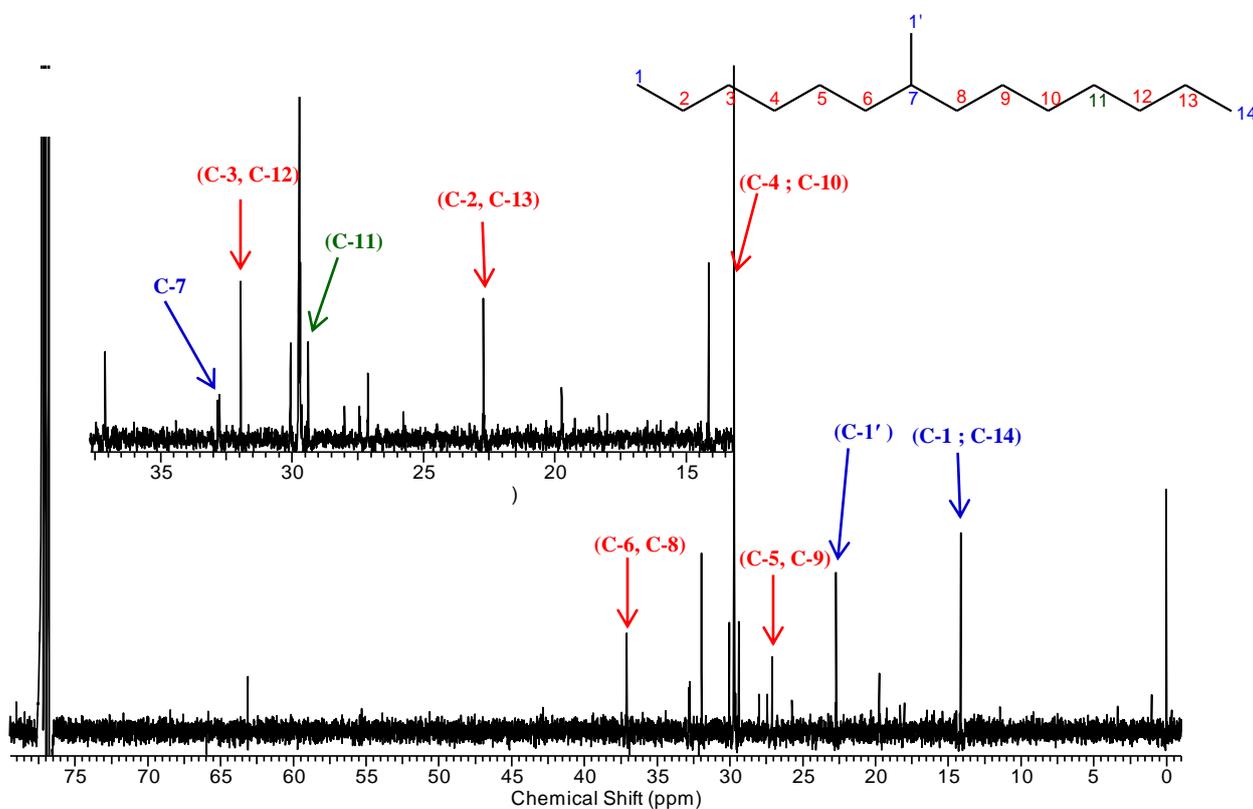


Figure 36.5 : Spectre RMN ^{13}C du composé **AK₁** (150MHz, CDCl_3)

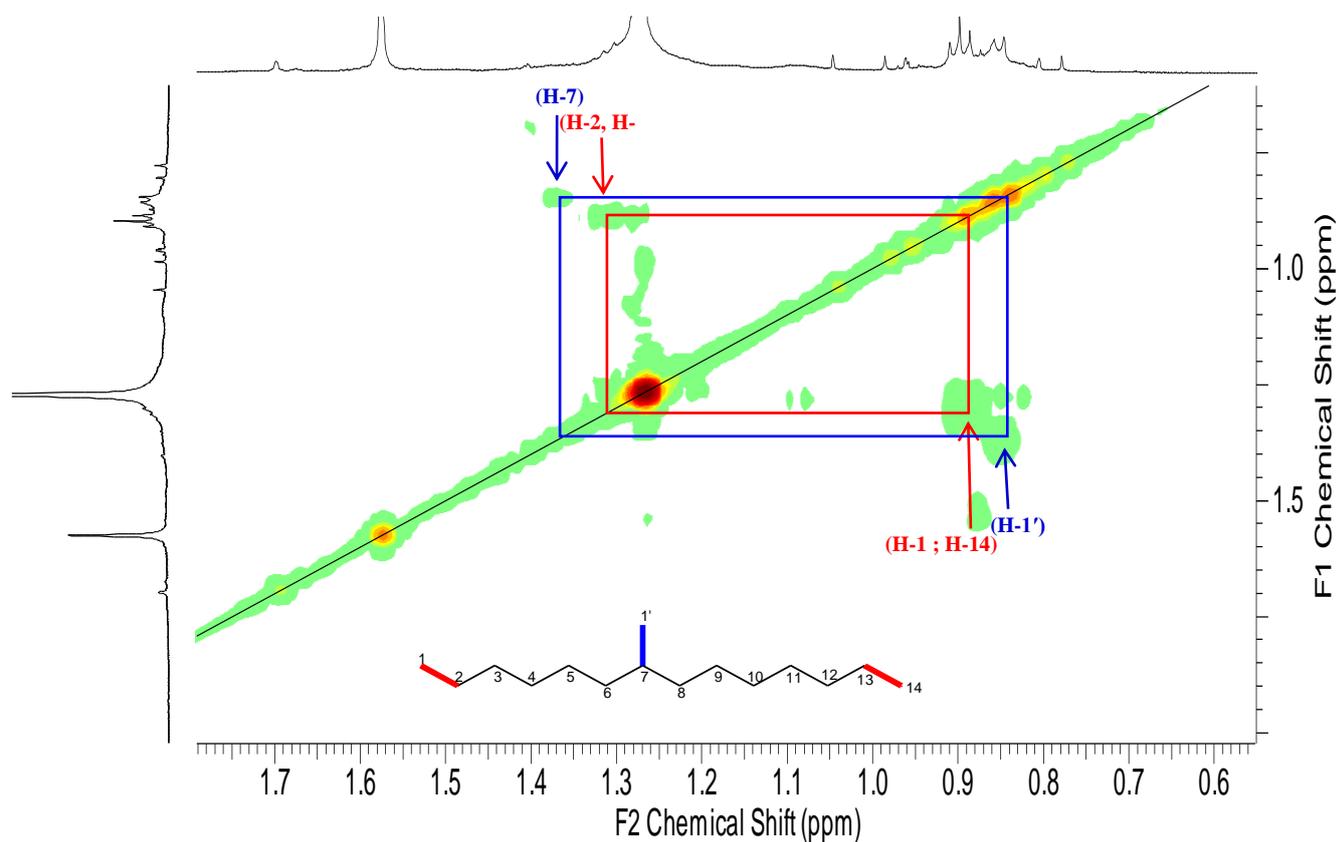


Figure 36.6 : Spectre COSY du composé AK₁

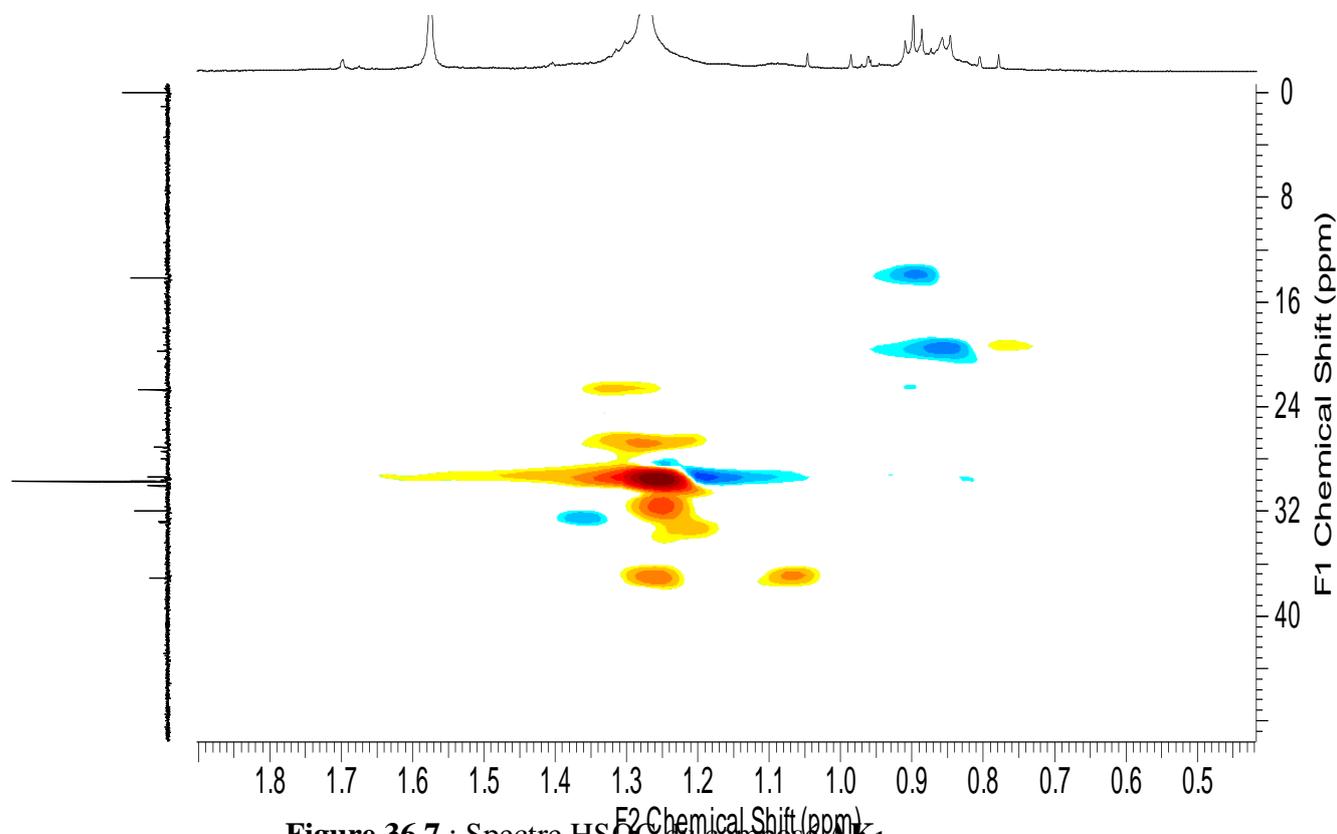


Figure 36.7 : Spectre HSQC du composé AK₁

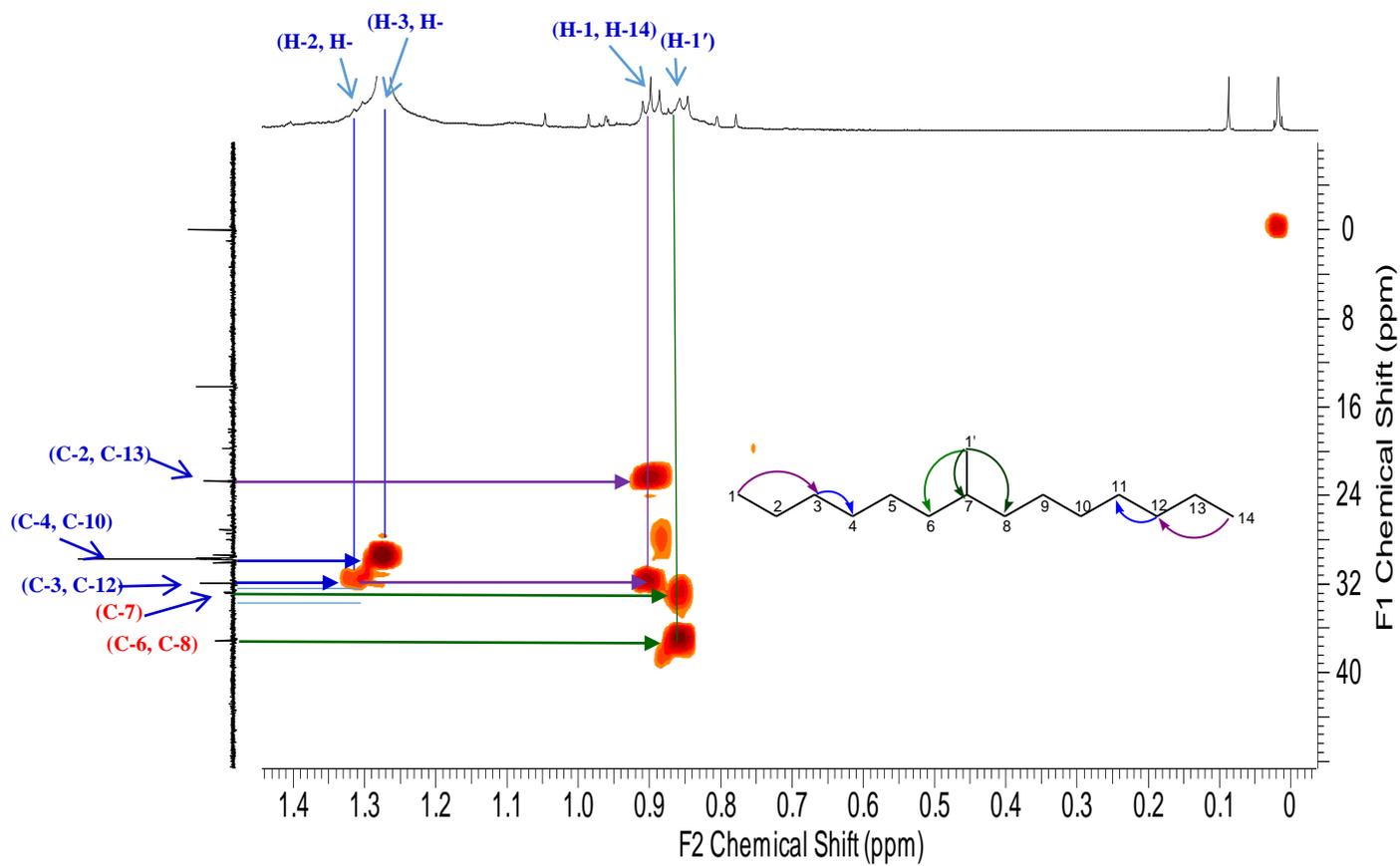


Figure 36.8 : Spectre HMBC du composé **AK₁**

II – 2 – 2 – 3 – Identification de la structure AK₈

AK₈ a été obtenu sous forme de cristaux incolores. L'analyse de son spectre de masse haute résolution ESI (mode positif) permet d'observer un ion pseudo-moléculaire à m/z 365.1932 [M + Na]⁺ (calculée, 365.2848), en accord avec la formule brute C₁₂H₂₂O₁₁Na.

L'analyse du spectre RMN ¹H d'AK₈ (Figure 37.3) permet de distinguer dans la zone de sucres : un signal d'un proton anomérique à δ_H 5.27 (1H, d, 3.7 Hz, H-1) qui corrèle sur le HSQC (Figure 37.6) avec le carbone à δ_C 92.1 (C-1) ; quatre méthines oxygénés à δ_H 3.41 (1H, dd, 4.1 et 6.0 Hz, H-2), δ_H 3.62 (1H, d, 10.1 Hz, H-3), δ_H 3.32 (1H, dd, 0.75 et 9.0 Hz, H-4) et δ_H 3.70 (1H, m, H-5) qui corrélient sur le spectre HSQC respectivement avec les carbones à δ_C 71.0 (C-2), δ_C 72.4 (C-3), δ_C 69.1 (C-4) δ_C 72.3 (C-5) et un méthylène hydroxylé à δ_H 3.68 (2H, d, 2.6 Hz, H-6) qui corrèle avec le carbone à δ_C 60.0 (C-6) (Tableau 14). De plus, les corrélations observées entre les signaux de protons [δ_H 3.32 (H-4) et δ_H 3.62 (H-3), δ_H 3.62 (H-3) et δ_H 3.41 (H-2), δ_H 3.41 (H-2) et δ_H 5.27 (H-1), δ_H 3.32 (H-4) et δ_H 3.70 (H-5)] sur le spectre COSY (Figure 37.5) et celles observées sur le spectre HMBC (Figure 37.7) entre les signaux de protons et carbones [δ_H 5.27 (H-1) et δ_C 72.3 (C-5) / δ_C 72.4 (C-3), δ_H 3.68 (H-6) et δ_C 69.1 (C-4), δ_H 3.62 (H-3) et δ_C 69.1 (C-4) / δ_C 71.0 (C-2), δ_H 3.41 (H-2) / δ_C 72.4 (C-3) et δ_H 3.32 (H-4) et δ_C 72.4 (C-3) / δ_C 60.0 (C-6)] suggèrent la présence d'un fragment glucopyranoside (**1**) (proton anomérique résonne à δ_H 5.27) (Figure 37.1).

Par ailleurs, le spectre RMN ¹H d'AK₈ (Figure 37.3) révèle la présence de trois méthines hydroxylés à δ_H 4.08 (1H, d, 8.6 Hz, H-3') δ_H 3.90 (1H, d, 8.6 Hz, H-4') et δ_H 3.75 (1H, m, H-5') qui corrélient sur le spectre HSQC respectivement avec les carbones à δ_C 76.3 (C-3'), δ_C 73.9 (C-4') et δ_C 81.3 (C-5'), deux méthylènes oxygénés à δ_H 3.53 (2H, s, H-1') et δ_H 3.67 (2H, d, 2.6 Hz, H-6') qui corrélient respectivement avec les carbones à δ_C 61.2 (C-1') et δ_C 62.2 (C-6'). L'analyse du spectre RMN ¹³C (Figure 37.4) d'AK₈ permet de distinguer un signal de carbone quaternaire à δ_C 103.6 (C-2') (Tableau 14). De plus, les corrélations entre les signaux de protons [δ_H 3.67 (H-6') et δ_H 3.75 (H-5'), δ_H 3.75 (H-5') et δ_H 3.90 (H-4'), δ_H 3.90 (H-4') et δ_H 4.08 (H-3')] sur le spectre COSY (Figure 37.5) et celles sur le spectre HMBC (Figure 37.7) entre les signaux de protons et carbones [δ_H 4.08 (H-3') et δ_C 73.9 (C-4') ; δ_H 3.90 (H-4') et δ_C 62.2 (C-6') / δ_C 76.3 (C-3'), δ_H 3.75 (H-5') et δ_C 73.9 (C-4'), δ_H 3.67 (H-6') et / δ_C 81.3 (C-5'), δ_H 3.53 (H-1') et δ_C 76.4 (C-3') / δ_C 103.6 (C-2')] suggèrent la présence d'un fragment sorbopyranoside (**2**) (Figure 37.1)

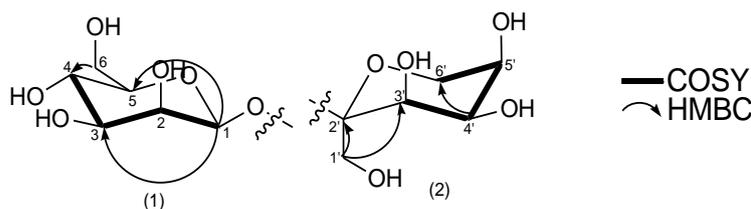


Figure 37.1 : Fragments hexoses d'AK₈.

L'analyse complète des spectres RMN 1D et 2D a permis de compléter la structure d'**AK₈**.

Ainsi :

- La corrélation observée sur le spectre HMBC (Figure 37.7) entre le proton à δ_H 5.27 (H-1) et le carbone à δ_C 103.6 (C-2') permet de relier les deux fragments (position C-1 et C-2') (Figure 37.2) ;
- les corrélations observées sur le spectre NOESY (Figure 37.8) entre les signaux de protons à δ_H 5.27 (H-1) et δ_H 3.53 (H-1'), δ_H 5.27 (H-1) et δ_H 3.41 (H-2), δ_H 3.90 (H-4') et δ_H 4.08 (H-3'), δ_H 3.90 (H-4') et δ_H 3.75 (H-5'), δ_H 3.41 (H-2) et δ_H 3.53 (H-1') confirme la structure d'**AK₈** par la proximité des protons (H-1, H-2 et H-1' ; H-3', H-4' et H-5') dans l'espace (Figure 37.2) .

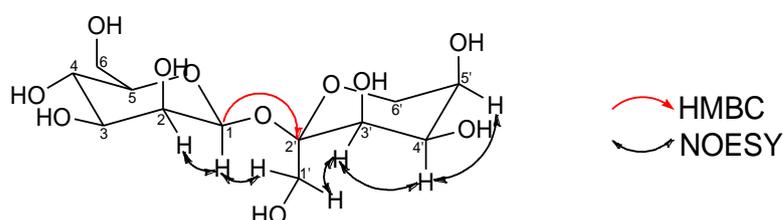
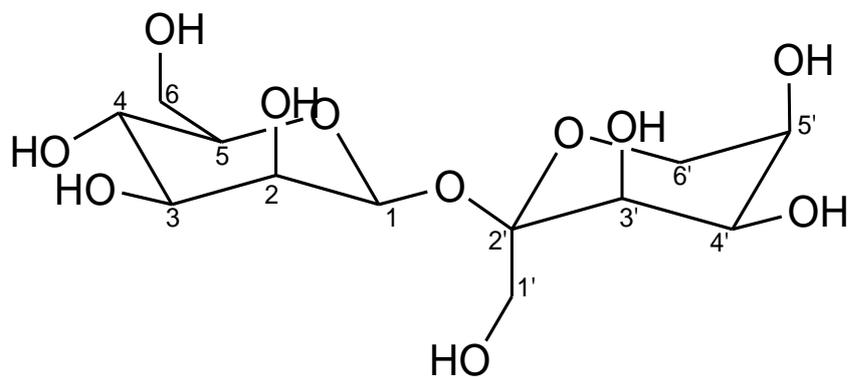


Figure 37.2 : Corrélations HMBC et NOESY dans **AK₈**.

Tableau 14 : Valeurs des déplacements chimiques (^1H et ^{13}C) d'**AK₈** (D_2O).

	N°	δ_H ppm (multi., J Hz)	δ_C ppm	DEPT
Glucose	1	5.27 (d, $J = 3.7$ Hz)	92.1	CH
	2	3.41 (dd, $J = 3.7$ et 9.0 Hz)	71.0	CH
	3	3.62 (t, $J = 9.0$ Hz)	72.4	CH
	4	3.33 (dd, $J = 9.0$ et 0.75 Hz)	69.1	CH
	5	3.70 (m)	72.3	CH
	6	3.68 (d, $J = 2.6$ Hz)	60.0	CH ₂
Sorbose	1'	3.53 (s)	61.2	CH ₂
	2'	—	103.6	C
	3'	4.08 (d, $J = 8.6$ Hz)	76.3	CH
	4'	3.90 (t, $J = 8.6$ Hz)	73.9	CH
	5'	3.75 (m)	81.3	CH
	6'	3.67 (d, $J = 3.7$ Hz)	62.2	CH ₂

L'ensemble des données précédentes d'**AK₈** et la comparaison avec celles de la littérature nous ont permis d'établir sa structure comme étant le α -D-glucopyranosyl (1 \rightarrow 2')- β -D-sorbopyranoside ou digobiose, un dissaccharide précédemment isolé de *Macrothelypteris digophlebia* (Qiu et al, 2000).



(248)

MJA5.0239

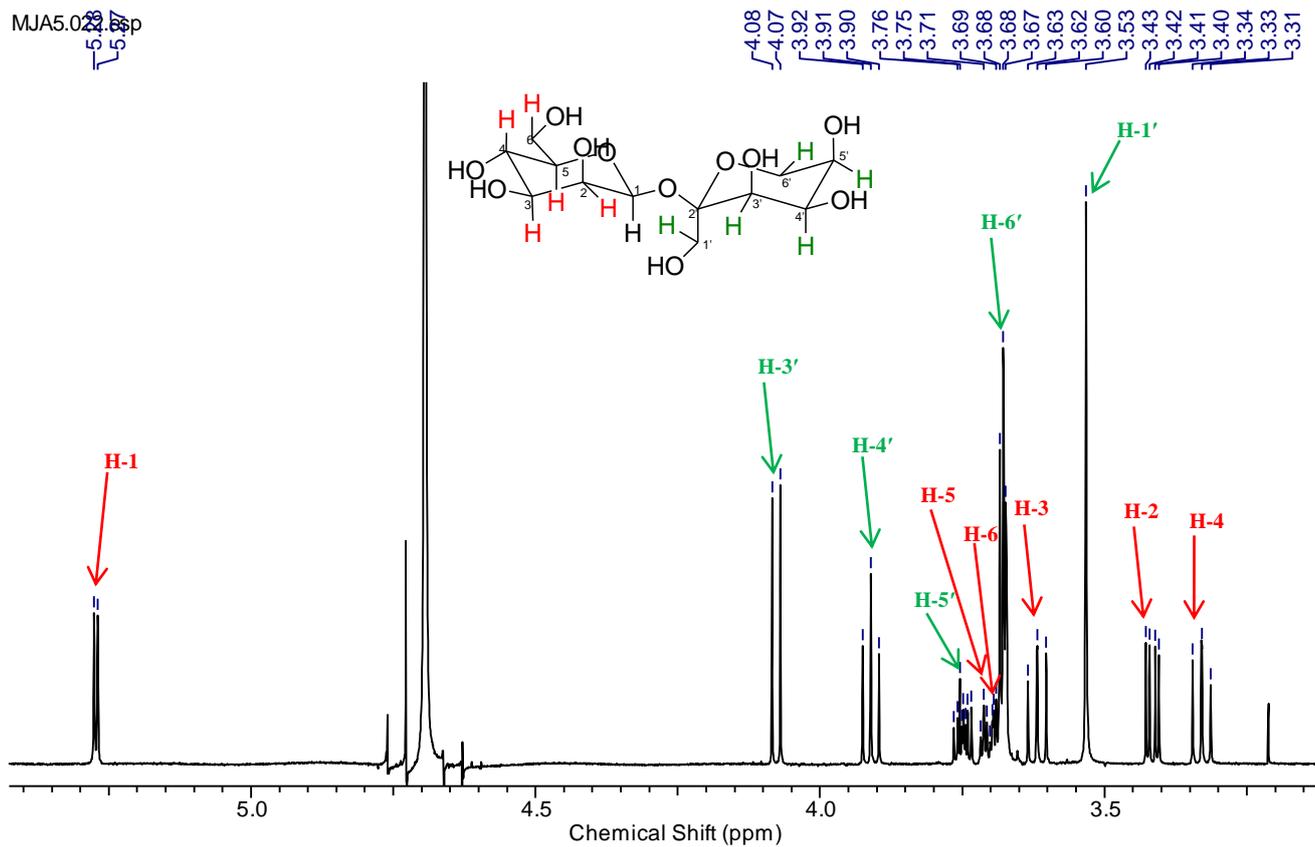


Figure 37.3 : Spectre RMN H du composé **AK₈** (600MHz,D₂O)

RMN C 13. J Mod.esp

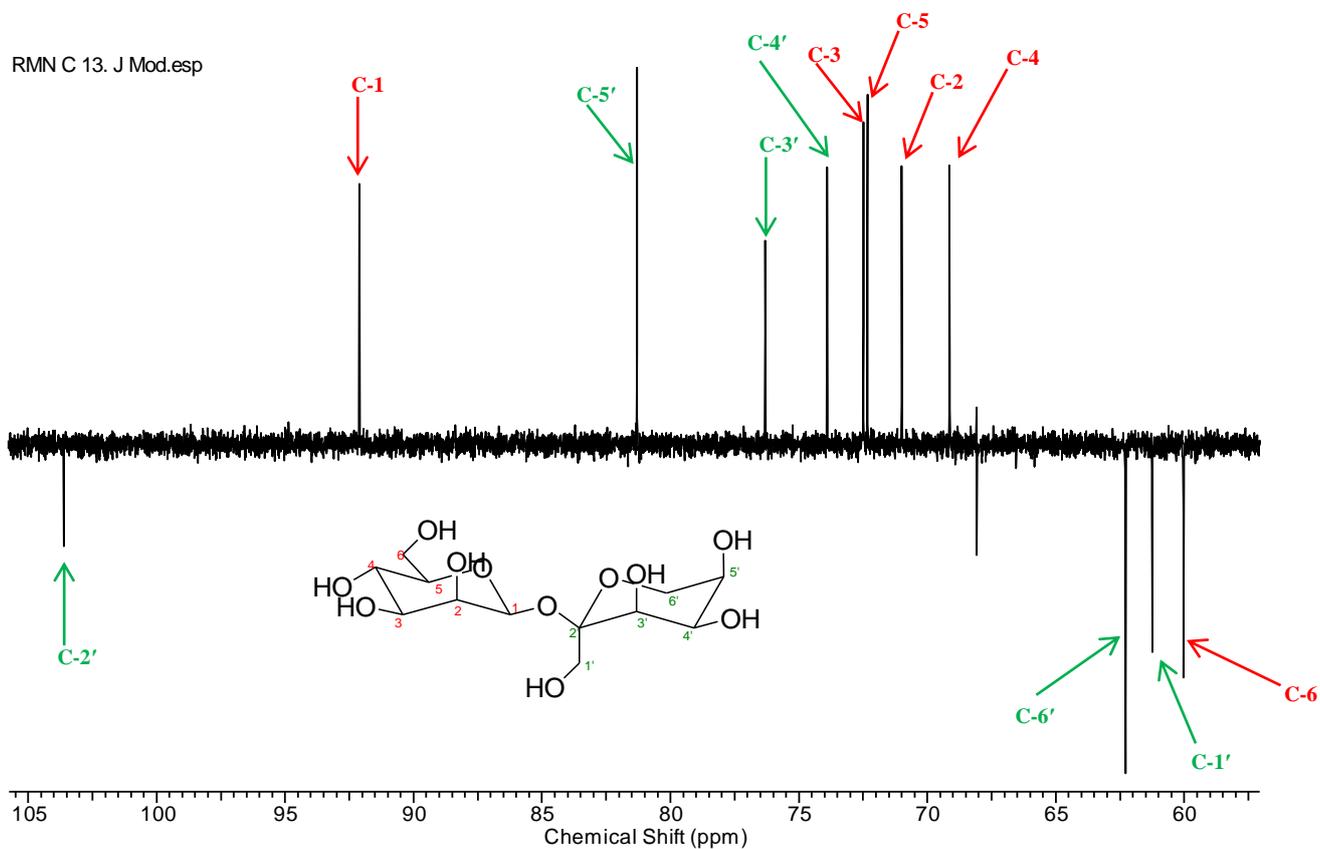


Figure 37.4 : Spectre RMN ¹³C du composé **AK₈** (150MHz,D₂O)

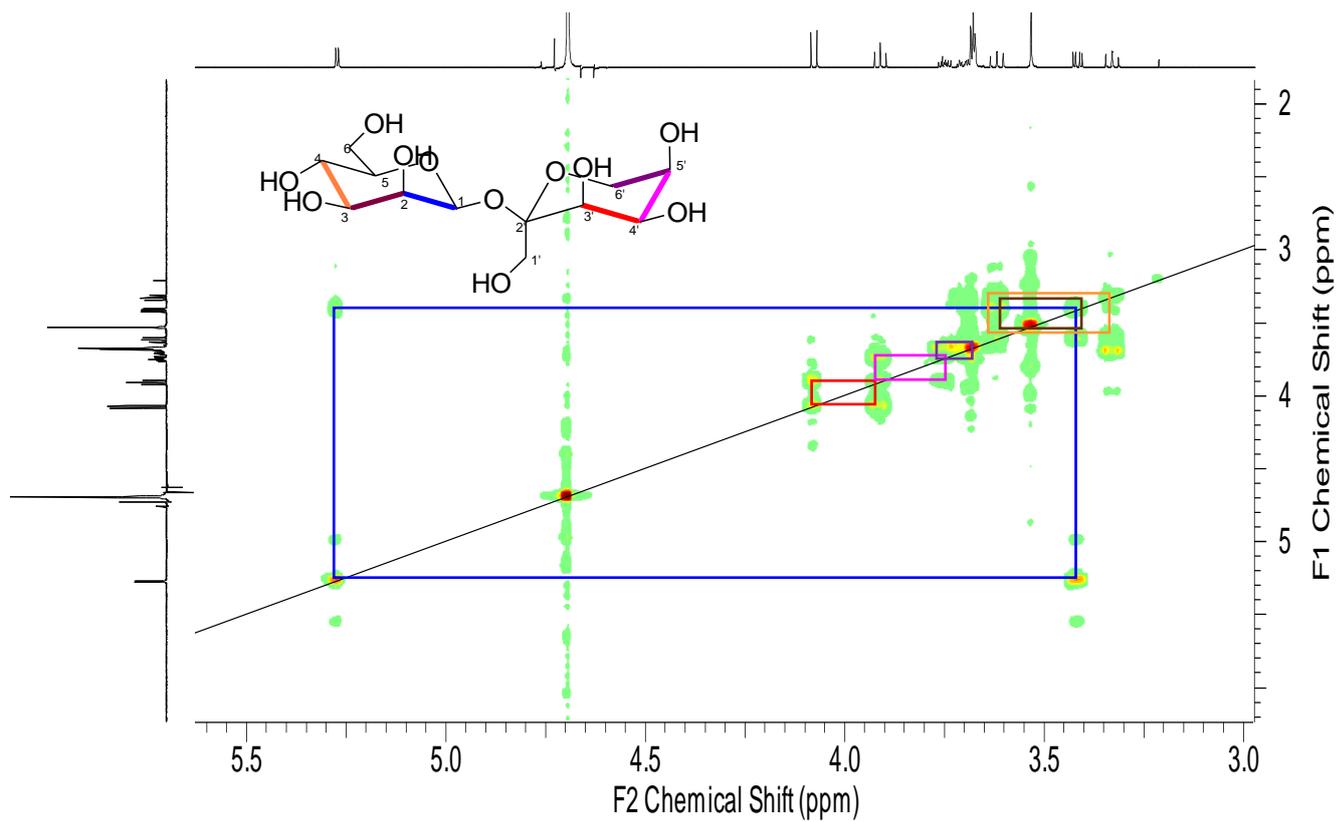


Figure 37.5 : Spectre COSY du composé **AK₈**

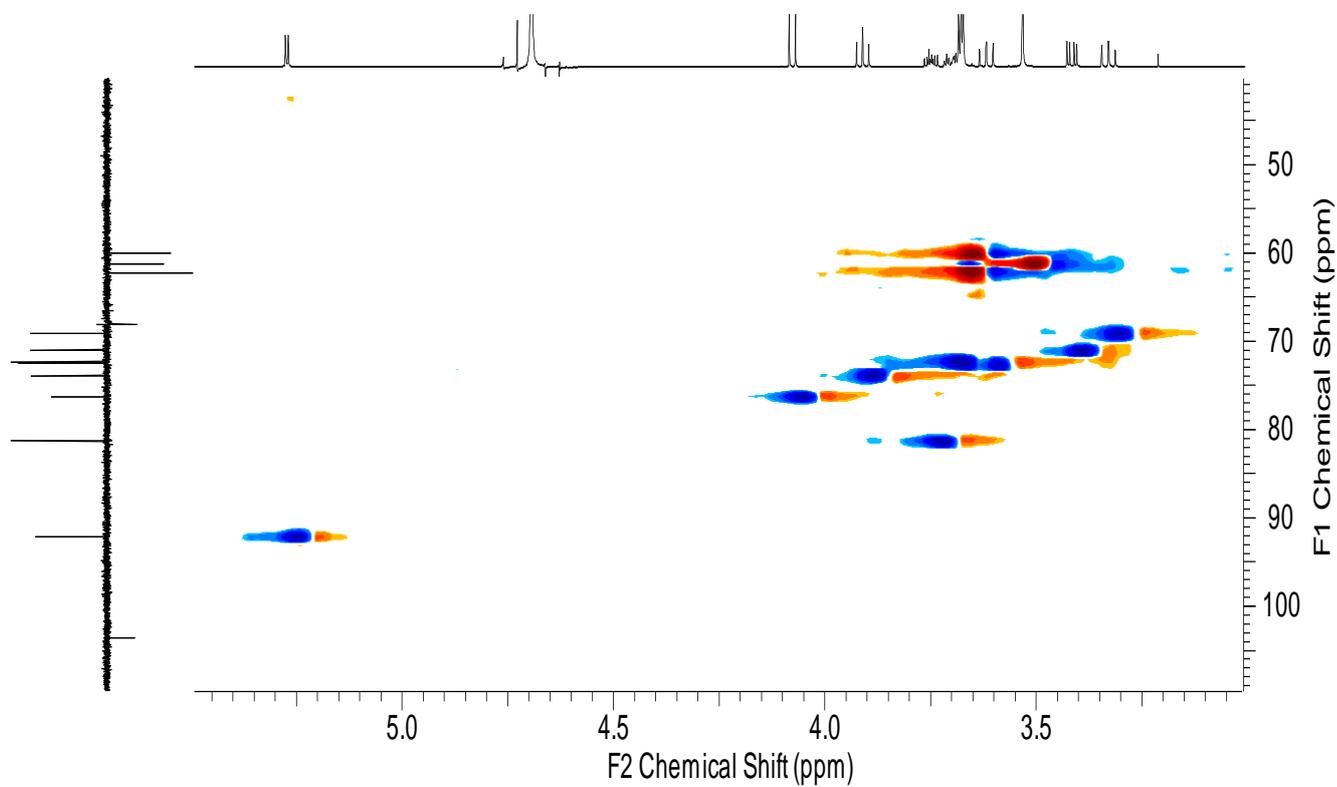


Figure 37.6 : Spectre HSQC du composé **AK₈**

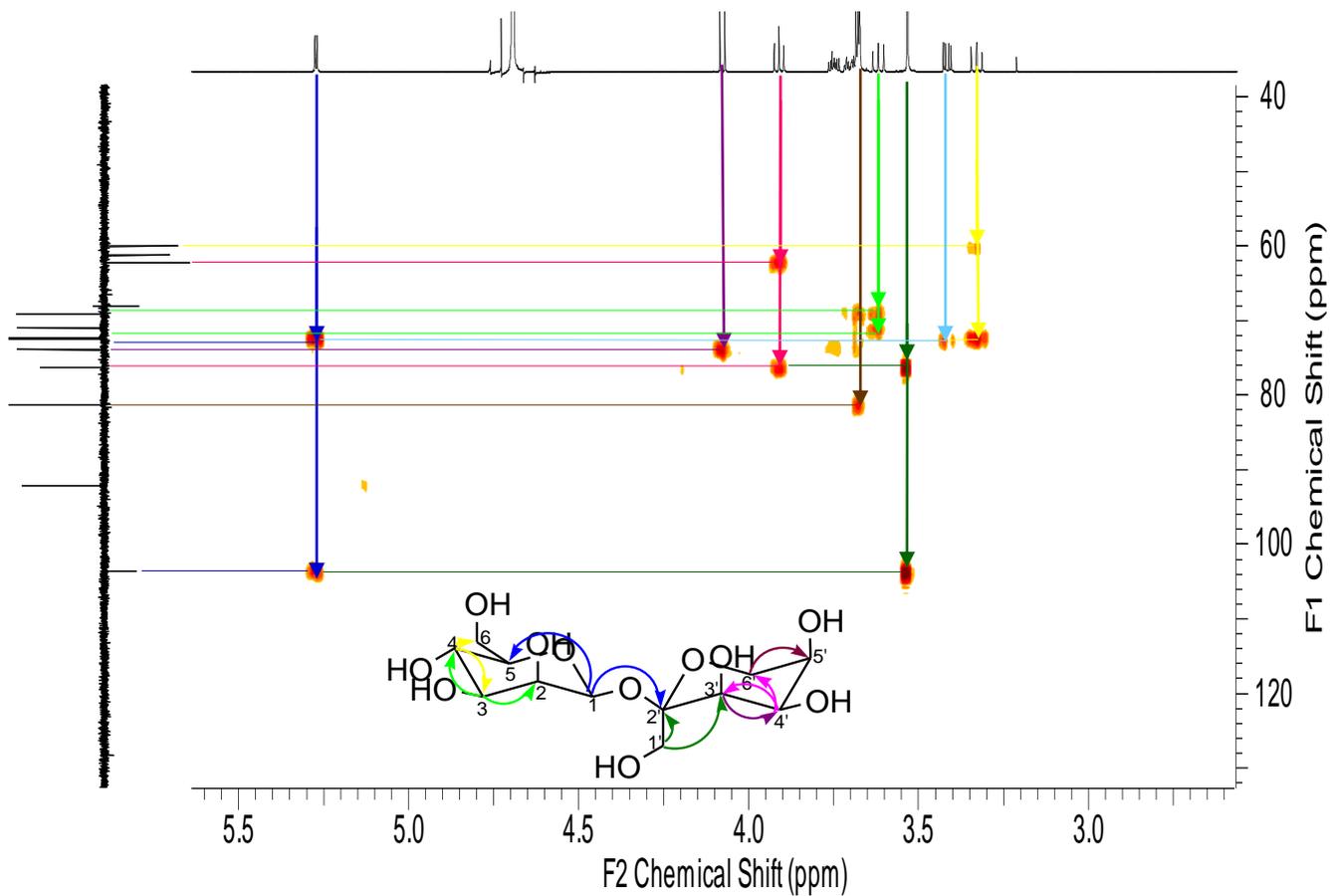


Figure 37.7 : Spectre HMBC du composé AK₈

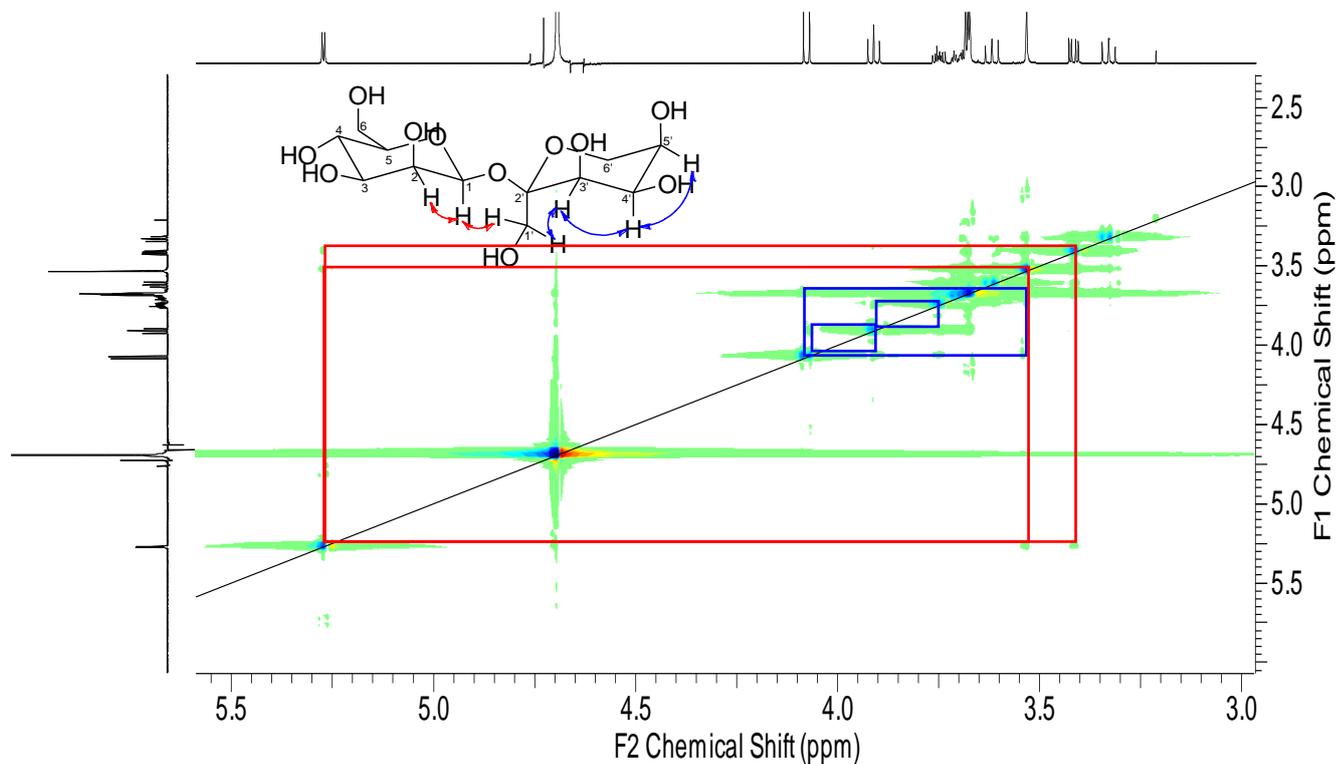


Figure 37.8 : Spectre NOESY du composé AK₈

II – 2 – 2 – 4 – Identification de la structure **AK₂**

AK₂ a été isolé sous forme de poudre blanche. L'analyse de son spectre de masse haute résolution ESI (mode positif), permet d'observer un ion pseudo-moléculaire à m/z 507.5179 $[M+Na]^+$ (calculée 507.7900), en accord avec la formule brute $C_{30}H_{60}O_4Na$.

L'analyse du spectre RMN 1H d'**AK₂** (Figure 38.4) révèle la présence de signaux de protons méthylènes à δ_H 2.35 (2H, t, $J = 7.7$ Hz, H-2) et δ_H 1.62 (2H, m, H-3) qui corrélient respectivement sur le spectre HSQC (Figure 38.7) avec les carbones à δ_C 34.5 (C-2) et δ_C 25.3 (C-3), un large signal de protons méthylènes entre δ_H 1.22 – 1.30 (46H, m) qui corrélient sur le spectre HSQC avec les carbones à δ_C 29.5 – 30.1 (23CH₂) et un signal de protons méthyles terminaux à δ_H 0.87 (3H, t, $J = 6.8$ Hz, H-27) qui corrélient sur le spectre HSQC avec le carbone à δ_C 14.1 (C-27) (Tableau 15). Le spectre RMN ^{13}C (Figure 38.5) d'**AK₂** nous montre un signal d'un carbonyle des esters à δ_C 174.9 (C-1). De plus, les corrélations observées entre les signaux de protons [δ_H 2.35 (H-2) et δ_H 1.62 (H-3)] et [δ_H 1.62 (H-3) et δ_H 1.26 (H-4) ; δ_H 0.87 (H-27) et δ_H 1.30 (H-26)] sur le spectre COSY (Figure 38.6), celles observées entre les signaux de protons et carbones [δ_H 2.35 (H-2) et δ_C 25.3(C-3)/ δ_C 29.5(C-4)/ δ_C 174.9 (C-1); δ_H 1.62 (H-3) et δ_C 29.5 (C-4) ; δ_H 0.87 (H-27) et δ_C 23.1(C-26) / δ_C 32.3(C-25)] sur le spectre HMBC (Figure 38.8) et les fragments à 133 $[(M-H) - 350]^-$, 91 $[(M-H) - 392]^-$ sur le spectre de masse suggèrent la présence dans **AK₂** d'une longue chaîne acyclique liée à un carbonyle (Figure 38.1).

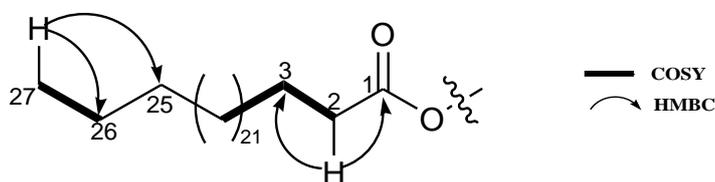


Figure 38.1 : Chaîne acyclique liée à un carbonyle d'**AK₂**.

Par ailleurs, le spectre RMN 1H d'**AK₂** (Figure 38.4) révèle la présence d'un proton méthine hydroxylé sous forme de multiplet à δ_H 3.84 (H-2') qui corrélie sur le spectre HSQC (Figure 38.7) avec le carbone à δ_C 70.4 (C-2'), deux groupes de protons méthylènes portant chacun un atome d'oxygène à δ_H 4.06 (1H, dd, $J = 11.4$; 6.1 Hz, H-1'a) et 4.11 (1H, dd, $J = 11.4$; 4.8 Hz, H-1'b), δ_H 3.60 (1H, dd, $J = 11.4$; 6.0 Hz, H-3'b) et 3.70 (1H, dd, $J = 11.4$; 4.6 Hz, H-3'a) qui corrélient respectivement sur le spectre HSQC avec les carbones à δ_C 65.6 (C-1') et δ_C 63.6 (C-3') (Tableau 15). De plus les corrélations observées entre les signaux de protons [δ_H 4.11 (H-1') et δ_H 3.84 (H-2'), δ_H 3.84 (H-2') et δ_H 3.60 (H-3')] sur le spectre COSY (Figure 38.6), celles observées entre les signaux de protons et carbones [δ_H 4.11 (H-1') et δ_C 70.4 (C-2') ; δ_H 4.11 (H-1') et δ_C 63.6 (C-3') ; δ_H 3.60 (H-3') et δ_C 65.6 (C-1')] sur le spectre HMBC (Figure 38.8) et le fragment à m/z 392 $[(M-H) - 91]^-$, dans le spectre de masse suggèrent la présence dans **AK₂** d'une unité glycérol (Figure 38.2).

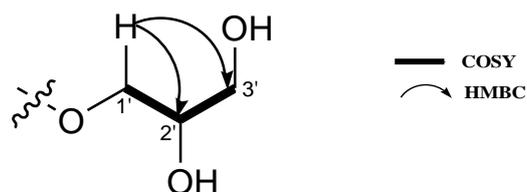


Figure 38.2 : unité glycérol d'AK₂

La structure d'AK₂ a été complétée sur la base de la corrélation observée sur le spectre HMBC (Figure 38.8). Ainsi, les corrélations observées entre les protons et les carbones [δ_H 4.06 (H-1') et δ_C 174.9 (C-1), δ_H 2.35 (H-2) et δ_C 174.9 (C-1)] permettent de relier la longue chaîne acyclique et l'unité glycérol (Figure 38.3).

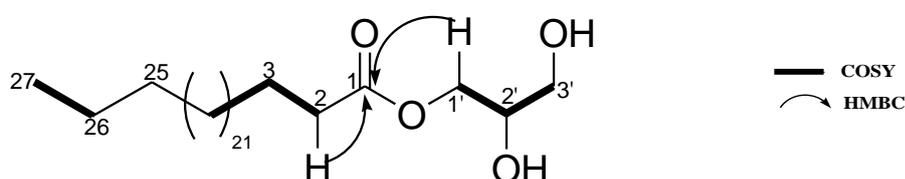
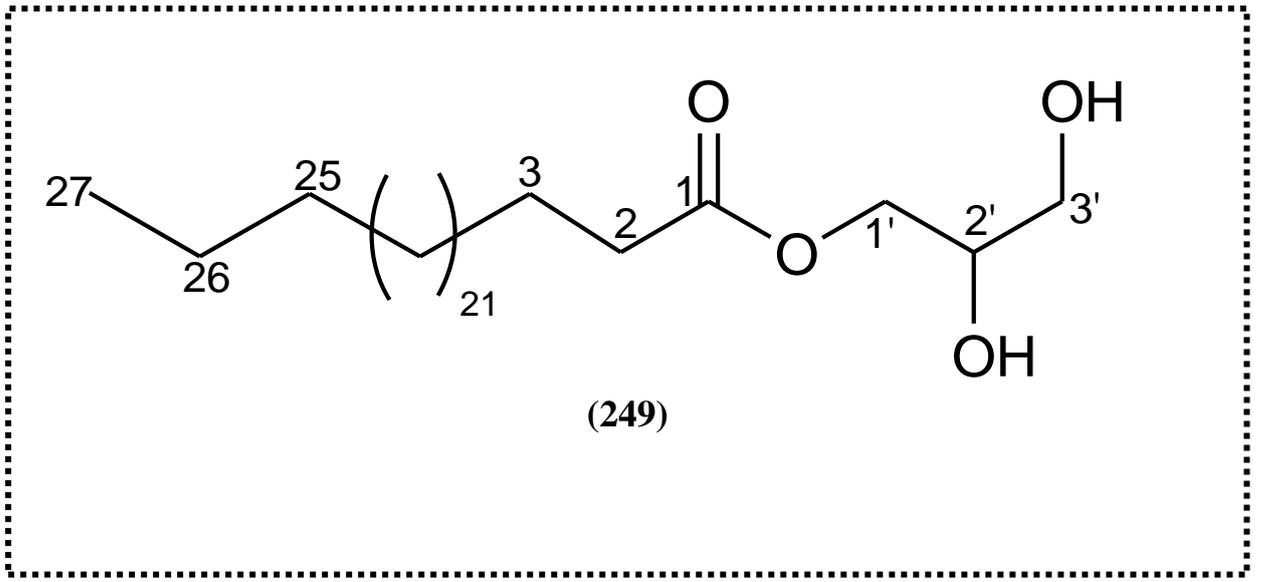


Figure 38.3 : Jonction glycérol et chaîne acyclique d'AK₂.

Tableau 15 : Valeurs des déplacements chimiques (¹H et ¹³C) d'AK₂ (CD₂Cl₂).

N°	δ_H ppm (multi., <i>J</i> Hz)	δ_C ppm	DEPT
1	—	174.9	C
2	2.35 (t, <i>J</i> = 7.7 Hz)	34.5	CH ₂
3	1.62 (m)	25.3	CH ₂
4–24	1.26–1.32 (m)	29.5–30.1	CH ₂ –CH ₂
25	1.22 (m)	32.3	CH ₂
26	1.30 (m)	23.1	CH ₂
27	0.87 (t, <i>J</i> = 6.8 Hz)	14.1	CH ₃
1'	4.11 (dd, <i>J</i> = 11.4; 4.8 Hz) 4.06 (dd, <i>J</i> = 11.4; 6.1 Hz)	65.6	CH ₂
2'	3.83 (m)	70.4	CH
3'	3.70 (dd, <i>J</i> = 11.4; 4.6 Hz) 3.60 (dd, <i>J</i> = 11.4; 6.0 Hz)	63.6	CH ₂

L'ensemble des données précédentes d'AK₂ et la comparaison avec celles de la littérature nous ont permis d'établir sa structure comme étant le heptacosanoate de 2,3-dihydroxypropyle, un monoglycéride précédemment isolé de *Pennisetum purpureum* (Prinsen et al, 2012).



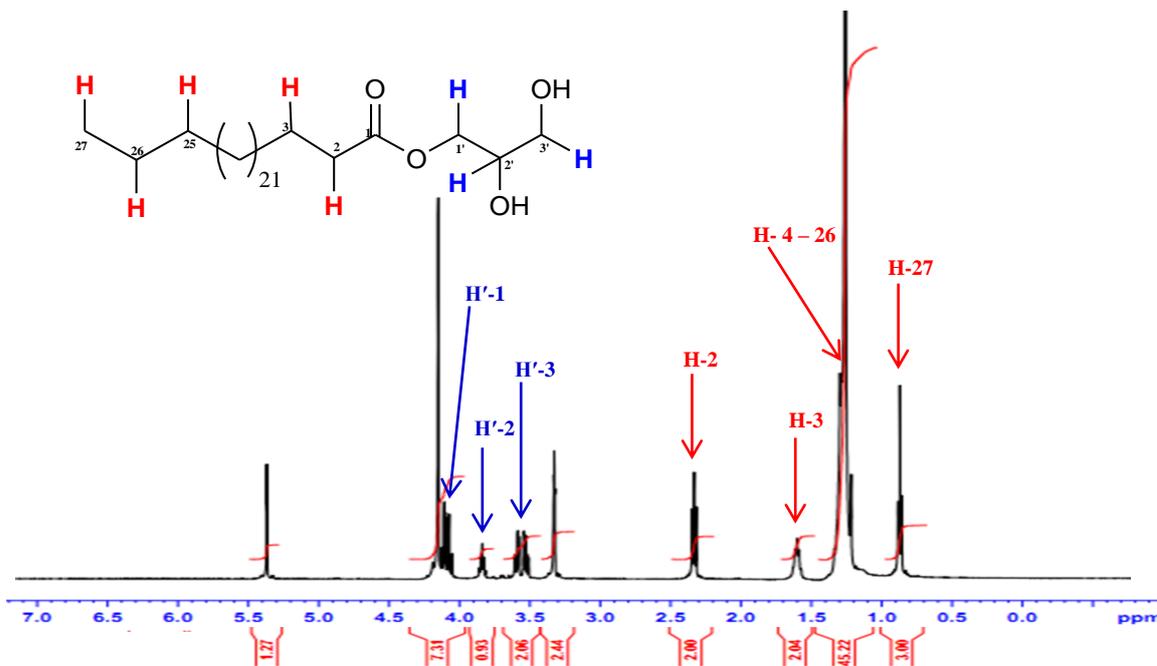


Figure 38.4 : Spectre RMN H du composé **AK₂** (500 MHz, CD₂Cl₂)

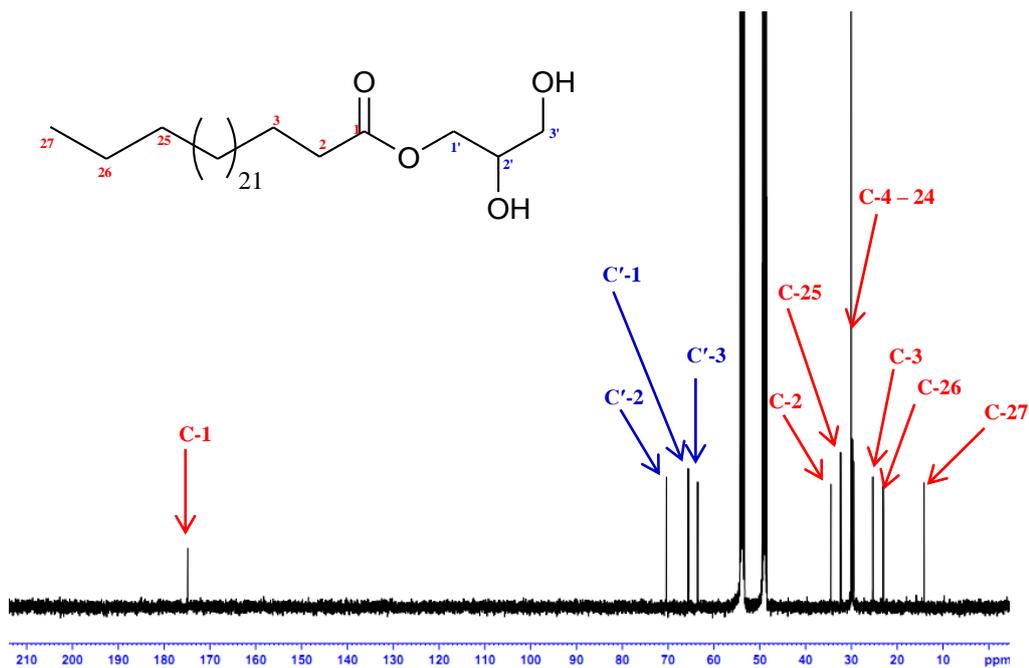


Figure 38.5 : Spectre RMN ¹³C du composé **AK₂** (125 MHz, CD₂Cl₂)

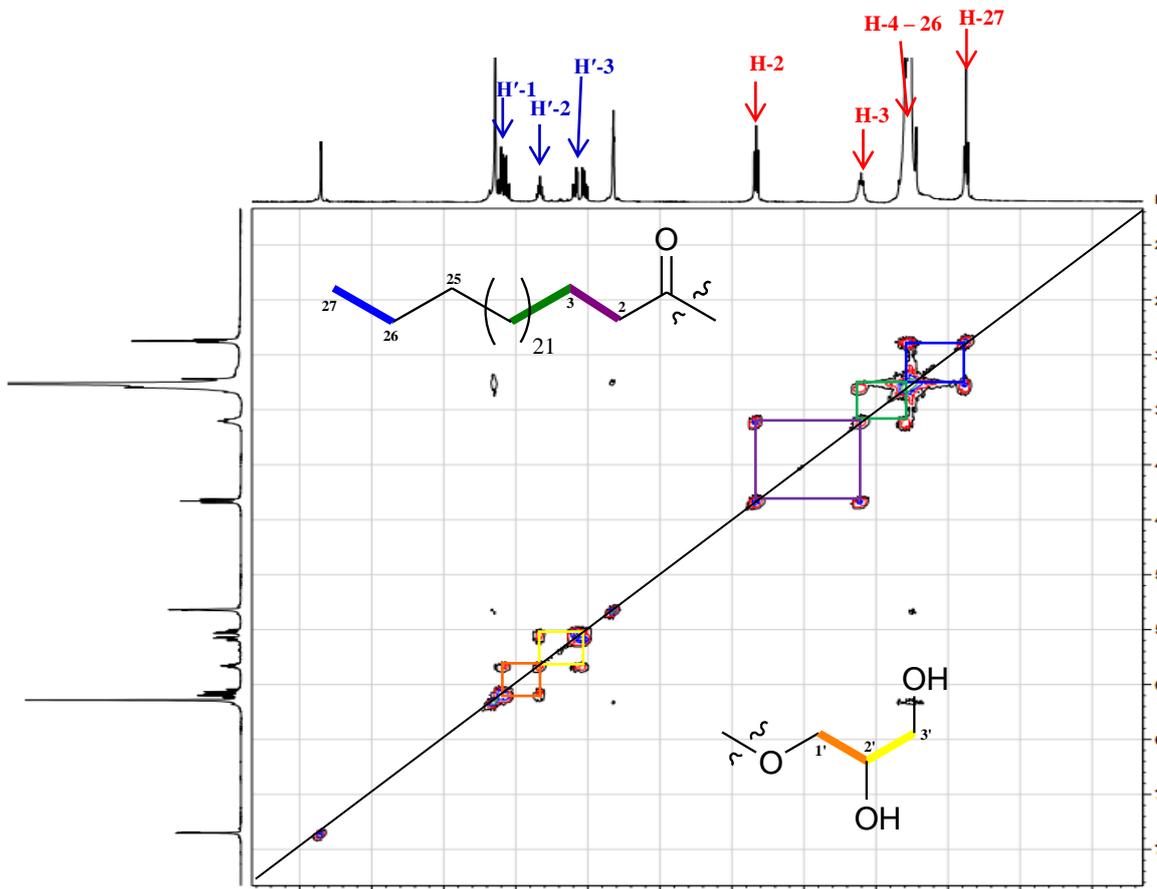


Figure 38.6 : Spectre COSY du composé AK_2 (CD_2Cl_2)

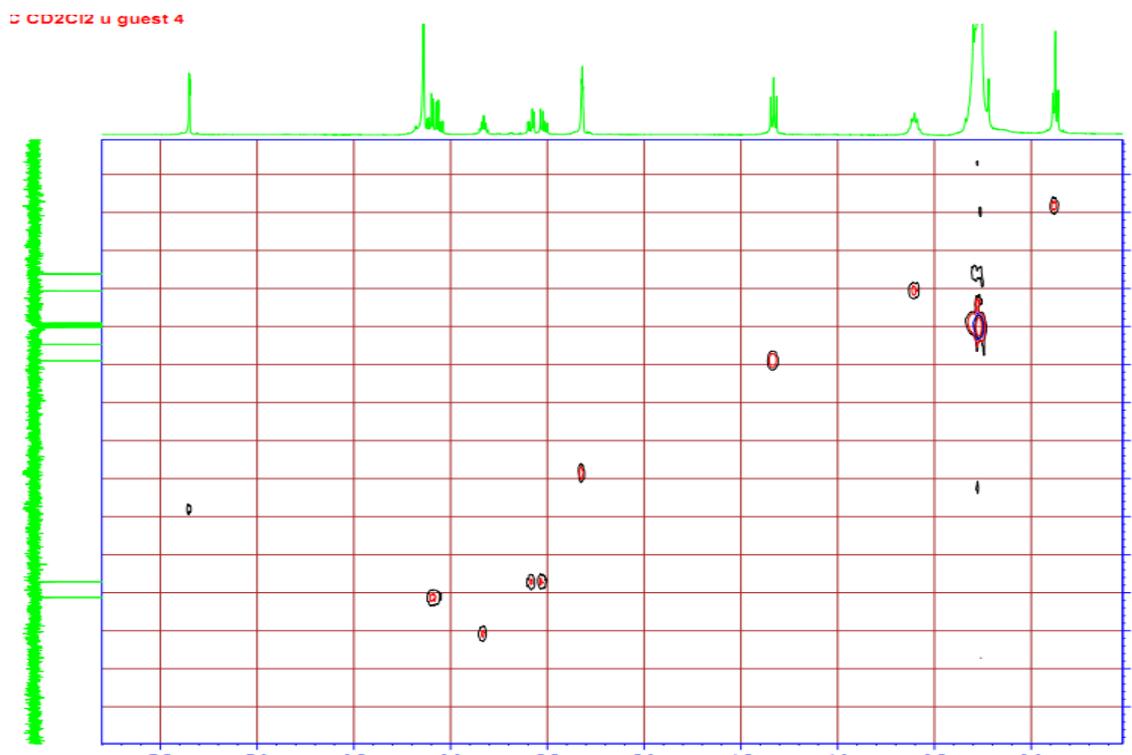


Figure 38.7 : Spectre HSQC du composé AK_2 (CD_2Cl_2)

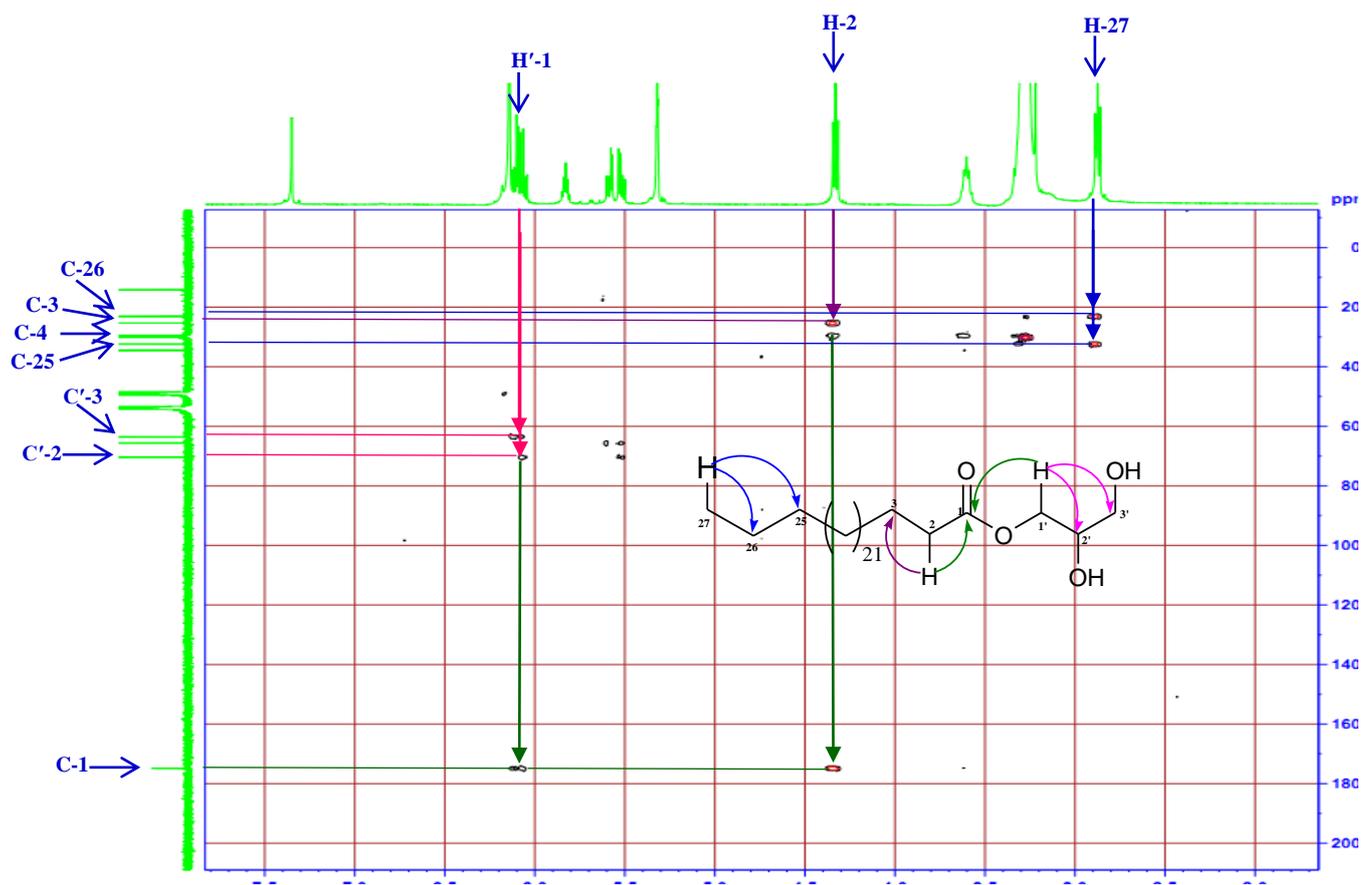


Figure 38.8 : Spectre HMBC du composé **AK₂** (CD_2Cl_2)

II – 2 – 2 – 5 – Identification de la structure AK₅

AK₅ a été isolé sous forme de cristaux blancs. L'analyse de son spectre de masse haute résolution ESI (mode positif), permet d'observer un ion pseudo-moléculaire à m/z 351.2139 [M + Na]⁺ (calculée 351,2704), en accord avec la formule brute C₁₄H₁₆O₉Na.

L'analyse du spectre RMN ¹H (Figure 39.3) d'AK₅ révèle la présence de cinq protons méthines liés chacun à un oxygène respectivement à δ_H 3.45 (1H, dd, J = 8.6 ; 9.4 Hz, H-4'), δ_H 3.67 (1H, m, H-5'), 3.82 (1H, t, J = 9.4 Hz, H-3'), δ_H 4.08 (1H, dd, J = 9.4 ; 10.5 Hz, H-2') et δ_H 4.97 (1H, d, J = 10.5 Hz, H-1') qui corrélient sur le spectre HSQC respectivement aux carbones δ_C 71.8 (C-4'), δ_C 83.0 (C-5'), δ_C 81.4 (C-2'), δ_C 75.5 (C-3') et δ_C 74.2 (C-1'), deux protons méthylènes hydroxylés à δ_H 3.70 (1H, dd, J = 7.1 ; 11.6 Hz, H-6'a) et à δ_H 4.03 (1H, dd, J = 1.8 ; 11.6 Hz, H-6'b) qui corrélient avec le carbone à δ_C 62.6 (C-6') (Tableau 16). Les corrélations observées sur le spectre COSY entre les signaux de protons à δ_H 4.97 (H-1') et δ_H 4.08 (H-2'), δ_H 4.08 (H-2') et δ_H 3.82 (H-3') ; δ_H 3.82 (H-3') et δ_H 3.45 (H-4'), δ_H 3.45 (H-4') et δ_H 3.67 (H-5'), δ_H 3.67 (H-5') et δ_H 3.70 (H-6'a), celles observées sur le spectre HMBC entre les signaux de protons et carbones [δ_H 4.08 (H-2') et δ_C 74.2 (C-1')/δ_C 75.5 (C-3'), δ_H 3.45 (H-4') et δ_C 81.4 (C-2')/δ_C 83.0 (C-5'), δ_H 3.82 (H-3') et δ_C 71.8 (C-4')/δ_C 74.2 (C-1'), δ_H 4.98 (H-1') et δ_C 75.5 (C-3')] suggèrent la présence dans AK₅ d'une unité glucosyle (Figure 39.1).

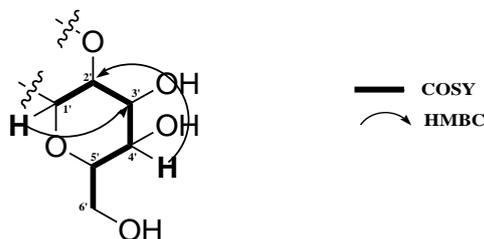


Figure 39.1 : Unité glucosyle d'AK₅

Par ailleurs, le spectre RMN ¹H d'AK₅ (Figure 39.3) δ_H 7.08 (1H, s, H-6) qui corrélie sur le spectre HSQC avec un carbone à δ_C 111.0 (C-6), un méthyle lié à un oxygène à δ_H 3.90 (3H, s) qui corrélie sur le spectre HSQC avec le carbone à δ_C 60.8. De plus, le spectre RMN ¹³C d'AK₅ (Figure 39.4) montre un signal d'un carbonyle des esters à δ_C 165.7 (C-7), 5 signaux de carbones quaternaires à δ_C 117.2 (C-2), δ_C 152.3 (C-5), δ_C 142.2 (C-4), δ_C 149.4 (C-3) et à δ_C 119.4 (C-1) (Tableau 16). Les corrélations observées sur le spectre HMBC entre les signaux δ_H 7.09 (H-6) et δ_C 165.7 (C-7)/142.2 (C-4)/δ_C 152.3 (C-5)/δ_C 117.2 (C-2) et δ_H 3.90 et δ_C 142.2 (C-4) suggèrent la présence d'un noyau aromatique penta substitué lié à un carbonyle en position (C-1) et à un méthoxyle (OMe) en position (C-4) (Figure 39.2).

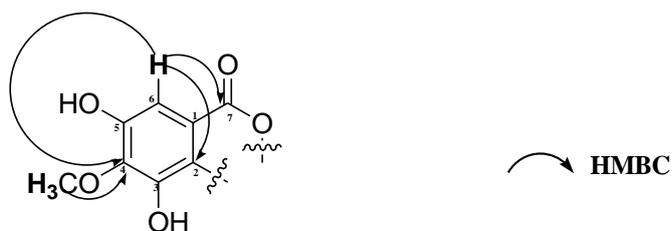
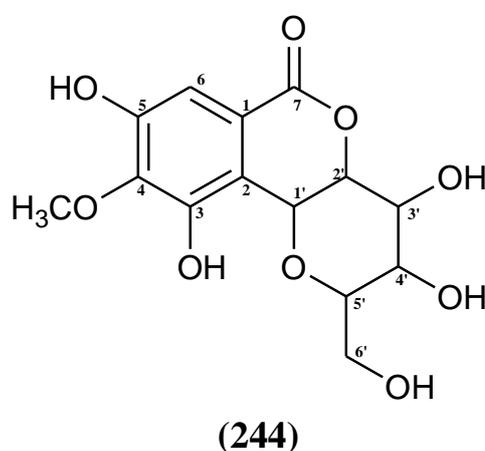


Figure 39.2 : Fragment aromatique d'AK₅

L'analyse complète des spectres RMN ¹H (Figure 39.3) et l'analyse du spectre RMN ¹³C (Figure 39.4), les corrélations observées sur les spectres COSY, HSQC, HMBC d'AK₅ et la comparaison des valeurs des déplacements chimiques (Tableau 16) avec celles de la littérature, nous ont permis d'établir sa structure comme étant la bergénine précédemment isolé de *saxifraga stolonifera* (Taneyama et al, 1983) et décrite dans *N. griffoniana*.

Tableau 16 : Valeurs des déplacements chimiques (¹H et ¹³C) d'AK₅ (MeOD).

N°	δ _H ppm (multi., J Hz)	δ _C ppm	DEPT
1	—	119.4	C
2	—	117.9	C
3	—	149.4	C
4	—	142.2	C
5	—	152.3	C
6	7.08 (s)	111.0	CH
7	—	165.7	C=O
1'	4.97(d, J = 10.5 Hz)	74.2	CH
2'	4.08 (dd, J = 9.4;10.5 Hz)	81.4	CH
3'	3.82 (t, J = 9.4 Hz)	75.5	CH
4'	3.45 (dd, J = 8.6; 9.4 Hz)	71.8	CH
5'	3.68 (m)	83.0	CH
6'	3.70 (dd, J = 7.1;11.6 Hz); 4.03 (dd, J = 1.8;11.6 Hz)	62.6	CH ₂
4-OMe	3.91 (s)	60.8	CH ₃



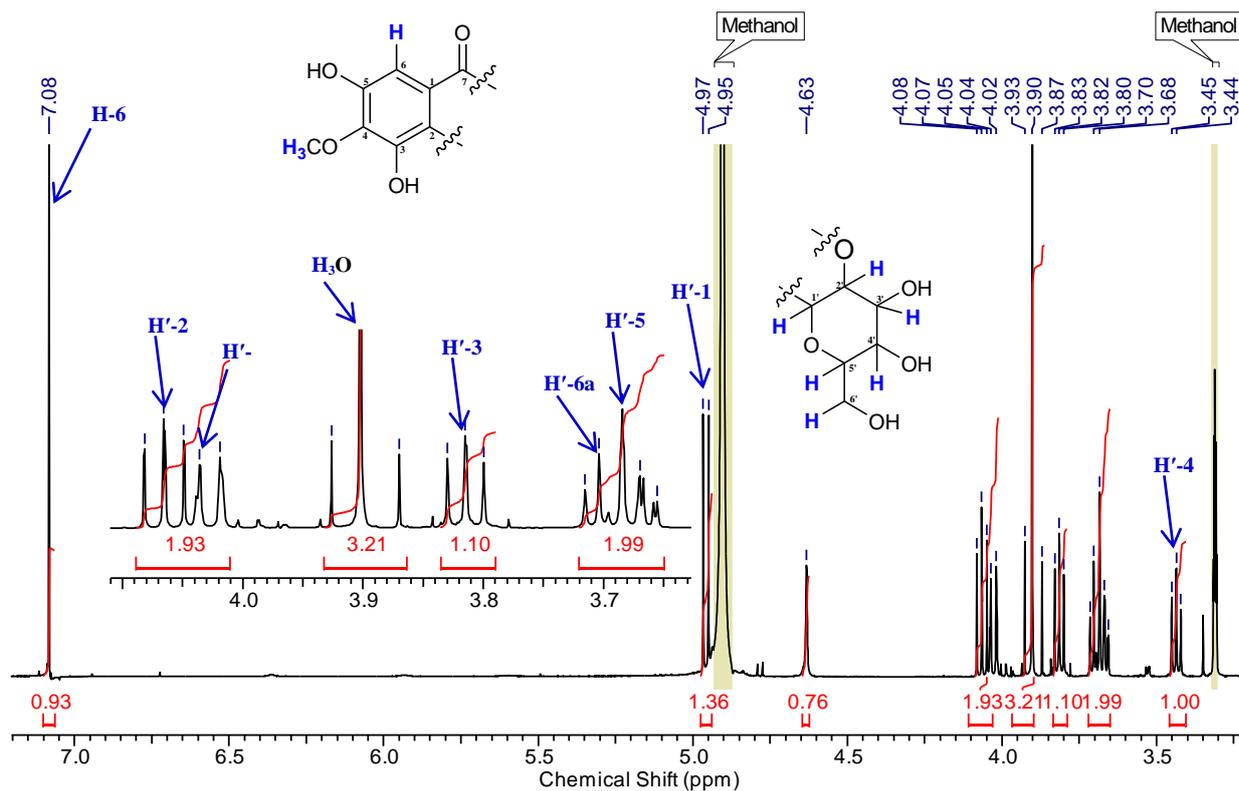


Figure 39.3 : Spectre RMN H du composé **AK₅** (600MHz, MeOD)

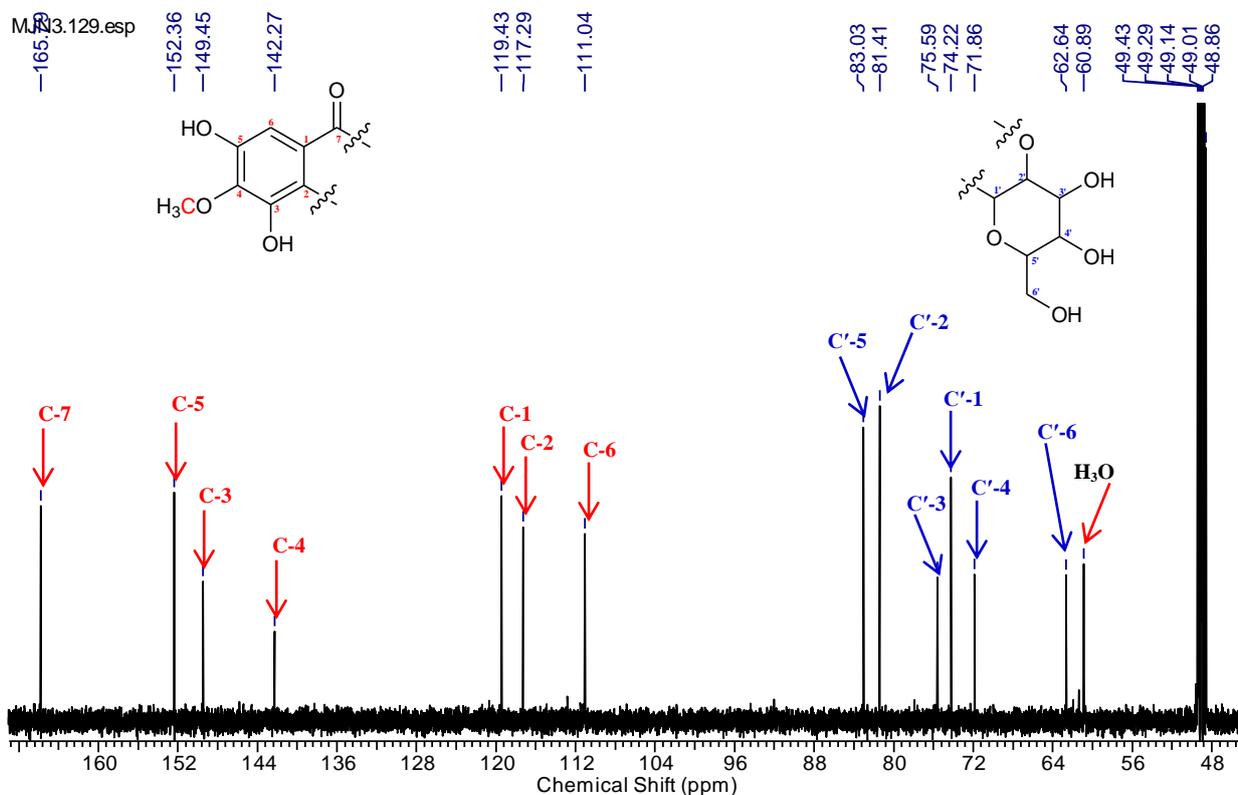


Figure 39.4 : Spectre RMN ¹³C du composé **AK₅** (150MHz, MeOD)

II – 2 – 2 – 6 – Identification de la structure **AK₄**

AK₄ a été isolé sous forme de cristaux blancs scintillant. L'analyse de son spectre de masse haute résolution ESI (mode positif), permet d'observer un ion pseudo-moléculaire à m/z 379.0786 $[M+Na]^+$ (calculée 379.3150), en accord avec la formule brute $C_{16}H_{20}O_9Na$.

L'analyse du spectre RMN 1H d'**AK₄** (Figure 40.3) révèle la présence cinq protons méthines liés chacun à un oxygène respectivement à δ_H 3.43 (1H, dd, $J=8.8$ et 9.3 Hz, H-4'), δ_H 3.68 (1H, ddd, $J=1.9$; 6.9 et 11.6 Hz, H-5'), 3.85 (1H, dd, $J=8.8$ et 9.3 Hz, H-3'), δ_H 4.05 (1H, dd, $J=9.3$ et 10.4 Hz, H-2') et δ_H 4.92 (1H, d, $J=10.4$ Hz, H-1') qui corrént sur le spectre HSQC respectivement aux carbones δ_C 71.8 (C-4'), δ_C 83.0 (C-5'), δ_C 81.4 (C-3'), δ_C 75.6 (C-2') et δ_C 74.2 (C-1'), deux protons méthylènes à δ_H 3.70 (1H, dd, $J=6.9$, 11.6 Hz, H-6'a) et à δ_H 4.01 (1H, dd, $J=1.9$; 11.6 Hz, H-6'b) qui corrént avec le carbone à δ_C 62.7 (C-6') (Tableau 17). De plus, les corrélations observées sur le spectre COSY entre les signaux de protons [δ_H 4.92 (H-1') et δ_H 4.05 (H-2'), δ_H 4.05 (H-2') et δ_H 3.80 (H-3'); δ_H 3.80 (H-3') et δ_H 3.43 (H-4'), δ_H 3.43 (H-4') et δ_H 3.66 (H-5'), δ_H 3.66 (H-5') et δ_H 3.70 (H-6'a)] et celles observées sur le spectre HMBC entre les signaux de protons et carbones [δ_H 4.05 (H-2') et δ_C 74.2 (C-1'), δ_H 3.43 (H-4') et δ_C 62.7 (C-6')/ δ_C 81.4 (C-2')/ δ_C 83.0 (C-5'), δ_H 3.80 (H-3') et δ_C 71.8 (C-4'), δ_H 4.98 (H-1') et δ_C 73.5 (C-3')] suggèrent la présence dans **AK₄** d'une unité glucosyle (Figure 40.1).

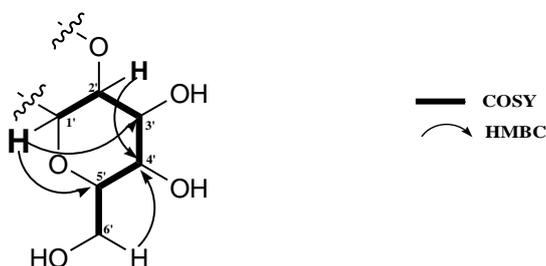


Figure 40.1 : Unité glucosyle d'**AK₄**

Par ailleurs, le spectre RMN 1H de **AK₄** (Figure 40.3) révèle la présence d'un proton aromatique à δ_H 7.06 (1H, s, H-6) qui corréle sur le spectre HSQC avec un carbone à δ_C 111.1 (C-6), trois groupes de protons méthyles liés chacun à un oxygène respectivement à δ_H 3.85 (3H, s), δ_H 3.89 (3H, s) et δ_H 3.91 (3H, s), qui corrént sur le spectre HSQC avec les carbones à δ_C 60.9, δ_C 61.3 et δ_C 61.9. De plus, le spectre RMN ^{13}C d'**AK₄** (Figure 40.4) nous montre un signal d'un carbonyle des esters à δ_C 165.7 (C-7), cinq signaux de carbones quaternaires à δ_C 117.2 (C-2), δ_C 119.4 (C-1), δ_C 149.4 (C-3), δ_C 142.3 (C-4) et à δ_C 152.3 (C-5) (Tableau 17). Les corrélations observées sur le spectre HMBC entre les protons et les carbones [δ_H 7.06 (H-6) et δ_C 165.7 (C-7)/ 152.3 (C-5)/ δ_C 142.3 (C-4)/ δ_C 117.2 (C-2)], [δ_H 3.85 (3H, s) et 152.3 (C-5)], [δ_H 3.89 (3H, s) et δ_C 142.3 (C-4)] et [δ_H 3.91 (3H, s) et δ_C 149.4 (C-3)] suggèrent la présence d'un noyau aromatique penta substitué lié à un carbonyle en position (C-1) et à trois méthoxyles (OMe) en position (C-3), (C-4) et (C-5) (Figure 40.2).

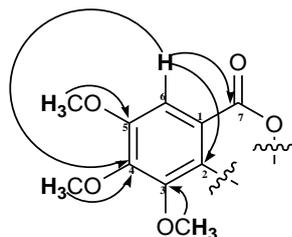
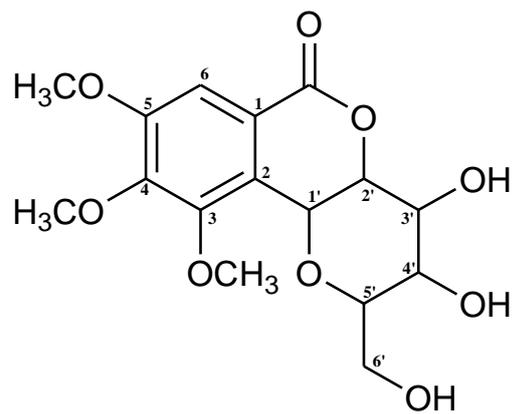


Figure 40.2 : Fragment aromatique d'**AK₄**

L'analyse complète des spectres RMN ^1H (Figure 40.3) et RMN ^{13}C (Figure 40.4), les corrélations observées sur les spectres COSY, HSQC, HMBC de **AK₄** et la comparaison avec les données de la littérature, nous ont permis d'établir sa structure comme étant la tri-*O*-methylnorbergenine précédemment isolé de *Saxifraga stolonifera* (Taneyama et al, 1983) et décrite dans *N. griffoniana*.

Tableau 17 : Valeurs des déplacements chimiques (^1H et ^{13}C) d'**AK₄** (MeOD).

N°	δ_{H} ppm (multi., J Hz)	δ_{C} ppm	DEPT
1	—	119.4	C
2	—	117.2	C
3	—	149.4	C
4	—	142.3	C
5	—	152.3	C
6	7.06 (s)	111.0	CH
7	—	165.7	C=O
1'	4.92 (d, $J = 10.4$ Hz)	74.2	CH
2'	4.05 (dd, $J = 9.3; 10.4$ Hz)	81.4	CH
3'	3.85 (dd, $J = 8.8; 9.3$ Hz)	75.6	CH
4'	3.43 (dd, $J = 8.8; 9.3$ Hz)	71.8	CH
5'	3.68 (ddd, $J = 1.9; 6.9; 8.8$ Hz)	83.0	CH
6'	3.70 (dd, $J = 6.9; 11.6$ Hz)	62.7	CH ₂
	4.01 (dd, $J = 1.9; 11.6$ Hz)		
3-OMe	3.91(s)	61.9	CH ₃
4-OMe	3.89(s)	61.3	CH ₃
5-OMe	3.85(s)	60.9	CH ₃



(245)

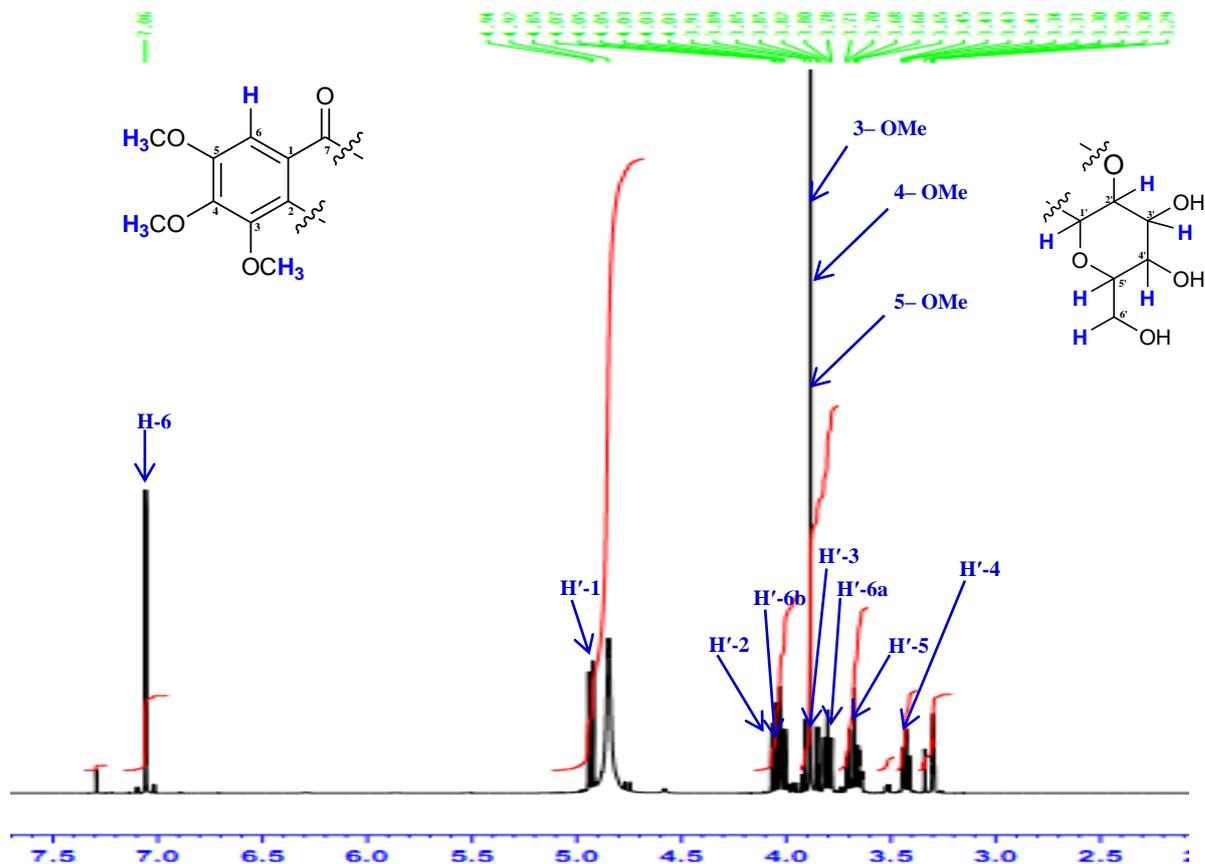


Figure 40.3 : Spectre RMN H du composé **AK4** (500MHz, MeOD)

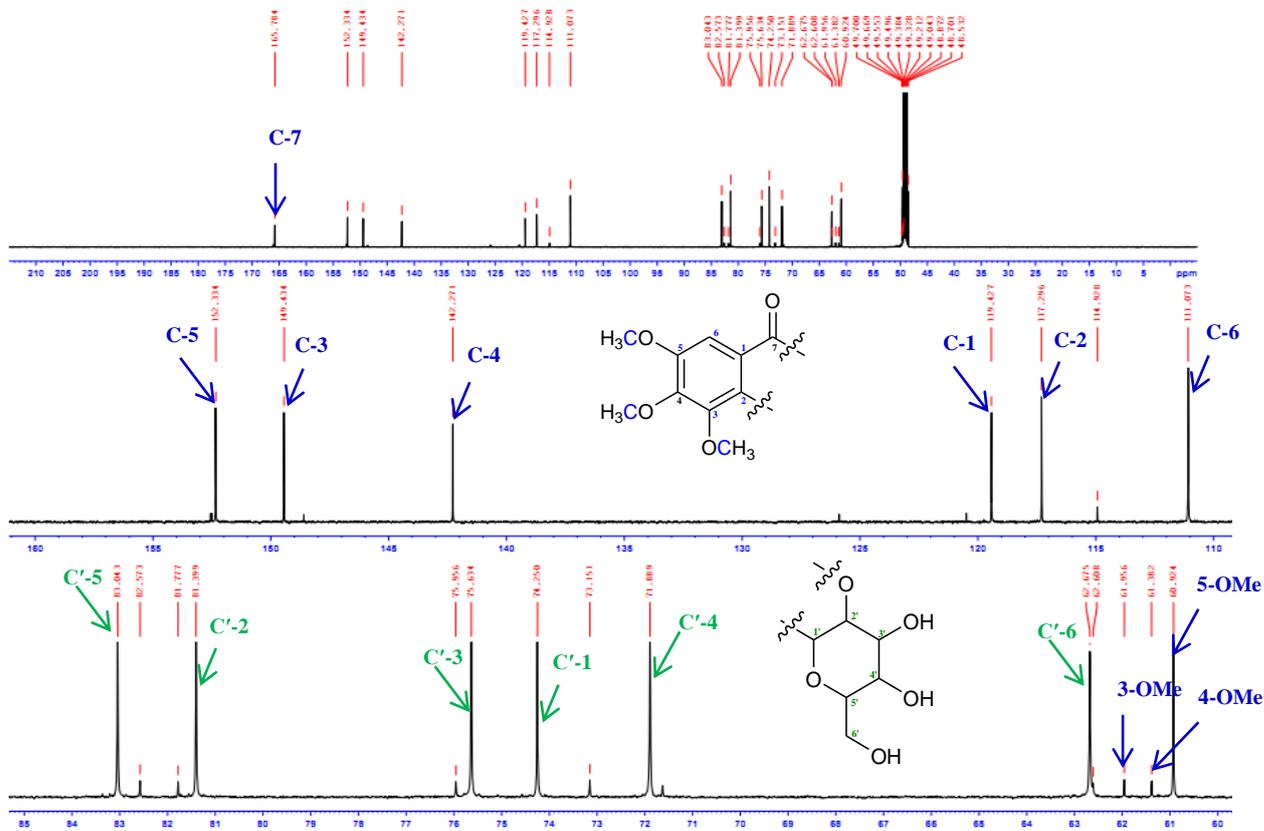


Figure 40.4 : Spectre RMN ^{13}C du composé **AK4** (125MHz, MeOD)

II – 2 – 2 – 7 – Identification de la structure AK₃

AK₃ a été obtenu sous forme de poudre blanche. L'analyse de son spectre de masse haute résolution ESI (mode positif) permet d'observer un ion pseudo moléculaire à m/z 599,7 [M+Na]⁺ (calculée 599,84) en accord avec la formule brute C₃₅H₆₀O₆Na.

L'analyse du spectre RMN ¹H d'AK₃ (Figure 41.1) révèle la présence d'un proton oléfinique à δ_H 5.37 (H-6) qui corrèle sur le spectre HSQC avec le carbone à δ_C 121.9 (C-6) Hz, six méthyles angulaires δ_H 0.61 (H-18), δ_H 0.75 (H-26), δ_H 0.77 (H-27), δ_H 0.79 (H-29), δ_H 0.84 (H-26) et δ_H 0.94 (H-19) qui corrélient sur le spectre HSQC respectivement avec les carbones à δ_C 11.6 (C-18), δ_C 18.7 (C-26), δ_C 19.5 (C-27), δ_C 11.6 (C-29), δ_C 18.5 (C-26) et δ_C 19.0 (C-19) (Tableau 19).

L'analyse du spectre RMN ¹³C d'AK₃ (Figure 41.2) enregistré en mode DEPT nous permet de distinguer 9 carbones tertiaires (CH), 11 carbones secondaires (CH₂), six groupements méthyles (CH₃) et 3 carbones quaternaires (C). Les signaux observés à δ_C 121.9 (C-6) et 140.2 (C-5) correspondent aux carbones oléfiniques (Tableau 18). Les observations précédentes suggèrent la présence d'un aglycone du β -sitostérol dans AK₃.

L'analyse du spectre RMN ¹H dans la zone des sucres permet de distinguer 7 signaux de protons à δ_H 4.36 (1H d, J=7.7 Hz, H-1'), δ_H 3.84 (1H, dd, J = 3 ; 11.4 Hz, H-6'a) et à δ_H 3.74 (1H, dd, J = 6.0 ; 11.4 Hz, H-6'b), δ_H 3.52 (1H, m, H-4'), δ_H 3.51 (1H, m, H-3'), δ_H 3.37 (1H, m, H-5'), δ_H 3.29 (1H, t, J = 7.5 Hz, H-2') qui corrélient sur le spectre HSQC avec les carbones à δ_C 101.0 (C-1'), δ_C 61.7 (C-6'), δ_C 70.1 (C-4'), δ_C 76.4 (C-3'), δ_C 75.7 (C-5') et δ_C 73.4 (C-2') (Tableau 19). Cela nous suggère la présence d'une unité glucosyle.

L'ensemble des données précédentes, les corrélations observées sur les spectres COSY, HSQC, HMBC d'AK₃ et la comparaison des données obtenues avec celles de la littérature nous ont permis d'établir sa structure comme étant le (glucoside de β -sitostérol) composé connu précédemment isolé de *Berlinia confusa* (lasisi & Idowu, 2012).

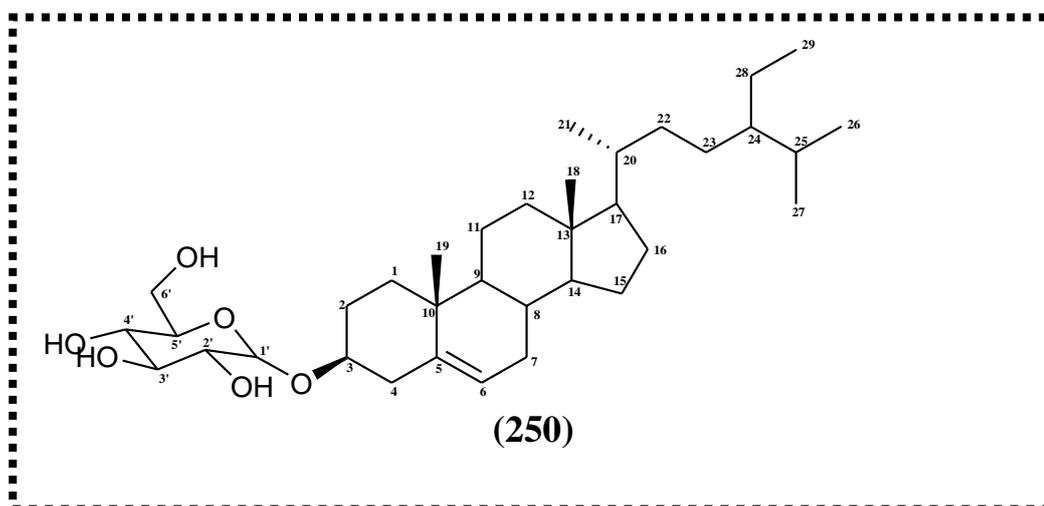


Tableau 18 : Valeurs des déplacements chimiques (^1H et ^{13}C) d' AK_3 (CDCl_3).

N°	δ_{H} ppm (multi., J Hz)	δ_{C} ppm	DEPT
1	1.95	37.1	CH_2
2	1.19 – 1.79	29.5	CH_2
3	—	78.9	CH
4	1.05	38.5	CH_2
5	—	140.2	C
6	5.37 (s)	121.9	CH
7	—	31.7	CH_2
8	—	31.7	CH
9	0.85	50.0	CH
10	—	36.5	C
11	1.46	20.9	CH_2
12	1.95	39.6	CH_2
13	—	42.2	C
14	1.05	56.6	CH
15	1.04	24.1	CH_2
16	1.79	28.1	CH_2
17	1.01	55.9	CH
18	0.61	11.6	CH_3
19	0.94	19.0	CH_3
20	1.29	36.0	CH
21	0.84	18.5	CH_3
22	—	33.8	CH_2
23	1.08	25.9	CH_2
24	0.86	45.7	CH
25	1.60	29.0	CH
26	0.75	18.7	CH_3
27	0.77	19.5	CH_3
28	1.18	22.9	CH_2
29	0.79	11.6	CH_3
1'	4.36 (d, $J = 7.7$ Hz)	101.0	CH
2'	3.29 (t, $J = 7.5$ Hz)	73.4	CH
3'	3.51 (m)	76.4	CH
4'	3.52 (m)	70.1	CH
5'	3.37 (ddd, $J = 1.9; 6.9; 8.8$ Hz)	75.7	CH
6'	3.84 (dd, $J = 3 ; 11.4$ Hz)	61.7	CH_2
	3.76 (dd, $J = 6.0 ; 11.4$ Hz)		

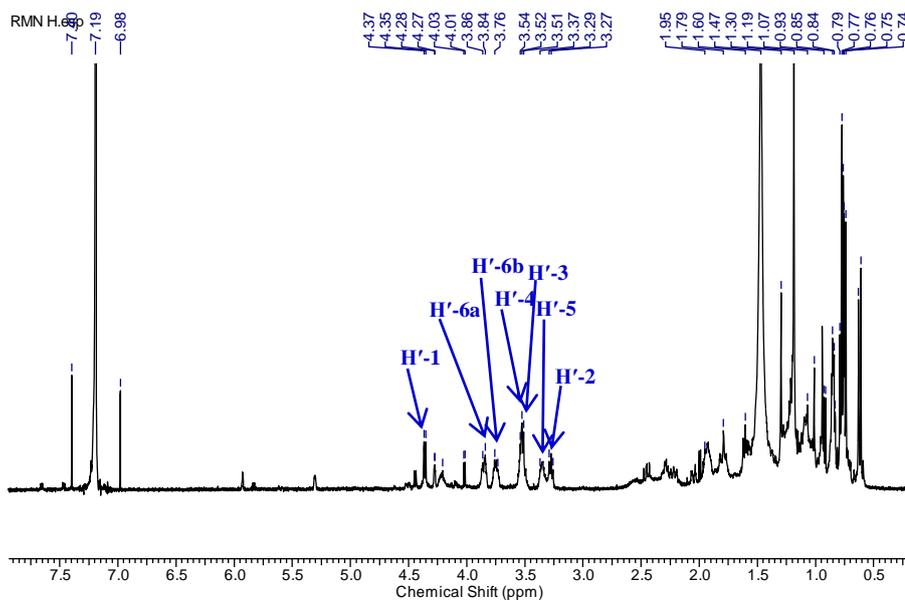


Figure 41.1 : Spectre RMN H du composé **AK₃** (500 MHz, CDCl₃)

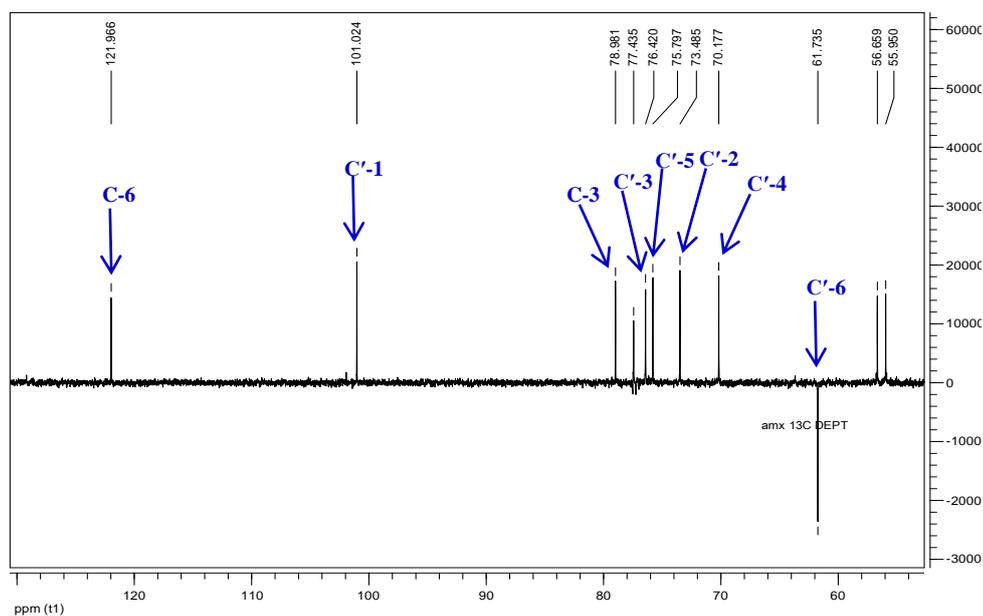
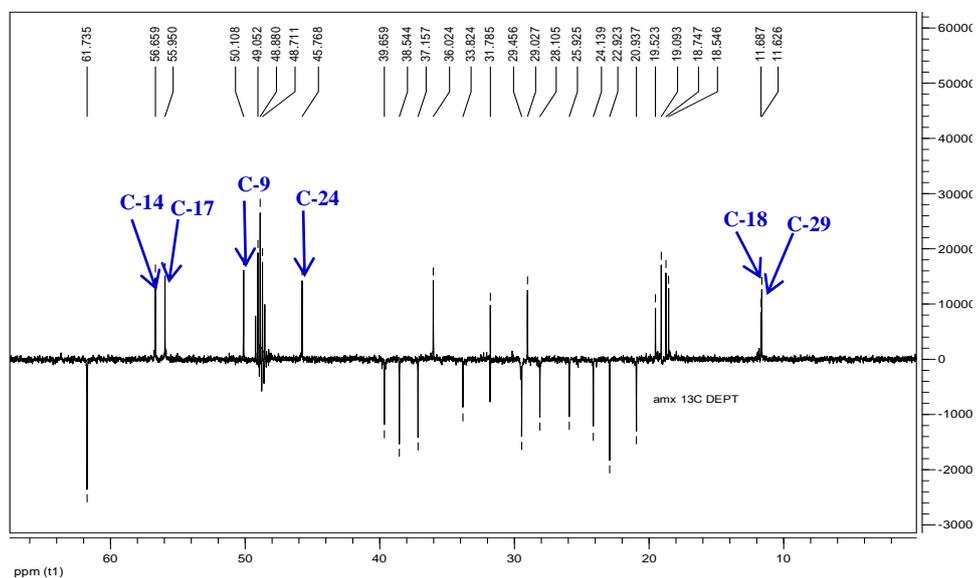


Figure 41.2 : Spectre DEPT 135 du composé **AK₃** (125 MHz, CDCl₃)

II – 3 – Etude phytochimique *Desmodium adscendens*

II – 3 – 1 – Extraction et isolement

Les feuilles de *D. adscendens* ont été récoltées dans le village Sokellé sur la route POUMA – MESSONDO le 08 Janvier 2008. Elles ont été ensuite séchées, découpées et broyées en poudre fine. La poudre obtenue a été extraite par du méthanol à froid. L'extrait méthanolique, évaporé à sec a donné un résidu verdâtre. Le résidu verdâtre a été soumis à une chromatographie flash successive sur silice avec Hexane/CH₂Cl₂/AE/MeOH (1/1/0/0 ; 0/0 /1/0 ; 0/1/0/1 ; 0/0/0/1). Nous avons ainsi isolé 6 composés **JD₁ (10 mg)**, un acide gras **JD₃ (12 mg)**, un ester d'acide gras **JD₄ (86,2 mg)**, deux stérols **JD₂ (12,6 mg)** et **JD₅ (13,3 mg)**, **JD₆ (22,4 mg)**.

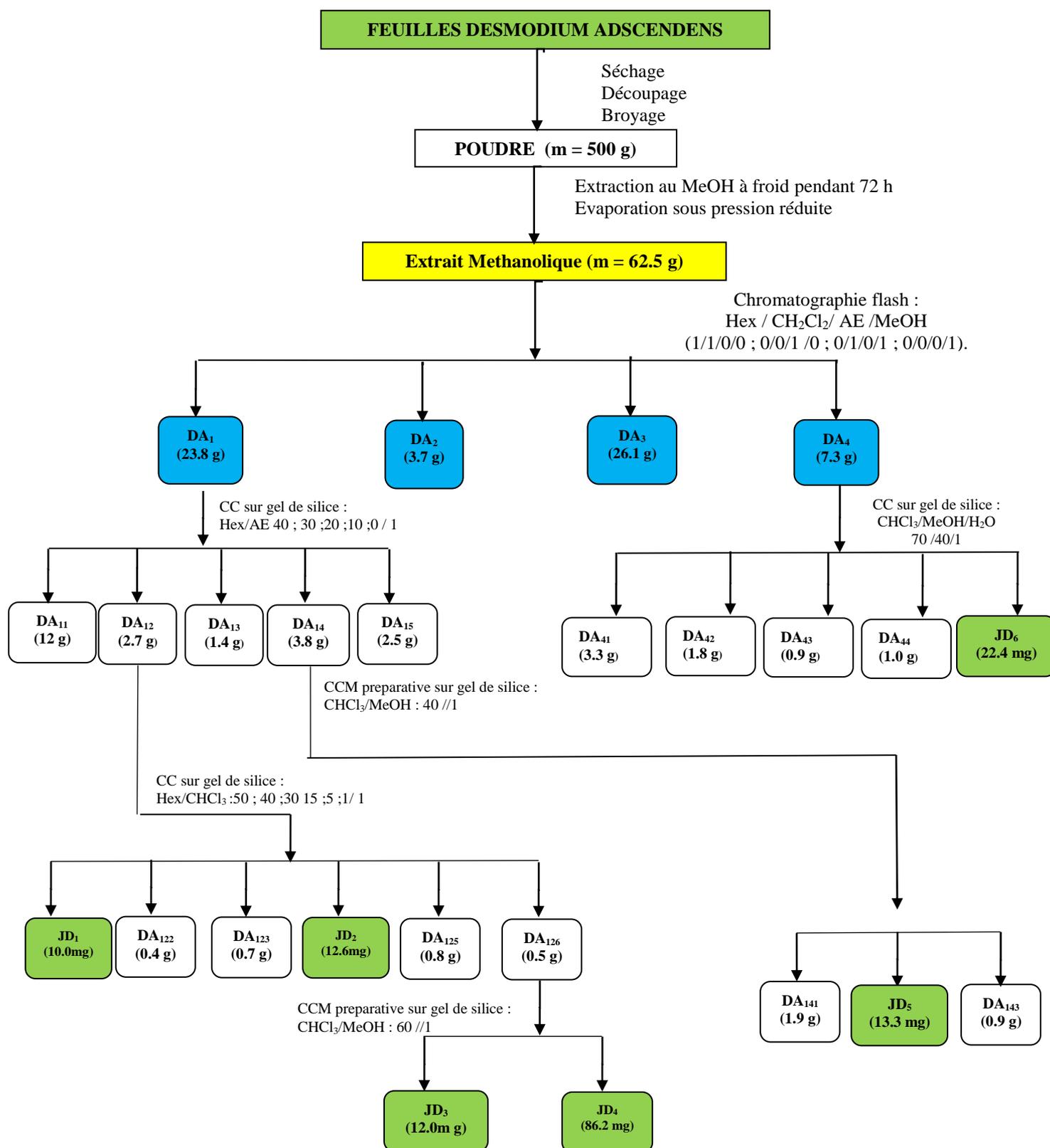


Figure 42 : Purification des composés JD₁, JD₂, JD₃, JD₄, JD₅, JD₆ à partir des écorces de *D. adscendens*

II – 3 – 2 – Caractérisation des composés

II – 3 – 2 – 1 – Détermination de la structure **JD₄**

JD₄ a été isolé sous forme de solide amorphe blanc. L'analyse de son spectre de masse haute résolution ESI mode positif (Figure 43.1) permet d'observer un ion pseudo-moléculaire à m/z 529.2125 $[M+Na]^+$ (calculée 529.8398), en accord avec la formule brute $C_{33}H_{62}O_3Na$.

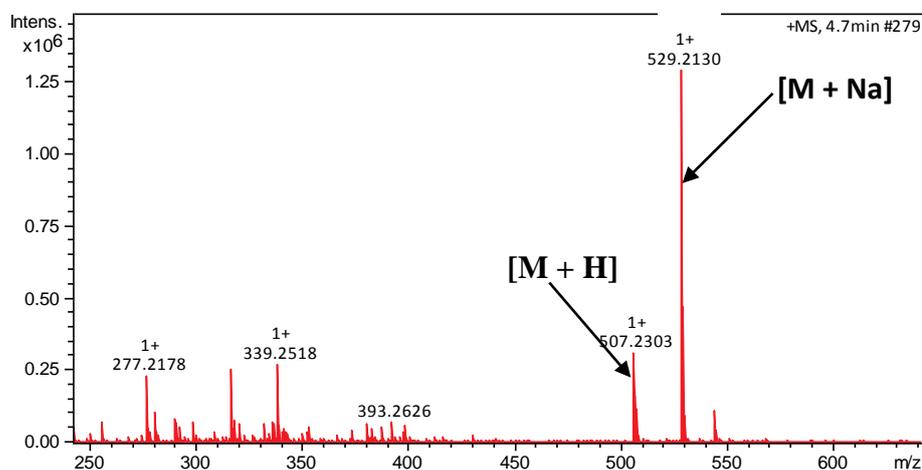


Figure 43.1 : Spectre de masse HR-ESI (+) de **JD₄**.

L'analyse du spectre RMN 1H de **JD₄** (Figure 43.5) révèle la présence de quatre signaux de protons méthines oléfiniques à δ_H 5.36 (1H, m, H-14), δ_H 5.35 (1H, m, H-15), δ_H 5.34 (1H, m, H-7) et δ_H 5.33 (1H, m, H-8) qui corrélient sur le spectre HSQC (Figure 43.10) respectivement avec les carbones à δ_C 130.9 (C-14/C-15), δ_C 130.8 (C-7) et δ_C 129.1 (C-8), deux signaux de quatre protons méthylènes à δ_H 2.28 (2H, t, $J = 7.4$ Hz, H-2) et δ_H 1.61 (2H, m, H-3) qui corrélient sur le spectre HSQC respectivement avec les carbones à δ_C 35.2 (C-2), δ_C 26.2 (C-3), deux signaux de protons méthylènes à δ_H 2.79 (2H, m, H-6), δ_H 2.76 (2H, m, H-9), δ_H 2.07 (2H, m, H-13) et δ_H 2.05 (2H, m, H-16) qui corrélient sur le spectre HSQC respectivement avec les carbones à δ_C 26.2 (C-6), δ_C 26.5 (C-9), δ_C 28.1 (C-13/ C-16), un signal de protons méthylènes à δ_H 1.29 (8H, m, H-4/ H-11/ H-18/ H-19) qui corrélient sur le spectre HSQC respectivement avec les carbones à δ_C 30.3 (C-11), δ_C 30.2 (C-4/C-18) et δ_C 33.1 (C-19), un signal de protons méthylènes à δ_H 1.32 (10H, m, H-5/ H-10/ H-12/ H-17/ H-20) qui corrélient sur le spectre HSQC respectivement avec les carbones à δ_C 30.6 (C-5/C-10/C-12/C-17), δ_C 23.7 (C-20) et un signal de protons méthyles terminaux à δ_H 0.90 (3H, t, $J = 7.1$ Hz, H-21) qui corrélient sur le spectre HSQC avec le carbone à δ_C 14.4 (C-21) (Tableau 19). De plus, l'analyse du spectre RMN ^{13}C de **JD₄** (Figure 43.6) montre un signal du carbonyle d'un ester à δ_C 178.0 (C-1) (Tableau 19). Les corrélations observées sur le spectre COSY (Figure 43.9) entre les signaux de protons [δ_H 5.34 (H-7) et δ_H 2.79 (H-8) ; δ_H 5.33 (H-8) et δ_H 2.76 (H-9), δ_H 5.36 (H-14) et δ_H 2.07 (H-13), δ_H 5.35 (H-15) et δ_H 2.05 (H-16), δ_H 2.28 (H-2) et δ_H 1.61 (H-3), δ_H 1.61 (H-3) et δ_H 1.29 (H-4), δ_H 1.32 (H-20) et δ_H 0.90 (H-21)] et celles observées sur le spectre HMBC (Figure 43.11) entre les

signaux de protons et carbones [δ_H 5.36 (H-14) et δ_C 28.1 (C-13); δ_H 5.34 (H-7) et δ_C 26.2 (C-6) δ_H 2.79 (H-6) et δ_C 129.1 (C-8), δ_H 2.76 (H-9) et δ_C 130.8 (C-7) ; δ_H 2.07 (H-13) et δ_C 28.1 (C-15) ; δ_H 2.05 (H-16) et δ_C 130.9 (C-14), δ_H 2.28 (H-2) et δ_C 178.0 (C-1)/ δ_C 26.2 (C-3)/ δ_C 30.2 (C-4); δ_H 1.61 (H-3) et δ_C 178.0 (C-1)/ δ_C 35.2 (C-2)/ δ_C 30.6 (C-5) δ_H 0.90 (H-21) et δ_C 23.6 (C-20) / δ_C 33.1 (C-19)] suggèrent la présence dans **JD4** d'une longue chaîne acyclique insaturée liée au carbonyle des esters (Figure 43.2).

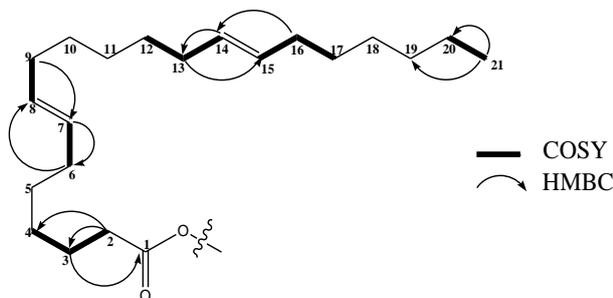


Figure 43.2 : Corrélations COSY et HMBC de la chaîne acyclique insaturée liée au carbonyle de **JD4**.

Par ailleurs, le spectre RMN 1H de **JD4** (Figure 43.5) permet d'observer un signal d'un proton méthine hydroxylé sous forme de multiplet à δ_H 5.29 (1H, m, H-2') qui corrèle sur le spectre HSQC (Figure 43.10) avec le carbone à δ_C 70.6 (C-2'), un signal de protons méthylènes à δ_H 4.29 (1H, d, H'-1a) et δ_H 4.14 (1H, d, H'-1b) qui corrélient avec le carbone à δ_C 63.3 (C-1'), un signal de protons méthylènes à δ_H 1.32 (4H, m, H-4'/H-11') qui corrélient sur le spectre HSQC respectivement avec les carbones à δ_C 26.0 (C-4') et δ_C 23.7 (C-11') ; un signal de protons méthylènes à δ_H 1.59 (2H, m, H-3') qui corrélient dans le spectre HSQC avec le carbone à δ_C 30.8 (C-3') ; un signal de protons méthylènes à δ_H 1.29 (12H, m, H-5'/H-6'/H-7'/H-8'/H-9'/H-10') qui corrélient sur le spectre HSQC respectivement avec les carbones à δ_C 30.4 (C-5'), δ_C 30.3 (C-6'/C-7'/C-8'), δ_C 30.2 (C-9'), et δ_C 33.1 (C-10') ; un signal de protons méthyles terminaux à δ_H 0.90 (3H, t, $J = 7.1$ Hz, H-12') qui corrélient sur le spectre HSQC avec les carbones à δ_C 14.4 (C-12') (Tableau 19). De plus, les corrélations observées sur le spectre COSY (Figure 43.9) entre les signaux de protons à δ_H 5.29 (H-2') et δ_H 4.14 (H-1'b), δ_H 1.59 (H-3') et δ_H 1.32 (H-4'), δ_H 1.32 (H-11') et δ_H 0.90 (H-12')] et celles observées sur le spectre HMBC (Figure 43.11) entre les signaux de protons et carbones [δ_H 5.29 (H-2') et δ_C 26.0 (C-4'), δ_H 0.90 (H-12') et δ_C 23.7 (C-11')/ δ_C 33.1 (C-10')] suggèrent un fragment dodecane-1,2-diol (Figure 43.2)

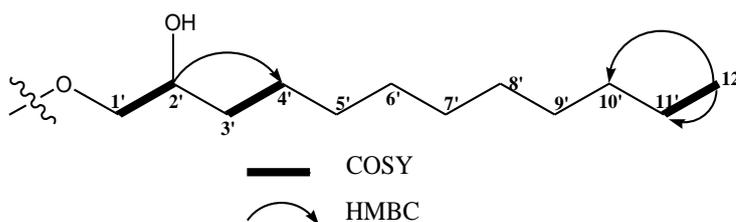


Figure 43.3 : Corrélations COSY et HMBC du fragment dodecane-1,2-diol de **JD4**.

La structure de **JD₄** a été complétée sur la base de la corrélation observée dans le spectre HMBC (Figure 43.10). Ainsi, la corrélation observée entre le signal du proton à δ_H 4.14 (H'-1b) et le carbone δ_C 178.0 (C-1) a permis de relier la longue chaîne insaturée carbonylée et le fragment dodecane-1,2-diol (Figure 43.3).

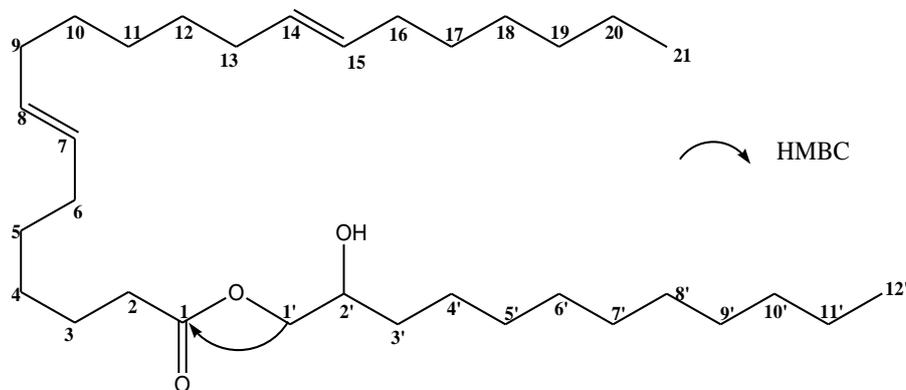


Figure 43.4 : Corrélation HMBC entre la longue chaîne insaturée carbonylée et le fragment dodecane-1,2-diol de **JD₄**.

L'ensemble des données précédentes a permis d'établir la structure de **JD₄** comme étant le heneicosane-7,14-dièneate de 2-hydroxydodecyle, un nouvel ester d'acide gras.

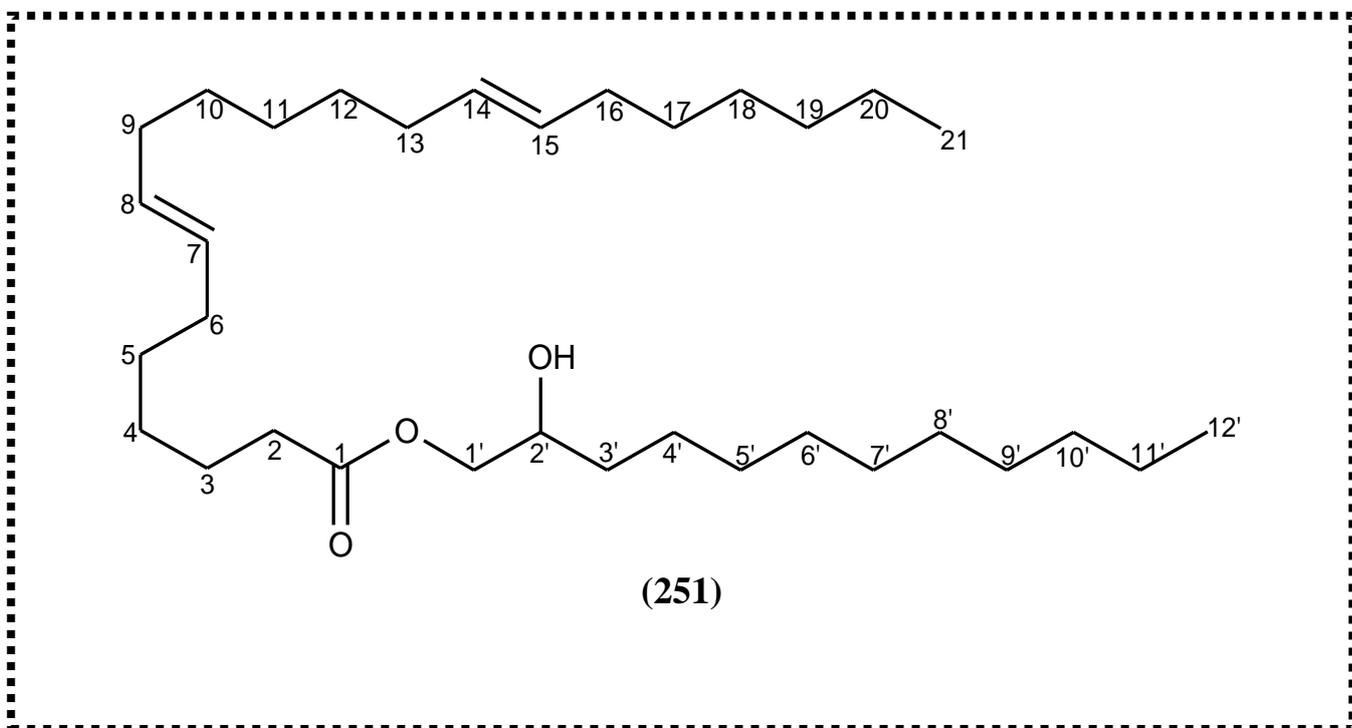


Tableau 19 : Valeurs des déplacements chimiques (^1H et ^{13}C) de **JD₄** (MeOD).

N°	δ_{H} ppm (multi., J Hz)	δ_{C} ppm	DEPT
1	—	178.0	C=O
2	2.28 (t, $J = 18.7$ Hz)	35.2	CH ₂
3	1.61 (m)	26.2	CH ₂
4	1.29	30.2	CH ₂
5	1.32	30.5	CH ₂
6	2.79 (m)	26.5	CH ₂
7	5.34 (m)	130.8	CH
8	5.33 (m)	129.1	CH
9	2.76 (m)	26.5	CH ₂
10	1.32	30.6	CH ₂
11	1.29	30.3	CH ₂
12	1.32	30.6	CH ₂
13	2.07 (m)	28.1	CH ₂
14	5.36 (m)	130.9	CH
15	5.35 (m)	130.9	CH
16	2.05 (m)	28.1	CH ₂
17	1.32	30.6	CH
18	1.29	30.2	CH ₂
19	1.29	33.1	CH ₂
20	1.32	23.6	CH ₂
21	0.90	14.4	CH ₃
1'	4.29 (d, $J = 13.7$ Hz)	63.3	CH ₂
	4.14 (d, $J = 18.7$ Hz)		
2'	5.29 (m)	70.6	CH
3'	1.59	30.8	CH ₂
4'	1.32	26.0	CH ₂
5'	1.29	30.4	CH ₂
6'	1.29	30.3	CH ₂
7'	1.29	30.3	CH ₂
8'	1.29	30.3	CH ₂
9'	1.29	30.2	CH ₂
10'	1.29	33.1	CH ₂
11'	1.32	23.7	CH ₂
12'	0.90	14.4	CH ₃

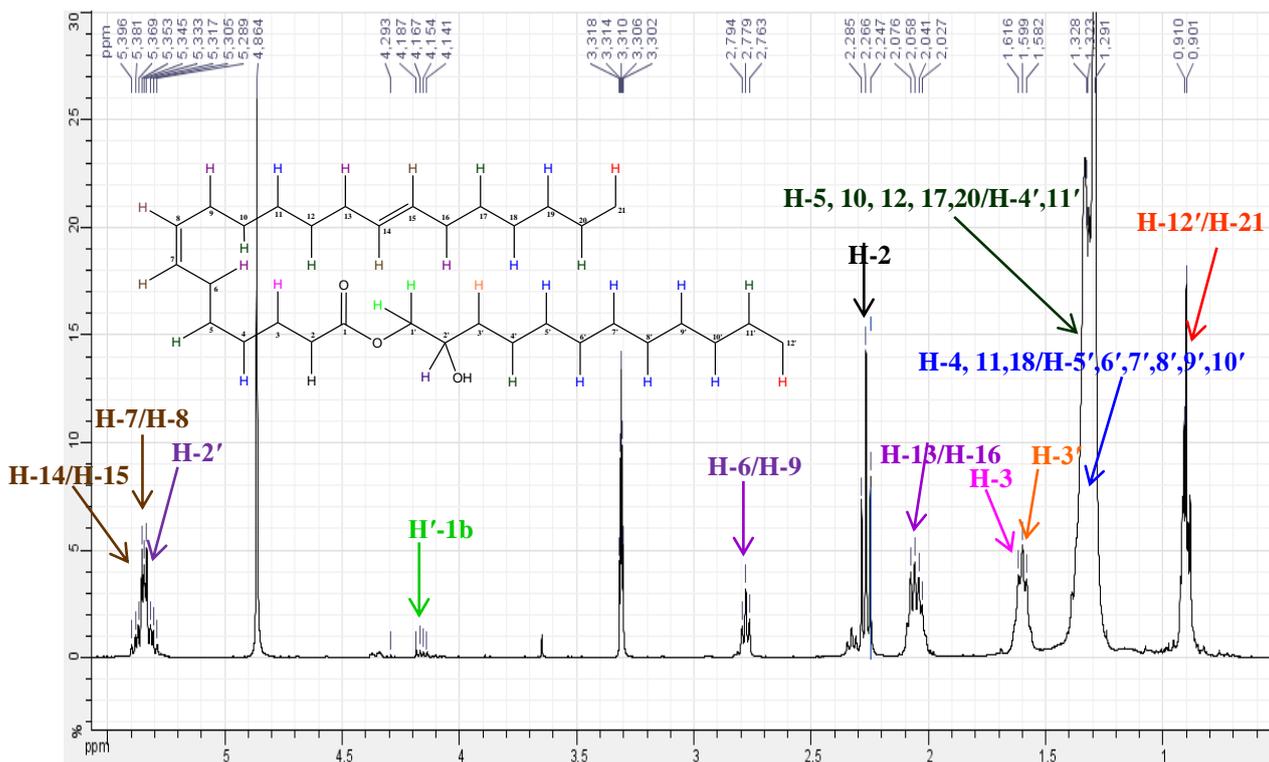


Figure 43.5 : Spectre RMN H du composé JD₄ (400MHz, MeOD)

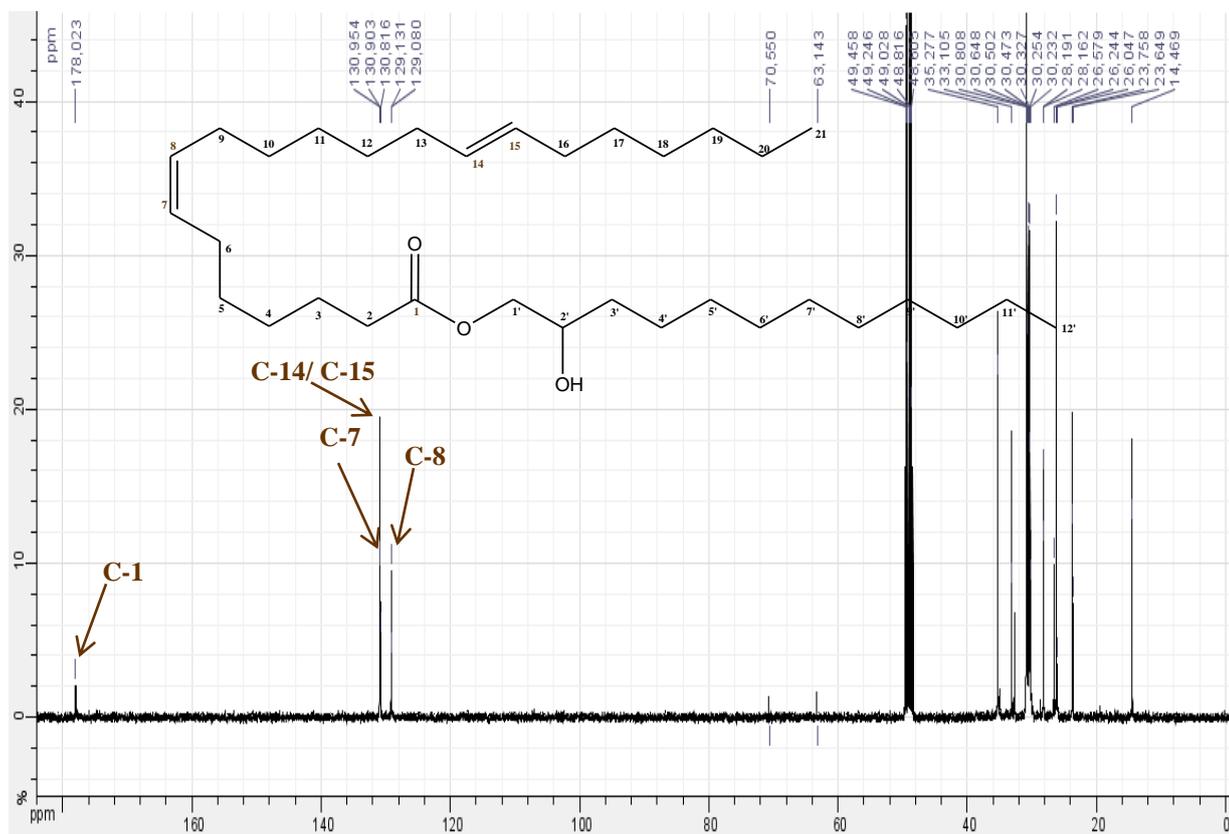


Figure 43.6 : Spectre RMN ¹³C du composé JD₄ (100MHz, MeOD)

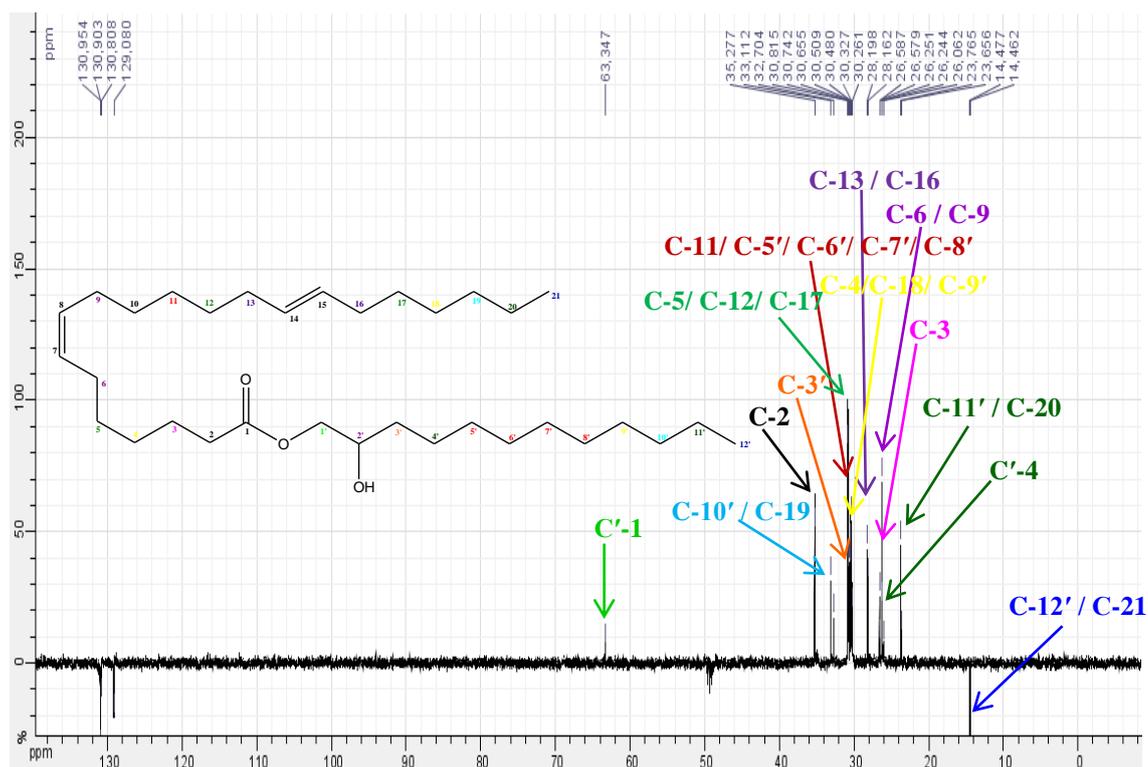


Figure 43.7 : Spectre DEPT 135 du composé **JD₄** (100MHz, MeOD)

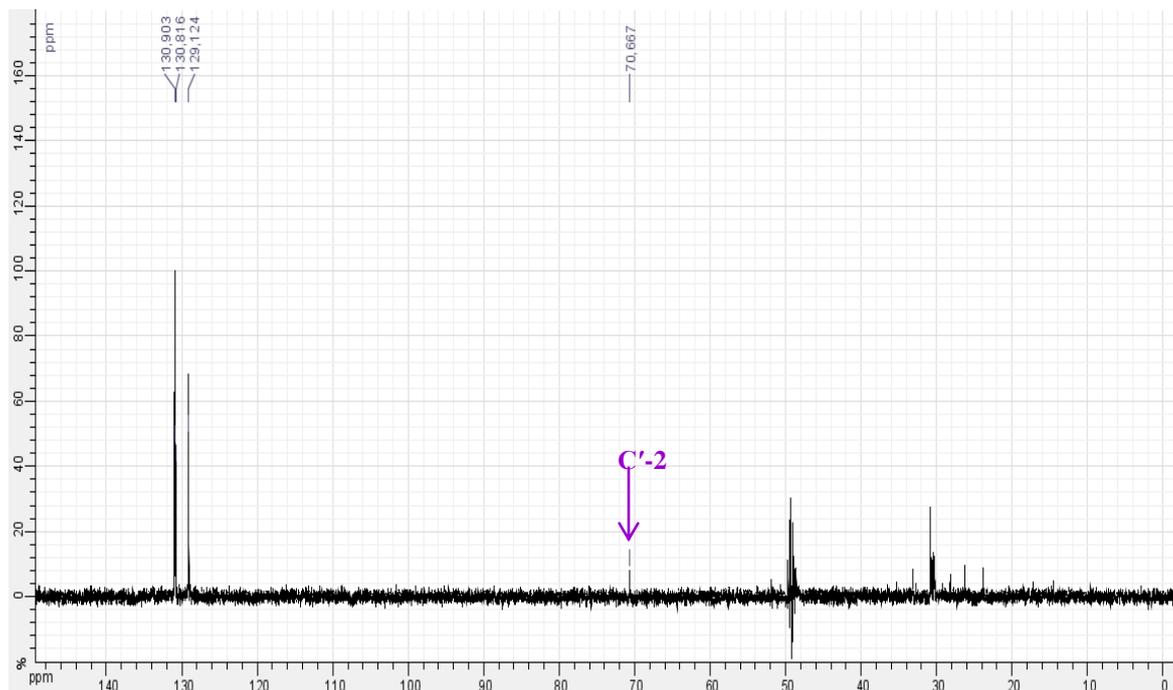


Figure 43.8 : Spectre DEPT 90 du composé **JD₄** (100MHz, MeOD)

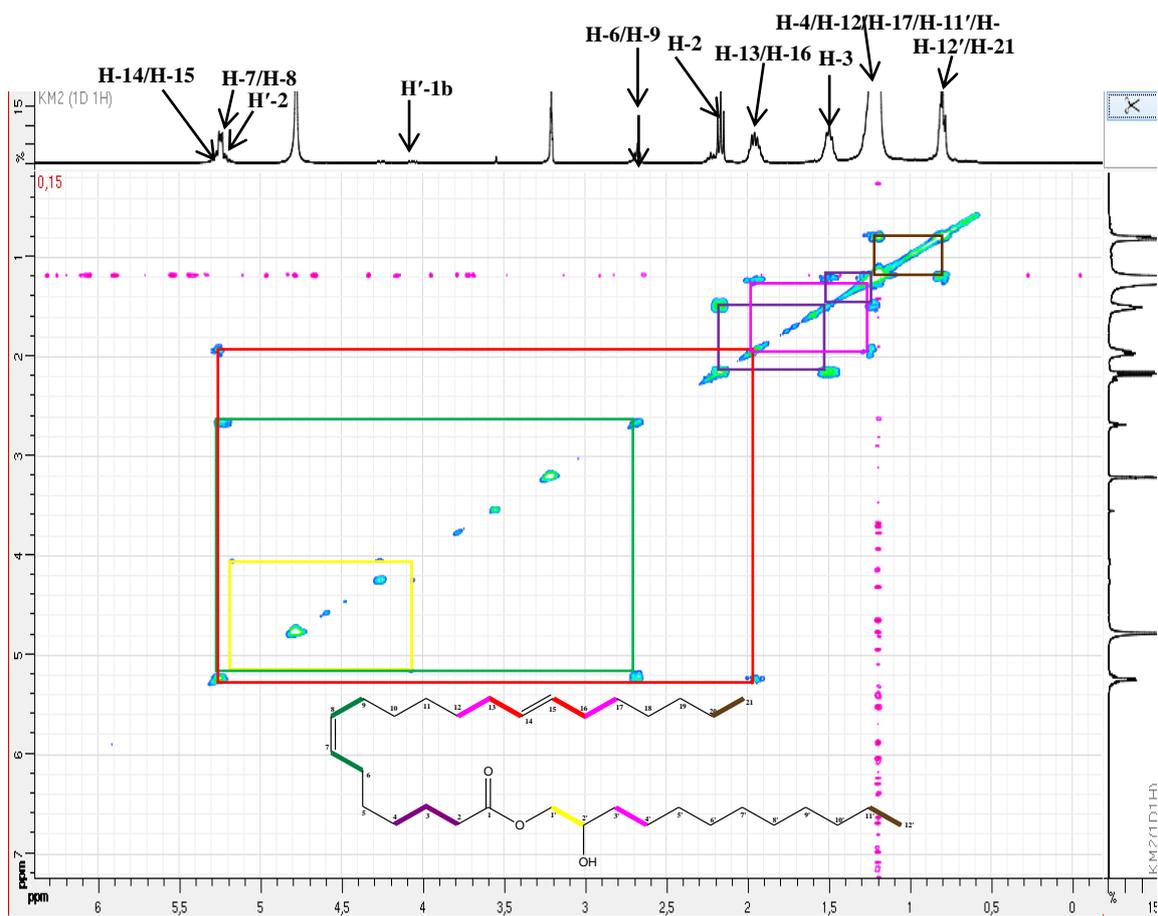


Figure 43.9 : Spectre COSY du composé JD4

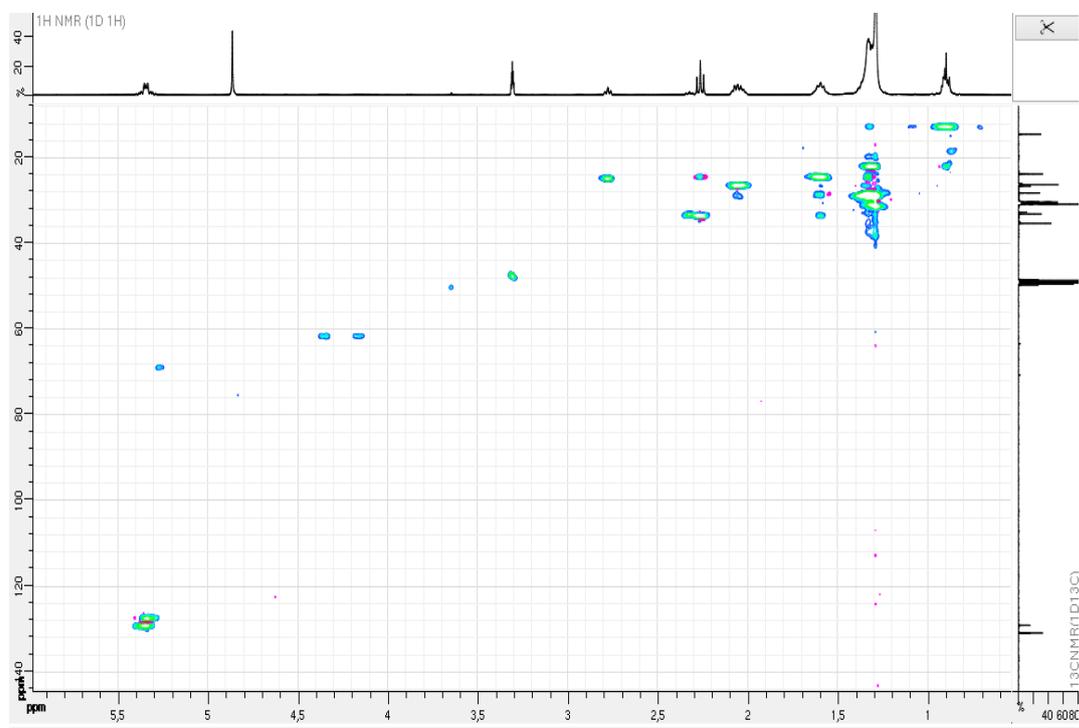


Figure 43.10: Spectre HSQC du composé JD4

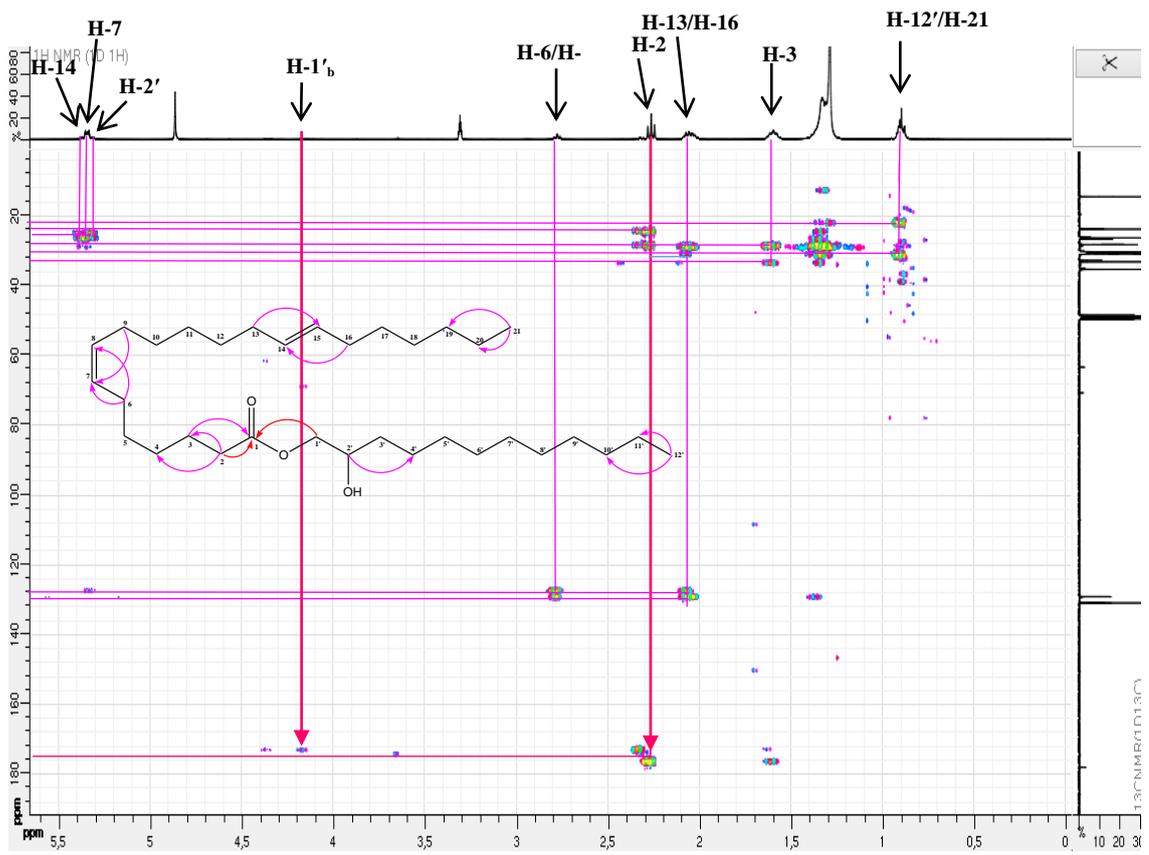


Figure 43.11 : Spectre HMBC du composé JD4

II – 3 – 2 – 2 – Détermination de la structure JD₃

JD₃ a été isolé sous forme solide amorphe blanc. L'analyse de son spectre de masse haute résolution ESI mode positif (Figure 44.1) permet d'observer un ion pseudo-moléculaire à m/z 349.1837 [M+Na]⁺ (calculée 349.5478), en accord avec la formule brute C₂₁H₄₂O₂Na.

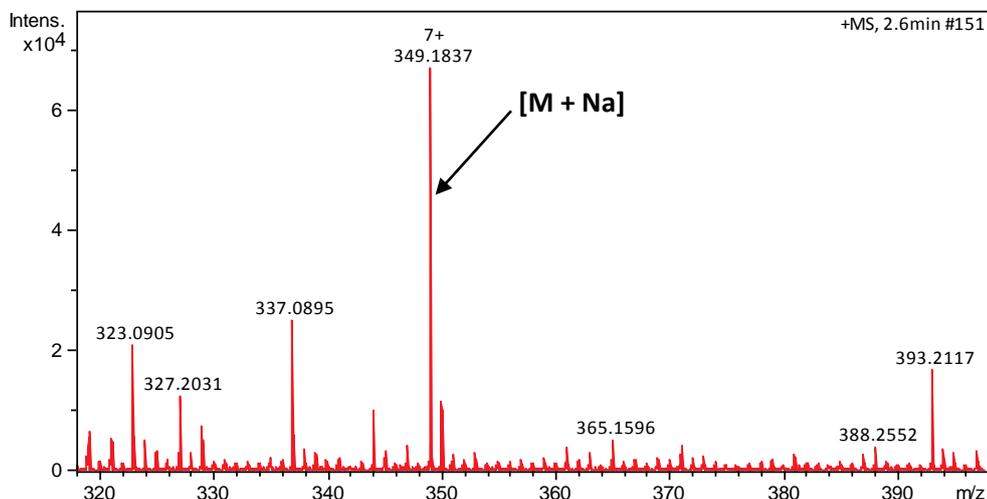


Figure 44.1: Spectre de masse HR-ESI (+) de JD₃

L'analyse du spectre RMN ¹H de JD₃ (Figure 44.4) révèle la présence de trois signaux de six protons méthylènes à δ_H 2.36 (2H, t, J = 7.5 Hz, H-2), δ_H 1.66 (2H, m, H-3) et δ_H 1.33 (2H, m, H-4) qui corrélerent sur e spectre HSQC (Figure 44.7) respectivement avec les carbones à δ_C 33.8 (C-2), δ_C 24.7 (C-3) et δ_C 29.0 (C-4), un large signal de protons méthylènes à δ_H 1.27 (30H, m, H-5 à H-19) qui corréle sur le spectre HSQC avec les carbones à δ_C 29.2 – 31.9 (C-5 – C-19), un signal de protons méthylènes à δ_H 1.30 (2H, m, H-20) qui corréle sur le spectre HSQC avec le carbone à δ_C 22.7 (C-20); un signal de protons méthyles terminaux à δ_H 0.90 (3H, t, J = 7.1 Hz, H-21) qui corréle sur le spectre HSQC avec le carbone à δ_C 14.1 (C-21) (Tableau 20). De plus, les corrélations observées sur le spectre COSY (Figure 44.6) entre les signaux de protons à δ_H 2.36 (H-2) et δ_H 1.66 (H-3), δ_H 1.66 (H-3) et δ_H 1.34 (H-4), δ_H 1.30 (H-20) et δ_H 0.90 (H-21) et celles observées sur le spectre HMBC (Figure 44.8) entre les signaux de protons et carbones [δ_H 2.36 (H-2) et δ_C 29.0 (C-4)/ δ_C 24.7 (C-3) ; δ_H 1.66 (H-3) et δ_C 33.8 (C-2)/ δ_C 29.0 (C-4) ; δ_H 0.90 (H-21) et δ_C 22.7 (C-20)/ δ_C 31.9 (C-19)] suggèrent la présence d'une longue chaîne aliphatique saturée (figure 44.2).

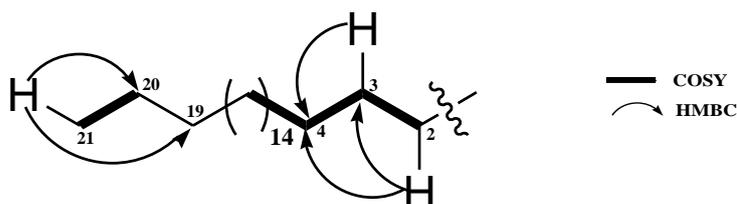


Figure 44.2: longue chaîne aliphatique de JD₃

Par ailleurs, le spectre RMN ^{13}C de **JD₃** (Figure 44.3) montre un signal du carbonyle d'un acide carboxylique à δ_c 178.6 (C-1) (Tableau 21). De plus, les corrélations observées sur le spectre HMBC (Figure 44.8) entre les signaux de protons et carbones [δ_H 2.36 (H-2) et δ_c 178.6 (C-1) et δ_H 1.66 (H-3) et δ_c 178.6 (C-1)] nous ont permis de relier notre longue chaîne aliphatique avec le carbonyle de l'acide carboxylique (Figure 44.3).

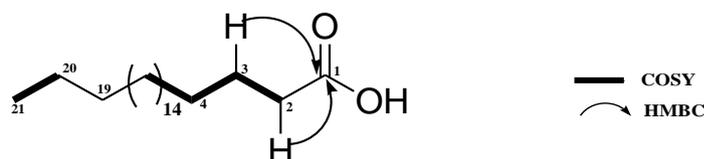


Figure 44.3: Jonction longue chaîne aliphatique et le carbonyle de **JD₃**

L'ensemble des données précédentes a permis d'établir la structure de **JD₃** comme étant l'acide heneicosanoïque, un nouvel acide gras.

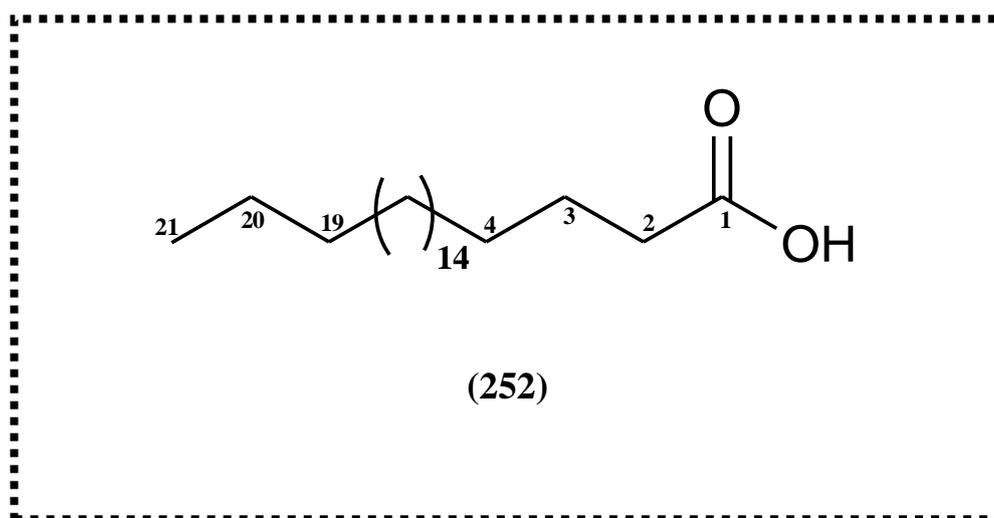


Tableau 20 : Valeurs des déplacements chimiques (^1H et ^{13}C) de **JD₃** (CDCl_3).

N°	δ_H ppm (multi., J Hz)	δ_{C} ppm	DEPT
1	–	178.6	C=O
2	2.36 (t, $J = 7.5$ Hz)	33.8	CH ₂
3	1.66 (m)	24.7	CH ₂
4	1.34	29.0	CH ₂
5 – 18	1.27	29.2 – 29.7	CH ₂
19	1.27	31.9	CH ₂
20	1.30 (m)	22.7	CH ₂
21	0.90 (t, $J = 7.1$ Hz)	14.1	CH ₃

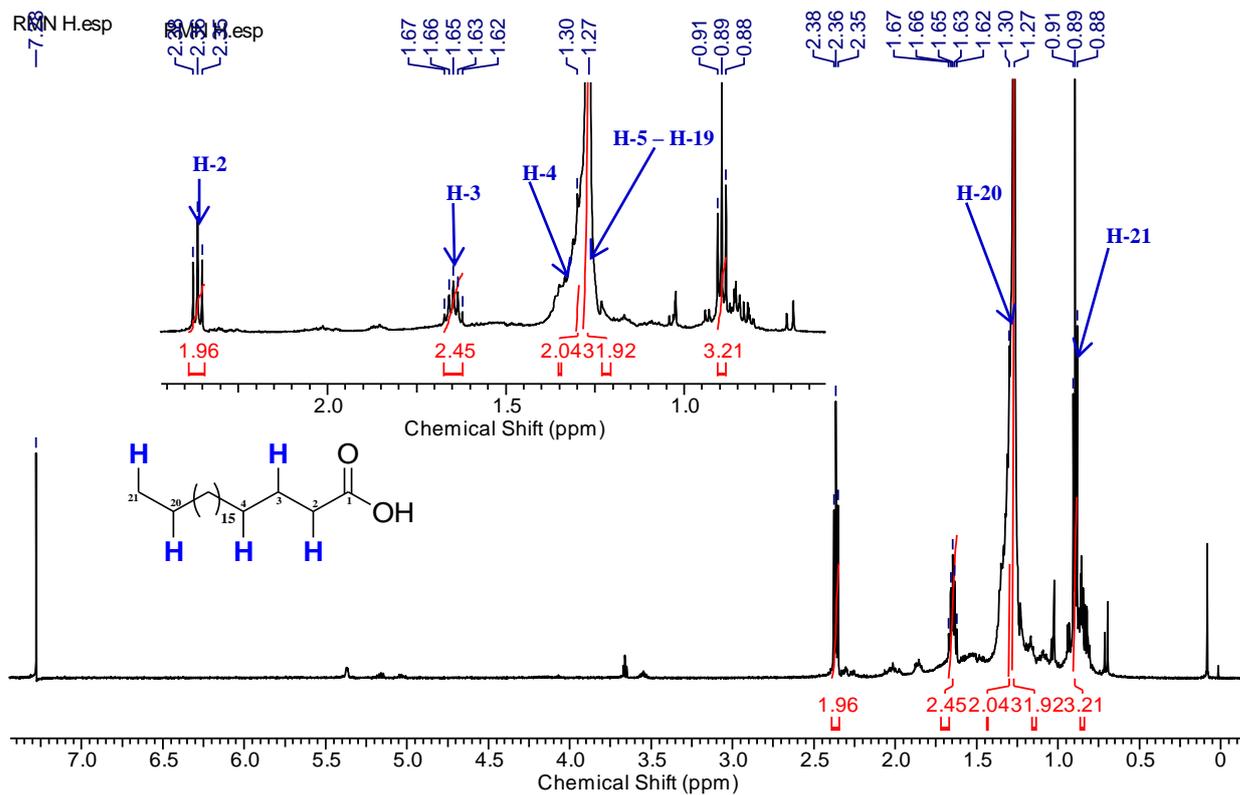


Figure 44.4 : Spectre RMN H du composé **JD₃** (600MHz, CDCl_3)

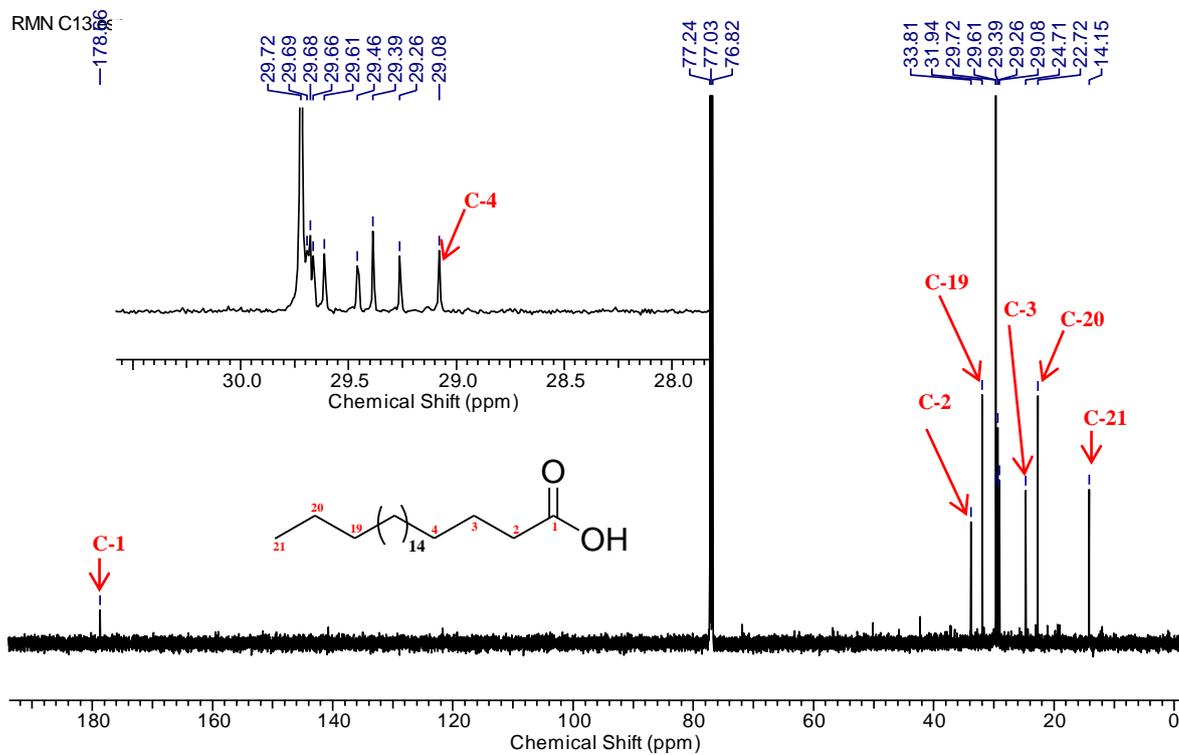


Figure 44.5 : Spectre RMN ^{13}C du composé **JD₃** (150MHz, CDCl_3)

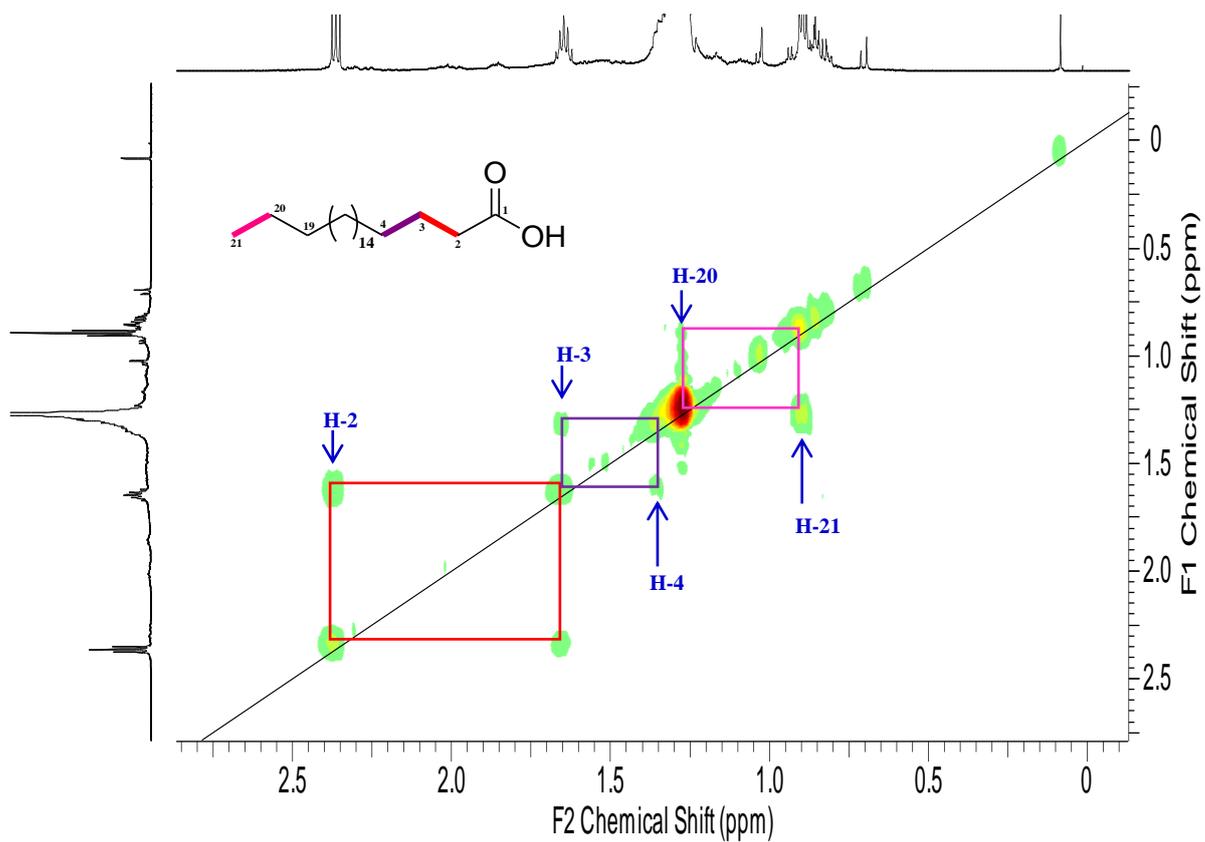


Figure 44.6 : Spectre COSY du composé JD₃

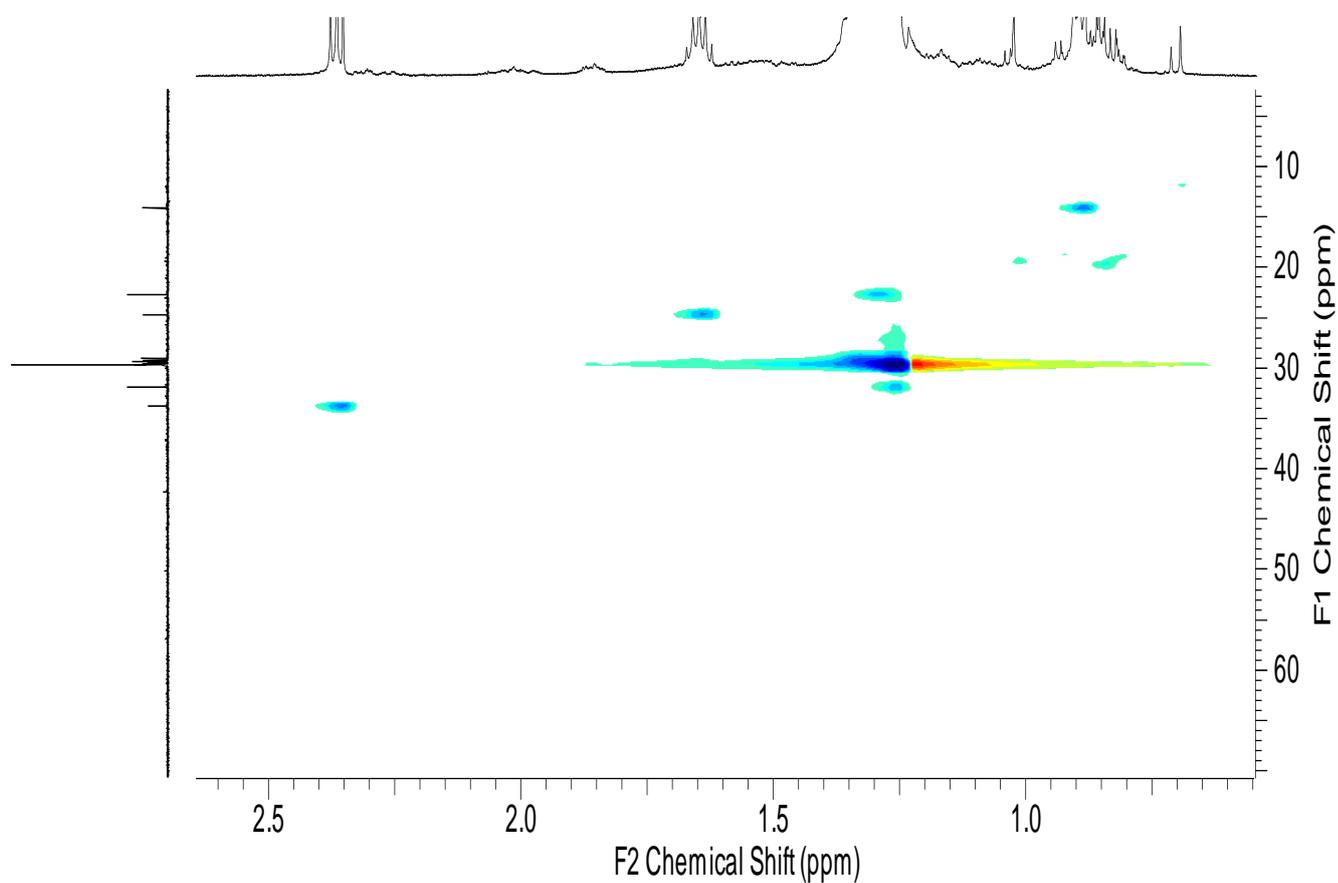


Figure 44.7 : Spectre HSQC du composé JD₃

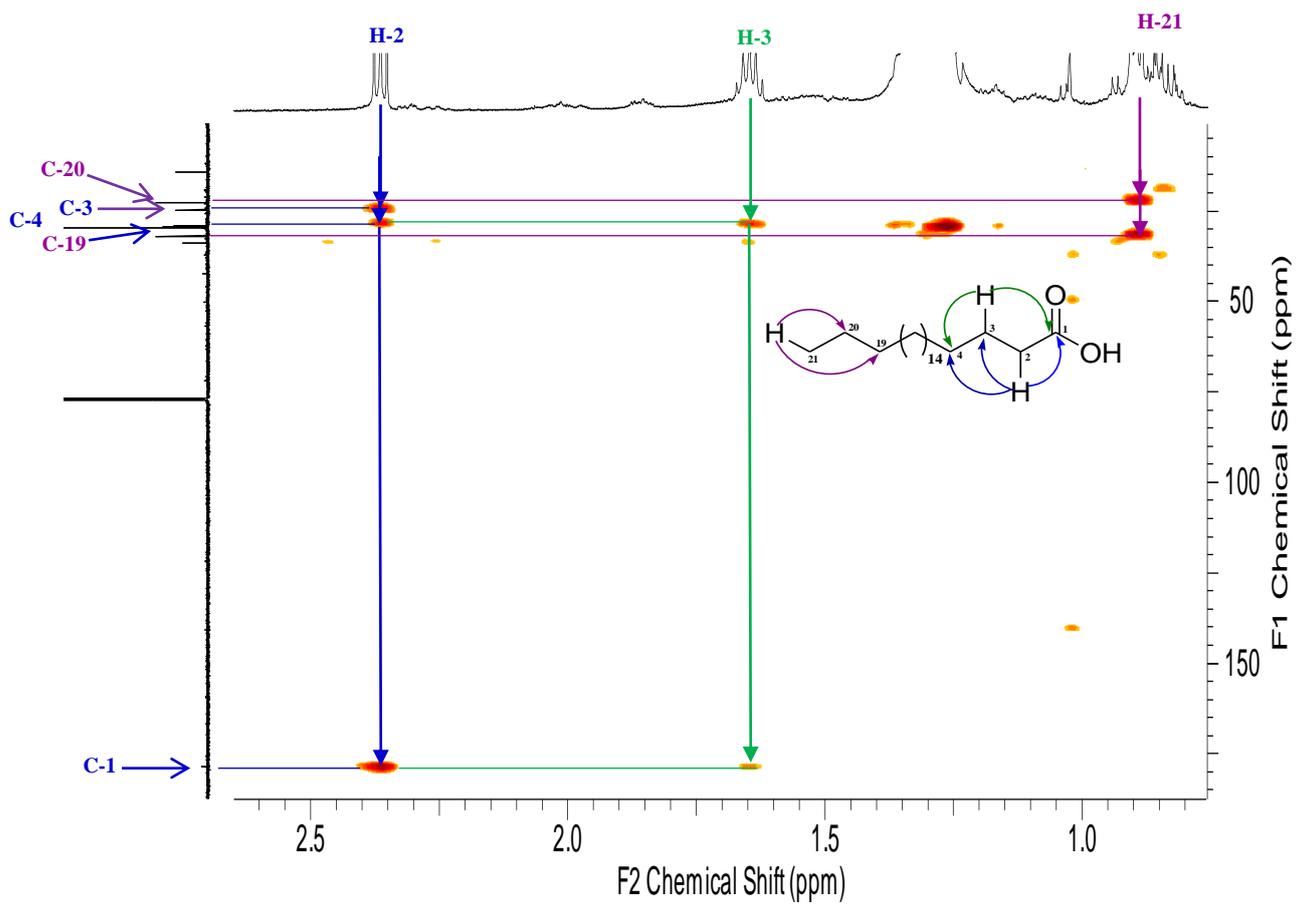


Figure 44.8 : Spectre HMBC du composé JD₃

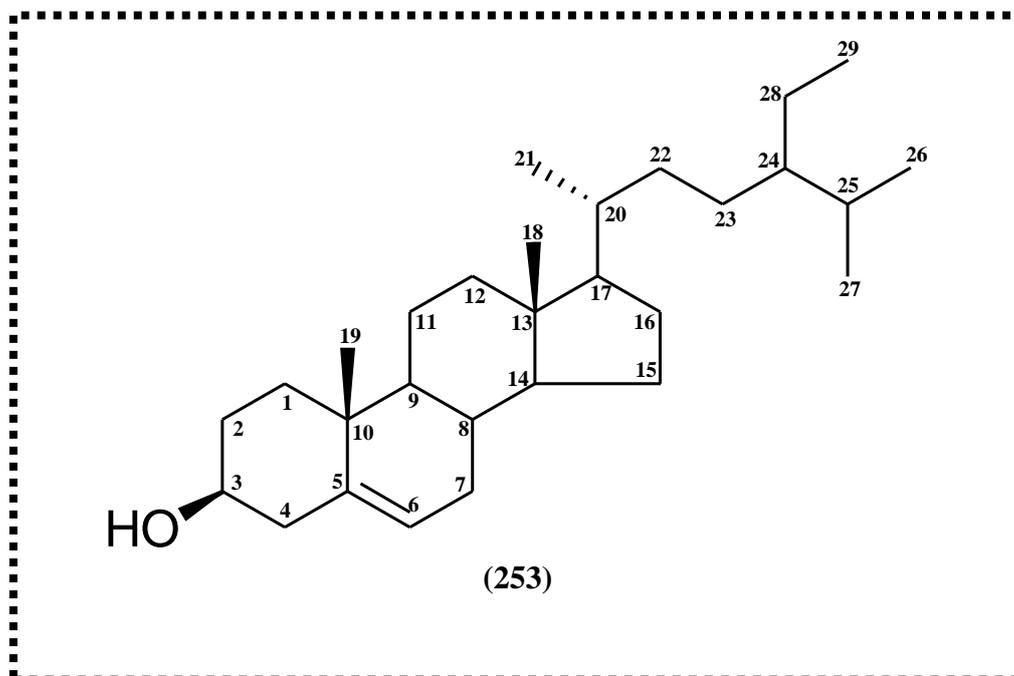
II – 3 – 2 – 3 – Identification de la structure **JD₂**

JD₂ a été isolé sous forme de baguettes blanches. L'analyse de son spectre de masse haute résolution ESI (mode positif) permet d'observer un ion pseudo moléculaire à m/z 437.2367 $[M+Na]^+$ (calculée 437.7030) en accord avec la formule brute $C_{29}H_{50}ONa$.

L'analyse du spectre RMN 1H de **JD₂** (Figure 45.1) révèle la présence d'un proton oléfinique à δ_H 5.34 (H-6)Hz qui corrèle sur le spectre HSQC avec le carbone à δ_C 122.5 (C-6), six méthyles angulaires δ_H 0.69 (H-18), δ_H 0.74 (H-26), δ_H 0.83 (H-27), δ_H 0.86 (3H,t,H-29), δ_H 0.94 (3H,d, H-26) et δ_H 1.02(H-19) qui corrélerent sur le spectre HSQC respectivement avec les carbones à δ_C 12.4 (C-18), δ_C 12.4 (C-26), δ_C 19.5 (C-27), δ_C 20.3 (C-29), δ_C 19.4 (C-26) et δ_C 20.0 (C-19) (Tableau 21).

L'analyse du spectre RMN ^{13}C de **JD₂** (Figure 45.2) enregistré en mode DEPT permet de distinguer 6 carbones tertiaires (CH), 11 carbones secondaires (CH₂), six groupements méthyles (CH₃) et 3 carbones quaternaires (C). Les signaux observés à δ_C 122.5 (C-6) et δ_C 142.4 (C-5) correspondent aux carbones oléfiniques (Tableau 21).

L'analyse complète des spectres RMN 1H , ^{13}C , les corrélations observées sur les spectres COSY, HSQC, HMBC de **JD₂** et la comparaison des données obtenues avec celles de la littérature nous ont permis d'établir sa structure comme étant le β -sitostérol composé connu, précédemment isolé de *Berlinia confusa* (Lasisi & Idowu, 2012).



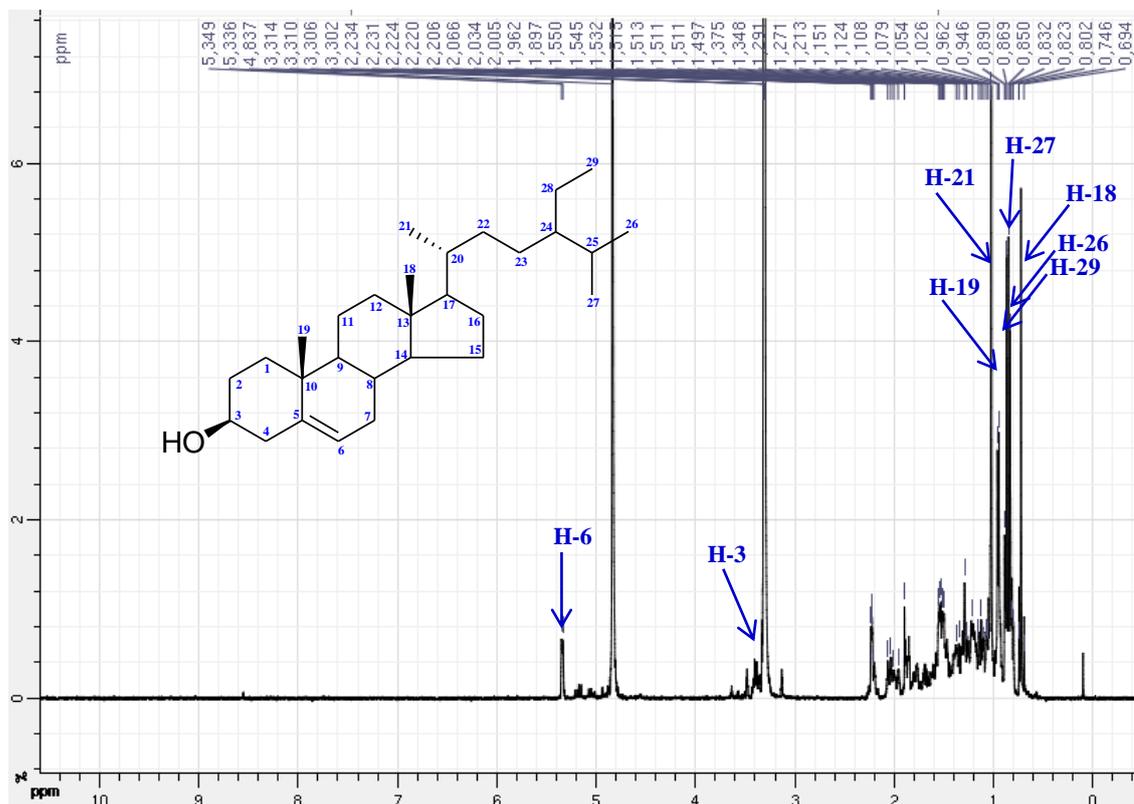


Figure 45.1 : Spectre RMN H du composé **JD₂** (400MHz, MeOD)

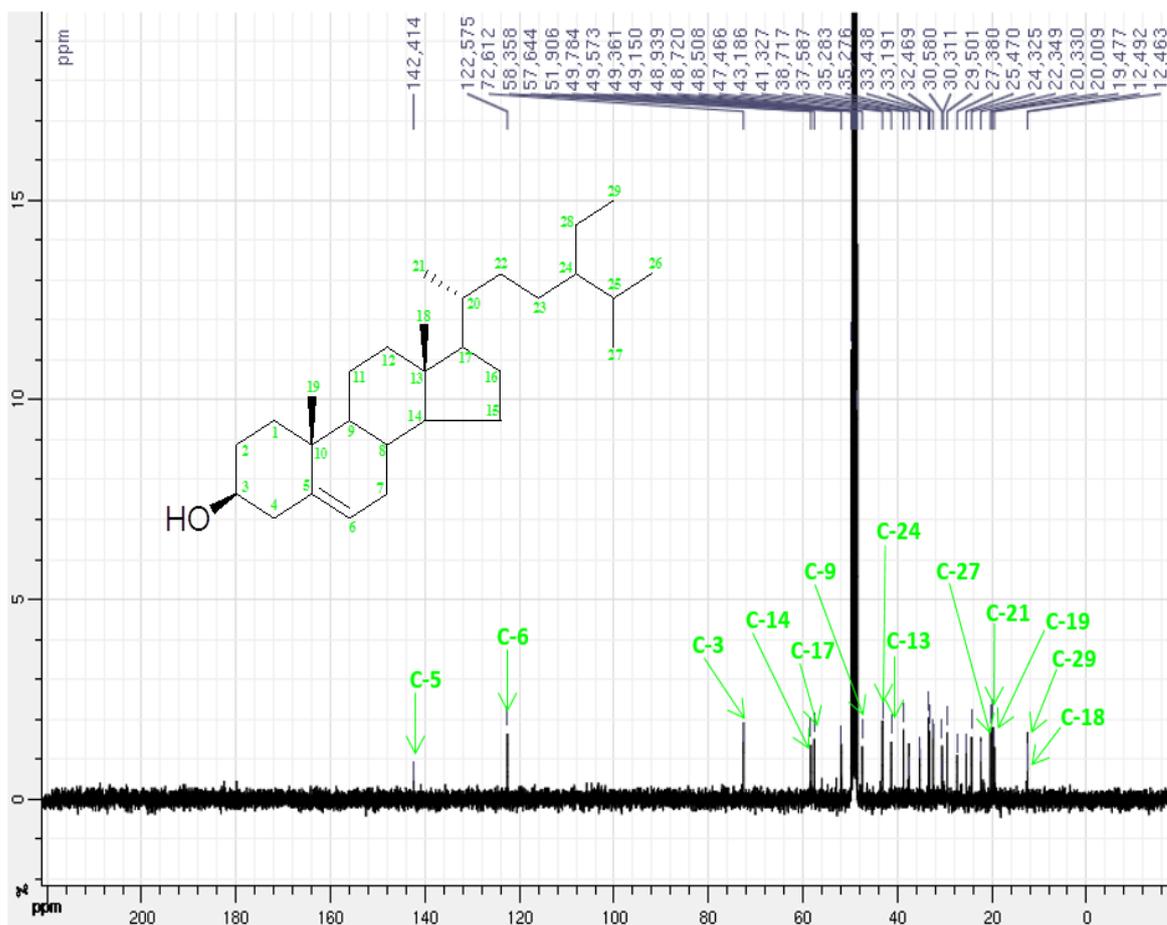


Figure 45.2 : Spectre RMN ¹³C du composé **JD₂** (100MHz, MeOD)

II – 3 – 2 – 4 – Identification de la structure JD₅

JD₅ a été isolé sous forme de poudre blanche. L'analyse de son spectre de masse haute résolution ESI (mode positif) permet d'observer un ion pseudo moléculaire à m/z 435.3604 $[M+Na]^+$ (calculée 435.6872), en accord avec la formule brute $C_{29}H_{48}ONa$.

L'analyse complète des spectres RMN 1H (Figure 46.1), RMN ^{13}C (Figure 46.2), les corrélations observées dans les spectres COSY, HSQC, HMBC, et la comparaison des valeurs des déplacements chimiques (Tableau 22) avec celles de la littérature, nous permet d'établir la structure de **JD₅** comme étant le stigmastérol précédemment isolé de *Clerodendrum fragrans* (Toshihiro et al, 1988).

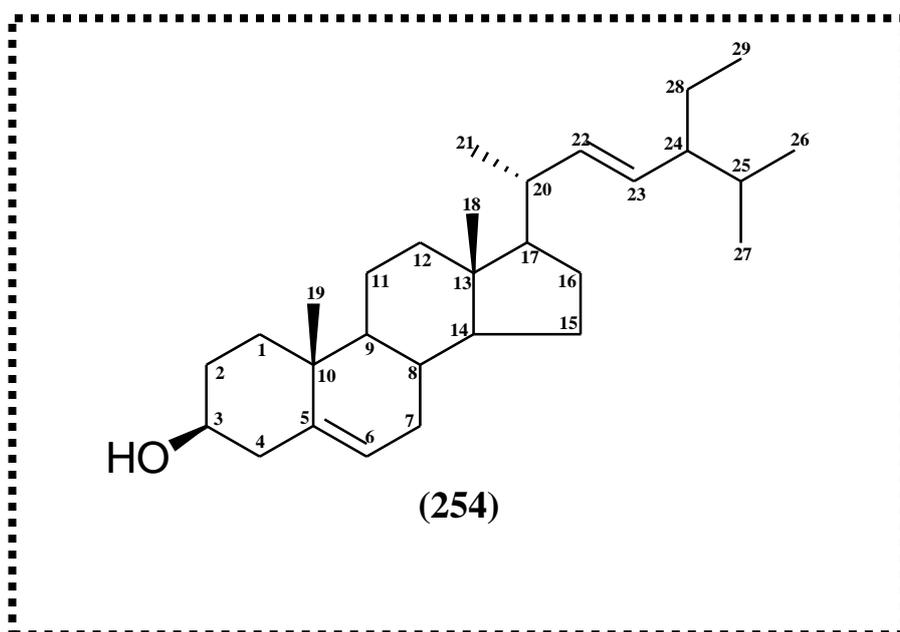


Tableau 21 : Valeurs des déplacements chimiques RMN ^1H (400 MHz) et ^{13}C (100 MHz) de **JD₂** et RMN ^1H (600 MHz) et ^{13}C (150 MHz) de **JD₅** .

JD₂ (CDCl ₃)			JD₅ (CDCl ₃)			
N°	δ_{H} ppm (multi., <i>J</i> Hz)	δ_{C}	DEPT	δ_{H} ppm (multi., <i>J</i> Hz)	δ_{C}	DEPT
1		37.5	CH ₂	1.12 (t, <i>J</i> = 5.1 Hz)	37.2	CH ₂
2		30.5	CH ₂	1.47 (m)	31.6	CH ₂
3	3.39 (m)	72.4	CH	3.54 (m)	71.8	CH
4		38.7	CH ₂	2.23 (d, <i>J</i> = 2.2 Hz)	42.3	CH ₂
5	—	142.4	C	—	140.7	C
6	5.34 (t, <i>J</i> = 1.8 Hz)	122.5	CH	5.37 (t, <i>J</i> = 1.8 Hz)	121.7	CH
7		32.4	CH ₂	1.97 (t, <i>J</i> = 1.8 Hz)	31.9	CH ₂
8		33.1	CH	1.28 (m)	33.9	CH
9		51.9	CH	0.95 (m)	50.1	CH
10	—	35.2	C	—	36.5	C
11		22.3	CH ₂	1.22 (m)	23.0	CH ₂
12		41.3	CH ₂	1.97 (t, <i>J</i> = 2.6 Hz)	39.7	CH ₂
13	—	43.1	C	—	42.2	C
14		58.3	CH	1.08 (m)	56.8	CH
15		25.4	CH ₂	1.15 (m)	26.0	CH ₂
16		29.5	CH ₂	1.22 (m)	29.7	CH ₂
17		57.6	CH	1.18 (m)	56.0	CH
18	0.69 (s)	12.4	CH ₃	0.70 (s)	12.2	CH ₃
19	0.96 (s)	19.4	CH ₃	0.90 (s)	19.4	CH ₃
20		35.2	CH	2.02 (m)	40.5	CH
21	1.02 (d, <i>J</i> = 6.4 Hz)	20.0	CH ₃	1.03 (d, <i>J</i> = 6.7 Hz)	21.0	CH ₃
22		33.4	CH ₂	5.15 (dd, <i>J</i> = 6.4 et 8.6 Hz)	138.3	CH
23		27.3	CH ₂	5.04 (dd, <i>J</i> = 6.4 et 9.0 Hz)	129.2	CH
24		47.1	CH	1.56 (m)	51.2	CH
25		30.3	CH	0.91 (m)	45.8	CH
26	0.83 (d, <i>J</i> = 6.6 Hz)	19.5	CH ₃	0.83 (d, <i>J</i> = 6.7 Hz)	19.8	CH ₃
27	0.86 (d, <i>J</i> = 6.7 Hz)	20.3	CH ₃	0.86 (d, <i>J</i> = 6.7 Hz)	21.2	CH ₃
28		24.3	CH ₂	1.07 (m)	24.3	CH ₂
29	0.74 (t, <i>J</i> = 6.4 Hz)	12.4	CH ₃	0.79 (t, <i>J</i> = 6.7 Hz)	12.0	CH ₃

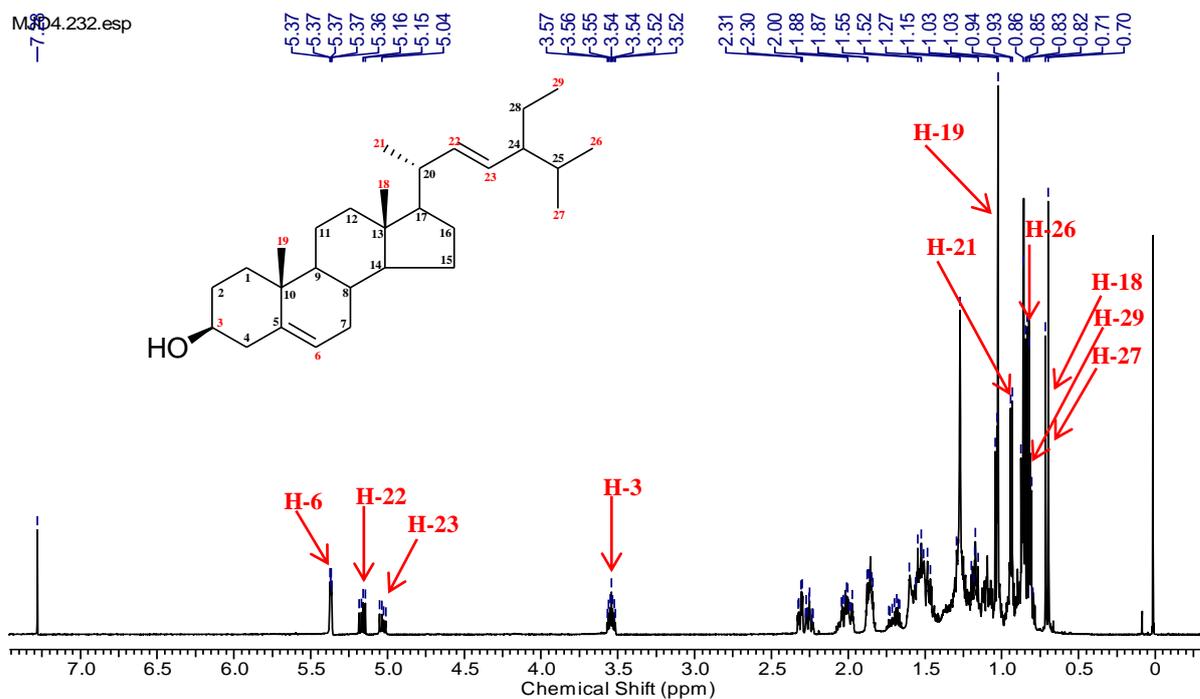


Figure 46.1 : Spectre RMN H du composé **JD5** (600MHz, CDCl_3)

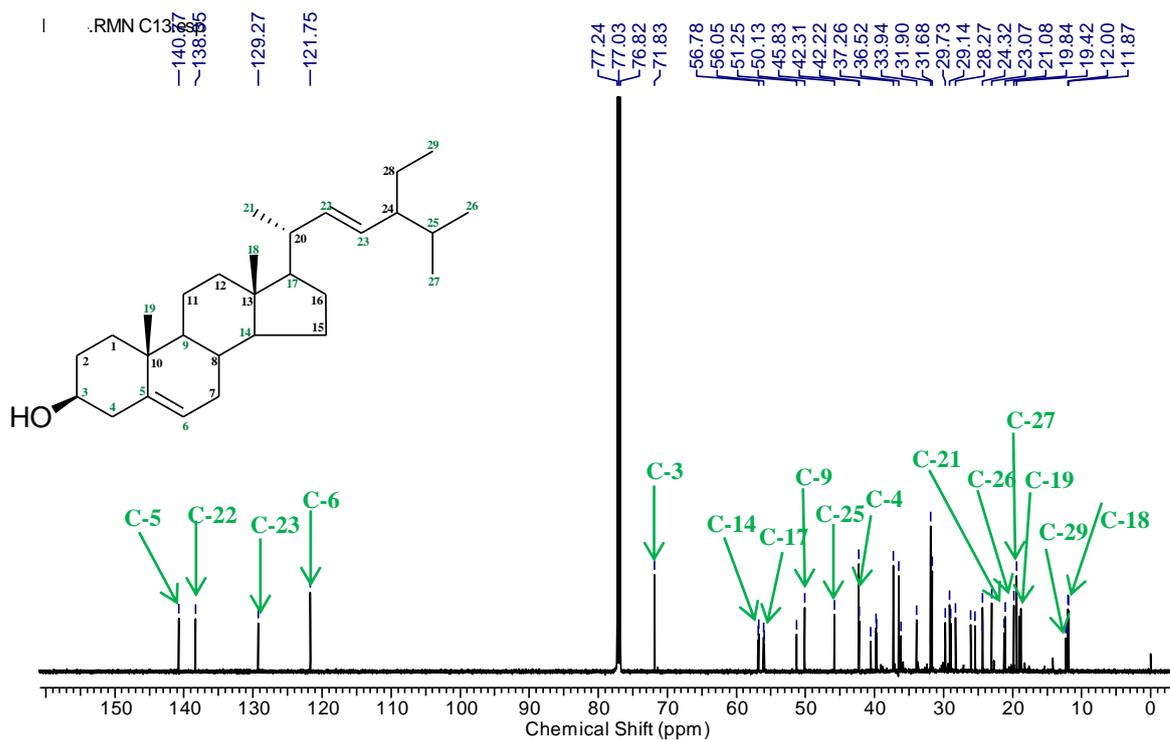


Figure 46.2 : Spectre RMN ^{13}C du composé **JD5** (150MHz, CDCl_3)

II – 4 – Conclusion et discussion sur la phytochimie des plantes étudiées

L'étude phytochimique des extraits méthanoliques de *N. griffoniana*, *A. macrophylla* et *D. adscendens* par chromatographie liquide-liquide (Hexane /CH₂Cl₂ / MeOH et Hexane /CH₂Cl₂ / AE/ MeOH) nous a conduit après fractionnement et purification à l'isolation de vingt composés dont dix-sept ont été complètement caractérisés. Sept de ces composés naturels sont nouveaux :

- ❖ 5-ethylnonane (**MJ₁**) ;
- ❖ 2,3,4-trihydroxybutyl pentatriacontanoate (**MJ₃**) ;
- ❖ 3-(1-methoxy-4-pentylphenyl)-7-(1-methoxy-4-propylphenyl)-5''-phenyl-6''-(hydroxymethyl)-5'',6''-dihydro[1,4]dioxino[2'',3'':3',4'] flavane (**MJ₆**) ;
- ❖ 7-methyltetradécane (**AK₁**) ;
- ❖ 4-glucoside-1,1-bis(N,N'-diferuloylputrescine)buta-1,3-diène (**AK₇**) ;
- ❖ Acide heneicosanoïque (**JD₃**) ;
- ❖ Heneicosane-7,14-diénoate de 2-hydroxydodecyle (**JD₄**).

Parmi les composés isolés connus :

- ❖ **MJ₄** et **AK₄** sont identiques il s'agit de la tri-*O*-methylnorbergenine ;
- ❖ **AK₅** et **MJ₅** sont identiques il s'agit de la Bergenine ;
- ❖ Tetracosanoate de 2,3-dihydroxypropyle (**MJ₂**) ;
- ❖ Heptacosanoate de 2,3-dihydroxypropyle (**AK₂**) ;
- ❖ α -D-glucopyranosyl (1 \rightarrow 2')- β -D-sorbopyranoside (**AK₈**) ;
- ❖ glucoside de β -sitostérol (**AK₃**) ;
- ❖ β -sitostérol (**JD₂**) ;
- ❖ stigmastérol (**JD₅**).

En termes de classes de composés nous avons ainsi pu caractériser :

- ✓ Quatre esters d'acide gras **JD₄**, **MJ₂**, **MJ₃** et **AK₂** ;
- ✓ Trois stérols **AK₃**, **JD₂** et **JD₅** ;
- ✓ Un acide gras **JD₃** ;
- ✓ Deux alcanes **MJ₁** et **AK₁** ;
- ✓ Deux isocoumarines **MJ₄** = **AK₄** et **AK₅** = **MJ₅** ;
- ✓ Un flavanolignane **MJ₆** ;
- ✓ Un alcaloïde **AK₇** ;
- ✓ Un disaccharide ou hydrate de carbone **AK₈**.

Plusieurs aspects de notre étude phytochimique sur *N. griffoniana* (Mimosoïdées), *A. macrophylla* (Césalpinioïdées) et *D. adscendens* (Papilionoïdées.) peuvent être ressortis au travers des composés isolés. En effet :

- L'aglycone de notre flavanolignane 3-(1-methoxy-4-pentylphenyl)-7-(1-methoxy-4-propylphenyl)-5''-phenyl-6''-(hydroxymethyl)-5'',6''-dihydro[1,4]dioxino[2'',3'':3',4'] flavane **MJ6** a la particularité d'être reporté pour la première fois dans les substances naturelles ; le genre *Newtonia* pourrait être une potentielle source de cette nouvelle classe de composés ;
- Le tetracosanoate de 2,3-dihydroxypropyle (**MJ2**) et l'heptacosanoate de 2,3-dihydroxypropyle (**AK2**) sont des monoglycérides (résidu d'acide gras saturé combiné à un glycérol ou propane-1, 2,3-triol). Ce type de composés est beaucoup plus répandu dans les Mimosoïdées et aux travers d'**AK2**, ils font leurs apparitions dans les Césalpinioïdées. Le pentatriacontanoate de 2, 3, 4-trihydroxybutyle (**MJ3**) est un ester erythritol (résidu d'acide gras saturé combiné au butane-1, 2, 3, 4-tetraol) ; **MJ3** possède une longue chaîne aliphatique dans sa partie acide comme **MJ2** et **AK2** mais diffère d'eux par le groupement alkoxy (R-O-) ; la caractérisation de **MJ3** permet de décrire pour la première fois dans les substances naturelles la partie erythritol des esters d'acides gras. L'heneicosane-7,14-diénoate de 2-hydroxydodecyle (**JD4**) est un ester d'acide gras dont la particularité est que la longue chaîne acide insaturée est combinée au dodecane-1,2-diol. **JD4** vient augmenter le nombre de ce type de composés dans les Papilionoïdées.
- Le 4-glucoside-1,1-bis(N,N'-diferuloylputrescine)buta-1,3-diène (**AK7**) est un alcaloïde dérivé de l'acide ferulique qui a la particularité de porter un sucre. Son squelette particulier, est décrit pour la première fois dans les substances naturelles. le genre *Anthonotha* pourrait être considéré comme une potentielle source de ce type de composés.
- La caractérisation du α -D-glucopyranosyl (1→2')- β -D-sorbopyranoside (**AK8**) conforte que les Césalpinioïdées restent la principale source d'hydrates de carbones dans les légumineuses.
- Les isocoumarines tri-O-méthylnorbergenine (**MJ4 = AK4**), bergénine (**AK5 = MJ5**) ont été isolés des écorces *N. griffoniana* (Légumineuses – Mimosoïdées) et *A. macrophylla* (Légumineuses – Césalpinioïdées) ce qui nous permet d'émettre l'hypothèse selon laquelle les plantes appartenant à une même famille et qui poussent dans le même biotope sont susceptibles de synthétiser les mêmes métabolites.
- La caractérisation du 5-éthylnonane (**MJ1**) ajoute aux Mimosoïdées un alcane acyclique ramifié et celle du 7-méthyltétradécane (**AK1**) une apparition de cette classe de composé dans les Césalpinioïdées.
- La caractérisation des stérols : le glucoside de β -sitostérol (**AK3**), le β -sitostérol (**JD2**) et le stigmastérol (**JD5**) confirme la forte concentration de cette classe de composés dans les substances naturelles.

Tous les composés dans le cadre de cette étude ont été isolés pour la première fois respectivement de *N. griffoniana*, *A. macrophylla* et *D. Adscendens*.

II – 5– Activité anxiolytique de *N. griffoniana* et Newtonoate (MJ₃)

Le deuxième volet de notre étude porte sur l'évaluation de l'activité anxiolytique de l'extrait méthanolique de *N. griffoniana* et du 2, 3,4-trihydroxypentatriacontanoate appelé Newtonoate (MJ₃) composé isolé de cette plante. Pour cela nous avons utilisé le test du labyrinthe en croix Surélevé (EPM) (figure 46).



Figure 47 : Labyrinthe en croix surélevé ou «Eleveted plus –maz» (EPM) **A**: Bras ouvert
B: Bras fermé

L'expérience s'appuie sur le conflit, chez les rongeurs, entre la peur des espaces ouverts et le désir d'explorer un nouvel environnement ou conflit de type approche-évitement. Un animal qui explore les bras ouverts est décrit comme étant « peu anxieux ». L'animal qui reste confiné dans les bras fermés du dispositif est quant à lui considéré comme étant « anxieux » et aura donc naturellement tendance à préférer les espaces clos et sombres aux espaces ouverts et éclairés (Oviedo et al. 2006). Le test du labyrinthe en croix surélevé a été réalisé selon la méthode décrite par Andrew et File (1993). Ce test est basé sur l'étude du comportement spontané de l'animal. L'expérimentation a été réalisée avec des souris blanches mâles, de souche Swiss, âgés entre 8 et 12 semaines et pesant en moyenne 24g. Ces souris ont été placées dans une salle dont l'environnement est contrôlé (température : 25°C ; humidité : 50% ; cycle lumière-obscurité 12/12) et nourries à base d'aliments classiques. Les animaux ont été répartis au hasard en huit groupes de six souris chacun. Trois de ces groupes ont reçu des doses respectives (100, 150 et 200 mg/Kg) de l'extrait méthanolique de *N. griffoniana* par voie orale (per os). Toujours par voie orale, trois autres groupes ont reçu des doses de MJ₃ (3, 15 et 30 mg/Kg Bw) et le groupe de contrôle négatif a reçu de l'eau distillée. Le groupe du contrôle positif est réalisé à base

du diazépam (matériel chimique constitué d'une substance déprimant le système nerveux central) par administration intra péritonéale (i.p) à l'aide d'une seringue à insuline (3 mg/kg Bw, i.p. Valium®, Roche Laboratory, Fontenay-sous-bois, France). Les traitements ont été administrés une heure avant le test, dans un volume de 10 mL/kg Bw.

Les souris ont été placées individuellement au centre de la surface du labyrinthe à bras ouvert, ce qui nous a permis de suivre les souris pendant 5 minutes (Andrews et al ,1993; Bourin et al 2001; Ngo Bum et al. 2011). Les souris ont été lavées avec 70% d'une solution d'éthanol et séchées avec une nappe entre deux tests.

II – 5 – 1 – Effet de l'extrait au méthanol de *N. griffoniana* sur les indicateurs d'anxiété dans le test EPM

L'extrait au méthanol de *N. griffoniana* montre une augmentation significative du pourcentage d'entrée dans les bras ouverts aux doses de 100 mg/kg ($p < 0.01$) et 150 mg/kg ($p < 0.05$) (Tableau 22 ; Figure 48); et une augmentation significative du pourcentage du temps passé dans les bras ouverts à 100 mg/ kg ($p < 0.01$) (Tableau 22 ; Figure 50), comparativement au groupe control. Comme attendu le diazépam provoque une augmentation significative du pourcentage d'entrée dans les bras ouverts (Figure 48), et également une augmentation significative du temps passé dans les bras ouverts du groupe contrôle positif (Figure 50). Comme le diazépam, l'extrait au méthanol provoque une réduction significative du pourcentage d'entrée dans les bras fermés aux doses de 100 mg/kg ($p < 0.01$) and 150 mg/kg ($p < 0.05$) (Figure 61) et une réduction significative du pourcentage du temps passé dans les bras fermés à la dose de 100 mg/kg ($p < 0.01$) (Tableau 22 ; Figure 51). Le nombre de *rearing* (nombre de fois que l'animal se tient debout sur ses pattes postérieures et prend appuie sur les bords du dispositif expérimental) a été légèrement réduit par l'extrait au méthanol à la dose de 100 mg/kg et significativement réduit par le diazépam ($p < 0.01$) (Tableau 22 ; Figure 52); cependant le nombre de *head dipping* (nombre de fois que l'animal se place dans les bras ouverts du labyrinthe et regarde en dessous du dispositif expérimental) a été significativement réduit par l'extrait au méthanol à la dose 200 mg/ kg ($p < 0.05$) et par le diazépam ($p < 0.05$) (Tableau 22 ; Figure 53).

II – 5 – 2 – Effet du Newtonoate (MJ3) sur les indicateurs d'anxiété dans le test EPM

Comme le diazépam, Newtonoate (MJ3) provoque une augmentation significative du pourcentage du nombre d'entrée dans les bras ouverts aux doses de 3 mg/kg ($p < 0.01$) et 15 mg/kg ($p < 0.05$) (Tableau 22 ; Figure 48) et une diminution significative du pourcentage du temps passé dans les bras ouverts à la dose de 30 mg/kg ($p < 0.05$) (Tableau 22 ; Figure 50), comparé avec le groupe contrôle. Newtonoate (MJ3) provoque une réduction significative du pourcentage entrées dans les bras fermés aux doses de 3 mg/ kg ($p < 0.01$) et 15 mg/kg ($p < 0.05$) (Tableau 22 ; Figure 49), et une réduction significative du pourcentage de temps passé dans les bras fermés à la dose de 30 mg/kg

($p < 0.05$) (Tableau 22 ; Figure 51). Comme attendu pour le groupe contrôle positif, le diazépam provoque aussi une diminution significative du pourcentage d'entrée dans les bras fermés dans le EPM ($p < 0.01$) (Tableau 22 ; Figure 49) par conséquent une réduction du temps passés dans ces bras ($p < 0.01$) (Tableau 22 ; Figure 51). Newtonoate (**MJ₃**) provoque une légère réduction du nombre de *rearing* à la dose de 15 mg/kg (Tableau 22 ; Figure 52). Newtonoate (**MJ₃**) provoque aussi une réduction significative du nombre de *head dipping* aux doses de 3 mg/kg ($p < 0.05$) et 15 mg/kg ($p < 0.05$), comme le fait le diazépam ($p < 0.05$) (Tableau 22 ; Figure 53).

Tableau 22 : Effets de l'extrait MeOH de Ng et de MJ₃ sur les souris dans le test du labyrinthe en croix Surélevé (EPM)

Groupes de souris	Témoin Control négatif	Lot test 1	Lot test 2	Lot test 3	Lot test 4	Lot test 5	Lot test 6	Témoin Control positif
Dose administrée	Eau distillée	100 mg/kg	150 mg/kg	200 mg/kg	3 mg/kg	15 mg/kg	30 mg/kg	Diaz
Moyenne des effets de l'extrait MeOH de Ng et de MJ ₃ sur le % du nombre d'entrées dans les bras ouverts	33,9833	57,3617	54,7667	47,8133	60,3033	54,8767	48,875	57,5383
Moyenne des effets de l'extrait MeOH de Ng et de MJ ₃ sur le % du nombre d'entrées dans les bras fermés	66,0167	42,6383	45,2333	52,185	39,6967	45,1233	51,125	42,4617
Moyenne des effets de l'extrait MeOH de Ng et de MJ ₃ sur le % de temps passé dans les bras ouverts	17,465	42,95	33,9033	29,5267	33,25333	34,47667	36,03	42,6783
Moyenne des effets de l'extrait MeOH de Ng et de MJ ₃ sur le % de temps passé dans les bras fermés	82,535	57,05	66,0983	70,4733	66,7467	65,5233	63,97	57,3217
Moyenne des effets de l'extrait MeOH de Ng et de MJ ₃ sur le nombre de " <i>rearing</i> " dans les bras fermés	16,8333	12,6667	19,8333	16,3333	15,3333	12,6667	16	5
Moyenne des effets de l'extrait MeOH de Ng et de MJ ₃ sur le nombre de " <i>head dipping</i> " dans les bras ouverts	9,33333	8	9,33333	4,83333	4,33333	5,33333	6,83333	5

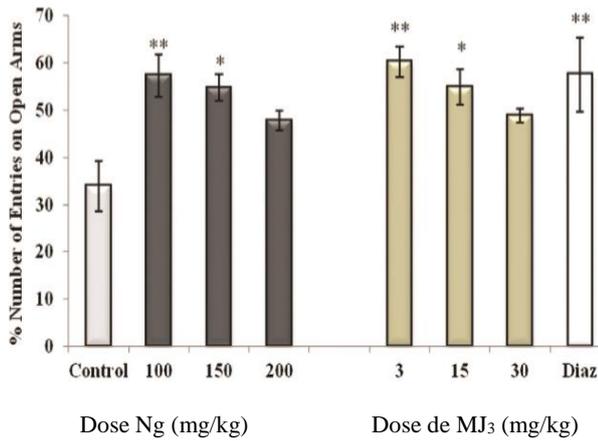


Figure 48: Effet de l'extrait de *N.griffoniana* (Ng) et newtonoate (MJ₃) sur le nombre d'entrée dans les bras ouverts exprimé en un pourcentage total d'entrée dans les bras du labyrinthe en croix surélevé pendant 5 min.

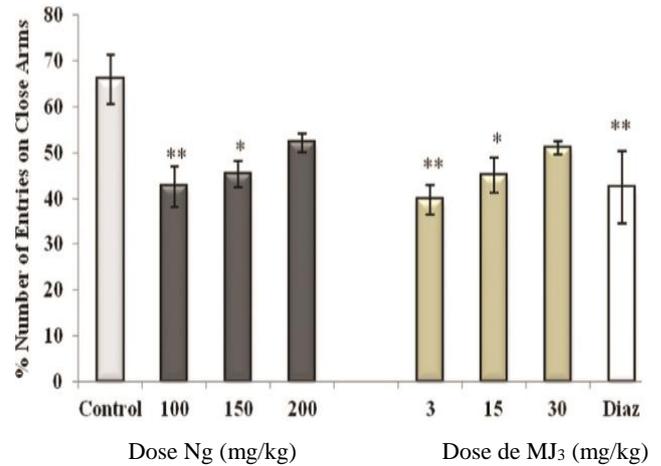


Figure 49: Effet de l'extrait de *N.griffoniana* (Ng) et newtonoate (MJ₃) sur le nombre d'entrée dans les bras fermés exprimé en un pourcentage total d'entrée dans les bras du labyrinthe en croix surélevé pendant 5 min.

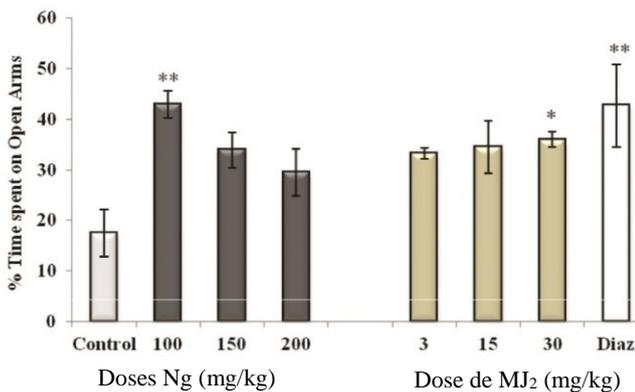


Figure 50: Effet de l'extrait de *N.griffoniana* (Ng) et newtonoate (MJ₂) sur le temps passé dans les bras ouverts exprimé en un pourcentage total de temps passé dans les bras du labyrinthe en croix surélevé pendant 5 min.

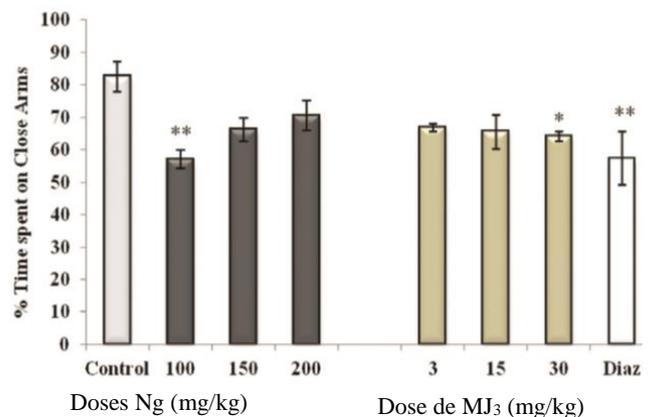


Figure 51: Effet de l'extrait de *N.griffoniana* (Ng) et newtonoate (MJ₃) sur le temps passé dans les bras fermés exprimé en un pourcentage total de temps passé dans les bras du labyrinthe en croix surélevé pendant 5 min.

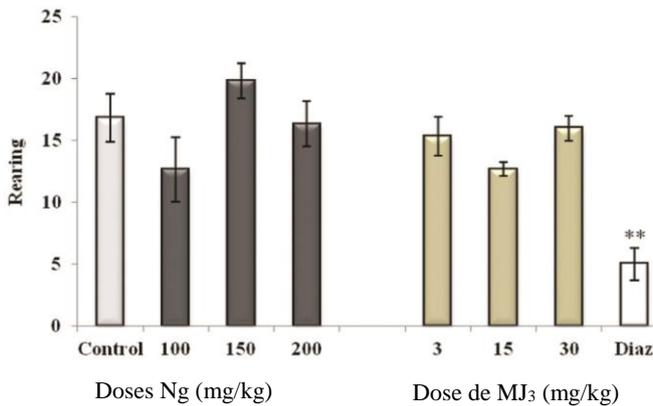


Figure 52: Effet de l'extrait de *N.griffoniana* (Ng) et newtonoate (MJ₃) sur le nombre de rearing des souris placés dans le labyrinthe en croix surélevé.

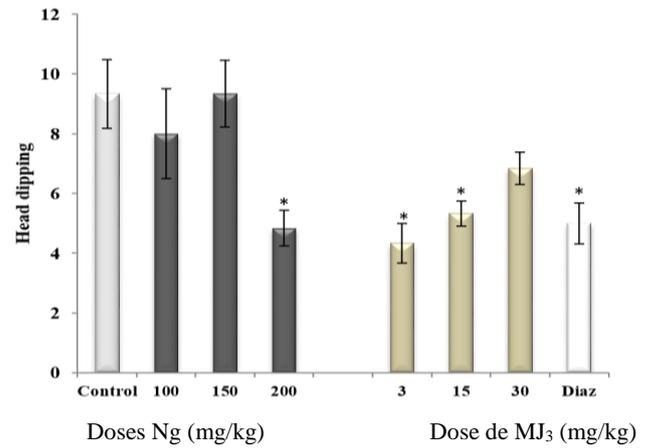


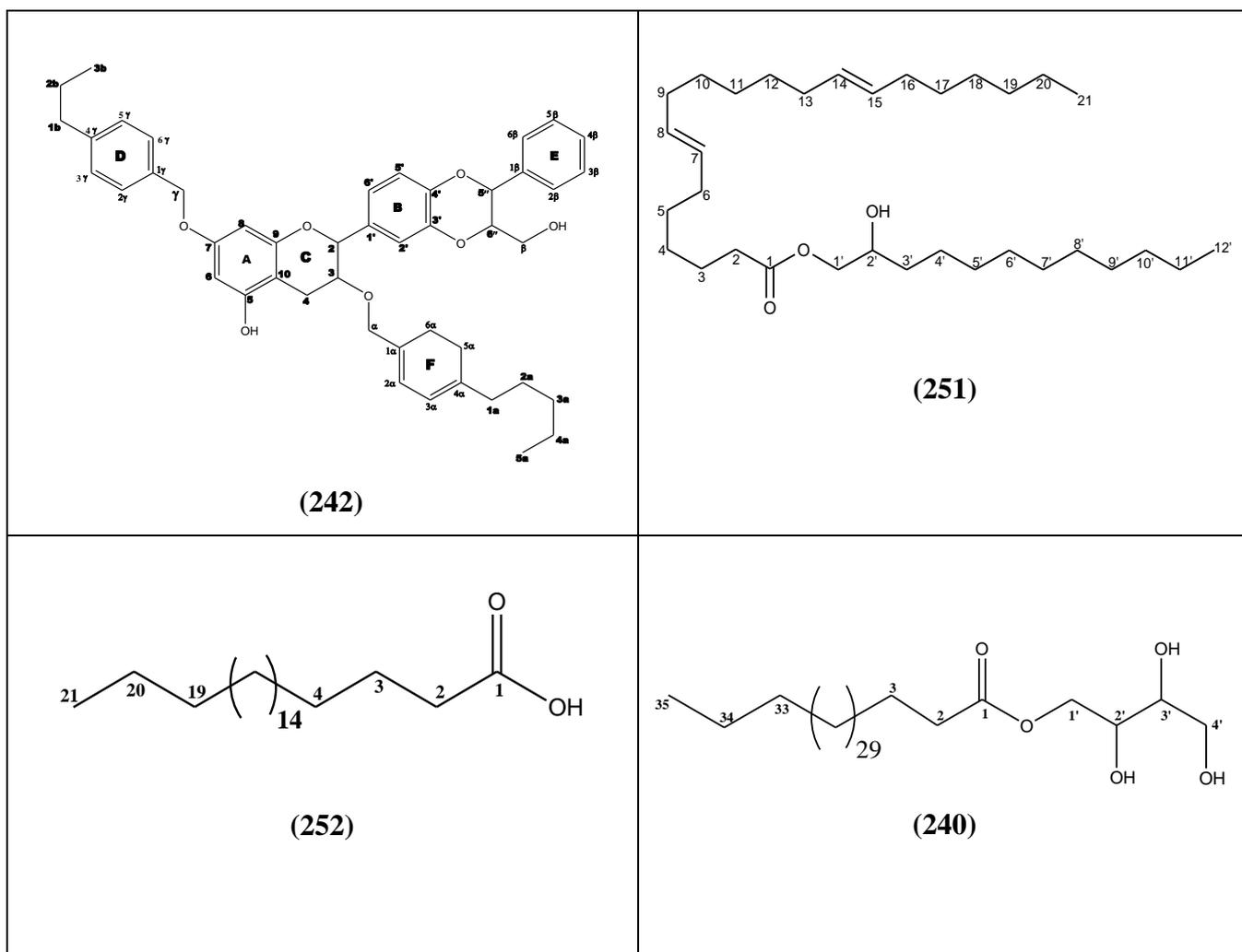
Figure 53: Effet de l'extrait de *N.griffoniana* (Ng) et newtonoate (MJ₃) sur le nombre de head dipping des souris sur le labyrinthe en croix surélevé.

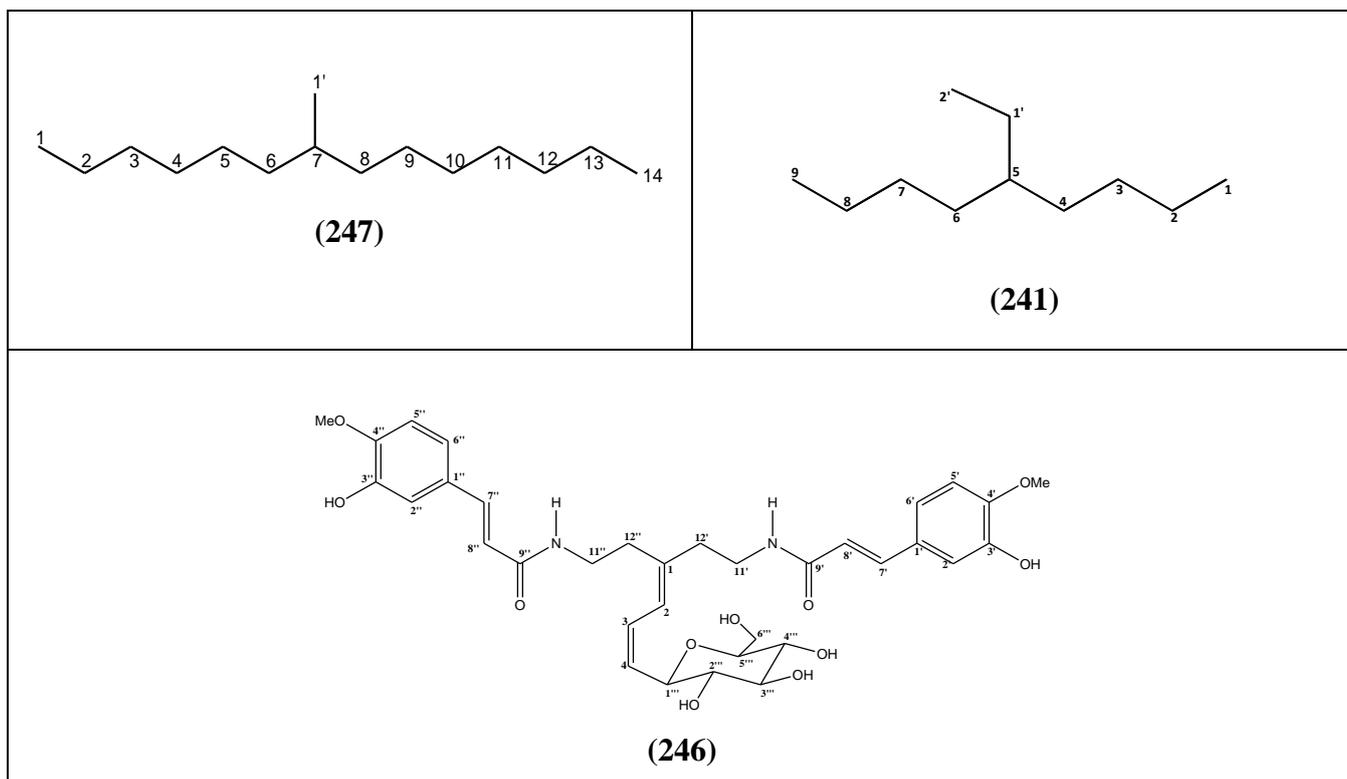
Les résultats obtenus dans la présente étude montrent une augmentation du pourcentage d'entrée et du temps passé dans les bras ouverts pour les souris traitées avec l'extrait méthanolique de *N. griffoniana* et un de ses métabolites secondaires majeurs le *Newtonoate* (MJ₃) comparé aux valeurs du groupe contrôle positif. La réduction du pourcentage d'entrées et le temps passé dans les bras fermés sont aussi observés. L'augmentation de l'activité dans les bras ouverts reflète directement la réduction de l'anxiété (Lister, 1990 ; Oviedo et al, 2006) et la réduction de l'activité dans les bras fermés montre une diminution de stress (Lister, 1987). Ces effets suggèrent que l'extrait *N. griffoniana* pourrait contenir en son sein des composés ayant des propriétés anxiolytiques comme suggéré dans la littérature (Ngo Bum et Taiwe, 2009 ; Ngo Bum et pelaken, 2009 ; Grundmann et al, 2007).

De plus dans ces expériences, l'extrait de *N. griffoniana* ainsi que le *Newtonoate* (MJ₃) montrent des effets anxiolytiques très prononcés à des faibles doses. Cette observation est en accord avec le fait que la plupart des agents anxiolytiques ont une activité biphasique: anxiolytique à faible dose et anxiogénique à forte dose. La réduction du nombre de *rearing* indique une diminution de l'activité locomotrice verticale des animaux et pourrait expliquer les propriétés sédatives de la plante (Rodger et al, 1997). Ce résultat selon la littérature (Ngo Bum et Taiwe, 2009) montre que les propriétés sédatives de la plante réduisent spontanément l'activité locomotrice verticale des souris.

CONCLUSION ET PERSPECTIVES

Dans la première partie de ce travail, la recherche des anxiolytiques à partir des extraits méthanoliques de *N. griffoniana*, *A. macrophylla* et *D. adscendens* à l'aide de la chromatographie liquide (Hexane, CH₂Cl₂, EtOAc, MeOH), en utilisant la colonne de silice, le Flash, LH-20 sephadex et la CCM préparatoire, nous a permis d'isoler vingt composés. Dix-sept d'entre eux ont été caractérisés et appartiennent à huit classes de composés différentes (esters d'acide gras, stérols, acide gras, alcanes, isocoumarines, flavanolignane, alcaloïde et disaccharide ou hydrate de carbone). Les structures des composés isolés ont été élucidées sur la base des analyses spectroscopiques (1D, 2D-NMR et APCI-MS) et par comparaison avec les données de la littérature. Parmi ces composés, 5-ethylnonane (**241**), pentatriacontanoate de 2,3,4-trihydroxybutyle (**240**), 3-(1-méthoxy-4-pentylphényl)-7-(1-méthoxy-4-propylphényl)-5''-phényl-6''-(hydroxyméthyl)-5'',6''-dihydro[1,4]dioxino[2'',3'':3',4'] flavane (**242**), 7-méthyltétradécane (**247**), 4-glucoside-1,1-bis(*N,N'*-diferuloylputrescine)buta-1,3-diène (**246**), Acide heneicosanoïque (**252**) et heneicosane-7,14-diénoate de 2-hydroxydodécyle (**251**) ont été décrit pour la première fois dans ces plantes.





Il ressort également de cette étude que les légumineuses sont une potentielle source d'hydrocarbures [5-ethylnonane (**241**), 7- méthyltetradecane (**247**)]; la tri-*O*-methylnorbergenine (**245**) et la bergenine (**244**) isolées de *N. griffoniana* et *A. macrophylla* pour la première fois sont en grande quantité dans chacune de ces espèces.

Dans la seconde partie de ce travail qui a consisté à évaluer l'activité anxiolytique de l'extrait méthanolique *N. griffoniana* et du Newtonoate (**240**) par le test du labyrinthe en croix surélevé (EPM). Il a été établi que le composé responsable de l'activité anxiolytique de l'extrait méthanolique de *N. griffoniana* serait le Newtonoate (**240**). Donc la propriété anxiolytique pourrait résulter de l'action du composé Newtonoate (**240**) dans les sites benzodiazépines des récepteurs complexes de l'acide gamma aminobutyrique (GABA), par l'antagonisme du *N*-méthyl-D-aspartate (NMDA) dans les récepteurs NMDA (Olivier et al, 2003) et/ou par l'antagonisme des 5-hydroxytryptamine (5-HT) récepteurs de type 2 ou 3 (Graeff, 2004). Il faut noter que l'activité de recherche sur les souris dans les bras ouverts a été confirmée par la réduction du nombre de *head dipping* entre l'extrait méthanolique de *N.griffoniana* et le Newtonoate (**240**). De plus l'extrait méthanolique de *N. griffoniana* et le Newtonoate (**240**) provoquent une réduction significative du nombre de *rearing* dans les bras fermés.

Ces effets constatés suggèrent que l'extrait méthanolique de *N. griffoniana* et le Newtonoate (**240**) auraient des propriétés anxiolytiques, et que le Newtonoate agirait sur le site diazépine des récepteurs GABA. Le Newtonoate peut être susceptible de diminuer les risques liés à une prise prolongée des médicaments conventionnels (benzodiazépines et antihistaminiques).

A la suite de ce travail nous pourrons :

- Elucider les structures des composés AK₆, JD₁ et JD₆ ;
- Evaluer l'activité anxiolytique de *A. macrophylla*, *D. adscendens* et éventuellement celles du (des) composé (s) responsable(s) de celle-ci ;
- Etudier d'autres espèces du genre *Newtonia* afin d'isoler des composés potentiellement anxiolytiques et d'établir un profil chimiotaxonomique de celui-ci.

CHAPITRE III
PARTIE EXPERIMENTALE

III – 1 – Etude phytochimique

III – 1 – 1 – Généralités

Les spectres de masses ESI-TOF ont été enregistrés sur un spectromètre de masse tandem à analyseurs quadripolaires TSQ 700[®] (Finnigan MAT) dont les paramètres expérimentaux sont les suivants : une différence de potentiel de 70 eV est appliquée sur le filament lors des mesures. La température de la sonde augmente linéairement de 50 à 300°C en 1 minute, alors les températures de la source et des quadripôles sont maintenues respectivement à 150 et 70°C. L'electrospray (ESI) est un mode d'ionisation douce qui permet de détecter l'ion pseudo-moléculaire et donc de connaître la masse moléculaire du composé. L'analyse par spectrométrie de masse haute résolution (HRESI-MS) permet grâce à un couplage entre l'ESI et un analyseur TOF (Time of Flight), de déterminer la formule brute du composé.

Les points de fusion non corrigés ont été mesurés sur un appareil à plaque chauffante Mettler FP 80/82. Une pointe de spatule du composé est déposée sur une lame de verre, elle-même déposée sur une plaque progressivement chauffée. Le changement d'état est observé à l'aide d'un microscope Wild, et la température correspondante est relevée, sans correction.

Les spectres RMN ¹H (400, 500 et 600 Mhz) et RMN ¹³C (100, 125 et 150 Mhz) ont été mesurés respectivement avec un spectromètre Bruker; les spectres DEPT ainsi que les expériences bidimensionnelles COSY, HSQC, HMBC et NOESY, nécessaires pour mettre en évidence des corrélations homo ou hétéronucléaires entre les atomes de carbones et d'hydrogène au sein des molécules analysées, ont été enregistrées à l'aide des séquences impulsionnelles fournies par Bruker. Les échantillons sont été solubilisés dans les solvants deutérés (DMSO-*d*₆, CD₂Cl₂, CDCl₃, MeOD, D₂O).

Les déplacements chimiques δ ont été exprimés en ppm par rapport au signal de référence du standard interne.

Les chromatographies sur couche mince (CCM) ont été réalisées sur gel de silice Kieselgel 60 F₂₅₄ sur plaque d'aluminium. Les chromatographies préparatives sur couche mince ont été réalisées sur gel de silice Kieselgel 60 PF₂₅₄ sur plaques en verre. Le gel de silice 730-230 de marque Merck et le gel de séphadex LH-20 ont été utilisés pour les chromatographies sur colonne. Le mélange de solvants Hexane/CH₂Cl₂/ MeOH ; CH₂Cl₂/ MeOH/ H₂O ; Hexane/ CH₂Cl₂ ; CH₂Cl₂/ MeOH ; Hexane/ AE ; CHCl₃/ MeOH/ H₂O et Hexane/ CHCl₃ ont servi pour les CC sauf la CC sur gel de sephadex LH-20 ou le méthanol pur a été utilisés.

III – 1 – 2 – Matériel végétal

Les écorces du tronc de *N. griffoniana* (Mimosoïdées – Légumineuses), *A. macrophylla* (Césalpinioïdées – Légumineuses) et les feuilles de *D. adscendens* (Papilionoïdées – Légumineuses) ont été récoltées dans le village Sokellé sur la route POUMA – MESSONDO région du centre le 08 janvier 2008. Elles ont été identifiées par M. Nana Victor, botaniste à l'herbier National du Cameroun. Les échantillons respectifs (N°37402/HNC), (N°2882/SFRK) et (10258/ SRF/CAM) y ont été déposés.

III – 1 – 3 – Extraction et isolement des composés de *N.griffoniana*

Les écorces de *N. griffoniana* ont été découpées et séchées à l'air libre pendant deux semaines. Elles ont été ensuite broyées en poudre fine. La poudre obtenue (500g) a été extraite par du méthanol à froid pendant 72 heures. L'extrait méthanolique, évaporée à sec sous pression réduite a donné un résidu marron (65.7 g). Le résidu marron a été soumis à une chromatographie flash successive sur silice avec Hexane/CH₂Cl₂/MeOH (1/1/0 ; 0/30 /1 ; 0/10/1 ; 0/1/1; 0/0/1) nous avons obtenus cinq fractions (**NG₁ – NG₅**).

La fraction **NG₁** a été passée à la chromatographie sur colonne de gel de silice avec Hexane/ CH₂Cl₂ (5:1) Nous avons obtenus 12.3 mg de 5-ethylnonane (**MJ₁**).

La fraction **NG₂** a été passée à la chromatographie sur colonne de gel de silice avec CH₂Cl₂/MeOH (50 ; 40 ; 30 ; 10/1) Nous avons obtenus 71.6 mg de tetracosanoate de 2,3-dihydroxypropyle (**MJ₂**).

La fraction **NG₃** a été passée à la chromatographie sur colonne de gel de silice avec CH₂Cl₂/MeOH (30 ; 20 ; 10 ; 5 ; 1/1) Nous avons obtenus 268.0 mg de pentatriacontanoate de 2,3,4-trihydroxybutyle (**MJ₃**).

La fraction **NG₄** a été passée à la chromatographie sur colonne de gel de silice avec CH₂Cl₂/MeOH (10 ; 5 ; 1/1) Nous avons obtenus 523 mg de tri-*O*-méthylnorbergenine (**MJ₄**) et 3.3 g de bergénine (**MJ₅**).

La fraction **NG₅** a été passée à la chromatographie sur colonne de gel de silice avec CH₂Cl₂/MeOH/H₂O (70/40/1) Nous avons obtenus 7.2 mg de 3-(1-methoxy-4-pentylphenyl)-5''-phenyl-6''-(hydroxyméthyl)- 5'',6''-dihydro[1,4]dioxino[2'',3'':3',4']flavane (**MJ₆**).

III – 1 – 4 – Extraction et isolement des composés d'*A. macrophylla*

Les écorces d'*A. macrophylla* ont été séchées, découpées et broyées en poudre fine. La poudre obtenue (500g) a été extraite par du méthanol à froid pendant 72 heures. L'extrait méthanolique, évaporé à sec sous pression réduite a donné un résidu marron (52.8 g) Le résidu marron a été soumis à une chromatographie flash successive sur silice avec Hexane/CH₂Cl₂/MeOH (1/1/0 ; 0/30 /1 ; 0/10/1 ; 0/1/1; 0/0/1) nous avons obtenus cinq fractions (**AM₁ – AM₅**).

La fraction **AM₁** a été passée à la chromatographie sur colonne de gel de silice avec Hexane/ CH₂Cl₂ (10 ; 5 ; 1 ; 0 : 1). Nous avons obtenus 15.0 mg de 7-méthyltétradécane (**AK₁**).

La fraction **AM₂** a été passée à la chromatographie sur colonne de gel de silice avec CH₂Cl₂/MeOH (50 ; 40 ; 30 ; 10/1) Nous avons obtenus 10.0 mg d'heptacosanoate de 2,3-dihydroxypropyle (**AK₂**).

La fraction **AM₃** a été passée à la chromatographie sur colonne de gel de silice avec CH₂Cl₂/MeOH (30 ; 20 ; 10 ; 5 ; 1/1) Nous avons obtenus 100.0 mg de glucoside de β-sitostérol (**AK₃**) et 1.5 g de tri-*O*-methylnorbergenine (**AK₄**).

La fraction **AM₄** a été passée à la chromatographie sur colonne de gel de silice avec CH₂Cl₂/MeOH (10 ; 5 ; 1 ; 0 /1) Nous avons obtenus 200 mg de bergénine (**AK₅**).

La fraction **AM₅** a été passée à la chromatographie sur colonne de gel de silice avec CHCl₃/MeOH/H₂O (70/40/1) Nous avons obtenu 3.3 mg de 4-glucoside-1,1-bis (N, N'-diferuloylputrescine)buta-1,3-diène (**AK₇**), 2.5 mg de α-D-glucopyranosyl (1→2')-β-D-sorbopyranoside (**AK₈**) et 8.0 mg de (**AK₆**).

III – 1 – 5 – Extraction et isolement des composés de *D. adscendens*

Les feuilles de *D. adscendens* ont été séchées, découpées et broyées en poudre fine. La poudre obtenue (500g) a été extraite par du méthanol à froid pendant 72 heures. L'extrait méthanolique, évaporée à sec sous pression réduite a donné un résidu verdâtre (62.5 g). Le résidu verdâtre a été soumis à une chromatographie flash successive sur silice avec Hexane/CH₂Cl₂/AE/MeOH (1/1/0/0 ; 0/0 /1/0 ; 0/1/0/1 ; 0/0/0/1) nous avons obtenus quatre fractions (**DA₁ – DA₄**).

La fraction **DA₁** a été passée à la chromatographie sur colonne de gel de silice successivement avec Hexane/ AE (40 ; 30 ;20 ;10 ;0 / 1) et Hexane/ CHCl₃. Nous avons obtenus, 12.6 mg de β-sitostérol (**JD₂**), 12.0 mg de acide heneicosanoïque (**JD₃**), 86.2 mg de heneicosane-7,14-diénoate de 2-hydroxydodecyle (**JD₄**) et 13.5 mg de stigmastérol (**JD₅**).

La fraction **DA₄** a été passée à la chromatographie sur colonne de gel de silice avec CHCl₃/MeOH/H₂O (70/40/1). Nous avons obtenus **22.4 mg** de (**JD₆**).

III – 2 – METHODE BIOLOGIQUE

L'évaluation de l'activité anxiolytique a été réalisée par le test du labyrinthe en croix surélevé (EPM) suivant le protocole expérimental de la figure 51. Pendant cette période test, plusieurs paramètres comportementaux ont été évalués pour chaque souris, à savoir:

- le nombre d'entrées et le temps passé dans les différents bras du labyrinthe;
- le nombre de « *rearing* » (nombre de fois que l'animal se tient debout sur ses pattes postérieures et prend appuie sur les bords du dispositif expérimental) ;
- le nombre de «*head dipping*» (nombre de fois que l'animal se place dans les bras ouverts du labyrinthe et regarde en dessous du dispositif expérimental) (Casarrubea et al, 2012).

Les pourcentages du nombre d'entrées et de temps passé dans les bras ouverts (ou clos) du labyrinthe ont été calculés à partir des formules suivantes:

% nombre d'entrées = $\frac{\text{Nombre d'entrées dans les bras (ouverts/clos)}}{\text{Nombre d'entrées dans tous les bras}} \times 100$
 (Bras ouverts/clos)

% temps passé = $\frac{\text{Temps passé dans les bras (ouverts/clos)}}{\text{Temps passé dans tous les bras}} \times 100$
 (Bras ouverts/clos).

La signification de la différence entre les groupes contrôles et les groupes traités sont déterminés en utilisant la méthode ANOVA suivit du test de dunnett's (GraphPad InStat, version 3. 10). Les valeurs $p < 0.05$ sont considérés comme significative.

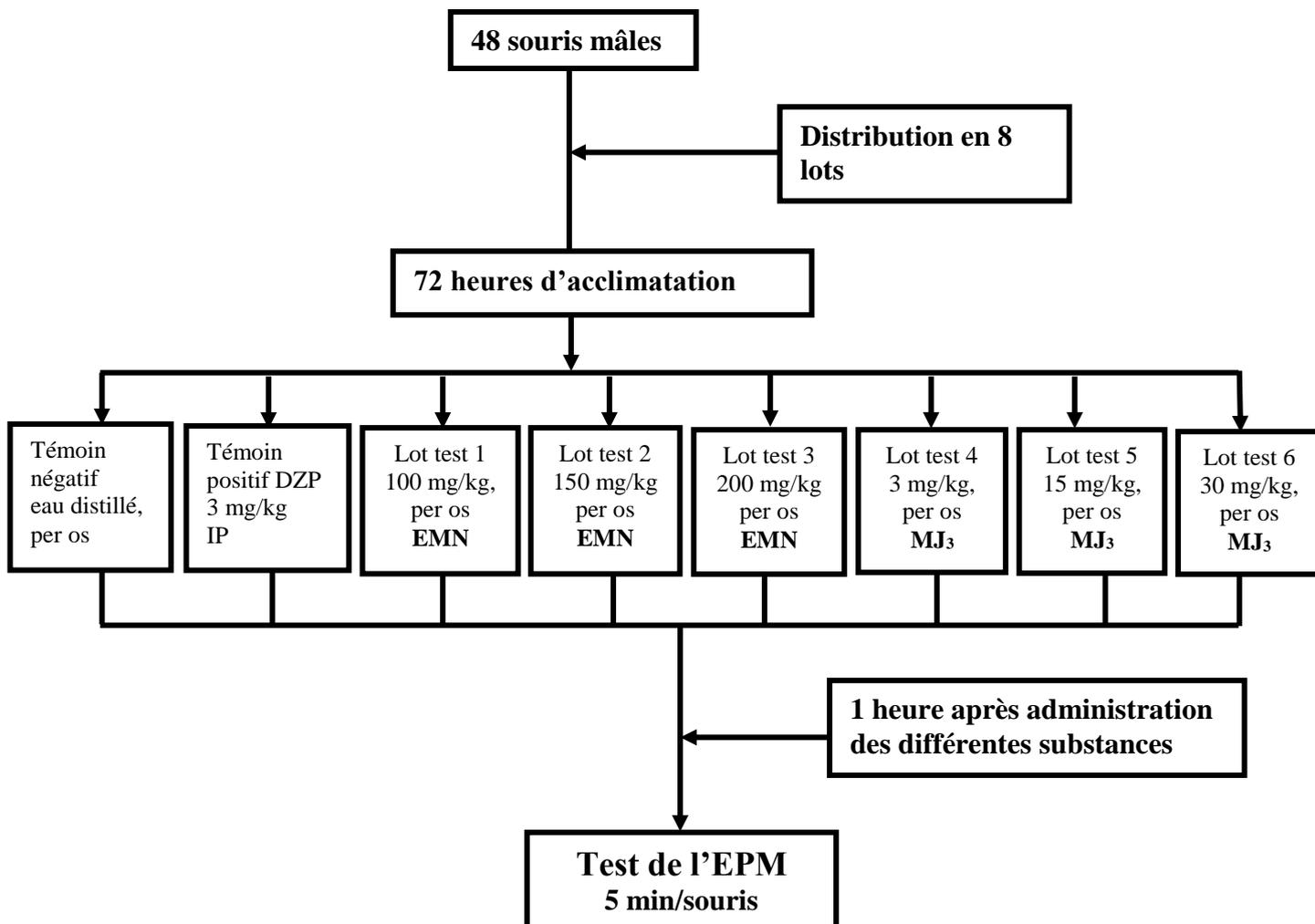
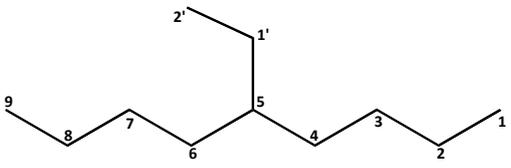
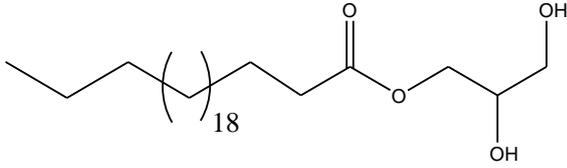
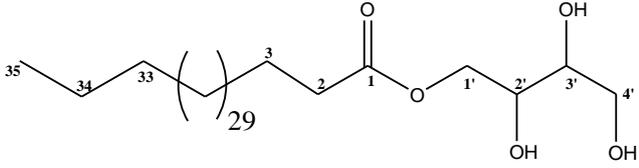
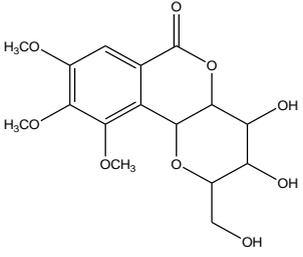
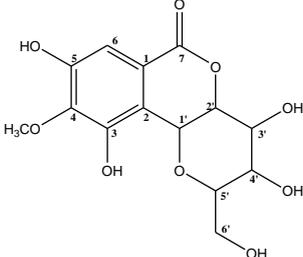
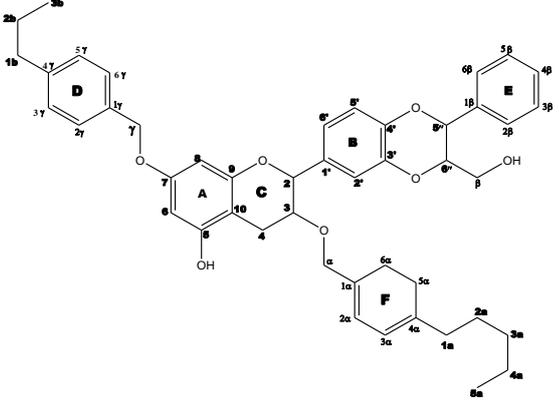
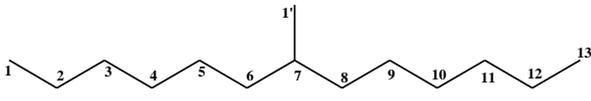
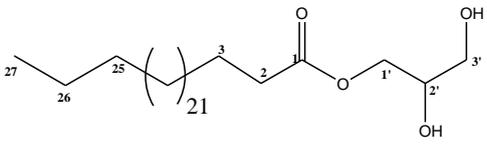
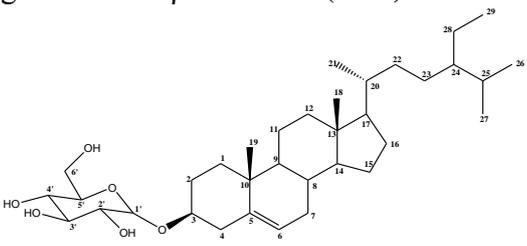
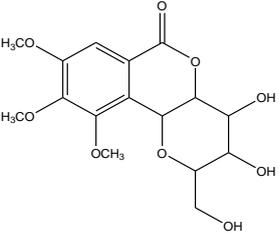
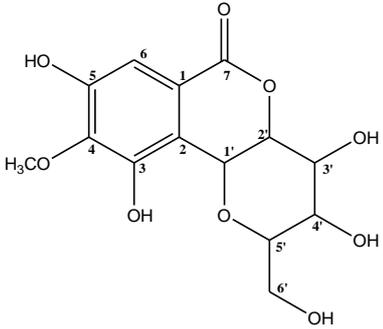
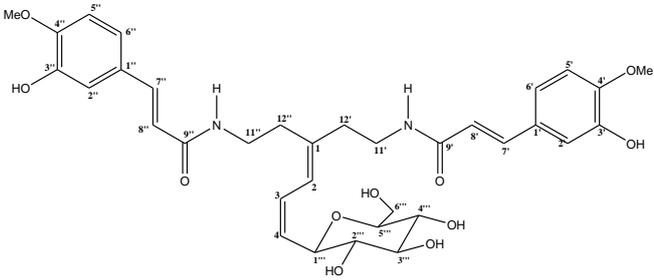
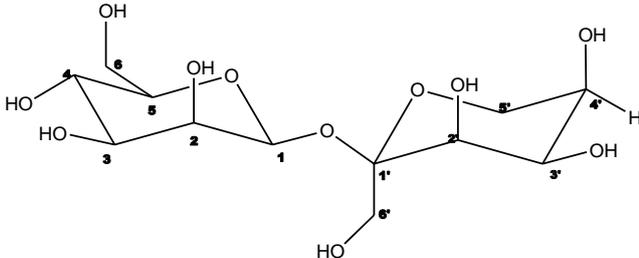
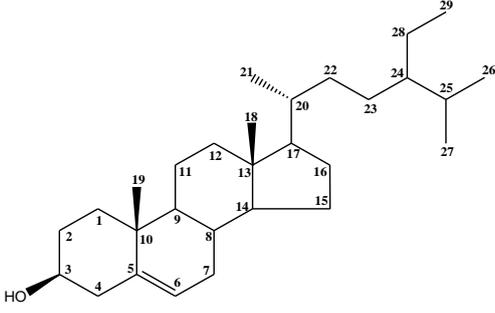


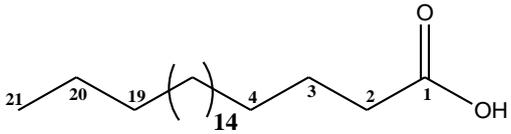
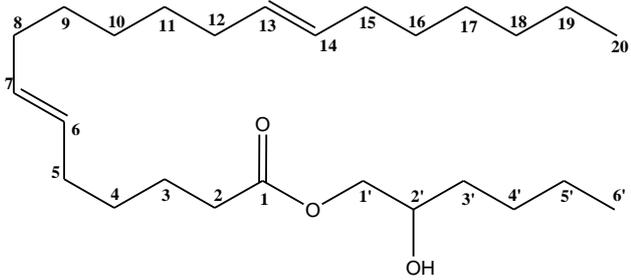
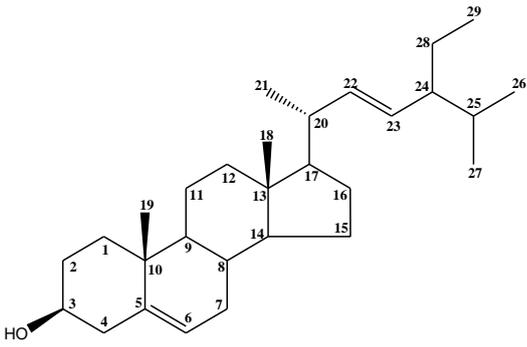
Figure 65 : Protocole expérimental du test du labyrinthe en croix surélevés (EPM).

III – 3 – CARACTERISTIQUES PHYSICO-CHIMIQUE DES COMPOSES ISOLES

Composés isolés	Caractéristiques spectroscopiques
<p>5-ethylnonane (MJ₁)</p> 	<p>Formule brute : C₁₁H₂₄</p> <p>ESI mode positif : m/z 179.0887 [M + Na]⁺</p> <p>R MN ¹H, CDCl₃: 600 MHz (tableau 7)</p> <p>RMN ¹³C, CDCl₃: 150 MHz (tableau 7)</p>
<p>Tetracosanoate de 2,3- dihydroxypropyle (MJ₂)</p> 	<p>Formule brute : C₂₇H₅₄O₄</p> <p>ESI mode positif : m/z 465.3919 [M +Na]⁺</p> <p>[R MN ¹H, CD₂Cl₂ : 500 MHz (tableau 9)</p> <p>RMN ¹³C, CD₂Cl₂ : MHz (tableau 9)</p>
<p>Pentatriacontanoate de 2,3,4-trihydroxybutyle (MJ₃)</p> 	<p>Formule brute : C₃₉H₇₈O₅</p> <p>ESI mode positif : m/z 649.0972 [M+Na]</p> <p>R MN ¹H, CD₂Cl₂ : 500 MHz (tableau 6)</p> <p>RMN ¹³C, CD₂Cl₂ : 125 MHz (tableau 6)</p>
<p>tri-<i>O</i>-methylnorbergenine (MJ₄)</p> 	<p>Formule brute : C₁₆H₂₀O₉</p> <p>ESI mode positif: m/z 379.2217 [M+Na]</p> <p>R MN H , MeOD: 600 MHz (tableau 11)</p> <p>RMN ¹³C , MeOD : 150 MHz (tableau 11)</p>
<p>Bergénine (MJ₅)</p> 	<p>Formule brute : C₁₄H₁₆O₉</p> <p>ESI mode positif: m/z 351.0895 [M+Na]</p> <p>R MN ¹H , MeOD: 600 MHz (tableau 10)</p> <p>RMN ¹³C , MeOD : 150 MHz (tableau 10)</p>

<p>3-(1-methoxy-4-pentylphenyl)-7-(1-methoxy-4-propylphenyl)-5''-phenyl-6''-(hydroxymethyl)-5'',6''-dihydro[1,4]dioxino[2'',3'':3',4'] flavane (MJ6)</p> 	<p>Formule brute : C₄₆H₅₀O₇ ESI mode positif: 737.1602 [M – H]⁻ R MN ¹H , CDCl₃: 600 MHz (tableau 8.1 et 8.2) RMN ¹³C ,CDCl₃: 150 MHz (tableau 8.1 et 8.2)</p>
<p>7-methyltétradécane (AK₁)</p> 	<p>Formule brute : C₁₅H₃₂ ESI mode positif : 235.1666 [M+Na]⁺ R MN ¹H , MeOD: 600 MHz (tableau 13) RMN ¹³C , MeOD : 150 MHz (tableau 13)</p>
<p>heptacosanoate de 2,3-dihydroxypropyle (AK₂)</p> 	<p>Formule brute : C₃₀H₆₀O₄ ESI mode positif : 507.5179 [M+Na]⁺ R MN ¹H, CD₂Cl₂: 500 MHz (tableau 15) RMN ¹³C, CD₂Cl₂: 125 MHz (tableau 15)</p>
<p>glucoside de β-sitostérol (AK₃)</p> 	<p>Formule brute : C₃₅H₆₀O₆ ESI mode positif: m/z 599,8 [M+Na]⁺ R MN ¹H, CDCl₃: 500 MHz (tableau 18) RMN ¹³C, CDCl₃: 125 MHz (tableau 18)</p>
<p>tri-<i>O</i>-methylnorbergenine (AK₄)</p> 	<p>Formule brute : C₁₆H₂₀O₉ ESI mode positif: m/z 379.0786 [M+Na]⁺ R MN ¹H, MeOD : 500 MHz (tableau 17) RMN ¹³C, MeOD: 125 MHz (tableau 17)</p>

<p>Bergénine (AK₅)</p> 	<p>Formule brute : C₁₄H₁₆O₉</p> <p>ESI mode positif : m/z 327.0973 [M+Na]</p> <p>R MN ¹H, MeOD: 600 MHz (tableau 16)</p> <p>RMN ¹³C, MeOD : 150 MHz (tableau 16)</p>
<p>4-glucoside-1,1-bis(N,N'-diferuloylputrescine) buta-1,3-diène (AK₇)</p> 	<p>Formule brute : C₃₄H₄₂O₁₁N₂</p> <p>ESI mode positif : 677.3727 [M+Na]</p> <p>RMN ¹H, DMSO: 600 MHz (tableau 12)</p> <p>RMN ¹³C, DMSO: 150 MHz (tableau 12)</p>
<p>α-D-glucopyranosyl (1→2')-β-D-sorbopyranoside (AK₈)</p> 	<p>Formule brute : C₁₂H₂₂O₁₁</p> <p>ESI mode positif : 365.1932 [M+Na]</p> <p>R MN ¹H, D₂O: 600 MHz (tableau 14)</p> <p>RMN ¹³C, D₂O : 150 MHz (tableau 14)</p>
<p>β-sitostérol (JD₂)</p> 	<p>Formule brute : C₂₉H₅₀O</p> <p>ESI mode positif : m/z 437.2367 [M+Na]⁺</p> <p>RMN ¹H, MeOD: 400 MHz (tableau 21)</p> <p>RMN ¹³C, MeOD: 100 MHz (tableau 21)</p>

<p>acide heneicosanoïque (JD₃)</p> 	<p>Formule brute : C₂₁H₄₂O₂</p> <p>ESI mode positif : m/z 349.1837 [M+Na]⁺</p> <p>R MN ¹H, CDCl₃ : 600 MHz (tableau 20)</p> <p>RMN ¹³C, CDCl₃ : 150 MHz (tableau 20)</p>
<p>heneicosane-7,14-dièneote de 2-hydroxydodecyle (JD₄)</p> 	<p>Formule brute : C₃₃H₆₂O₃</p> <p>ESI mode positif: m/z 529.2125 [M+Na]⁺</p> <p>R MN ¹H, MeOD : 400 MHz (tableau 19)</p> <p>RMN ¹³C, MeOD: 100 MHz (tableau 19)</p>
<p>stigmastérol (JD₅)</p> 	<p>Formule brute : C₂₉H₄₈O</p> <p>ESI mode positif : m/z 435.3604 [M+Na]⁺</p> <p>R MN ¹H, CDCl₃ : 600 MHz (tableau 21)</p> <p>RMN ¹³C, CDCl₃ : 150 MHz (tableau 21)</p>

REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

Abreu P., Relva A. (2002). Carbohydrates from *Detarium microcarpum* bark extract. *Carbohydrate Research*. **337**, 1663–1666.

Addy M.E. (1992) .Some secondary plant metabolites in *Desmodium adscendens* and their effects on arachidonic acid metabolism Prostaglandins. *Leukotrienes and Essential Fatty Acids* **47 (1)**, 85-91.

Addy M.E., Dzanu W.K. (1986) - Dose-réponse effect of *Desmodium adscendens* aqueous extract on histamine response, content and anaphylactic reactions in thé guinea pig. - *Journal of Ethnopharmacology* **18**, 13-20.

Addy M.E., Burka J.F. (1990). Effect of *Desmodium adscendens* fraction 3 on contractions of respiratory smooth muscle. - *Journal of Ethnopharmacology* **29 (3)**, 325-335.

Adjanohoun E.J., Adjakidjé V., Ahyi M.R.A., Aké Assi L., Akoegnignou A.,d’Almeida J., Apovo F., Boukef K., Chadare M., Cussel G., Dramane K., Eyme J.,Gassita J.N.,Gbaguidi N., Goudote E., Guinko S., Hounnon P., Lo I., Keita A., Kiniffo H.V., Kone Bamba D.,Musampa Nseyya A., Sandou M., Sogodandji T., De Souza S., Tchabi A., Zinsou Dossa C.,and Zohoun T. (1989). Contribution aux études ethnobotaniques et floristiques en République populaire du Bénin. Agence de Coopération Culturelle et Technique, Paris, France. p. 895.

Adjanohoun. E.J., Ahyi M.R.A., Aké Assi L., Dramane K.,Elewude J.A., Fadoju S.U., Gbile Z.O., Goudote E., Johnson C.L.A., Keita A., Morakinyo O., Ojewole J.A.O., Olatunji A.O., & Sofowora E.A. (1991).Traditional medicine and pharmacopoeia – contribution to ethnobotanical and floristic studies in western Nigeria. OUA/ST & RC, Lagos, Nigeria. p. 420.

Akhlaghi M., Shabani G., Rafieian-Kopaei M. (2011). *Citrus aurantium* blossom and preoperative anxiety. *Revista brasileira de anesthesiologia* **61(6)**, 702–12.

Akhondzadeh S., Naghavi H.R., Vazirian M. (2001). Passion flower in the treatment of generalized anxiety: a pilot double-blind randomized controlled trial with oxazepam. *Journal of Clinical Pharmacy and Therapeutics* **26(5)**, 363–7.

Allen O.N., Allen E.K. (1981). The Leguminosae: A Source Book of Characteristics, Uses, and Nodulation, the University of Wisconsin USA. p 718.

American Psychiatric Association (2005). Manuel diagnostique et statistique des troubles mentaux. 4^e edition; Version internationale, Washington DC, Masson, Paris, Institutes of Health **33**, 1066.

Andrade C., Aswath A., Chaturvedi S.K. (2000). A double-blind, placebo-controlled evaluation of the anxiolytic efficacy of anethanolic extract of *Withania somnifera*. *Indian Journal of Psychiatry* **42(3)**, 295–301.

Andreatini R., Leite J.R. (1994). Effect of valepotriates on the behavior of rats in the elevated plus-maze during diazepam withdrawal. *European Journal of Pharmacology* **260(2–3)**, 233–5.

Andreatini R., Sartori V.A., Seabra MLV. (2002). Effect of valepotriates (valerian extract) in generalized anxiety disorder: a randomized placebo-controlled pilot study. *Phytotherapy Research* **16(7)**, 650–4.

Andrews N., File S.E. (1993). Handling history rats modifies behavioural effects of drug in the elevated plus maze test of anxiety. *European Journal of Pharmacology* **235**, 109–12.

Angiosperm Phylogeny Group. (2003). An update of the Angiosperm Phylogeny Group classification for the orders and families of flowering plants: APG II. *Botanical Journal of the Linnean Society* **141**, 399–436.

Arnone A., Camarda L., Merlini L., Nasini G and Taylor D. A. H. (1977), Colouring matters of the West Africa red woods *Pterocarpus osun* and *P. santalinus*. *Journal of the Chemical Society* **19**, 2116–2118.

Askia H. (1984). Les BZD et les risques de dépendance à Dakar, Thèse de pharmacie, Dakar.

Aslanargun P., Cuvas O., Dikmen B. (2012). *Passiflora incarnata* Linnaeus as an anxiolytic before spinal anesthesia. *Journal of Anesthesia* **26(1)**, 39–44.

Awad R., Arnason J.T., Trudeau V. (2003). Phytochemical and biological analysis of skullcap (*Scutellaria lateriflora* L.): a medicinal plant with anxiolytic properties. *Phytomedicine* **10(8)**, 640–9.

Awad R., Muhammad A., Durst T. (2009). Bioassay-guided fractionation of lemon balm (*Melissa officinalis* L.) using an in vitro measure of GABA transaminase activity. *Phytotherapy Research* **23(8)**, 1075–81.

Bahorun T., Neergheen V.S., Aruoma O.I. (2005). Phytochemical constituents of *cassia fistula*, *Phytochemistry* **34(3)**, 847 – 852.

Bekker M., Bekker R., Brandt E.V. (2006). Two flavonoid glycosides and a miscellaneous flavan from the bark of *Guibourtia coleosperma*. *Phytochemistry* **67**, 818–823.

Benke D., Barberis A., Kopp S. (2009). GABA (A) receptors as in vivo substrate for the anxiolytic action of valerianic acid, a major constituent of *valerian* root extracts. *Neuropharmacology* **56(1)**, 174–81. 149.

Bergamaschi M.M., Queiroz R.H.C., Chagas M.H.N. (2011). Cannabidiol reduces the anxiety induced by simulated public speaking in treatment-naïve social phobia patients. *Neuropsychopharmacology* **36(6)**, 1219–26.

Berhaut J. (1976). «Flore illustrée du Sénégal » Dakar tome **V**, 192-228.

Bézanger-beauquesne L., Pinkas M., Torck M. (1986), *Les plantes dans la thérapeutique moderne*. Editeur Maloine. p 469.

Bourin M., Dhonnchadha B.A., Colombel M.C., Dib M., Hascoet M. (2001). Cyamemazine as an anxiolytic drug on the elevated plus maze and light/dark paradigm in mice. *Behavioural Brain Research* **124**, 87–95.

Bradwejn J., Zhou Y., Koszycki D. (2000). A double-blind, placebo-controlled study on the effects of gotu kola (*Centella asiatica*) on acoustic startle response in healthy subjects. *Journal of clinical psychopharmacology* **20(6)**, 680–4.

Breteler F.J. (2010). Revision of the African genus *Anthonotha* (Leguminosae, Caesalpinioideae). *Plant Ecology and Evolution* **143(1)**, 70–99,

Bruneton J. (1993). *Pharmacognosie, phytochimie, plantes médicinales*. 2eme édition, Tech et Doc. p 915.

Burkill H.M., (1995). *The useful plants of West Tropical Africa*. 2nd Edition. Volume 3, Families J–L. Royal Botanic Gardens, Kew, Richmond, United Kingdom. p 857.

Butterweck V., Schmidt M. (2007). St. John's wort: role of active compounds for its mechanism of action and efficacy. *Wiener Medizinische Wochenschrift* **157(13–14)**, 356–61.

Byla B., Herz W. (1996). Triterpenes and 1-(W-hydroxyceranyl) glycerol from *pentaclethra eetveldeana* root bark. *Phytochemistry* **42**, 501.

Bystritsky A., Kerwin L., Feusner J.D. (2008). A pilot study of *Rhodiola rosea* (Rhodax) for generalized anxiety disorder (GAD). *Journal of Alternative and Complementary Medicine* **14(2)**, 175–80.

Calabrese C., Gregory W.L., Leo M. (2008). Effects of a standardized *Bacopa monnieri* extract on cognitive performance, anxiety, and depression in the elderly: a randomized, double blind, placebo-controlled trial. *Journal of Alternative and Complementary Medicine* **14(6)**, 707–13.

Callaway J.C., Airaksinen M.M., McKenna D.J.(1994). Platelet serotonin uptake sites increased in drinkers of ayahuasca. *Psychopharmacology* **116(3)**, 385–7.

Campos A.C., Guimaraes F.S. (2008). Involvement of 5HT1A receptors in the anxiolytic-like effects of cannabidiol injected into the dorsolateral periaqueductal gray of rats. *Psychopharmacology*. **199(2)**, 223–30.

Casarrubea M., Magnusson M.S., Roy V., Arabo A., Sorbera F., Santangelo A. (2012). Temporal patterns of rodent behavior in the elevated plus maze test. In: Spink AJ, Grieco F, Krips OE,Loijens LWS, Noldus LPJJ, Zimmerman PH, editors. *Proceedings of Measuring Behavior* (Utrecht, The Netherlands, August 28–31, 2012) **2012**, 348–352.

Cases J., Ibarra A., Feuillere N. (2011). Pilot trial of *Melissa officinalis* L. leaf extract in the treatment of volunteers suffering from mild-to-moderate anxiety disorders and sleep disturbances. *Mediterranean Journal of Nutrition and Metabolism* **4(3)**, 211–218.

CE-FAO. (1999) Données statistiques des produits forestiers non-ligneux du Cameroun, Collecte et analyse de données pour l'aménagement durable des forêts - joindre les efforts nationaux et internationaux. p 12–20.

Chalandre M.C. (1999). Cours de première année de Pharmacie, UFR de Pharmacie et Ingénierie de la Santé – ANGERS.

Charles P.D., Ambigapathy G., Geraldine P. (2011). *Bacopa monniera* leaf extract up-regulates tryptophan hydroxylase (TPH2) Plant-Based Anxiolytic Psychopharmacology 315 and serotonin transporter (SERT) expression: implications in memory formation. *Journal of Ethnopharmacology* **134(1)**, 55–61.

Chen Y., Han T., Rui Y. (2005). Effects of total triterpenes of *Centella asiatica* on the corticosterone levels in serum and contents of monoamine in depression rat brain. *Journal of Chinese Medicine Mater (Zhongyaocai)* **28(6)**, 492–6.

Costa-Lotufoa L.V., Cunhaa G.M.A., Fariasa P.A.M., Vianaa G.S.B., Cunhaa K.M.A., Pessoa C., Moraesa M.O., Silveirab E.R., Gramosab N.V., Raa V.S.N. (2002). The cytotoxic and embryotoxic effects of kaurenoic acid, a diterpene isolated from *Copaifera langsdorffii* oleo-resin. *Toxicon journal* **40**, 1231–12340.

Cronquist A. (1981). Integrated System of Classification of Flowering Plants. Columbia Univ. Press, NY. p 1262.

Debella A., Haslinger E., Schmida M.G., Bucard F., Michlb G., Abebec D., Kunert O. (2000). Triterpenoid saponins and sapogenin lactones from *Albizia Gummifera*. *Phytochemistry* **53**, 885 – 892.

El-toumy S.A., Mohamed M S., Hassan M.E., Mossa H A.T., (2011), Phenolic Metabolites from *Acacia nilotica* Flowers and Evaluation of its Free Radical Scavenging Activity. *Journal of American Science* **7(3)**, 287–295.

Esakkirajan M., Prabhu N.M., Arulvasu C., Beulaja M., Manikandan R., Thiagarajan R., Govindaraju K., Prabhu D., Dinesh D., Babu G., Dhanasekaran G. (2014), Anti-proliferative effect of a compound isolated from *Cassia auriculata* against human colon cancer cell line HCT 15, *Spectrochimica Acta.*, **120**, 462–466.

Fehske C.J., Leuner K., Muller W.E. (2009). Ginkgo biloba extract (EGb761) influences monoaminergic neurotransmission via inhibition of NE uptake, but not MAO activity after chronic treatment. *Pharmacology Research* **60(1)**, 68–73.

Focho D.A., Ndam W.T., Fonge B.A. (2009). Medicinal plants of Aguambu-bamumbu in the lebialem highlands, southwest province of Cameroon. *African Journal of Pharmacy and Pharmacology* **3**, 001-013.

Folefoc G.N., Bisseck J.P., Fomum Z.T., Bodo B. (2004). *Journal of Cameroon academy of sciences* **4(3)**.

Folefoc G. N., Bisseck J.P., Fomum Z.T., Bodo, B. (2005). Constituents from the roots of *Pentaclethra macrophylla*. *Biochemical Systematics and Ecology*. **33**, 1280–1282.

Fotie J., Nkengfack A.E., Peter M.G., Heydenreich M., Fomum Z.T. (2004). Chemical constituents of the ethyl acetate extracts of the stem bark and fruits of *dichrostachys cinerea* and the roots of *parkia bicolor*. *Bulletin of the Chemical Society of Ethiopia* **18**(1), 111 – 115.

Fuendjiep V., Wandji J., Tillequin F., Mulholland D.A., Budzikiewicz H., Fomum Z.T., Nyemba A.M., Koch M. (2002). Chalconoid and stilbenoid glycosides from *Guibourtia tessmanii*. *Phytochemistry* **60**, 803–806.

Gertsch J., Schoop R., Kuenzle U. (2004). Echinacea alkylamides modulate TNF-alpha gene expression via cannabinoid receptor CB2 and multiple signal transduction pathways. *FEBS Letters* **577**(3), 563–9.

Ghosal S., Srivastava R. S., Banerjee P. K., Dutta S. K. (1971). “Alkaloids of *Desmodium triflorum*”, *Phytochemistry* **10**, 3312–3313

Ghosal S., Srivastava S.R. (1973). β -phenethylamine, tetrahydroisoquinoline and indole alkaloids of *Desmodium tiliaefolium*”. *Phytochemistry* **12**, 193–197.

Gillon Y., Rasplus J.Y., Boughdad A., Mainguet A.M. (1992). *Utilisation des graines de légumineuses par un peuplement de Bruchidae et d'Anthribidae (Coleoptera) en zone de mosaïque forêt-savane (Lamto : Côte-d'Ivoire)*. *Journal of African Zoology* **106**, 421–443 .

Goulay E. (2009). Mémoire de fin de cursus HIPPOCRATUS. p 4.

Graeff F.G. (2004). Serotonin, the periaqueductal gray and panic. *Neuroscience & Biobehavioral* **28**, 239–59.

Griffiths R.R., Johnson M.W., Richards WA. (2011). Psilocybin occasioned mystical-type experiences: immediate and persisting dose-related effects. *Psychopharmacology* **218**(4), 649–65.

Grob C.S., McKenna D.J., Callaway JC. (1996). Human psychopharmacology of hoasca, a plant hallucinogen used in ritual context in Brazil. *Journal of nervous and mental disease* **184**(2), 86–94.

Grob C.S., Danforth A.L., Chopra G.S. (2011). Pilot study of psilocybin treatment for anxiety in patients with advanced-stage cancer. *Archives of General Psychiatry* **68**(1), 71–8.

Grundmann O., Nakajima J.I., Seo S., Butterweck V. (2007). Anti-anxiety effects of *Apocynum venetum* L. in the elevated plus maze test. *Journal of Ethnopharmacology* **110**, 406–11.

- Haidara B. (1985). Législation et réglementation pharmaceutiques des états de l'Ouest Africain. Thèse Doctorat d'état ès sciences pharmaceutique Montpellier, France.
- Halberstadt A.L., Geyer M.A. (2011). Multiple receptors contribute to the behavioral effects of indoleamine hallucinogens. *Neuropharmacology* **61(3)**, 364–81.
- Haller J., Hohmann J., Freund T.F. (2010). The effect of Echinacea preparations in three laboratory tests of anxiety: comparison with chlordiazepoxide. *Phytotherapy Research* **24(11)**, 1605–13.
- Haller J., Freund T.F., Pelczer K.G. (2013). The anxiolytic potential and psychotropic side effects of an echinacea preparation in laboratory animals and healthy volunteers. *Phytotherapy Research* **27(1)**, 54–61.
- Heard O. (1994). "Contribution à l'étude du *Desmodium adscendens* : chimie et pharmacologie." Thèse de pharmacie - Université de Tours - FRANCE - - T.A.P "Résultats du test hépato-protecteur" disponible sur demande.
- Herrera-Arellano A., Jimenez-Ferrer E., Zamilpa A. (2007). Efficacy and tolerability of a standardized herbal product from *Galphimia glauca* on generalized anxiety disorder: a randomized, double-blind clinical trial controlled with lorazepam. *Planta Medica* **73(8)**, 713–7.
- Herrera-Arellano A., Jimenez-Ferrer J.E., Zamilpa A. (2012). Therapeutic effectiveness of *Galphimia glauca* vs lorazepam in generalized anxiety disorder: a controlled 15-week clinical trial. *Planta Medica* **78(14)**, 1529–35.
- Herrera-Ruiz M., Gonzalez-Cortazar M., Jimenez-Ferrer E. (2006a). Anxiolytic effect of natural galphimines from *Galphimia glauca* and their chemical derivatives. *Journal of Natural Products* **69(1)**, 59–61.
- Herrera-Ruiz M., Jimenez-Ferrer J.E., De Lima TC. (2006b). Anxiolytic and antidepressant-like activity of a standardized extract from *Galphimia glauca*. *Phytomedicine* **13(1–2)**, 23–8.
- Herrera-Ruiz M., García-Beltrán Y, Mora S. (2006c). Antidepressant and anxiolytic effects of hydroalcoholic extract from *Salvia elegans*. *Journal of Ethnopharmacology* **107(1)**, 53–8.
- Heywood V.H., Brummitt R.K., Culham A., Seberg O. (2007) Flowering Plant Families of the World. Royal Botanic Gardens, Kew).

Hosseinzadeh H., Danaee A., Ziaee T. (2008). Anti-anxiety effect of aqueous and ethanolic extracts of *Salvia leriifolia* Benth. leaves in mice using elevated plus maze. *Journal of Medicinal Plants Research* **7(27)**, 25–36.

Hui K.M., Huen M.S.Y., Wang H.Y. (2002). Anxiolytic effect of wogonin, a benzodiazepine receptor ligand isolated from *Scutellaria baicalensis* Georgi. *Biochemical Pharmacology* **64(9)**, 1415–24.

Jana U., Sur T.K., Maity L.N. (2010). A clinical study on the management of generalized anxiety disorder with *Centella asiatica*. *NMCJ*. **12(1)**, 8–11.

Jimenez-Ferrer E., Herrera-Ruiz M., Ramirez-Garcia R. (2011). Interaction of the natural anxiolytic galphimine-B with serotonergic drugs on dorsal hippocampus in rats. *Journal of Ethnopharmacol.* **137(1)**, 724–9.

Kaewamatawong R., Kitajima M., Kogure N., Takayama H. (2008). Flavonols from *Bauhinia malabarica*. *Journal of Natural Medicine* **62**, 364–365.

Kanadji M. (2005). Etude de la prescription et de la consommation des anxiolytiques dans le district de bamako. Thèse Doctorat d'état en pharmacie. Bamako. Mali. p.25.

Kanokmedhakul S., Kanokmedhakul K., Nambuddee K., Kongsaree P. (2004). “New bioactive prenylflavonoids and dibenzocycloheptene derivative from roots of *Desmodium lanceolatum*”, *Journal of Natural Product* **67 (6)**, 968-972.

Kennedy D.O., Pace S., Haskell C. (2006). Effects of cholinesterase inhibiting sage (*Salvia officinalis*) on mood, anxiety and performance on a psychological stressor battery. *Neuropsychopharmacology*. **31(4)**, 845–52.

Kennedy D.O., Dodd F.L., Robertson B.C. (2011). Monoterpenoid extract of sage (*Salvia lavandulaefolia*) with cholinesterase inhibiting properties improves cognitive performance and mood in healthy adults. *Journal of Psychopharmacology* **25(8)**, 1088–100.

Koteswara R.Y., Bhaskar R., M.V, Venkata R.C., Gunasekar D. (2002). *Chemical and Pharmaceutical Bulletin*. **50(9)**, 1271—1272.

Krief S., Thoison O., Sévenet T., Wrangham R.W and Lavaud C. (2005). Triterpenoidal saponin anthranlylates from *albizia grandibracteata* leaves ingested by primates in Uganda. *Journal of Natural Products* **68**, 897–903.

Kuribara H., Weintraub S.T., Yoshihama T. (2003). An anxiolytic like effect of Ginkgo biloba extract and its constituent, ginkgolide-A, in mice. *Journal of Natural Products* **66(10)**, 1333–7.

Kuroda M., Iwabuchi K., Mimaki Y. (2012). Chemical constituents of the aerial parts of *Scutellaria lateriflora* and their alpha-glucosidase inhibitory activities. *Natural Product Communications* **7(4)**, 471.

Lagnika L., Weniger B., Attioua B., Jensen O., Anthaume C., Sanni A., Kaiser M., Lobstein A., Vonthron-Senecheau C. (2012). Trypanocidal activity of diarylheptanoids from *Schrankia leptocarpa* DC. *South African Journal of Botany* **83**, 92–97.

Lajide L., Escoubas P., Mizutani J. (1995). Termite antifeedant activity in *detarium microcarpum*. *Phytochemistry* **40(4)**, 1101–1104.

Lasisi A., Adesomoju A. (2012). New Monoacylglycerol and Antimicrobial Constituents from the Stem Barks of *Berlinia confusa*. *Journal of Herbs, Spices & Medicinal Plants*, **18**, 111–131.

Lasisi A., Idowu O. (2012). In vitro anthelmintic and cytotoxic activities of extracts from the stem barks of *Berlinia confusa* (C. Hoyle) and identification of its active constituents, *Journal of Saudi Chemical Society*.

Lebrun J.P., Stork L.A. (1992). *Énumération des plantes à fleurs d'Afrique tropicale, vol. 2. Chrysobalanaceae à Apiaceae*. Conservatoire et Jardin Botaniques de Genève, Genève, Switzerland.

Lectoure R. (1982). *Manuel de Botanique Forestière*, Centre Technique Forestier Tropical ; Marne ; 2 : 206.

Letouzey R. (1982). *Manuel de Botanique Forestière d'Afrique Tropicale*. Yaoundé: Ministère de L'Enseignement Supérieure et de la Recherche Scientifique.

Lewis G., Schrire B., Mackinder B., Lock M. (2005). *Legumes of the World*. Royal Botanic Gardens, Kew.

Li J., Wang Y.H., Smillie T.J. (2012). Identification of phenolic compounds from *Scutellaria lateriflora* by liquid chromatography with ultraviolet photodiode array and electrospray ionization tandem mass spectrometry. *Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis* **63**, 120–7.

Lister R.G. (1987). The use of a plus-maze to measure anxiety in mouse. *Psychopharmacology* **92**, 180–5.

Lister R.G. (1990). Ethologically based animal models of anxiety disorders. *Pharmacol Ther.* **46**, 321–40.

Liu A., Xu L., Zou Z., Yang S. (2009). Studies on chemical constituents from leaves of *Cassia alata*. *China Journal of Chinese materia medica* **34** (7), 861–3 .

Manfouo R.N.D., Ngounou F.N., Ngadjui B.T., Sondengam B.L. (2005). Erythrosvavine, a new diterpenic alkaloids from *erythrophleum suaveolens* (Guill.& Perr.) Brenan. *Bulletin of the chemical society of Ethiopia* **19**, 69–74.

Ma S.G, Hu Y.C., Yu S.S.,Zhang Y., Chen X.G., Liu J., Liu Y.X. (2008). Cytotoxic Triterpenoid Saponins Acylated with Monoterpenic Acid from *Pithecellobium lucidum*. *Journal of. Natural. Products* **71**, 41–46.

Matsushima Y., Shiota O., Kikura-Hanajiri R. (2009). Effects of psilocybe argentipes on marble-burying behavior in mice. *Bioscience, Biotechnology and Biochemistry.* **73**(8), 1866–8.

Mazzio E.A., Harris N., Soliman K.F.A. (1998). Food constituents attenuate monoamine oxidase activity and peroxide levels in C6 astrocyte cells. *Planta Medica* **64**(7), 603–6.

Mbita Messi H. J. C. (1999). Contribution à l'étude des plantes médicinales du Cameroun: le cas des plantes utilisées en médecine traditionnelle pour le traitement des maladies parasitaires. Thèse doctorat 3è cycle, Université de Yaoundé I.

Mbouangouere R.N., Tane P., Ngamga D., Djemgou P., Choudhary M. I., Ngadjui B.T. (2007). piptaderol from *piptadenia africana*. *African Journal of Traditional, Complimentary and Alternative Medicines* **4**(3), 294–298.

Mbouangouere R.N., Tane P., Choudhary M.I., Djemgou P.C., Ngadjui B.T., Ngamga D. (2008). piptadenol A-C and α -Glucosidase inhibitor from *Piptadenia africana*. *Research Journal of Phytochemistry* **2**, 27–34.

McKenna D.J. (2004). Clinical investigations of the therapeutic potential of ayahuasca: rationale and regulatory challenges. *Pharmacology Ther* **102**(2), 111–29.

Mendlowicz M.V., Stein M. (2000). Quality of life in individuals with Anxiety disorders. *American Journal of Psychiatry* **157**, 669–675.

Metche M. (1993). Polyphenolic phenomen. *INRA* **45**,177–186.

Miyasaka L.S., Atallah A.N., Soares B.G. (2006).Valerian for anxiety disorders. *Cochrane Database Syst Rev.* (4):CD004515.

Mkounga P., Tiabou T.A., Kouam J. (2010) Triterpenoid Derivatives from *Cylicodiscus gabunensis* *Chemical and Pharmaceutical Bulletin* **58(8)**, 1100–1102.

Monache G. D., Botta B., Vinciguerra V., De Mello J. F., Chiappeta A. De A. (1996). Antimicrobial isoflavanones from *Desmodium canum*”. *Phytochemistry*, **41 (2)**, 537–544.

Mopuru V.B., Reddy Muntha K., Reddy Duvvuru Gunasekara., Cristelle Caux., Bernard Bodo. (2003) A flavanone and a dihydrodibenzoxepin from *Bauhinia variegata* .*Phytochemistry* **64**, 879–882.

Moreno F.A., Delgado P.L. (1997). Hallucinogen-induced relief of obsessions and compulsions. *American Journal of Psychiatry* **154(7)**, 1037–8.

Moreno F.A., Wiegand C.B., Taitano E.K. (2006). Safety, tolerability, and efficacy of psilocybin in 9 patients with obsessive-compulsive disorder. *Journal of Clinical Psychiatry*. **67(11)**, 1735–40.

Morimoto S., Nonaka G., Nishioka I. (1986). Tannins and related compounds XXXVIII. Isolation and characterization of flavan-3-ol glucosides and procyanidin oligomers from *cassia* bark (*Cinnamomum cassia* Blume). *Chemical and Pharmaceutical Bulletin* **34**, 633–642.

Morstti P.L., Zarifian E. (1992). Pharmacologie des médicaments psychotropes-Encyclopedie-Médico-chirurgicale (Paris-France)-psychiatrie 37860A. p 6.

Movafegh A., Alizadeh R., Hajimohamadi F. (2008). Preoperative oral *Passiflora incarnata* reduces anxiety in ambulatory surgery patients: a double-blind, placebo-controlled study. *Anesthesia & Analgesia* **106(6)**, 1728–32.

Nathan P.J. (2001). Hypericum perforatum (St John’s Wort): a nonselective reuptake inhibitor? A review of the recent advances in its pharmacology. *Journal of Psychopharmacology* **15(1)**, 47–54.

Ngo Bum E., Souidi S., Ayissi E.R., Dong C., Lakoulo N.H., Maidawa F. (2011). Anxiolytic activity évaluation of four médicinal plants from Cameroun. *African Journal of Traditional, Complementary and Alternative medicines* **8**, 130–9.

Ngo Bum E., Pelanken M.M., Njikam N., Talla E., Taiwe G.S., Nkantchoua G.C. (2009). The decoction of leaves of *Phyllanthus discoideus* possesses anticonvulsant and sedative properties in mice. *International Journal of Pharmacology* **5**, 168–72.

Ngo Bum E., Taiwe G.S., Moto F.C., Ngoupaye G.T., Nkantchoua G.C., Pelanken M.M. (2009). Anticonvulsant, anxiolytic and sedative properties of the roots of *Nauclea latifolia* in mice. *Epilepsy & Behavior* **15**, 434–40.

Note O.P., Mitaine-Offer A.C., Miyamoto T., Paululat T., Pegnyemb D.E., Lacaille-Dubois M.A. (2009). Tetrapterosides A and B, two new oleanane-types saponins from *Tetrapleura tetraptera*. *Magnetic Resonance in Chemistry* **47**, 277–282.

Nzowa L.K., Teponno R.B., Tapondjou L.A., Verotta L., Liao Z., Graham D., Zink M.-C., Barboni L. (2013). Two new tryptophan derivatives from the seed kernels of *Entada rheedei*: Effects on cell viability and HIV infectivity. *Fitoterapia* **87**, 37–42.

Olivier B., Zethof T., Pattij T., Boogaert M.V., Oorschot R.V., Leahy C. (2003). Stress-induced hyperthermia and anxiety: pharmacological validation. *European Journal of Pharmacology* **463**, 117–32.

Oluwatoyin A.B., Cordell G.A. (2001). Constituents of *Azzeria* stem bark. *phytochemistry* **56**, 827 – 830.

Osuchowski M.F., Johnson V.J., He Q. (2004). Alterations in regional brain neurotransmitters by silymarin, a natural antioxidant flavonoid mixture. BALB/c mice. *Pharmaceutical Biology* **42(4–5)**, 384–9.

Oviedo V.M., Mildred G.G., Rincon J., Guerrero M.F. (2006). Effect of an extract of *Annona muricata* on central nervous system. *Pharmacologyonline* **3**, 342–7.

Pal B. C., Achari, B., Yoshikawa K., Arihara S. (1995). Saponin from *Albizia lebbek*. *Phytochemistry* **38(5)**, 1287–1291.

Palazzo de Mello J., Petereit F., Nahrstedt A. (1996). Flavan-3-ols and prodelphinidins from *Stryphnodendron adstringens*. *Phytochemistry* 41(3), 807–813.

Panossian A., Wikman G., Sarris J., Rosenroot. (2010). (*Rhodiola rosea*): traditional use, chemical composition, pharmacology and clinical efficacy. *Phytomedicine* 17(7), 481–93.

Pase M., Kean J., Sarris J. (2012). The cognitive enhancing effects of *Bacopa monneiri*: a systematic review of randomized, controlled human clinical trials. *Journal of Alternative and Complementary Medicine* 18(7), 647–52.

Pech G.G., Brito W.F., Mena G. J., Quijano L. (2002). Constituents of *Acacia cedilloi* and *Acacia gaumeri*. Revised Structure and Complete NMR Assignments of Resinone. *Z. Naturforsch.* 57, 773–776.

Pelletier S.W. (2001). Alkaloids : Chemical and biological perspectives, A wiley Interscience Publication, Edition John Wiley and Sons, New york, 15, 90–121.

Perfumi M., Mattioli L. (2007). Adaptogenic and central nervous system effects of single doses of 3% rosavin and 1% salidroside *Rhodiola rosea* L. extract in mice. *Phytotherapia Research.* 21(1), 37–43.

Perry N.S.L., Houghton P.J., Sampson J. (2001). In-vitro activity of *S. lavandulaefolia* (Spanish sage) relevant to treatment of Alzheimer’s disease. *Journal of Pharmacy and Pharmacology* 53(10), 1347–56.

Pieri F., Kirkiacharian S. (1986). Pharmacologie et Thérapeutique, Ellipse. p 512.

Prinsen P., Gutiérrez A., Faulds C.B., del Río J.C. (2012). Lipophilic extractives from the cortex and pith of elephant grass (*Pennisetum purpureum Schumach.*). *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 60, 6408–6417.

Purushothaman K.K., Chandrasekharan S., Balakrishna K., Connolly J.D. (1975). “Gangetinin and Desmodin, two minor pterocarpanoids of *Desmodium gangeticum*”. *Phytochemistry* 14, 1129-1130.

Qiu M.H., Gao J.M., Liu H.Q., Fu J.X. (2000). The new dissacharide from the Fern *macrothelypteris digophlebia*. *Chinese Chemical Letters* 11, 1063–1064.

Queiroz F.E., Kagoyire K.A., Terreaux C., Antus S., Hostettmann K. (2002). *Journal of Natural products* 65, 403–406.

Rabbani M., Sajjadi S.E., Vaseghi G. (2004). Anxiolytic effects of *Echium amoenum* on the elevated plus-maze model of anxiety in mice. *Fitoterapia* **75(5)**, 457–64.

Rabbani M., Sajjadi S.E., Jafarian A. (2005). Anxiolytic effects of *Salvia reuterana* Boiss. on the elevated plus-maze model of anxiety in mice. *Journal of Ethnopharmacology* **101(1–3)**, 100–3.

Rabbani M., Vaseghi G., Sajjadi S.E. (2011). Persian herbal medicines with anxiolytic properties. *Journal of Medicinal Plants Research* **10(39)**, 7–11. 123.

Resstel L.B.M., Tavares R.F., Lisboa S.F.S. (2009). 5-HT_{1A} receptors are involved in the cannabidiol-induced attenuation of behavioural and cardiovascular responses to acute restraint stress in rats. *British Journal of Pharmacology* **156(1)**, 181–8.

Riba J., Valle M., Urbano G. (2003). Human pharmacology of ayahuasca: subjective and cardiovascular effects, monoamine metabolite excretion, and pharmacokinetics. *Journal of Pharmacology and Experimental Therapeutics* **306(1)**, 73–83.

Rodger R.J., Cao B.J., Dalvi A., Holmes A. (1997). Animal models of anxiety: an ethological perspective. *Brazilian Journal of Medical and Biological Research* **30**, 289–304.

Saiyudthong S., Marsden C.A. (2011). Acute effects of bergamot oil on anxiety-related behaviour and corticosterone level in rats. *Phytotherapia Research* **25(6)**, 858–62.

Sangare O. (2005). Evaluation de *cochlospermum tinctorium*, *entada africana* et *combretum micranthum* dans le traitement des hépatites à Bamako. thèse de doctorat en pharmacie, 54 – 55.

Santos R.G., Landeira-Fernandez J., Strassman R.J. (2007). Effects of ayahuasca on psychometric measures of anxiety, panic-like and hopelessness in Santo Daime members. *Journal of Ethnopharmacology* **112(3)**, 507–13.

Sarris J., Kavanagh D. J., Byrne G., M. Bone K., Adams J., Deed G. (2009). The Kava Anxiety Depression Spectrum Study (KADSS): a randomized, placebo-controlled crossover trial using an aqueous extract of *Piper methysticum*. *Psychopharmacology*, 205 (3): 399–407

Sarris J., Byrne G. J. (2011). A systematic review of insomnia and complementary medicine. *Sleep Medicine Reviews* **15** : 99–106

Sarris J., McIntyre E., Camfield D. A. (2013). Plant-Based Medicines for Anxiety Disorders, Part 2: A Review of Clinical Studies with Supporting Preclinical Evidence. *CNS Drugs* **27**, 301–319.

Sayyah M., Boostani H., Pakseresht S. (2009). Efficacy of aqueous extract of *Echium amoenum* in treatment of obsessive-compulsive disorder. *Progress in Neuro-Psychopharmacology and Biological Psychiatry* **33(8)**, 1513–6.

Sayyah M., Boostani H., Pakseresht S. (2010). Comparison of *Silybum marianum* (L.) Gaertn. with fluoxetine in the treatment of obsessive-compulsive disorder. *Progress in Neuro-Psychopharmacology and Biological Psychiatry* **34(2)**, 362–5.

Shaiq Ali M., Ahmed F., Pervez M.K., Azhar I., Ibrahim S.A. (2005). Parkintin: A new flavanone with epoxy-isopentyl moiety from *Parkinsonia aculeata* linn. (Caesalpiniaceae), *Natural Product Research: Formerly Natural Product Letters* **19(1)**, 53-56.

Souza A.B., Maria de Souza G.M., Moreira M.A., Moreira M.R., Furtado N. A. J. C., Martins C.H. G., Bastos J.K., dos Santos R.A., Heleno V.C. G., Ambrosio S.R., Veneziani R.C. S. (2011). Antimicrobial Evaluation of Diterpenes from *Copaifera langsdorffii* Oleoresin Against Periodontal Anaerobic Bacteria. *Molecules* **16**, 9611-9619.

Sousa B.J.P., Nanayakkara D., Berretta A. A. S., Bastos K. J. (2012). Leishmanicidal and antimalarial activities of crude extracts from aerial parts of *Copaifera langsdorffii* and isolation of secondary metabolites. *Journal of Pharmacy Research* **5(8)**, 4103-4107.

Stough C., Lloyd J., Clarke J. (2001). The chronic effects of an extract of *Bacopa monniera* (Brahmi) on cognitive function in healthy human subjects. *Psychopharmacology (Berl)* **156(4)**, 481–4.

Studerus E., Komater M., Hasler F. (2011). Acute, subacute and long-term subjective effects of psilocybin in healthy humans: a pooled analysis of experimental studies. *Journal of Psychopharmacology* **25(11)**, 1434–52.

Syed Farook Ali L.S., Rawat M.K., Meghvansil and Mahna S.K. (2010). Screening of rhizobial isolates of *Leucaena leucocephala* lam. for mimosine degradation. *journal of phytology* **2(7)**, 01–06.

Tambaro S., Bortolato M. (2012). Cannabinoid-related agents in the treatment of anxiety disorders: current knowledge and future perspectives. *Recent Patents on CNS Drug Discovery*. **7(1)**, 25–40.

Taneyama M., Yoshida S., Kobayashi M., Hasegawa M. (1983). Isolation of norbergenin from *Saxifraga stolonifera*, *Phytochemistry* **22(4)**, 1053-1054.

Taylor L.H., Kobak K.A. (2000). An open-label trial of St. John's Wort (*Hypericum perforatum*) in obsessive-compulsive disorder. *Journal of Clinical Psychiatry* **61(8)**, 575–8.

Teke G.N., Lungu P. K. (2011). Antimicrobial and antioxidant properties of methanol extract, fractions and compounds from the stem bark of *Entada abyssinica* Stend ex A. Satabie. *BMC Complementary and Alternative Medicine* **11**, 57.

Tildesley N.T.J., Kennedy D.O., Perry E.K. (2005). Positive modulation of mood and cognitive performance following administration of acute doses of *Salvia lavandulaefolia* essential oil to healthy young volunteers. *Physiology & Behavior* **83(5)**, 699–709.

Tiwari R.D., Bansal R.K. (1971). “Physcion 1-glycosyl rhamnoside from seeds of *Desmodium pulchellum*”. *Phytochemistry* **10**, 1921-1922.

Toshihiro A., Parthasarathi G., Swapnadip T., Satoshi O., Toshitake T. and Taro M. (1988). 24-methylcholesta-5, 22E, 25-trien-3-ol and 24-ethyl-cholest-22E-en-3-ol from *Clerodendrum fragrans*. *Phytochemistry* **27**, 241–244.

Troupin G. (1983). « Flore du Rwanda » Belgique Première édition, **II**, 61–64.

Van Der Maesen J.G., Van Der Burgt X.M., Van Medenbach De Rooy J.M. (1996). The biodiversity of african plants, Kluwer Academic Publishers, 121–130.

Vlahov G. (1996). Fatty acid distribution in triacylglycerol from aryl and cotyledon oils of *Azalia cuanzensis*. *phytochemistry* **42**, 621–625.

Villiers J.F. (1990). Contribution à l'étude du genre *Newtonia* baillon (Leguminosae Mimosoideae) en Afrique *Bulletin .Jardin Botanique*, **60(1/2)** : 119-138.

Villiers J.F. (1994). les legumineuses-mimosoïdées ombrophiles de basse altitude africaines et malgache ; biodiversité et répartition, the biodiversity of african plants, 121 – 130.

Vollenweider F.X., Vollenweider-Scherpenhuyzen M.F.I., Ba'bler A. (1998). Psilocybin induces schizophrenia-like psychosis in humans via a serotonin-2 agonist action. *NeuroReport* **9(17)**, 3897–902.

Vollenweider F.X., Kometer M. (2010). The neurobiology of psychedelic drugs: implications for the treatment of mood disorders. *Nature Reviews Neuroscience* **11(9)**, 642–51.

White F. (1979). The Guineo-Congolian region and its relationship to other phytochoria. *Bulletin du Jardin Botanique National de Belgique* **49**, 11–15.

Woelk H., Arnoldt K.H., Kieser M. (2007). Ginkgo biloba special extract EGb 761((R)) in generalized anxiety disorder and adjustment disorder with anxious mood: a randomized, double-blind, placebo-controlled trial. *Journal of Psychiatric Research* **41(6)**, 472–80.

Wojciechowski M.F., Mahn J., Bruce Jones. (2006). Fabaceae – legumes, version 14 june 2006. <http://tolweb.org/Fabaceae/21093/2006.06.14> in the tree of life web project <http://tolweb.org/>.

Wolfson P., Hoffmann D. (2003). An investigation into the efficacy of *Scutellaria lateriflora* in healthy volunteers. *Alternative Therapies, Health and Medicine* **9(2)**, 74.

Wu Z.B., Zhao Y.Y., Yang X.W., Liang H. (2009). Flavonoids from *Bauhinia glauca* subsp. *Pernervosa*. *Chemical and Pharmaceutical Bulletin* **57(6)**, 628–631.

Yadava R.N., Satnami D.K. (2011). *Indian journal of chemistry* **50(B)**, 1112–1118.

Yaghmai M.S. (1988). Volatile constituents of *Scutellaria lateriflora* L. *Flavour and Fragrance Journal* **3(1)**, 27–31. 136.

Yenesew A., Induli M., Derese S., Midiwo J.O., Heydenreich M., Peter M.G., Akala H., Wangui J., Liyala P., Waters N.C. (2004). Anti-plasmodial flavonoids from the stem bark of *Erythrina abyssinica*. *Phytochemistry* **65**, 3029–3032

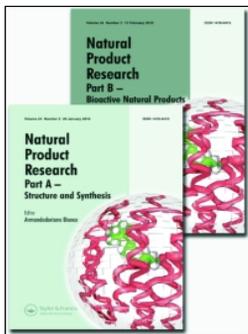
Yoshitake T., Yoshitake S., Kehr J. (2010). The Ginkgo biloba extract EGb 761(R) and its main constituent flavonoids and ginkgolides increase extracellular dopamine levels in the rat prefrontal cortex. *British Journal of Pharmacology*. **159(3)**, 659–68.

Yuqiong D., Haiming S., Haisha Y., Yunhua P., Mengyue W and Xiaobo L. (2012). Antioxidant Phenolic Compounds from the Stems of *Entada phaseoloides*. *Chemistry & Biodiversity* **9**, 68 – 79.

Zhang Z., Lian X., Li S. (2009). Characterization of chemical ingredients and anticonvulsant activity of American skullcap (*Scutellaria lateriflora*). *Phytomedicine*, **16(5)**:485–93.

Zhao Y.Y., Cui C.B., Cai B., Han B., Sun Q.S. (2005). A new phenanthraquinone from the stems of *Bauhinia variegata* L. *Journal of Asian Natural Products Research* **7(6)**, 835–838.

ARTICLES ISSUS DE LA THESE



Natural Product Research

Formerly Natural Product Letters

ISSN: 1478-6419 (Print) 1478-6427 (Online) Journal homepage: <http://www.tandfonline.com/loi/gnpl20>

A new flavanolignan and a new alkane from the Stem bark of *Newtonia griffoniana*

Mc Jesus Kinyok, Susan Bonnet, Olivier Placide Noté, Joséphine Ngo Mbing, Eutrophe Ledoux Kamto, Jan Hendrik Van der Westhuizen & Dieudonné Emmanuel Pegnyemb

To cite this article: Mc Jesus Kinyok, Susan Bonnet, Olivier Placide Noté, Joséphine Ngo Mbing, Eutrophe Ledoux Kamto, Jan Hendrik Van der Westhuizen & Dieudonné Emmanuel Pegnyemb (2017) A new flavanolignan and a new alkane from the Stem bark of *Newtonia griffoniana*, *Natural Product Research*, 31:19, 2233-2238, DOI: [10.1080/14786419.2017.1299725](https://doi.org/10.1080/14786419.2017.1299725)

To link to this article: <http://dx.doi.org/10.1080/14786419.2017.1299725>

 View supplementary material 

 Published online: 13 Mar 2017.

 Submit your article to this journal 

 Article views: 37

 View related articles 

 View Crossmark data 



A new flavanolignan and a new alkane from the Stem bark of *Newtonia griffoniana*

Mc Jesus Kinyok^{a,b}, Susan Bonnet^c, Olivier Placide Noté^b, Joséphine Ngo Mbing^{b,d}, Eutrophe Ledoux Kamto^b, Jan Hendrik Van der Westhuizen^{c1} and Dieudonné Emmanuel Pegnyemb^b

^aDepartment of Chemistry, Higher Teachers Training College, University of Yaoundé I, Yaoundé, Cameroon;

^bDepartment of Organic Chemistry, Faculty of Science, University of Yaoundé I, Yaoundé, Cameroon; ^cFaculty of Natural and agricultural sciences, Department of Chemistry, University of the Free State, Bloemfontein, South Africa; ^dCentre de Recherche en Plantes Médicinales et Médecine Traditionnelle (CRPMT), IMPM, Yaoundé, Cameroon

ABSTRACT

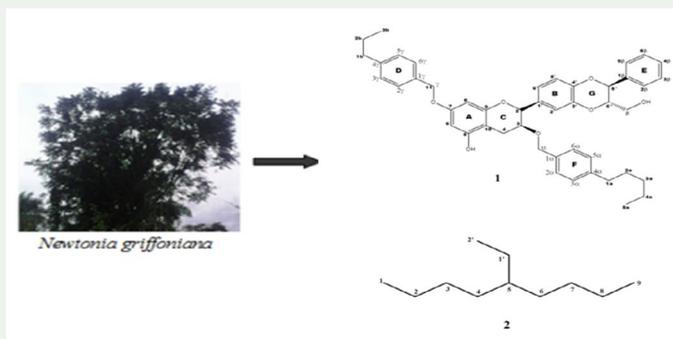
Two new compounds a flavanolignan (**1**), and an alkane (**2**) along with four known compounds including two fatty acid esters (**3–4**) and two isocoumarins (**5–6**) were isolated from the methanolic extract of the stem bark of *Newtonia griffoniana*. Their structures were elucidated using spectroscopic methods including extensive 1-D and 2-D NMR experiments.

ARTICLE HISTORY

Received 10 August 2016
Accepted 13 February 2017

KEYWORDS

Newtonia griffoniana;
Leguminosae; flavanolignan;
alkane



1. Introduction

The family Leguminosae, which is composed of trees, shrubs and herbaceous (Gillon et al. 1992), is one of the greatest plant families in the world. It comprises approximately 730 genera and 19,500 species distributed in three main subfamilies including Caesalpinioideae,

CONTACT Mc Jesus Kinyok  mcjesuskinyok@yahoo.fr; Dieudonné Emmanuel Pegnyemb  pegnyemb@yahoo.com, dpegnyemb@uy1.uninet.cm

¹Deceased in October 2015.

 Supplemental data for this article can be accessed at <http://dx.doi.org/10.1080/14786419.2017.1299725>.

Papilionoideae and Mimosoideae (Wojciechowski et al. 2006). In tropical regions of Africa, the most important genera of the subfamily Mimosoideae are *Acacia*, *Albizia*, *Entada*, and *Newtonia* (Lebrun & Stork 1992). In Cameroon, 14 species of *Newtonia* have been identified: *N. aubrevillei*, *N. buchananii*, *N. camerunensis*, *N. devredii*, *N. duparquetiana*, *N. elliotii*, *N. erlangeri*, *N. glandulifera*, *N. grandifolia*, *N. griffoniana*, *N. hidellbrantii*, *N. leucocarpa*, *N. paucijuga*, *N. scandens* (Villiers 1990). Among these species, the reported works available are pharmacological studies on *N. hildebrandtii* (Kariba & Houghton 2001) and *Newtonia griffoniana* (Djiogue et al. 2015).

The aim of this study is to go forward in the isolation and characterisation of metabolites from *Newtonia griffoniana*. Hence, the present study reports the isolation of a new flavanolignan (3-(1-methoxy-4-pentylphenyl)-7-(1-methoxy-4-propylphenyl)-5''-phenyl-6''-(hydroxymethyl)-5'',6'' dihydro [1,4] dioxino [2'',3':3',4'] flavan (**1**)), a new alkane (5-ethylnonane (**2**)) and four known compounds (**3–6**) (Figure 1).

2. Results and discussion

Repeated column chromatographic separations of the methanol extract of the stem bark of *N. griffoniana* led to the isolation of six compounds (1–6) (Figure 1).

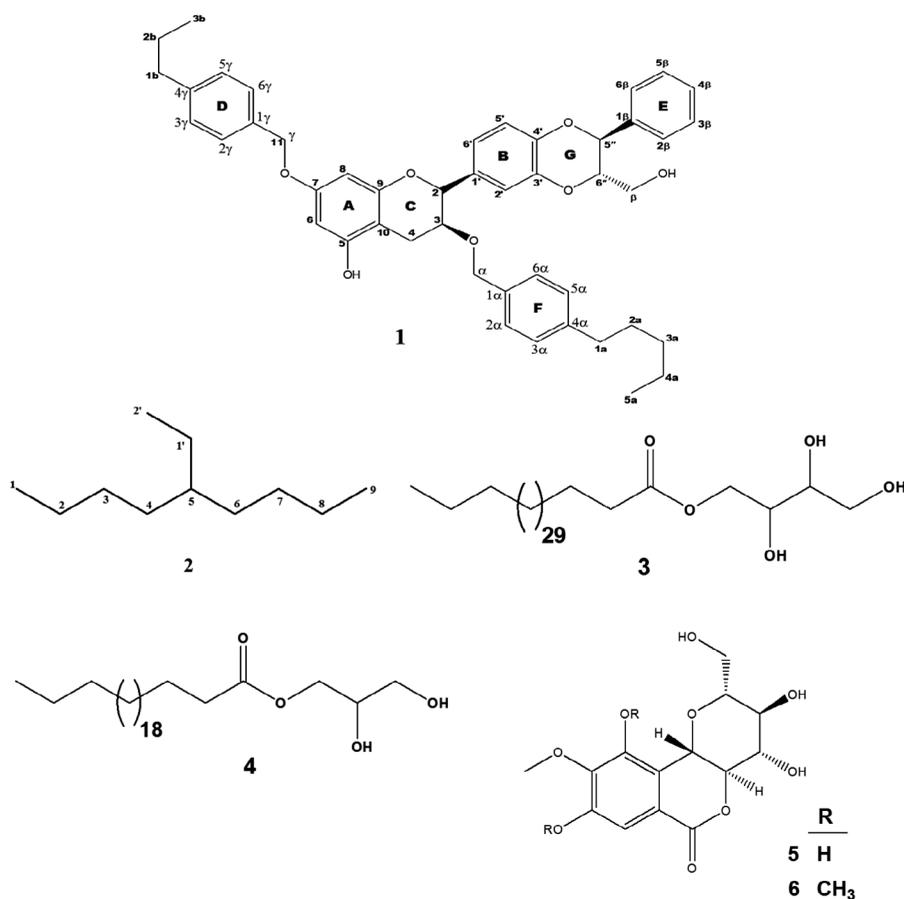


Figure 1. Structures of the isolated compounds from the stem bark of *Newtonia griffoniana*.

Compound **1** was obtained as a white powder and its molecular formula deduced by HR-ESI-MS (m/z 713.8859 $[M-H]^-$), as well as its 1H and ^{13}C NMR spectroscopic data was found to be $C_{46}H_{50}O_7$. The IR spectrum of **1** showed absorptions due to the hydroxyl group at 3369 cm^{-1} , alkyl group among 2965 and 2923 cm^{-1} and benzene ring functionalities at 1610 , 1531 , and 1475 cm^{-1} . ^{13}C NMR (Table S1) spectra revealed the presence of 15 carbons resonances among others. Twelve carbons were assigned to aromatic carbons [δ_c 93.7 (C-6), 94.3 (C-8), 102.3 (C-10), 113.7 (C-2'), 114.9 (C-5'), 120.5 (C-6'), 132.3 (C-1'), 148.8 (C-3' and C-4'), 155.3 (C-9), 157.6 (C-5) and 158.7(C-7)], two oxymethylene carbons [δ_c 74.5 (C-3) and 80.1 (C-2)] and one methylene δ_c 26.0 (C-4). The 1H NMR spectrum (Figure S1) displayed five aromatic signals, suggesting the presence of a 1,2,3,5-tetrasubstituted aromatic ring A (δ_H 6.26, 1H, d, $J = 2.2$ Hz, H-6 and δ_H 6.22, 1H, d, $J = 2.2$ Hz, H-8) and a 1,3,4-trisubstituted aromatic ring B (δ_H 7.00, 1H, d, $J = 1.5$ Hz, H-2'; δ_H 6.95, 1H, d, $J = 9.4$ Hz, H-5' and δ_H 6.93, 1H, dd, $J = 1.5$ and 9.4 Hz, H-6'). In addition, characteristic protons signals due to two oxymethylene groups (δ_H 4.78, 1H, d, $J = 5.2$ Hz, H-2 and δ_H 3.72, 1H, ddd, $J = 5.2$, 5.6 and 8.6 Hz, H-3) and one methylene group (δ_H 2.69, 1H, dd, $J = 8.6$ and 16.5 Hz, H-4 and δ_H 3.06, 1H, dd, 5.2 and 16.5 Hz, H'-4) were displayed in 1H NMR spectrum (ring C). The coupling constant between H-2 and H-3 of the C ring suggest a configuration trans ($J = 5.2$ Hz) for C-2 and C-3. The aforementioned data of **1** were closely related to those of the aglycone of a known flavan-3-ol isolated from *Cassia cinnamomum*, epicatechin (Morimoto et al. 1986). However, 1H - 1H COSY spectrum (Figure S4) revealed the presence of 1,2-dihydroxyethane moiety (C-5'', C-6''). In the HMBC spectrum of **1** (Figure S5), correlations of protons at δ_H 5.22 (H-5'') and δ_H 5.14 (H-6'') with δ_c 148.8 (C-3' and C-4') (Figure S16) confirmed the linkage with dihydroxyethane moiety with the ring B of the flavan-3-ol moiety. Hence, aglycone of **1** was identified as a flavanolignan type with substituents different from that of the known aglycone of a flavanolignan isolated from *Silybum marinum*, isosilybin A (Kim et al. 2003). In the aglycone isolated in the course of this work, the C-4 position is a methylene group whereas this position is a carbonyl in isosilybin A. Furthermore, 1D NMR spectra (Figure S1) indicated the presence of eight additional aromatic signals. These signals were assigned to two 1,4 disubstituted aromatic rings: D (δ_H 7.04, 1H, dd, $J = 1.8$ and 7.1 Hz, δ_H 7.24, 1H, dd, $J = 1.5$ and 7.1 Hz), δ_H 7.26, 1H, dd, $J = 1.5$ and 7.1 Hz and δ_H 7.06, 1H, dd, $J = 1.8$ and 7.1 Hz) and F (δ_H 7.33, 1H, dd, $J = 1.5$ and 7.9 Hz, δ_H 7.38, 1H, dd, $J = 1.5$ and 7.1 Hz, δ_H 7.34, 1H, dd, $J = 1.5$ and 7.1 Hz and δ_H 7.22, 1H, dd, $J = 1.5$ and 7.9 Hz). Five additional aromatic signals were observed and assigned to a monosubstituted aromatic ring E (δ_H 7.46, 1H, brs, δ_H 7.35, 1H, brs, δ_H 7.41, 1H, brs, δ_H 7.33, 1H, brs and δ_H 7.48, 1H, brs). Three other carbon resonances were observed suggesting three oxymethylene carbons [δ_c 69.9 (C_γ), 70.1 (C_β) and 71.6 (C_α)]. Two large methylene protons signals were also observed [δ_H 1.27, 8H, ov (H-1a-H-3a, H-1b) and δ_H 1.32, 4H, ov (H-2b, H-4a)]. These protons are correlated in HSQC spectrum (Figure S3) with carbon at δ_c 29.3-37.1 (C-1a, C-1b, C-2a, C-3a) and δ_c 22.7 (C-10a, C-2b) respectively; two methyl protons at δ_H 0.86 (3H, t, $J = 7.5$ Hz, H-3b) and δ_H 0.91 (3H, t, $J = 7.1$ Hz, H-5a) that are correlated in HSQC spectrum (Figure S3) with carbon at δ_c 14.1 (C-3a, C-5b). The structure of **1** was further completed on the basis of HSQC, HMBC and 1H - 1H COSY experiments. 1H - 1H COSY spectrum of **1** (Figure S4) revealed correlations of proton at δ_H 5.14 (H-6'') with δ_H 5.10 (H_β) (Figure S16). HMBC spectrum of **1** (Figure S5) revealed the presence of a propyl (C-1b-C-2b-C-3b) and a butyl (C-1a-C-2a-C-3a-C-4a-5a) moieties. In the HMBC spectrum of **1**, correlations of proton at δ_H 5.00 (H- γ) with δ_c 158.7 (C-7) and δ_c 127.5 (C-2 γ) confirmed the linkage of the aromatic ring D moiety to the aglycone (ring A in C-7 position) (Figure 2). HMBC

correlations of the proton at δ_{H} 4.12 (H- α) with δ_{C} 74.5 (C-3) and δ_{C} 127.8 (C-6 α), δ_{H} 5.22 (H-5'') with δ_{C} 137.0 (C-1 β) and δ_{C} 127.2 (C-6 β), respectively, confirmed the linkage of the aromatic ring F moiety to the aglycone (ring C in C-3 position) and the linkage of aromatic ring E to the aglycone (ring G in C-5'' position). NOESY spectrum of **1** (Figure S6) revealed correlations of proton at δ_{H} 5.00 (Hy) with δ_{H} 6.22 (H-8), δ_{H} 7.00 (H-2') with δ_{H} 6.22 (H β), δ_{H} 5.22 (H-5'') with δ_{H} 6.95 (H-5') and δ_{H} 6.95 (H-5') with δ_{H} 7.48 (H-6 β), respectively, indicating a spatial closeness between the oxymethylene fragment at (Cy) with the aromatic ring A (Figure S12); as well as with the oxymethylene fragment at (C β) with the ring B and G and also the aromatic rings E and B. In addition, the coupling constant between H-5'' and H-6'' of the G ring suggest a configuration trans ($J = 6.4$ Hz) for C-5'' and C-6''. On the basis of these spectroscopic data, the structure of **1** was assigned and named 3-(1-methoxy-4-pentylphenyl)-7-(1-methoxy-4-propylphenyl)-5''-phenyl-6''-(hydroxymethyl)-5'',6'' dihydro [1,4] dioxino [2'',3'':3',4'] flavan.

Compound **2** was obtained as a yellow amorphous solid and its molecular formula, deduced by APCI-MS (positive mode) (m/z 157.195 [M-H]⁺), as well as its ¹H and ¹³C NMR spectroscopic data was found to be C₁₁H₂₄. All 11 carbon resonances were well resolved in the ¹³C NMR (Table S2) and HSQC spectra (Figure S9). The following assignments were established: one methyne δ_{C} 37.1 (C-5), seven methylenes [δ_{C} 22.7 (C-2, C-8), 27.1 (C-1'), 29.7 (C-4, C-6) and 31.9 (C-3 and C-7)] and three methyl carbons [δ_{C} 14.1 (C-1 and C-9), 19.7 (C-2')]. In addition, the ¹H NMR spectral data of compound **2** (Figure S7) revealed one signal at δ_{H} 1.30 (H-2 and H-8), a broad signal centred at δ_{H} 1.27 (H-3, H-4, H-5, H-6, H-7 and H-1'), and two terminal methyl groups signal at δ_{H} 0.86 (t, $J = 6.7$ Hz, H-2') and δ_{H} 0.91 (t, $J = 6.7$ Hz, H-1 and H-9), suggesting a long substituted alkane chain (C-1 to C-9) in compound **2**. The structure of **2** was further accomplished on the basis of HSQC, ¹H-¹H COSY and HMBC experiments (Figures S9-S11). ¹H-¹H COSY spectrum of **2** (Figure S10) revealed a correlation of the proton at δ_{H} 0.86 (H-2') with δ_{H} 1.27 (H-1'), suggesting ethyl moiety in **2**. In the HMBC spectrum of **2** (Figure S11) correlations of proton at δ_{H} 0.91 (H-2') with δ_{C} 37.1 (C-5) confirmed the linkage of the ethyl moiety to an aliphatic long chain (C-5 position) (Figure S13). In addition, the HMBC correlations of the protons at δ_{H} 1.27 (H-3, H-7) with the carbons at δ_{C} 29.7 (C-4, C-6); the protons at δ_{H} 1.30 (H-2, H-8) with the carbons at δ_{C} 31.9 (C-3, C-7) and the protons at δ_{H} 0.91 (H-1, H-9) with δ_{C} 31.9 (C-3, C-7) confirmed the long substituted alkane chain (C-1 to C-9) (Figure S13). On the basis of these spectroscopic data, the structure of **2** was assigned and named 5-ethylnonane.

The known compounds (**3-6**) (Figure 1) were identified as 2,3,4-trihydroxybutylpentatriacontanoate (**3**) (Djiogue et al. 2015), glyceryl monotetracosanoate (**4**) (Fotie et al. 2004; Folefoc et al. 2005), bergenine (**5**) (Taneyama et al. 1983; Folefoc et al. 2005) and tri-O-methylnorbergenin (**6**) (Taneyama et al. 1983), by comparing their NMR spectroscopic data with those reported in the literature.

3. Experimental

3.1. General experimental procedure

Column Chromatographic was performed using silica gel (Kieselgel 70-230 mesh, Merck), Sephadex LH-20 (40-70 μm , Amersham Pharmacia Biotech AB, Uppsala, Sweden). The IR spectra were recorded using a Bruker tensor 27 spectrometer. UV spectra were recorded on a Beckman Coulter DU 800 UV-vis spectrophotometer. ESIMS, APCI-MS and HRESI-MS were

run on a Thermo Finnigan LXQ (California, US) mass spectrometer. NMR spectra in CD_2Cl_2 solution (500 MHz for ^1H -NMR and 125 MHz) were recorded on a Bruker AVANCE III 500 spectrometer using tetramethylsilane (TMS) as internal standard. NMR spectra measured in CDCl_3 , MeOD, solution (600 MHz for ^1H -NMR and 150 MHz for ^{13}C -NMR) were recorded on a Bruker Avance III-600 spectrometer at 25 °C using TMS as an internal standard. Chemical shift were reported in units of δ (ppm) and coupling constants (J) were expressed in Hz. TLC was carried out on silica gel plates (Kieselgel 60 F254, Merck). Detection was done through the exposure of the plates to UV light (254 and 365 nm) followed either by exposure to vapour iodine or spraying with 10% sulphuric acid or with vanillin reagent.

3.2. Plant material

The bark of *N. griffoniana* was collected at Sokéllé (34° 47' 00" N; 10° 31' 00" E), a village in the Centre region of Cameroon in October 2008. The plant was identified in the National Herbarium of Cameroon and a voucher specimen was deposited under the number 64063/HNC.

3.3. Extraction and isolation

The air-dried and powdered stem bark of *N. griffoniana* (500 g) was extracted with MeOH (1.5 L) at room temperature for 72 h. The resulting methanolic extract was concentrated under reduced pressure to dryness yielding 65.7 g of a gummy residue. This residue was submitted to flash chromatography on silica gel (730–230 Merck) and was eluted with a Hexane– CH_2Cl_2 –MeOH gradient system (1:1:0, 0:30:1, 0:10:1, 0:1:1, 0:0:1), to give five fractions (**NG**₁–**NG**₅). Fraction **NG**₁ (1:1:0, 3 g) was subjected to silica gel CC and eluted with Hexane– CH_2Cl_2 (10:1, 5:1, 0:1) to give compound **3** (12.3 mg) and two mixtures **NG**₁₂–**NG**₁₃ (2 g). Fraction **NG**₂ (0:30:1, 6.7 g) was subjected to silica gel CC, eluted with CH_2Cl_2 –MeOH (50:1, 40:1, 30:1, 10:1) to give mixtures **NG**₂₁–**NG**₂₄. Sub-fraction **NG**₂₄ (0.5 g) was subjected to a Sephadex LH-20 CC using pure MeOH as eluent to give compound **4** (71.6 mg). Fraction **NG**₃ (0:10:1, 8.0 g) was subjected to silica gel CC, eluted with CH_2Cl_2 –MeOH (30:1, 20:1, 10:1, 1:1) to give compound **2** (268.0 mg) and four mixtures **NG**₃₂–**NG**₃₅ (7.2 g). Fraction **NG**₄ (0:1:1, 7.0 g) was subjected to silica gel CC, eluted with CH_2Cl_2 –MeOH (10:1, 5:1, 1:1) to give compounds **5** (3.3 g) and **6** (523.0 mg) and one mixture **NG**₄₁ (2.5 g). Fraction **NG**₅ (0:0:1, 16.0 g) was subjected to silica gel CC, eluted with CH_2Cl_2 –MeOH– H_2O (70:40:1:5:1, 1:1) to give compound **1** (7.2 mg) and three mixtures **NG**₅₂–**NG**₅₄ (14.7 g).

3.3.1. 3-(1-methoxy-4-pentylphenyl)-7-(1-methoxy-4-propylphenyl)-5''-phenyl-6''-(hydroxymethyl)-5'',6'' dihydro [1,4] dioxino [2'',3'':3',4'] flavan (**1**)

White powder; IR ν_{max} (KBr) cm^{-1} : 3369, 2965, 2923, 1610, 1531, 1475 and 780 cm^{-1} ; HR–ESI–MS m/z 713.8859 [$\text{M}-\text{H}$][−] (Calcd for [$\text{C}_{46}\text{H}_{50}\text{O}_7$][−], 713.8861); ^1H and ^{13}C NMR (CDCl_3 , 600 and 150 MHz) spectroscopic data in Table S1

3.3.2. 5-ethylnonane (**2**)

Yellow amorphous solid; IR ν_{max} (KBr) cm^{-1} , 3000, 2,965,700 and 680; ^1H and ^{13}C NMR (CDCl_3 , 600 and 150 MHz) see Table S2; APCI–MS (positive mode) m/z 157.195 [$\text{M} + \text{H}$]⁺ (calcd for [$\text{C}_{11}\text{H}_{25}$]⁺, 157.316).

4. Conclusion

The present study reports the isolation and characterisation of a new flavanolignan (**1**) and new alkane (**2**) together with four known compounds: 2,3,4-trihydroxybutylpentatriacontanoate (**3**); glyceryl monotetracosanoate (**4**); bergenin (**5**) and tri-*O*-methylnorbergenin (**6**). In this study, the aglycone skeleton described in compound (**1**) is reported for the first time from a natural product.

Acknowledgements

This paper is dedicated to late Jan van der Westhuizen.

We are thankful to Mr Victor Nana of the National Herbarium of Yaounde-Cameroon for the assistance in plant collection and identification.

Dr Gaetan Bayiha and Dr Anwar Elbushra are also gratefully acknowledged for the MS and NMR technical support.

Disclosure statement

No potential conflict of interest was reported by the authors.

References

- Djiogue S, McJ Kinyok, Ketcha WJM, Gamo FZ, Etet SPF, Kamdje NAH, Pegnyemb DE, Njamen D. 2015. Newtonoate as an active principle of *Newtonia griffoniana* for anxiolytic activity in Swiss mice. *J Complement Integr Med.* 12(4):283–287.
- Folefoc GN, Bisseck JP, Fomum ZT, Bodo B. 2005. Constituents from the roots of *Pentaclethra macrophylla*. *Biochem Syst Ecol.* 33:1280–1282.
- Fotie J, Nkengfack AE, Peter MG, Heydenreich M, Fomum ZT. 2004. Chemical constituents of the ethyl acetate extracts of the stem bark and fruits of *Dichrostachys cinerea* and the roots of *Parkia bicolor*. *Bull Chem Soc Ethiop.* 18:111–115.
- Gillon Y, Rasplus JY, Boughdad A, Mainguet AM. 1992. Utilisation des graines de Légumineuses par un peuplement de Bruchidae et d'Anthribidae (Coleoptera) en zone de mosaïque forêt-savane (Lamto : Côte-d'Ivoire) [Use of the seeds of legumes by a population of Bruchidae and Anthribidae (Coleoptera) in a mosaic zone of forest savanna (Lamto: Ivory coast)]. *J Zool Af.* 106:421–443.
- Kariba RM, Houghton PJ. 2001. Antimicrobial activity of *Newtonia hildebrandtii*. *Fitoterapia.* 72:415–417.
- Kim NC, Graf TN, Sparacino CM, Wani MC, Wall ME. 2003. Complete isolation and characterization of silybins and isosilybins from milk thistle (*Silybum marianum*). *Org Biomol Chem.* 1:1684–1689.
- Lebrun JP, Stork LA. 1992. Énumération des plantes à fleurs d'Afrique tropicale. Chrysobalanaceae à Apiaceae vol 2 [Enumeration of the flowering plants of tropical Africa. Chrysobalanaceae and Apiaceae vol 2. Geneva: Conservatory and Botanical Garden of Geneva]. Genève: Conservatoire et Jardin Botaniques de Genève.
- Morimoto S, Nonaka G, Nishioka I. 1986. Tannins and related compounds XXXVIII. Isolation and characterization of flavan-3-ol glucosides and procyanidin oligomers from cassia bark (*Cinnamomum cassia Blume*). *Chem Pharm Bull.* 34:633–642.
- Taneyama M, Yoshida S, Kobayashi M, Hasegawa M. 1983. Isolation of norbergenin from *Saxifraga stolonifera*. *Phytochemistry.* 22:1053–1054.
- Villiers JF. 1990. Contribution à l'étude du genre *Newtonia* baillon (Leguminosae Mimosoideae) en Afrique [Contribution to the study of the gender *Newtonia* baillon (Leguminosae - Mimosoideae) in Africa]. *B Jar Botanic.* 60:119–138.
- Wojciechowski, MF., Johanna M, Bruce J. 2006. Fabaceae. Legumes. In The tree of life web project [Internet]. Version 2006 Jun 14; [cited 2016 Aug 10]. Available from: <http://tolweb.org/Fabaceae/21093/2006.06.14>

Sefirin Djiogue*, Mc Jesus Kinyok, Germain Jean Magloire Ketcha Wanda, Franklin Zemo Gamo, Paul Faustin Seke Etet, Arnel Herve Nwabo Kamdje, Dieudonné Emmanuel Pegnyemb and Dieudonné Njamèn

Newtonoate as an active principle of *Newtonia griffoniana* for anxiolytic activity in Swiss mice

DOI 10.1515/jcim-2015-0018

Received March 18, 2015; accepted July 13, 2015;

previously published online July 25, 2015

Abstract

Background: *Newtonia griffoniana* (Mimosaceae) is a Central African rain forest tree, whose bark extracts are used in Cameroonian folk medicine for the treatment of anxiety and sleep disorders.

Methods: We evaluated the anxiolytic effects of *N. griffoniana* stem bark methanol extract and its major isolated constituent 2,3,4-trihydroxybutylpentatriacontanoate (newtonoate) on the elevated plus maze.

Results: Significant increases in the percentage of entries into open arms were induced by both *N. griffoniana* extract (100 and 150 mg/kg BW; $p < 0.01$) and newtonoate (doses of 3 and 15 mg/kg BW; $p < 0.05$). Conversely, decreases in the percentage of entries into closed arms were observed at the same doses. In addition, *N. griffoniana* methanol extract (100 mg/kg) and the isolated newtonoate (30 mg/kg) induced significant ($p < 0.01$ and $p < 0.05$, respectively) increases in the time spent in the open arms, while inducing a decrease

in the time spent in the closed arms. Newtonoate treatment also decreased head dipping number at doses of 3 and 15 mg/kg, while *N. griffoniana* methanol extract induced the same effect at 200 mg/kg.

Conclusions: These results suggest that *N. griffoniana* bark extract has anxiolytic properties, which justify its use in folk medicine. Such effects are at least partly mediated by newtonoate.

Keywords: 2,3,4-trihydroxybutylpentatriacontanoate, anxiolytic, elevated plus maze, newtonoate, *Newtonia griffoniana*

Introduction

According to the World Health Organization (WHO), up to 10% of the world population may suffer from the various forms of anxiety disorders [1], and about 30% of the adult population suffer from insomnia [2]. Besides, still worldwide, about 40% of people suffering from central nervous system disease develop anxiety disorders and suffer from insomnia [3]. Medicinal plants and folk medicine may still be the predominant approaches for mental disease treatment in developing countries, whereas in some cases more than 80% of total populations depend on it [4].

Newtonia griffoniana (Mimosaceae) is a Central African rain forest medicinal plant distributed from Nigeria to Gabon, which grows in southern and southwestern regions of Cameroon [5, 6]. Called “balé” in Cameroonian local languages, *N. griffoniana* is a medium to fairly large forest tree (up to 35 m tall) without thorns or goads, which has rhombic leaflets, and whose wood is suitable for construction. *N. griffoniana* bark extracts are used by Cameroonian traditional healers of Bassa, and related Bantu ethnic groups, to unblock fallopian tubes, and for the treatment of anxiety disorders and associated sleeping problems.

The present study’s aim was to evaluate the anxiolytic activity of the methanol extracts of *N. griffoniana* bark, and particularly that of one of its major constituents of newtonoate.

*Corresponding author: Sefirin Djiogue, Department of Animal Biology and Physiology, Faculty of Science, University of Yaounde I, Yaounde, Cameroon, E-mail: sefirin.djiogue@gmail.com

Mc Jesus Kinyok, Department of Chemistry, Higher Teachers Training College, University of Yaoundé I, Yaoundé, Cameroon; Department of Organic Chemistry, Faculty of Science, University of Yaoundé I, Yaoundé, Cameroon

Germain Jean Magloire Ketcha Wanda, Department of Psychology, Faculty of Arts, Letters and Social Sciences, University of Yaounde I, Yaounde, Cameroon

Franklin Zemo Gamo, Department of Animal Biology and Physiology, Faculty of Science, University of Yaounde I, Yaounde, Cameroon

Paul Faustin Seke Etet, Department of Basic Health Sciences, College of Applied Medical Sciences, Qassim University, Buraydah, Al-Qaseem, Saudi Arabia

Arnel Herve Nwabo Kamdje, Department of Biomedical Sciences, University of Ngaoundéré, Ngaoundéré, Cameroon

Dieudonné Emmanuel Pegnyemb, Department of Organic Chemistry, Faculty of Science, University of Yaoundé I, Yaoundé, Cameroon

Dieudonné Njamèn, Department of Animal Biology and Physiology, Faculty of Science, University of Yaounde I, Yaounde, Cameroon

Materials and methods

Animals

Male mice, *Mus musculus* Swiss, 24 ± 5 g (8–12 weeks old) were used in this study. Animals were housed in a room with controlled environment (temperature 25 °C; humidity 50%; 12:12 h light-dark cycle), and had *ad libitum* access to tap water and standard mice diet.

Plant material

***N. griffoniana* extract:** *N. griffoniana* bark was collected in Cameroon (Sokélé village, Centre region) in October 2008, after identification of the tree by Mr Victor Nana, a botanist of the National Herbarium of Cameroon (HNC). A voucher specimen was deposited at HNC (number 64063/HNC).

N. griffoniana stem bark was shade-dried and grinded. The powder was dissolved in methanol (500 g powder in 1.5 L MeOH) and stored at room temperature for 48 h. After filtration, the resulting methanolic extract was concentrated under reduce pressure, and a gummy residue was obtained (60.7 g).

Newtonoate: *N. griffoniana* gummy residue was subjected to silica gel column and eluted with a gradient of $\text{CH}_2\text{Cl}_2/\text{MeOH}$ solvent, and eight fractions were obtained (named NG1–NG8). Then, column chromatography was further performed on the fraction NG5 (3.0 g, $\text{CH}_2\text{Cl}_2/\text{MeOH}$ 10 + 1) over silica gel and eluted using a gradient of $\text{CH}_2\text{Cl}_2/\text{MeOH}$ in increasing polarity and six subfractions were obtained (NG51–NG56). Newtonoate (2,3,4-trihydroxybutylpentatriacontanoate) (Figure 1) (Supplementary Data) was obtained from subfraction NG51 ($\text{CH}_2\text{Cl}_2/\text{MeOH}$ 40 + 1) by preparative thin layer chromatography with $\text{CH}_2\text{Cl}_2/\text{MeOH}$ (35 + 1) as eluent. The structural elucidation of the isolate was achieved by spectral analysis including 1D (^1H , ^{13}C , DEPT) and 2D NMR experiments (COSY, HMQC, HMBC) as well as ESI-MS analysis and comparison of their spectroscopic data with those reported in the literature (see Supplementary Data).

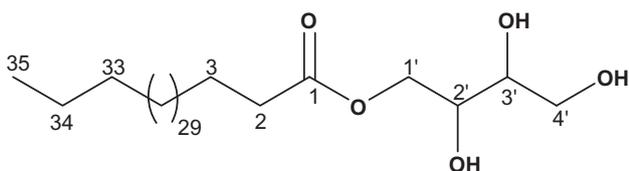


Figure 1: Chemical structure of newtonoate (2,3,4-trihydroxybutylpentatriacontanoate).

Elevated plus maze

A standard elevated plus maze (EPM) made of wood was used to study the spontaneous behavior of animals. It consisted of two open arms (45 × 15 cm), two closed arms (45 × 15 × 17 cm) and a central platform (15 × 15 cm). The two pairs of identical arms are opposite each other. The apparatus was 70.6 cm above the floor.

Procedures

Animals were randomly divided into eight groups ($n=6$ mice/group). Three test groups received the different doses of *N. griffoniana* extract (100, 150 and 200 mg/kg BW per os), three other groups the doses of the isolated compound newtonoate (3, 15 and 30 mg/kg BW p.o.), and the negative control group received the vehicle solution (p.o.). The positive control group was given diazepam (3 mg/kg BW, i.p., Valium[®], Roche Laboratory, Fontenay-sous-bois, France). Treatments were administered 1 h before the test, in a volume of 10 mL/kg BW.

Mice were placed individually at the center of the maze facing an open arm, and allowed to explore the maze for 5 min [7–9]. During the test period, hand-operated counters and stopwatches were used to score the following parameters: time spent and entry numbers in each type of arms, the number of times the animal stood on its hind legs (rearing) and the number of head dipping [10]. The percentage of time spent in each type of arm (percentage of total time in both open and closed arms) and the percentage of the number of entries in each type of arms (percentage of total entries) were calculated for each animal. The maze was cleaned with 70% ethanol solution and a dry cloth between two tests.

Statistical analysis

The significance of the difference between control and treated groups was determined using one-way ANOVA followed by Dunnett's test (GraphPad InStat, version 3. 10). A p -value < 0.05 was considered significant. Data were expressed as mean–SEM.

Results

Effect of *N. griffoniana* on anxiety indicators on the EPM

N. griffoniana methanol extract induced a significant increase in the percentage of entries into open arms at the doses of 100 mg/kg ($p < 0.01$) and 150 mg/kg ($p < 0.05$) (Figure 2); and a significant increase in the percentage of time spent in the open arms, at 100 mg/kg ($p < 0.01$) (Figure 4), compared to the control group. As expected, diazepam induced a significant increase in the percentage of entries into the open arms (Figure 2), and also increased significantly the time spent in these arms, in the positive control group (Figure 4).

Like diazepam, the methanol extract induced a significant reduction in the percentage of entries into closed arms at doses 100 mg/kg ($p < 0.01$) and 150 mg/kg ($p < 0.05$) (Figure 3) and a significant reduction in the percentage of time spent in the closed arms at dose 100 mg/kg ($p < 0.01$) (Figure 5).

The number of rearing was slightly reduced by methanol extract at the dose of 100 mg/kg and

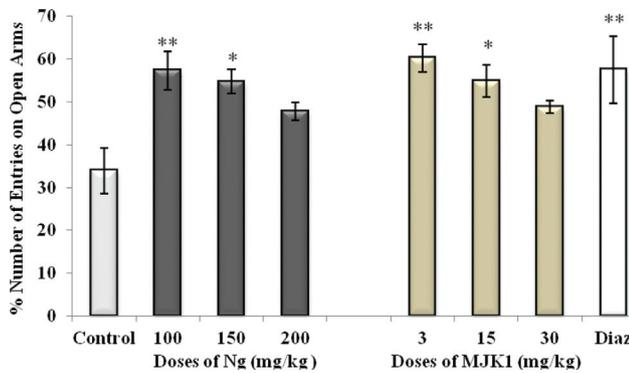


Figure 2: Effect of *Newtonia griffoniana* extract (Ng) and Newtonoate (MJK1) on the number of entries in open arms expressed as a percentage of total entries in elevated plus maze arms during 5 min. Data are mean \pm SEM, $n = 6$ per group. One-way ANOVA followed by Dunnett's test: * $p < 0.05$, ** $p < 0.01$. Diaz, diazepam.

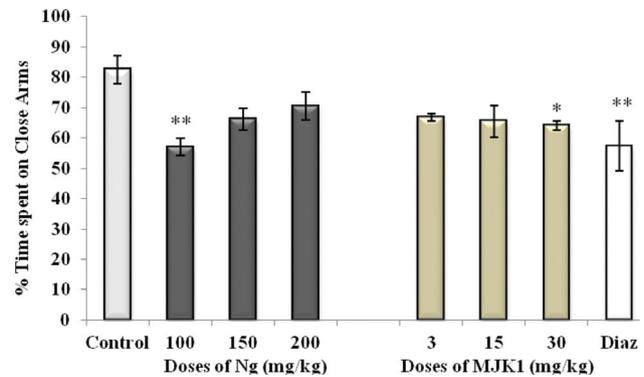


Figure 5: Effect of *Newtonia griffoniana* extract (Ng) and Newtonoate (MJK1) on the time spent in the closed arms expressed as a percentage of the total time spent on the elevated plus maze (5 min). Data are mean \pm SEM, $n = 6$ per group. One-way ANOVA followed by Dunnett's test: * $p < 0.05$, ** $p < 0.01$. Diaz, diazepam.

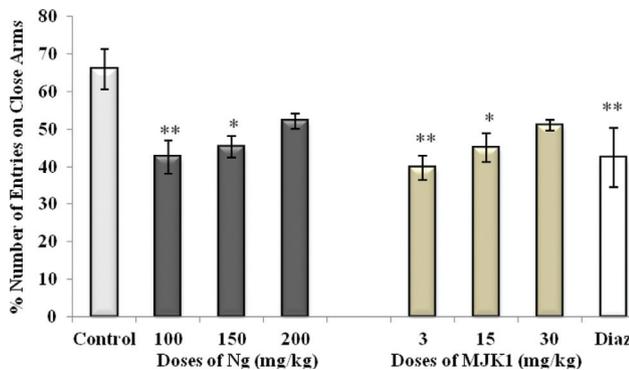


Figure 3: Effect of *Newtonia griffoniana* extract (Ng) and Newtonoate (MJK1) on the number of entries in closed arms expressed as a percentage of total entries in elevated plus maze arms during 5 min. Data are mean \pm SEM, $n = 6$ per group. One-way ANOVA followed by Dunnett's test: * $p < 0.05$, ** $p < 0.01$. Diaz, diazepam.

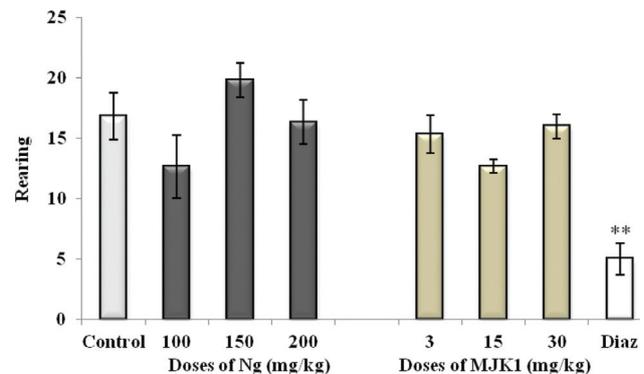


Figure 6: Effect of *Newtonia griffoniana* extract (Ng) and newtonoate (MJK1) on the number of rearing of mice placed on the elevated plus maze. Data are mean \pm SEM, $n = 6$ per group. One-way ANOVA followed by Dunnett's test: * $p < 0.05$, ** $p < 0.01$. Diaz, diazepam.

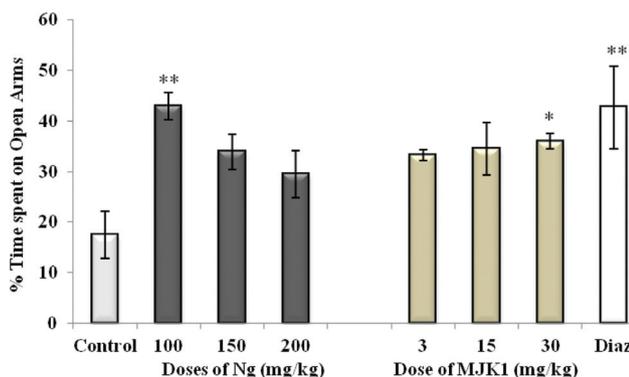


Figure 4: Effect of *Newtonia griffoniana* extract (Ng) and Newtonoate (MJK1) on the time spent in the open arms expressed as a percentage of the total time spent on the elevated plus maze (5 min). Data are mean \pm SEM, $n = 6$ per group. One-way ANOVA followed by Dunnett's test: * $p < 0.05$, ** $p < 0.01$. Diaz, diazepam.

significantly reduced by diazepam ($p < 0.01$) (Figure 6); while the number of head dipping was significantly reduced by the methanol extract at the dose of 200 mg/kg ($p < 0.05$) and by diazepam ($p < 0.05$) (Figure 7).

Effect of newtonoate on anxiety indicators on the EPM

Like diazepam, newtonoate induced a significant increase in the percentage of entries into open arms at the doses of 3 mg/kg ($p < 0.01$) and 15 mg/kg ($p < 0.05$) (Figure 2) and a significant increase in the percentage of time spent in the open arms, at the dose of 30 mg/kg ($p < 0.05$) (Figure 4), compared with control group.

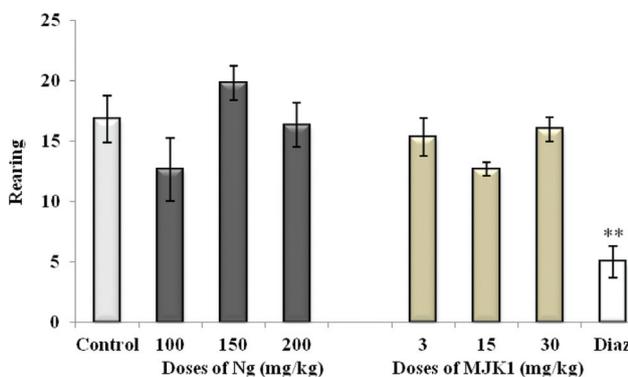


Figure 7: Effect of *Newtonia griffoniana* extract (Ng) and newtonoate (MJK1) on the number of head dipping of mice over the elevated plus maze open arms.

Data are mean \pm SEM, $n = 6$ per group. One-way ANOVA followed by Dunnett's test: * $p < 0.05$. Diaz, diazepam.

Newtonoate induced a significant reduction in the percentage of entries into closed arms at the doses of 3 mg/kg ($p < 0.01$) and 15 mg/kg ($p < 0.05$) (Figure 3), and a significant reduction in the percentage of time spent in the closed arms at the dose of 30 mg/kg ($p < 0.05$) (Figure 5). As expected for the positive control group, diazepam also induced a significant decrease in the percentage of entries into the closed arms of the EPM ($p < 0.01$) (Figure 3) as well as a reduction of the time spent in these arms ($p < 0.01$) (Figure 5).

Newtonoate induced a slight reduction in the number of rearing at dose of 15 mg/kg (Figure 6). Newtonoate also induced a significant reduction in the number of head dipping at doses of 3 mg/kg ($p < 0.05$) and 15 mg/kg ($p < 0.05$), like diazepam did ($p < 0.05$) (Figure 7).

Discussion

The results obtained in the present study suggest an increase in the percentage of entries and in the time spent in open arms by mice treated with *N. griffoniana* bark methanol extract and one of its major isolated secondary metabolite newtonoate, compared to control group values. Reduction in percentages of entries into, and time spent in closed arms were also observed. According to Lister and Oviedo et al. [11, 12], the increase in the activity in the open arms directly reflects a reduction of the anxiety, and the reduction in the activity in the closed arms shows a decrease of the stress [13, 14]. These effects suggest that *N. griffoniana* extract may contain compounds endowed with anxiolytic properties as suggested for other medicinal plants by reports in [15–17]. In

most of our experiments, *N. griffoniana* extract as well as newtonoate exhibited a more pronounced anxiolytic effects at lower doses. This observation is in accordance with most of the anxiolytic agents endowed with a biphasic activity: anxiolytics at low doses and anxiogenics at high doses. Based on our results, newtonoate may be one of the compounds responsible of the anxiolytic effects of *N. griffoniana* extract. Such anxiolytic properties could result from the action of newtonoate compound on the benzodiazepines sites of the gamma aminobutyric acid (GABA) receptors complex, by the antagonism of *N*-Methyl-D-aspartate (NMDA) on the NMDA receptors [18] and/or by the antagonism of 5-hydroxytryptamine (5-HT) receptors of type 2 or 3 [19]. Notably, the exploring activity of the mice in open arms was confirmed by the reduction of the number of head dipping by both *N. griffoniana* methanol extract and newtonoate.

Moreover, *N. griffoniana* methanol extract and the isolated compound newtonoate induced a significant reduction of the number of rearing events in the closed arms. According to Rodger et al. [14] such reduction in the number of rearing indicates a decrease in the vertical locomotors activity of the animals and could be explained by the sedative properties of the plant. This result is also sustained by the report in [15], where plant sedative properties induced a spontaneous reduction in the vertical locomotors activity of mice. These effects further suggest that *N. griffoniana* methanol extract and the isolated newtonoate may have anxiolytic properties, and that newtonoate may act on the benzodiazepine site of GABA receptors.

The observed properties probably explain the use of this plant in the Cameroonian folk medicine against anxiety disorders.

Acknowledgments: The authors are thankful to Dr Gaetan Bayiha for MS and NMR analysis, and to the members of the Laboratory of Animal Physiology of the University of Yaoundé 1 for their technical assistance.

Author contributions: All the authors have accepted responsibility for the entire content of this submitted manuscript and approved submission.

Research funding: None declared.

Employment or leadership: None declared.

Honorarium: None declared.

Competing interests: The funding organization(s) played no role in the study design; in the collection, analysis, and interpretation of data; in the writing of the report; or in the decision to submit the report for publication.

References

1. WHO. Mental and neurological disorders. Fact sheet no. 25; 2001.
2. Werner K. Insomnie chronique. *Forum Med Suisses* 2008;8:426–31.
3. Gurib-Fakim A. Medicinal plants: traditions of yesterday and drugs of tomorrow. *Mol Aspect Med* 2006;27:1–93.
4. WHO. WHO calls on African governments to formally recognize traditional medicine. Johannesburg, South Africa, Geneva: WHO; 2003.
5. Villiers JF. Flore du Gabon, fascicule 31: Leguminosae-Mimosoideae 185 p Muséum National d'Histoire Naturelle, Paris; 1989.
6. Villiers JF. Contribution à l'étude du genre *Newtonia* baillon (Leguminosae); 1990.
7. Andrews N, File SE. Handling history rats modifies behavioural effects of drug in the elevated plus maze test of anxiety. *Eur J Pharmacol* 1993;235:109–12.
8. Bourin M, Dhonnchadha BA, Colombel MC, Dib M, Hascoet M. Cyamemazine as an anxiolytic drug on the elevated plus maze and light/dark paradigm in mice. *Behav Brain Res* 2001; 124:87–95.
9. Ngo Bum E, Soudi S, Ayissi ER, Dong C, Lakoulo NH, Maidawa F, et al. Anxiolytic activity evaluation of four medicinal plants from Cameroun. *Afr J Tradit Complement Altern Med* 2011;8:130–9.
10. Casarrubea M, Magnusson MS, Roy V, Arabo A, Sorbera F, Santangelo A, et al. Temporal patterns of rodent behavior in the elevated plus maze test. In: Spink AJ, Grieco F, Krips OE, Loijens LWS, Noldus LPJJ, Zimmerman PH, editors. *Proceedings of Measuring Behavior 2012* (Utrecht, The Netherlands, August 28–31, 2012), 2012:348–352.
11. Lister RG. Ethologically based animal models of anxiety disorders. *Pharmacol Ther* 1990;46:321–40.
12. Oviedo VM, Mildred GG, Rincon J, Guerrero MF. Effect of an extract of *Annona muricata* on central nervous system. *Pharmacologyonline* 2006;3:342–7.
13. Lister RG. The use of a plus-maze to measure anxiety in mouse. *Psychopharmacology* 1987;92:180–5.
14. Rodger RJ, Cao BJ, Dalvi A, Holmes A. Animal models of anxiety: an ethological perspective. *Braz J Med Biol Res* 1997;30:289–304.
15. Ngo Bum E, Taiwe GS, Moto FC, Ngoupaye GT, Nkantchoua GC, Pelanken MM, et al. Anticonvulsant, anxiolytic and sedative properties of the roots of *Nauclea latifolia* in mice. *Epilepsy Behav* 2009;15:434–40.
16. Ngo Bum E, Pelanken MM, Njikam N, Talla E, Taiwe GS, Nkantchoua GC, et al. The decoction of leaves of *Phyllanthus discoideus* possesses anticonvulsant and sedative properties in mice. *Int J Pharmacol* 2009;5:168–72.
17. Grundmann O, Nakajima J-I, Seo S, Butterweck V. Anti-anxiety effects of *Apocynum venetum* L. in the elevated plus maze test. *J Ethnopharmacol* 2007;110:406–11.
18. Olivier B, Zethof T, Pattij T, Boogaert MV, Oorschot RV, Leahy C, et al. Stress-induced hyperthermia and anxiety: pharmacological validation. *Eur J Pharmacol* 2003;463:117–32.
19. Graeff FG. Serotonin, the periaqueductal gray and panic. *Neur Biobehav Rev* 2004;28:239–59.