

RÉPUBLIQUE DU CAMEROUN

Paix-Travail-Patrie

UNIVERSITE DE YAOUNDÉ I

CENTRE DE RECHERCHE ET DE

FORMATION DOCTORALE EN SCIENCES,
TECHNOLOGIES ET GÉOSCIENCES

UNITÉ DE RECHERCHE ET DE FORMATION

DOCTORALE EN CHIMIE ET APPLICATIONS



REPUBLIC OF CAMEROON

Peace-Work-Fatherland

THE UNIVERSITY OF YAOUNDÉ I

POSTGRADUATE SCHOOL OF SCIENCES,
TECHNOLOGY AND GEOSCIENCES

RESEARCH AND POSTGRADUATE TRAINING

UNIT FOR CHEMISTRY AND APPLICATIONS

LABORATOIRE DES SUBSTANCES NATURELLES DES PLANTES ET DES

CHAMPIGNONS

THE FUNGUS AND PLANT NATURAL PRODUCTS LABORATORY

Etude chimique de deux plantes médicinales camerounaises, *Indigofera atriceps* et *Indigofera spicata* (Fabaceae) et évaluation des activités antibactériennes et inhibitrices de l'urease des composés isolés.

THÈSE

Présentée et soutenue publiquement en vue de l'obtention du diplôme de

Doctorat/Ph.D en Chimie Organique

Par

MOUAFON LAH Iliassou

Matricule : 05T449

Master en Chimie Organique

Sous la direction de :

NGADJUI TCHALEU Bonaventure

Professeur, Université de Yaoundé 1



Année: 2021

REPUBLIQUE DU CAMEROUN
Paix-Travail-Patrie

UNIVERSITÉ DE YAOUNDÉ I

FACULTÉ DES SCIENCES



REPUBLIC OF CAMEROON
Peace-Work-Fatherland

THE UNIVERSITY OF YAOUNDE I

FACULTY OF SCIENCE

DEPARTEMENT DE CHIMIE ORGANIQUE
DEPARTMENT OF ORGANIC CHEMISTRY

ATTESTATION DE CORRECTION DE MEMOIRE DE THESE DE DOCTORAT/Ph.D DE

Monsieur MOUAFON LAH Iliassou

TITRE DE THESE: Etude chimique de deux plantes médicinales camerounaises, *Indigofera atriceps* et *Indigofera spicata* (Fabaceae) et évaluation des activités antibactériennes et inhibitrices de l'uréase des composés isolés.

Nous soussignés, enseignants ci-dessous nommés, membres du jury de soutenance de thèse de Doctorat/Ph.D de Monsieur MOUAFON LAH Iliassou, Matricule 05T449, attestons que ce candidat a bel et bien pris en compte dans la mouture finale de sa thèse, toutes corrections et recommandations qui lui ont été faites au cours de sa soutenance en date du 20 Décembre 2021.

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

Fait à Yaoundé, le

Le Jury :

Le Président

NGUELA Silvère Augustin,
Professeur

Le rapporteur

NGADJUI TCHALEU Bonaventure,
Professeur

Les membres

KAPCHE WABO FOTSO Gilbert,
Professeur

FEKAM BOYOM Fabrice,
Professeur

NGO MBING Joséphine épouse
PEGNYEMB,
Maître de Conférences

MELI LANNANG Alain,
Maître de Conférences

UNIVERSITÉ DE YAOUNDÉ I

Faculté des Sciences

Division de la Programmation et du
Suivi des Activités Académiques



THE UNIVERSITY OF YAOUNDE I

Faculty of Science

Division of Programming and Follow-up
of Academic Affairs

LISTE DES ENSEIGNANTS PERMANENTS LIST OF PERMANENT TEACHING STAFF

ANNÉE ACADEMIQUE 2021/2022

(Par Département et par Grade)

DATE D'ACTUALISATION 22 septembre 2021

ADMINISTRATION

DOYEN : TCHOUANKEU Jean- Claude, *Maître de Conférences*

VICE-DOYEN / DPSAA : ATCHADE Alex de Théodore, *Maître de Conférences*

VICE-DOYEN / DSSE : NYEGUE Maximilienne Ascension, *Professeur*

VICE-DOYEN / DRC : ABOSSOLO Monique, *Maître de Conférences*

Chef Division Administrative et Financière : NDOYE FOE Florentine Marie Chantal,
Maître de Conférences

Chef Division des Affaires Académiques, de la Scolarité et de la Recherche DAASR :
AJEAGAH Gideon AGHAINDUM, *Professeur*

1- DÉPARTEMENT DE BIOCHIMIE (BC) (38)

N°	NOMS ET PRÉNOMS	GRADE	OBSERVATIONS
1	BIGOGA DAIGA Jude	Professeur	En poste
2	FEKAM BOYOM Fabrice	Professeur	En poste
3	FOKOU Elie	Professeur	En poste
4	KANSKI Germain	Professeur	En poste
5	MBACHAM FON Wilfried	Professeur	En poste
6	MOUNDIPA FEWOU Paul	Professeur	Chef de Département
7	NINTCHOM PENLAP V. épse BENG	Professeur	En poste
8	OBEN Julius ENYONG	Professeur	En poste
9	ACHU Merci BIH	Maître de Conférences	En poste
10	ATOGHO Barbara Mma	Maître de Conférences	En poste
11	AZANTSA KINGUE GABIN BORIS	Maître de Conférences	En poste
12	BELINGA née NDOYE FOE F. M. C.	Maître de Conférences	Chef DAF / FS
13	BOUDJEKO Thaddée	Maître de Conférences	En poste
14	DJUIDJE NGOUNOU Marcelline	Maître de Conférences	En poste
15	EFFA ONOMO Pierre	Maître de Conférences	En poste

Liste officielle des Enseignants de la Faculté des Sciences

16	EWANE Cécile Anne	Maître de Conférences	En poste
17	MOFOR née TEUGWA Clotilde	Maître de Conférences	Inspecteur de Service MINESUP
18	NANA Louise épouse WAKAM	Maître de Conférences	En poste
19	NGONDI Judith Laure	Maître de Conférences	En poste
20	NGUEFACK Julienne	Maître de Conférences	En poste
21	NJAYOU Frédéric Nico	Maître de Conférences	En poste
22	TCHANA KOUATCHOUA Angèle	Maître de Conférences	En poste

23	AKINDEH MBUH NJI	Chargé de Cours	En poste
24	BEBEE Fadimatou	Chargée de Cours	En poste
25	BEBOY EDJENGUELE Sara Nathalie	Chargé de Cours	En poste
25	DAKOLE DABOY Charles	Chargé de Cours	En poste
26	DJUIKWO NKONGA Ruth Viviane	Chargée de Cours	En poste
27	DONGMO LEKAGNE Joseph Blaise	Chargé de Cours	En poste
28	FONKOUA Martin	Chargé de Cours	En poste
29	KOTUE KAPTUE Charles	Chargé de Cours	En poste
30	LUNGA Paul KEILAH	Chargé de Cours	En poste
31	MANANGA Marlyse Joséphine	Chargée de Cours	En poste
32	MBONG ANGIE M. Mary Anne	Chargée de Cours	En poste
33	Palmer MASUMBE NETONGO	Chargé de Cours	En poste
34	PECHANGOU NSANGOU Sylvain	Chargé de Cours	En poste

35	MBOUCHE FANMOE Marceline Joëlle	Assistante	En poste
36	OWONA AYISSI Vincent Brice	Assistant	En poste
37	WILFRIED ANGIE Abia	Assistante	En poste

2- DÉPARTEMENT DE BIOLOGIE ET PHYSIOLOGIE ANIMALES (BPA) (46)

1	AJEAGAH Gideon AGHAINDUM	Professeur	DAARS/FS
2	BILONG BILONG Charles-Félix	Professeur	Chef de Département
3	DIMO Théophile	Professeur	En Poste
4	DJIETO LORDON Champlain	Professeur	En Poste
5	DZEUFLET DJOMENI Paul Désiré	Professeur	En Poste
6	ESSOMBA née NTSAMA MBALA	Professeur	Vice Doyen/FMSB/UYI
7	FOMENA Abraham	Professeur	En Poste
8	KAMTCHOUING Pierre	Professeur	En poste
9	KEKEUNOU Sévilor	Professeur	En poste
10	NJAMEN Dieudonné	Professeur	En poste
11	NJIOKOU Flobert	Professeur	En Poste
12	NOLA Moïse	Professeur	En poste

Liste officielle des Enseignants de la Faculté des Sciences

13	TAN Paul VERNYUY	Professeur	En poste
14	TCHUEM TCHUENTE Louis Albert	Professeur	<i>Inspecteur de service</i> <i>Coord.Progr./MINSANTE</i>
15	ZEBAZE TOGOUET Serge Hubert	Professeur	<i>En poste</i>

16	BILANDA Danielle Claude	Maître de Conférences	En poste
17	DJIOGUE Séfirin	Maître de Conférences	En poste
18	JATSA BOUKENG Hermine épse MEGAPTCHÉ	Maître de Conférences	En Poste
19	LEKEUFACK FOLEFACK Guy B.	Maître de Conférences	En poste
20	MEGNEKOU Rosette	Maître de Conférences	En poste
21	MONY Ruth épse NTONE	Maître de Conférences	En Poste
22	NGUEGUIM TSOFAK Florence	Maître de Conférences	En poste
23	TOMBI Jeannette	Maître de Conférences	En poste

24	ALENE Désirée Chantal	Chargée de Cours	En poste
25	ATSAMO Albert Donatien	Chargé de Cours	En poste
26	BELLET EDIMO Oscar Roger	Chargé de Cours	En poste
27	DONFACK Mireille	Chargée de Cours	En poste
28	ETEME ENAMA Serge	Chargé de Cours	En poste
29	GOUNOUE KAMKUMO Raceline	Chargée de Cours	En poste
30	KANDEDA KAVAYE Antoine	Chargé de Cours	En poste
31	MAHOB Raymond Joseph	Chargé de Cours	En poste
32	MBENOUN MASSE Paul Serge	Chargé de Cours	En poste
33	MOUNGANG Luciane Marlyse	Chargée de Cours	En poste
34	MVEYO NDANKEU Yves Patrick	Chargé de Cours	En poste
35	NGOULATEU KENFACK Omer Bébé	Chargé de Cours	En poste
36	NGUEMBOK	Chargé de Cours	En poste
37	NJUA Clarisse Yafi	Chargée de Cours	Chef Div. UBA
38	NOAH EWOTI Olive Vivien	Chargée de Cours	En poste
39	TADU Zephyrin	Chargé de Cours	En poste
40	TAMSA ARFAO Antoine	Chargé de Cours	En poste
41	YEDE	Chargé de Cours	En poste

42	BASSOCK BAYIHA Etienne Didier	Assistant	En poste
43	ESSAMA MBIDA Désirée Sandrine	Assistante	En poste
44	KOGA MANG DOBARA	Assistant	En poste
45	LEME BANOCK Lucie	Assistante	En poste
46	YOUNOUSSA LAME	Assistant	En poste

3- DÉPARTEMENT DE BIOLOGIE ET PHYSIOLOGIE VÉGÉTALES (BPV) (31)

1	AMBANG Zachée	Professeur	Chef Division/UYII
2	BELL Joseph Martin	Professeur	En poste
3	DJOCGOUE Pierre François	Professeur	En poste
4	MBOLO Marie	Professeur	En poste
5	MOSSEBO Dominique Claude	Professeur	En poste
6	YOUMBI Emmanuel	Professeur	Chef de Département
7	ZAPFACK Louis	Professeur	En poste

8	ANGONI Hyacinthe	Maître de Conférences	En poste
9	BIYE Elvire Hortense	Maître de Conférences	En poste
10	MALA Armand William	Maître de Conférences	En poste
11	MBARGA BINDZI Marie Alain	Maître de Conférences	CT/ MINESUP
12	NDONGO BEKOLO	Maître de Conférences	CE / MINRESI
13	NGODO MELINGUI Jean Baptiste	Maître de Conférences	En poste
14	NGONKEU MAGAPTCHE Eddy L.	Maître de Conférences	En poste
15	TONFACK Libert Brice	Maître de Conférences	En poste
16	TSOATA Esaie	Maître de Conférences	En poste

17	DJEUANI Astride Carole	Chargé de Cours	En poste
18	GOMANDJE Christelle	Chargée de Cours	En poste
19	MAFFO MAFFO Nicole Liliane	Chargé de Cours	En poste
20	MAHBOU SOMO TOUKAM. Gabriel	Chargé de Cours	En poste
21	NGALLE Hermine BILLE	Chargée de Cours	En poste
22	NNANGA MEBENGA Ruth Laure	Chargé de Cours	En poste
23	NOUKEU KOUAKAM Armelle	Chargé de Cours	En poste
24	ONANA JEAN MICHEL	Chargé de Cours	En poste

25	GODSWILL NTSOMBOH NTSEFONG	Assistant	En poste
26	KABELONG BANAHOU Louis-Paul-Roger	Assistant	En poste
27	KONO Léon Dieudonné	Assistant	En poste
28	LIBALAH Moses BAKONCK	Assistant	En poste
29	LIKENG-LI-NGUE Benoit C	Assistant	En poste
30	TAEDOUNG Evariste Hermann	Assistant	En poste
31	TEMEGNE NONO Carine	Assistant	En poste

4- DÉPARTEMENT DE CHIMIE INORGANIQUE (CI) (33)

1	AGWARA ONDOH Moïse	Professeur	<i>Chef de Département</i>
2	DJOUFAC WOUMFO Emmanuel	Professeur	En poste
3	Florence UFI CHINJE épouse MELO	Professeur	<i>Recteur Univ.Ngaoundere</i>
4	GHOGOMU Paul MINGO	Professeur	<i>Ministre Chargé de Miss.PR</i>
5	NANSEU Njiki Charles Péguy	Professeur	En poste
6	NDIFON Peter TEKE	Professeur	<i>CT MINRESI</i>
7	NDIKONTAR Maurice KOR	Professeur	<i>Vice-Doyen Univ. Bamenda</i>
8	NENWA Justin	Professeur	En poste
9	NGAMENI Emmanuel	Professeur	<i>DOYEN FS UDs</i>
10	NGOMO Horace MANGA	Professeur	<i>Vice Chancellor/UB</i>

11	ACAYANKA Elie	Maître de Conférences	En poste
12	BABALE née DJAM DOUDOU	Maître de Conférences	<i>Chargée Mission P.R.</i>
13	EMADACK Alphonse	Maître de Conférences	En poste
14	KAMGANG YOUBI Georges	Maître de Conférences	En poste
15	KEMMEGNE MBOUGUEM Jean C.	Maître de Conférences	En poste
16	KONG SAKEO	Maître de Conférences	En poste
17	NDI NSAMI Julius	Maître de Conférences	En poste
18	NJOMOU C. épouse DJANGANG	Maître de Conférences	En poste
19	NJOYA Dayirou	Maître de Conférences	En poste
20	TCHAKOUTE KOUAMO Hervé	Maître de Conférences	En poste

21	BELIBI BELIBI Placide Désiré	Chargé de Cours	CS/ ENS Bertoua
22	CHEUMANI YONA Arnaud M.	Chargé de Cours	En poste
23	KENNE DEDZO GUSTAVE	Chargé de Cours	En poste
24	KOUOTOU DAOUDA	Chargé de Cours	En poste
25	MAKON Thomas Beauregard	Chargé de Cours	En poste
26	MBEY Jean Aime	Chargé de Cours	En poste
27	NCHIMI NONO KATIA	Chargé de Cours	En poste
28	NEBAH Née NDOSIRI Bridget NDOYE	Chargée de Cours	CT/ MINPROFF
29	NYAMEN Linda Dyorisse	Chargée de Cours	En poste
30	PABOUDAM GBAMBIE A.	Chargée de Cours	En poste

31	NJANKWA NJABONG N. Eric	Assistant	En poste
32	PATOUOSSA ISSOFA	Assistant	En poste
33	SIEWE Jean Mermoz	Assistant	En Poste

5- DÉPARTEMENT DE CHIMIE ORGANIQUE (CO) (40)			
1	DONGO Etienne	Professeur	Vice-Doyen/FSE/UIYI
2	GHOGOMU TIH Robert Ralph	Professeur	Dir. IBAF/UDA
3	NGOUELA Silvère Augustin	Professeur	Chef de Département UDS
4	NYASSE Barthélemy	Professeur	En poste
5	PEGNYEMB Dieudonné Emmanuel	Professeur	Directeur/ MINESUP/ Chef de Département
6	WANDJI Jean	Professeur	En poste

7	Alex de Théodore ATCHADE	Maître de Conférences	Vice-Doyen / DPSAA
8	AMBASSA Pantaléon	Maître de Conférences	En poste
9	EYONG Kenneth OBEN	Maître de Conférences	En poste
10	FOLEFOC Gabriel NGOSONG	Maître de Conférences	En poste
11	FOTSO WABO Ghislain	Maître de Conférences	En poste
12	KEUMEDJIO Félix	Maître de Conférences	En poste
13	KENMOGNE Marguerite	Maître de Conférences	En poste
14	KOUAM Jacques	Maître de Conférences	En poste
15	MBAZOA née DJAMA Céline	Maître de Conférences	En poste
16	MKOUNGA Pierre	Maître de Conférences	En poste
17	MVOT AKAK CARINE	Maître de Conférences	En poste
18	NGO MBING Joséphine	Maître de Conférences	Sous/Direct. MINERESI
19	NGONO BIKOBO Dominique Serge	Maître de Conférences	C.E/ MINESUP
20	NOTE LOUGBOT Olivier Placide	Maître de Conférences	C.S/ MINESUP
21	NOUNGOUE TCHAMO Diderot	Maître de Conférences	En poste
22	TABOPDA KUATE Turibio	Maître de Conférences	En poste
23	TAGATSING FOTSING Maurice	Maître de Conférences	En poste
24	TCHOUANKEU Jean-Claude	Maître de Conférences	Doyen /FS/ UYI
25	TIH née NGO BILONG E. Anastasie	Maître de Conférences	En poste
26	YANKEP Emmanuel	Maître de Conférences	En poste
27	ZONDEGOUMBA Ernestine	Maître de Conférences	En poste

28	KAMTO Eutrophe Le Doux	Chargé de Cours	En poste
29	NGNINTEDO Dominique	Chargé de Cours	En poste
30	NGOMO Orléans	Chargée de Cours	En poste
31	OUAHOUE WACHE Blandine M.	Chargée de Cours	En poste
32	SIELINOUE TEDJON Valérie	Chargé de Cours	En poste

33	MESSI Angélique Nicolas	Assistant	En poste
34	MUNVERA MFIFEN Aristide	Assistant	En poste
35	NONO NONO Éric Carly	Assistant	En poste
36	OUETE NANTCHOUANG Judith	Assistante	En poste
37	TCHAMGOUE Joseph	Assistant	En poste
38	TSAFFACK Maurice	Assistant	En poste
39	TSAMO TONTSA Armelle	Assistante	En poste
40	TSEMEUGNE Joseph	Assistant	En poste

6- DÉPARTEMENT D'INFORMATIQUE (IN) (25)

1	ATSA ETOUNDI Roger	Professeur	<i>Chef Div.MINESUP</i>
2	FOUDA NDJODO Marcel Laurent	Professeur	<i>Chef Dpt ENS/Chef IGA.MINESUP</i>
3	NDOUNDAM René	Maître de Conférences	En poste
4	ABESOLO ALO'O Gislain	Chargé de Cours	En poste
5	AMINOU Halidou	Chargé de Cours	<i>Chef de Département</i>
6	DJAM Xaviera YOUH - KIMBI	Chargé de Cours	En Poste
7	DOMGA KOMGUEM Rodrigue	Chargé de Cours	En poste
8	EBELE Serge Alain	Chargé de Cours	En poste
9	KOUOKAM KOUOKAM E. A.	Chargé de Cours	En poste
10	MELATAGIA YONTA Paulin	Chargé de Cours	En poste
11	MONTHÉ DJIADEU Valéry M.	Chargé de Cours	En poste
12	MOTO MPONG Serge Alain	Chargé de Cours	En poste
13	OLLE OLLE Daniel Claude Delort	Chargé de Cours	Directeur adjoint Enset. Ebolowa
14	TAPAMO Hyppolite	Chargé de Cours	En poste
15	TINDO Gilbert	Chargé de Cours	En poste
16	TSOPZE Norbert	Chargé de Cours	En poste
17	WAKU KOUAMOU Jules	Chargé de Cours	En poste
18	BAYEM Jacques Narcisse	Assistant	En poste
19	EKODECK Stéphane Gaël Raymond	Assistant	En poste
20	HAMZA Adamou	Assistant	En poste
21	JIOMEKONG AZANZI Fidel	Assistant	En poste
22	MAKEMBE. S . Oswald	Assistant	En poste
23	MESSI NGUELE Thomas	Assistant	En poste
24	MEYEMDOU Nadège Sylvianne	Assistante	En poste
25	NKONDOCK. MI. BAHANACK.N.	Assistant	En poste

7- DÉPARTEMENT DE MATHÉMATIQUES (MA) (30)

1	AYISSI Raoult Domingo	Professeur	Chef de Département
2	EMVUDU WONO Yves S.	Professeur	<i>Inspecteur MINESUP</i>
3	KIANPI Maurice	Maître de Conférences	En poste
4	MBANG Joseph	Maître de Conférences	En poste
5	MBEHOU Mohamed	Maître de Conférences	En poste
6	MBELE BIDIMA Martin Ledoux	Maître de Conférences	En poste
7	NKUIMI JUGNIA Célestin	Maître de Conférences	En poste

Liste officielle des Enseignants de la Faculté des Sciences

8	NOUNDJEU Pierre	Maître de Conférences	<i>Chef service des programmes & Diplômes/FS/UYI</i>
9	TCHAPNDA NJABO Sophonie B.	Maître de Conférences	Directeur/AIMS Rwanda
10	TCHOUNDJA Edgar Landry	Maître de Conférences	En poste

11	AGHOUKENG JIOFACK Jean Gérard	Chargé de Cours	Chef Cellule MINPLAMAT
12	CHENDJOU Gilbert	Chargé de Cours	En poste
13	DJIADEU NGAHA Michel	Chargé de Cours	En poste
14	DOUANLA YONTA Herman	Chargé de Cours	En poste
15	FOMEKONG Christophe	Chargé de Cours	En poste
16	KIKI Maxime Armand	Chargé de Cours	En poste
17	MBAKOP Guy Merlin	Chargé de Cours	En poste
18	MENGUE MENGUE David Joe	Chargé de Cours	En poste
19	NGUEFACK Bernard	Chargé de Cours	En poste
20	NIMPA PEFOUKEU Romain	Chargée de Cours	En poste
21	POLA DOUNDOU Emmanuel	Chargé de Cours	En poste
22	TAKAM SOH Patrice	Chargé de Cours	En poste
23	TCHANGANG Roger Duclos	Chargé de Cours	En poste
24	TETSADJIO TCHILEPECK M. E.	Chargé de Cours	En poste
25	TIAYA TSAGUE N. Anne-Marie	Chargée de Cours	En poste

26	BITYE MVONDO Esther Claudine	Assistante	En poste
27	MBATAKOU Salomon Joseph	Assistant	En poste
28	MBIAKOP Hilaire George	Assistant	En poste
29	MEFENZA NOUNTU Thiery	Assistant	En poste
30	TCHEUTIA Daniel Duviol	Assistant	En poste

8- DÉPARTEMENT DE MICROBIOLOGIE (MIB) (18)

1	ESSIA NGANG Jean Justin	Professeur	<i>Chef de Département</i>
2	NYEGUE Maximilienne Ascension	Professeur	<i>VICE-DOYEN / DSSE</i>
3	NWAGA Dieudonné M.	Professeur	En poste

4	ASSAM ASSAM Jean Paul	Maître de Conférences	En poste
5	BOYOMO ONANA	Maître de Conférences	En poste
6	RIWOM Sara Honorine	Maître de Conférences	En poste
7	SADO KAMDEM Sylvain Leroy	Maître de Conférences	En poste

8	BODA Maurice	Chargé de Cours	En poste
---	--------------	-----------------	----------

Liste officielle des Enseignants de la Faculté des Sciences

9	BOUGNOM Blaise Pascal	Chargé de Cours	En poste
10	ESSONO OBOUGOU Germain G.	Chargé de Cours	En poste
11	NJIKI BIKOÏ Jacky	Chargée de Cours	En poste
12	TCHIKOUA Roger	Chargé de Cours	En poste

13	ESSONO Damien Marie	Assistant	En poste
14	LAMYE Glory MOH	Assistant	En poste
15	MEYIN A EBONG Solange	Assistante	En poste
16	NKOUDOU ZE Nardis	Assistant	En poste
17	SAKE NGANE Carole Stéphanie	Assistante	En poste
18	TOBOLBAÏ Richard	Assistant	En poste

9. DEPARTEMENT DE PYSIQUE(PHY) (44)

1	BEN- BOLIE Germain Hubert	Professeur	En poste
2	DJUIDJE KENMOE épouse ALOYEM	Professeur	En poste
3	EKOBENA FOU DA Henri Paul	Professeur	<i>Vice-Recteur. UN</i>
4	ESSIMBI ZOBO Bernard	Professeur	En poste
5	KOFANE Timoléon Crépin	Professeur	En poste
6	NANA ENGO Serge Guy	Professeur	En poste
7	NANA NBENDJO Blaise	Professeur	En poste
8	NDJAKA Jean Marie Bienvenu	Professeur	Chef de Département
9	NJANDJOCK NOUCK Philippe	Professeur	En poste
10	NOUAYOU Robert	Professeur	En poste
11	PEMHA Elkana	Professeur	En poste
12	TABOD Charles TABOD	Professeur	Doyen FS Univ/Bda
13	TCHAWOUA Clément	Professeur	En poste
14	WOAFO Paul	Professeur	En poste
15	ZEKENG Serge Sylvain	Professeur	En poste

16	BIYA MOTTO Frédéric	Maître de Conférences	DG/HYDRO Mekin
17	BODO Bertrand	Maître de Conférences	En poste
18	ENYEGUE A NYAM épse	Maître de Conférences	En poste
19	EYEBE FOU DA Jean sire	Maître de Conférences	En poste
20	FEWO Serge Ibraïd	Maître de Conférences	En poste
21	HONA Jacques	Maître de Conférences	En poste
22	MBANE BIOUELE César	Maître de Conférences	En poste
23	MBINACK Clément	Maître de Conférences	En poste
24	NDOP Joseph	Maître de Conférences	En poste
25	SAIDOU	Maître de Conférences	MINRESI
26	SIEWE SIEWE Martin	Maître de Conférences	En poste

Liste officielle des Enseignants de la Faculté des Sciences

27	SIMO Elie	Maître de Conférences	En poste
28	VONDOU Derbetini Appolinaire	Maître de Conférences	En poste
29	WAKATA née BEYA Annie	Maître de Conférences	<i>Directeur/ENS/UJI</i>

30	ABDOURAHIMI	Chargé de Cours	En poste
31	CHAMANI Roméo	Chargé de Cours	En poste
32	EDONGUE HERVAIS	Chargé de Cours	En poste
33	FOUEDJIO David	Chargé de Cours	Chef Cell. MINADER
34	MBONO SAMBA Yves Christian U.	Chargé de Cours	En poste
35	MEL'I Joelle Larissa	Chargée de Cours	En poste
36	MVOGO ALAIN	Chargé de Cours	En poste
37	OBOUNOU Marcel	Chargé de Cours	DA/Univ Inter Etat/Sangmalima
38	WOULACHE Rosalie Laure	Chargée de Cours	En poste

39	AYISSI EYEBE Guy François Valérie	Assistant	En poste
40	DJOTANG TCHOTCHOU Lucie Angennes	Assistante	En poste
41	LAMARA Maurice	Assistant	En poste
42	OTTOU ABE Martin Thierry	Assistant	En poste
43	TEYOU NGOUPOU Ariel	Assistant	En poste
44	WANDJI NYAMSI William	Assistant	En poste

10- DÉPARTEMENT DE SCIENCES DE LA TERRE (ST) (43)

1	BITOM Dieudonné	Professeur	<i>Doyen / FASA / UDs</i>
2	FOUATEU Rose épse YONGUE	Professeur	En poste
3	NDAM NGOUPAYOU Jules-Remy	Professeur	En poste
4	NDJIGUI Paul Désiré	Professeur	Chef de Département
5	NGOS III Simon	Professeur	En poste
6	NKOUMBOU Charles	Professeur	En poste
7	NZENTI Jean-Paul	Professeur	En poste

8	ABOSSOLO née ANGUE Monique	Maître de Conférences	<i>Vice-Doyen / DRC</i>
9	BISSO Dieudonné	Maître de Conférences	<i>Directeur/Projet Barrage Memve'ele</i>
10	EKOMANE Emile	Maître de Conférences	En poste
11	GANNO Sylvestre	Maître de Conférences	En poste
12	GHOGOMU Richard TANWI	Maître de Conférences	CD/Uma
13	MOUNDI Amidou	Maître de Conférences	<i>CT/ MINIMDT</i>
14	NGUEUTCHOUA Gabriel	Maître de Conférences	CEA/MINRESI
15	NJILAH Isaac KONFOR	Maître de Conférences	En poste
16	NYECK Bruno	Maître de Conférences	En poste
17	ONANA Vincent Laurent	Maître de Conférences	<i>Chef service Maintenance & du</i>

Liste officielle des Enseignants de la Faculté des Sciences

			<i>Matériel/UYII</i>
18	TCHAKOUNTE J. épouse NUMBEM	Maître de Conférences	<i>Chef.cell / MINRESI</i>
19	TCHOUANKOUE Jean-Pierre	Maître de Conférences	En poste
20	TEMDJIM Robert	Maître de Conférences	En poste
21	YENE ATANGANA Joseph Q.	Maître de Conférences	<i>Chef Div. /MINTP</i>
22	ZO'O ZAME Philémon	Maître de Conférences	<i>DG/ART</i>

23	ANABA ONANA Achille Basile	Chargé de Cours	En poste
24	BEKOA Etienne	Chargé de Cours	En poste
25	ELISE SABABA	Chargé de Cours	En poste
26	ESSONO Jean	Chargé de Cours	En poste
27	EYONG JOHN TAKEM	Chargé de Cours	En poste
28	FUH Calistus Gentry	Chargé de Cours	<i>Sec. D'Etat/MINMIDT</i>
29	LAMILLEN BILLA Daniel	Chargé de Cours	En poste
30	MBESSE CECILE OLIVE	Chargée de Cours	En poste
31	MBIDA YEM	Chargé de Cours	En poste
32	METANG Victor	Chargé de Cours	En poste
33	MINYEM Dieudonné-Lucien	Chargé de Cours	<i>CD/Uma</i>
34	NGO BELNOUN Rose Noël	Chargée de Cours	En poste
35	NGO BIDJECK Louise Marie	Chargée de Cours	En poste
36	NOMO NEGUE Emmanuel	Chargé de Cours	En poste
37	NTSAMA ATANGANA Jacqueline	Chargé de Cours	En poste
38	TCHAPTCHET TCHATO De P.	Chargé de Cours	En poste
39	TEHNA Nathanaël	Chargé de Cours	En poste
40	TEMGA Jean Pierre	Chargé de Cours	En poste

41	FEUMBA Roger	Assistant	En poste
42	MBANGA NYOBE Jules	Assistant	En poste

Répartition chiffrée des Enseignants de la Faculté des Sciences de l'Université de Yaoundé I

NOMBRE D'ENSEIGNANTS

DÉPARTEMENT	Professeurs	Maîtres de Conférences	Chargés de Cours	Assistants	Total
BCH	8 (01)	14 (10)	13 (05)	3 (02)	38 (18)
BPA	15 (01)	8 (06)	18 (05)	05 (02)	46 (14)
BPV	07 (01)	9 (01)	8 (06)	07 (01)	31 (9)
CI	10 (01)	10 (02)	10 (02)	03 (0)	33 (5)
CO	6 (0)	21 (05)	05 (02)	08 (02)	40 (9)
IN	2 (0)	1 (0)	14 (01)	08 (01)	25 (2)
MAT	2 (0)	8 (0)	15 (01)	05 (02)	30 (3)
MIB	3 (0)	4 (02)	05 (01)	06 (02)	18 (5)
PHY	15 (0)	14 (02)	09 (03)	06 (01)	44 (6)
ST	7 (1)	15 (01)	18 (05)	02 (0)	42 (7)
Total	75 (5)	104 (29)	115 (31)	53 (13)	347 (82)

Soit un total de **347 (82)** dont :

- Professeurs **75 (5)**
- Maîtres de Conférences **104 (29)**
- Chargés de Cours **115 (31)**
- Assistants **53 (13)**

() = Nombre de Femmes **82**

Déclaration

Je soussigné, MOUAFON LAH Iliassou (Matricule 05T449), titulaire d'un Master en Chimie Organique et étudiant en cycle de Doctorat, déclare que le travail présenté dans cette thèse est original et n'a jamais fait l'objet d'une quelconque soutenance. Cependant, bien qu'il soit le fruit de plusieurs collaborations, tout l'effort a été fait afin de reconnaître à travers des remerciements, le travail de chaque chercheur impliqué. Par ailleurs, toutes les sources utilisées ont été référencées.

Yaoundé, le.....

MOUAFON LAH Iliassou

En ma qualité de Directeur de thèse de Monsieur MOUAFON LAH Iliassou, je certifie qu'à ma connaissance, les informations ci-dessus mentionnées sont vraies.

Yaoundé, le.....

NGADJUI TCHALEU Bonaventure
Professeur
Université de Yaoundé I

Dédicaces

Je dédie cette thèse à :

- mes feux parents;
- mon épouse Mme **MOUAFON née MANDU Laïla**;
- mes enfants **NZIE Aïcha, MAKOUET Khaïra et MEFIRE Lina.**

Remerciements

Je tiens à adresser ma profonde gratitude à tous ceux qui de prêt ou de loin ont contribué à la production de la présente thèse.

Je voudrais tout d'abord adresser ma profonde gratitude au *Professeur NGADJUI TCHALEU Bonaventure* pour l'opportunité qu'il m'a donnée en acceptant de m'accompagner et de m'encadrer tout au long de ce travail. Ses encouragements et ses conseils ont été d'un apport précieux pour la conduite de bout en bout de cette thèse.

Ma gratitude va également au *Professeur KOUAM FOGUE Siméon*, en service au département de Chimie de l'école Normale Supérieure de Yaoundé, pour m'avoir chaleureusement accueilli dans son équipe de recherche. Il m'a fait bénéficier de sa grande expérience, de ses connaissances dans le domaine de la recherche et surtout du matériel et des multiples financements reçus dans son laboratoire. Il a su me conduire sur le chemin du travail et de la rigueur. Je prie beaucoup, cher *Professeur*, que vous ayez continuellement de l'énergie nécessaire pour la formation d'autres chercheurs.

Je remercie le *Professeur Muhammad Shaiq Ali*, Vice-directeur du Centre International des Sciences Chimique et Biologique (ICCBS) de Karachi au Pakistan, pour m'avoir donné l'opportunité d'intégrer son équipe de recherche durant mes séjours dans leur Centre de recherche.

Je remercie le *Professeur NKENGFACK Augustin Ephrem*, ancien Chef de Département de Chimie Organique, pour son dynamisme exceptionnel, son dévouement, sa disponibilité et pour tous les efforts consentis dans l'encadrement des étudiants malgré ses multiples occupations. Ses encouragements et conseils ont été très utiles dans l'accomplissement de ce travail.

Je remercie également tout le personnel Enseignant de Chimie de l'Université de Yaoundé I pour la formation académique prodiguée, plus particulièrement les *Professeurs MBOUOMBOU NDASSA Ibrahim, KAPCHE Deccaux et LENTA Bruno* pour leur soutien.

Ma profonde reconnaissance va également aux Docteurs **MOUNTESSOU BEL Youssouf, TCHAMGOUE Joseph, WEMBE Alain, CHENDA Laurice, NGANDJUI TCHANGOUE Yvan et WOUAMBA Steven** pour leurs aides multiformes.

Je remercie également tous les étudiants chercheurs de l'équipe de recherche du *Professeur KOUAM*, notamment **MBOBDA Alexis, ANOUMEDEM Elodie, Kemgni Mireille, ANABA Françoise** pour leurs encouragements et leur esprit d'équipe.

Remerciements

Ma gratitude s'adresse également aux organismes suivants: la TWAS (The World Academy of Science) pour le séjour de six mois accordé au centre ICCBS du Pakistan et pour le financement de notre Laboratoire; la Fondation Humboldt pour l'équipement offert à notre laboratoire et pour les multiples séminaires organisés en collaboration avec notre équipe de recherche; la DAAD (German Academic Exchange Service) pour le soutien financier accordé à notre laboratoire et pour le moteur de recherche Sci-Finder accordé au département de Chimie de l'école Normale de Yaoundé à travers le programme YaBiNaPa; le Laboratoire de Recherche Multidisciplinaire de l'université Bahira du Pakistan pour les tests biologiques.

J'exprime ma profonde gratitude au *Professeur Moyouwou Issoufa*, Enseignant au Département de Mathématiques de l'École Normale Supérieure de Yaoundé, pour le soutien et les encouragements sans cesse renouvelés tout au long de ce travail.

Je tiens à remercier mon oncle **LINJOUOM Soule**, en service au MINEPAT pour son soutien multiforme et ses encouragements tout au long de ce travail.

Je remercie également le Commissaire Divisionnaire **Mogham Mamouda**, Chef de Centre Secondaire de Production des Titres Identitaires de Garoua, pour son soutien multiforme tout au long de ce travail.

Ma profonde Gratitude à la famille **Nsapgouo** pour leur affection et pour tous les conseils et soutiens consentis à ma personne.

Mes remerciements à toute la famille **Lah** pour leur encouragement et leur affection et particulièrement à ma grande Sœur **Ghatabe Fadimatou** pour son soutien et mon petit frère **Tanegnigni Lah Seidou** pour son accompagnement lors des récoltes des plantes étudiées dans le cadre de ce travail.

Ma profonde gratitude à toute la grande famille **Njitaponzié** à Mayarou pour leur affection et leurs encouragements.

Mes remerciements à la famille **Panchouneme** pour leur affection et pour leur encouragement.

Je tiens à remercier également tous mes amis pour leur soutien et encouragements, plus particulièrement, **Dr ESSOUNG EHAWA Flore**, **KUTFON Ahmed**, **MVondo AKONO Philippe**, **FOZING Ariane Chislaine**, **ZE Wilfrid**, **MOUNCHILI Abdel Wohab** et **MEINGUI Marie Laure** pour leurs affection et accompagnement tout au long de ce travail.

A tous mes camarades de promotion, j'exprime ma reconnaissance pour toutes les discussions constructives que nous avons partagés.

Remerciements

J'exprime ma gratitude à tous les membres du jury pour n'avoir ménagé aucun effort pour examiner ce travail.

Finalement, un grand merci à tous ceux qui me sont chers et que je n'ai pas pu citer, que ce travail soit un motif de fierté pour vous

Liste officielle des Enseignants de la Faculté des Sciences	i
Déclaration	xiii
Dédicaces	xiv
Remerciements	xv
Liste des abréviations et symboles	xx
Liste des figures	xxii
Liste des schémas	xxvi
Liste des tableaux	xxvii
Résumé	xxx
Abstract	xxxii
Introduction générale.....	1
CHAPITRE I : REVUE DE LA LITTÉRATURE.....	4
I.1. GÉNÉRALITÉS SUR LE GENRE <i>INDIGOFERA</i> (FABACEAE).....	5
I.1.1. Aperçu botanique des Fabaceae.....	5
I.1.2. Aperçu botanique sur le genre <i>Indigofera</i>	5
I.1.3. Aperçu botanique sur <i>Indigofera atriceps</i> et <i>Indigofera spicata</i>	6
I.1.4. Quelques usages des espèces du genre <i>indigofera</i>	10
I.2. TRAVAUX ANTERIEURES SUR LE GENRE <i>INDIGOFERA</i>	11
I.2.1. Travaux chimiques antérieurs	11
I.2.2. Travaux biologiques antérieurs sur le genre <i>Indigofera</i>	33
CHAPITRE II : RÉSULTATS ET DISCUSSION	40
II.1. ETUDE CHIMIQUE	41
II.1.1. Matériel végétal, extraction et isolement des produits	41
II.1.2. Analyse structurale des composés isolés des deux plantes.....	45
II.1.3. Lien biogénétique entre les composés isolés des deux plantes.....	144
II.2. ETUDE BIOLOGIQUE DE QUELQUES COMPOSES ISOLES	145
II.2.1. Activités antimicrobiennes	145
II.2.2. Activités d'inhibition de l'uréase	147
CONCLUSION ET PERSPECTIVES	149
CHAPITRE III : PARTIE EXPERIMENTALE	152
III.1 APPAREILLAGE ET MATERIEL VEGETAL.....	153
III.1.1 Appareillage	153
III.1.2. Matériel végétal.....	154
III.2. EXTRACTION ET ISOLEMENT DES COMPOSES	154

III.2.1. Extraction et isolement des composés de <i>I. atriceps</i>	154
III.2.2. Extraction et isolement des composés de <i>I. spicata</i>	157
III.3. QUELQUES TESTS CARACTERISTIQUES UTILISES DANS L'IDENTIFICATION DES METABOLITES SECONDAIRES	159
III.3.1. Test au chlorure ferrique	159
III.3.2. Test de Shinoda	159
III.3.3. Test de Liebermann-Burchard.....	160
III.4. CARACTERISTIQUES PHYSICO-CHIMIQUE DES COMPOSES ISOLES	160
III.4.1. Les acides benzoïques	160
III.4.2. La stilbénoloïde	161
III.4.3. Les benzofuranes.....	161
III.4.4. Les flavonoïdes	162
III.4.5. Le cyclohexanol	163
III.4.6. Les stéroïdes	163
III.4.7. Les Triterpènes	165
III.4.8. La saponine	165
III.4.9. Les acides gras	166
III.5. EVALUATION DES ACTIVITES BIOLOGIQUES.....	166
III.5.1. Activités antimicrobiennes.....	166
III.5.2. Activités d'inhibition de l'enzyme uréase.....	167
Références	168
Liste des Publications.....	180

Liste des abréviations et symboles

[O]	Réaction d'oxydation
[Red]	Réaction de réduction
AcOEt	Acétate d'éthyle
AE	Acétate d'éthyle
CC	Chromatographie sur Colonne
CCM	Chromatographie sur Couche Mince
COSY	Correlation Spectroscopy
<i>d</i>	Doublet
DC	Dichroïsme Circulaire
<i>dd</i>	Doublet de doublet
DEPT	<i>Distortionless Enhancement by Polarisation Transfert</i>
DMSO- d_6	Diméthyl sulfoxide deutérié
EI	Electronic Impact
ESI	Electro Spray Ionisation
FPP	Farnésyl pyrophosphate
GPP	Géranyl pyrophosphate
Hex	Hexane
HMBC	Heteronuclear Multiple Bond Connectivity
HNC	Herbier National du Cameroun
HSQC	Heteronuclear Single Quantum Coherence Spectroscopy
HREIMS	High Resolution Electronic Impact Mass Spectrum
HRESIMS	High Resolution Electro Spray Ionisation Mass Spectrum
Hz	Hertz
IR	Infrarouge
LC-MS	Liquid chromatography-Mass spectrometry
<i>m</i>	Multiplet
MS	Mass Spectrum
ppm	Partie par million
RMN	Résonance Magnétique Nucléaire
RMN ^{13}C	Résonance Magnétique Nucléaire du carbone 13
RMN ^1H	Résonance magnétique nucléaire du proton
RMN-1D	Résonance magnétique nucléaire à une Dimension

Liste des abréviations et acronymes

RMN-2D	Résonance magnétique nucléaire à deux Dimensions
TMS	Tétraméthylsilane
UV	Ultraviolet-visible

Liste des figures

Figure 1. Image d'une tige de <i>Indigofera atriceps</i> (Photo Iliassou, 2017).....	7
Figure 2. Image de <i>Indigofera spicata</i> . (Photo Iliassou, 2017).	8
Figure 3. Squelette de base des flavonoïdes.	17
Figure 4. Structure générale des stilbènes sous leurs formes cis à gauche et trans à droite.	21
Figure 5. Spectre de Masse (ESI) à haute résolution en mode négatif du composé IAB3.	46
Figure 6. Spectre UV (MeOH) du composé IAB3.	47
Figure 7. Spectre IR (KBr) du composé IAB3.	47
Figure 8. Spectre de RMN ¹ H (CD ₃ OD, 600 MHz) du composé IAB3.	48
Figure 9. Spectre RMN ¹³ C (CD ₃ OD, 150 MHz) du composé IAB3.	49
Figure 10. Spectre DEPT 135 (CD ₃ OD, 150 MHz) du composé IAB3.	49
Figure 11. Spectre DEPT 90 (CD ₃ OD, 150 MHz) du composé IAB3.	49
Figure 12. Spectre HSQC du composé IAB3.	51
Figure 13. Spectre HMBC du composé IAB3.	52
Figure 14. Spectre NOESY du composé IAB3.	52
Figure 15. Spectre de masse (IE) du composé ISp7.	54
Figure 16. Spectre de RMN ¹ H (500 MHz, CDCl ₃) du composé ISp7.	55
Figure 17. Spectre HSQC du composé ISp7.	55
Figure 18. Spectre HMBC du composé ISp7.	56
Figure 19. Spectre de masse EI du composé IAB1.	58
Figure 20. Spectre de RMN ¹ H (800 MHz, CDCl ₃) du composé IAB1.	58
Figure 21. Spectre HMBC du composé IAB1.	59
Figure 22. Spectre de masse (ESI) à Haute résolution en mode négatif du composé IAB4.	61
Figure 23. Spectre UV (MeOH) du composé IAB4.	61
Figure 24. Spectre IR (KBr) du composé IAB4.	62
Figure 25. Spectre de RMN ¹ H (CD ₃ OD, 600 MHz, 25 °C) du composé IAB4.	63
Figure 26. Spectre RMN ¹³ C (CD ₃ OD, 150 MHz, 25 °C) du composé IAB4.	63
Figure 27. Spectre DEPT 135 (CD ₃ OD, 150 MHz, 25 °C) du composé IAB4.	64
Figure 28. Spectre DEPT 90 (CD ₃ OD, 150 MHz, 25 °C) du composé IAB4.	64
Figure 29. Spectre HSQC du composé IAB4.	66
Figure 30. Spectre HMBC du composé IAB4.	67
Figure 31. Spectre NOESY du composé IAB4.	68
Figure 32. Spectre de masse (ESI) en mode négatif du composé IAB5.	70
Figure 33. Spectre de RMN ¹ H (400 MHz, CD ₃ OD) du composé IAB5.	71

Figure 34. Spectre de RMN ¹³ C (100 MHz, CD ₃ OD) du composé IAB5.	71
Figure 35. Spectre DEPT-135 du composé IAB5.	72
Figure 36. Spectre de HSQC du composé IAB5.	73
Figure 37. Spectre de HMBC du composé IAB5.	73
Figure 38. Spectre de masse (ESI) à haute résolution en mode négatif du composé ISp5	75
Figure 39. Spectre UV du composé ISp5	76
Figure 40. Spectre IR du composé ISp5.....	76
Figure 41. Spectre de RMN ¹ H (CD ₃ OD, 400 MHz) du composé ISp5.....	77
Figure 42. Spectre de RMN ¹³ C (CD ₃ OD, 100 MHz) du composé ISp5	77
Figure 43. Spectre DEPT-135 du composé ISp5.....	78
Figure 44. Spectre DEPT-90 du composé ISp5.....	78
Figure 45. Spectre HSQC du composé ISp5	79
Figure 46. Spectre HMBC du composé ISp5	79
Figure 47. Spectre élargi de HMBC du composé ISp5	80
Figure 48. Spectre NOESY du composé ISp5.....	81
Figure 49. Spectre de masse (ESI) en mode positif du composé IAB9.....	83
Figure 50. Spectre de RMN ¹ H (500 MHz, CDCl ₃ / CD ₃ OD) du composé IAB9.....	84
Figure 51. Spectre HSQC du composé IAB9.	84
Figure 52. Spectre HMBC du composé IAB9.....	85
Figure 53. Spectre de masse (EI) à Haute Résolution du composé IAB8.	87
Figure 54. Spectre de RMN ¹ H (CD ₃ COCD ₃ , 400 MHz) du composé IAB8.....	88
Figure 55. Spectre de RMN ¹³ C (CD ₃ COCD ₃ , 100 MHz) du composé IAB8.....	88
Figure 56. Spectre DEPT-135 (CD ₃ COCD ₃ , 100 MHz) du composé IAB8.	89
Figure 57. Spectre HSQC du composé IAB8.	90
Figure 58. Spectre HMBC du composé IAB8.....	91
Figure 59. Spectre NOESY ¹ H- ¹ H du composé IAB8.....	91
Figure 60. Spectre du Dichroïsme Circulaire à 27 °C du composé IAB8.	92
Figure 61. Spectre de masse (EI) à Haute Résolution du composé IAB7.	94
Figure 62. Spectre de RMN ¹ H (CDCl ₃ , 800 MHz) du composé IAB7.	95
Figure 63. Spectre de RMN ¹³ C (CDCl ₃ , 200 MHz) du composé IAB7.	95
Figure 64. Spectre DEPT-135 (CDCl ₃ , 200 MHz) du composé IAB7.....	96
Figure 65 . Spectre HSQC du composé IAB7.....	97
Figure 66. Spectre HMBC du composé IAB7.....	98
Figure 67. Spectre COSY du composé IAB7.....	98

Liste des figures

Figure 68. Spectre du Dichroïsme Circulaire à 27 °C du composé IAB7.	99
Figure 69. Spectre de masse (ESI) du composé IAB6.	101
Figure 70. Spectre de RMN ¹ H (CD ₃ OD, 600 MHz) du composé IAB6.	102
Figure 71. Spectre RMN ¹³ C (CD ₃ OD, 150 MHz) du composé IAB6.	102
Figure 72. Spectre Dept-135 (CD ₃ OD, 150 MHz) du composé IAB6.	103
Figure 73. Spectre HSQC du composé IAB6.	103
Figure 74. Spectre HMBC du composé IAB6.	104
Figure 75. Spectre COSY du composé IAB6.	105
Figure 76. Spectre de Masse (ESI) en mode positif du composé ISp8.	106
Figure 77. Spectre de RMN ¹ H (CD ₃ OD, 400 MHz) du composé ISp8.	107
Figure 78. Spectre HSQC de ISp8.	108
Figure 79. Spectre HMBC de ISp8.	108
Figure 80. Spectre de masse (ESI) en mode positif du composé IAB12.	110
Figure 81. Spectre de RMN ¹ H (400 MHz, DMSO-d ₆) du composé IAB12.	110
Figure 82. Spectre HSQC du composé IAB12.	111
Figure 83. Spectre de RMN ¹³ C (100 MHz, DMSO-d ₆) du composé IAB12.	111
Figure 84. Spectre HMBC du composé IAB12.	112
Figure 85. Spectre de masse (EI) du composé IAB2.	113
Figure 86. Spectre de masse (EI) du composé ISp2.	114
Figure 87. Spectre de RMN ¹ H (600 MHz, Pyridine-d ₅) du composé ISp2.	115
Figure 88. Spectre de RMN ¹³ C (150 MHz, Pyridine-d ₅) du composé ISp2.	116
Figure 89. Spectre de masse (ESI) en mode positif du composé IAB11.	118
Figure 90. Spectre de RMN ¹ H (400 MHz, pyridine-d ₅) du composé IAB11.	119
Figure 91. Spectre de masse (ESI) en mode positif du composé IAB10.	121
Figure 92. Spectre de RMN ¹ H (600 MHz, DMSO-d ₆) du composé IAB10.	121
Figure 93. Spectre de masse (EI) en mode positif du composé ISp6.	123
Figure 94. Spectre de RMN ¹ H (400 MHz, CDCl ₃) du composé ISp10.	123
Figure 95. Spectre de RMN ¹³ C (100 MHz, CDCl ₃) du composé ISp10.	124
Figure 96. Spectre de masse (EI) en mode positif du composé ISp6.	126
Figure 97. Spectre de RMN ¹ H (400 MHz, CDCl ₃) du composé ISp6.	126
Figure 98. Spectre de RMN ¹³ C (100 MHz, CDCl ₃) du composé ISp6.	127
Figure 99. Spectres de masses (ESI) à haute résolution en mode positif et FAB en mode négatif de ISp11.	129
Figure 100. Spectre de RMN ¹ H (500 MHz, DMSO-d ₆) du composé ISp11.	131
Figure 101. Spectre HSQC du composé ISP11.	132

Liste des figures

Figure 102. Spectre de RMN ^{13}C (125 MHz, DMSO- d_6) du composé ISp11.....	132
Figure 103. Spectre DEPT-135 du composé ISp11.....	133
Figure 104. Spectre HMBC du composé ISp11.	134
Figure 105. Spectre de masse (EI) du composé ISp3.....	137
Figure 106. Spectre de RMN ^1H (800 MHz, CDCl_3) de ISp3.....	137
Figure 107. Spectre de RMN ^{13}C (200 MHz, CDCl_3) de ISp3.....	138
Figure 108. Spectre DEPT-135 de ISp3.....	138
Figure 109. Spectre de masse (EI) du composé ISp4.....	139
Figure 110. Spectre de RMN ^1H (500 MHz, CDCl_3) de ISp4.....	140
Figure 111. Spectre de RMN ^{13}C (125 MHz, CDCl_3) de ISp4.....	141
Figure 112. Spectre DEPT-135 de ISp4.....	141
Figure 113. Spectre HMBC du composé ISp4.	142
Figure 114. Spectre HMBC du composé ISp4.	142

Liste des schémas

Schéma 1. Voie biosynthétique proposée pour la formation des benzofuranes.	14
Schéma 2. Biosynthèse des flavonoides (Bruneton, 1999).	18
Schéma 3. Biosynthèse du resvératrol par la stilbène synthase.	24
Schéma 4. Hydrolyse de l'urée, catalysée par l'uréase.	39
Schéma 5. Protocole d'extraction et d'isolement des composés de <i>Indigofera atriceps</i>	42
Schéma 6. Protocole d'extraction et d'isolement des composés de <i>Indigofera spicata</i>	44
Schéma 7. Corrélation HMBC et COSY du fragment I de IAB3.	50
Schéma 8. Corrélations HMBC du fragment II de IAB3.	51
Schéma 9. Quelques corrélations HMBC du composé ISp7.	56
Schéma 10. Corrélations HMBC du composé IAB1.	59
Schéma 11. Corrélations HMBC du fragment I du composé IAB4.	65
Schéma 12. Corrélations HMBC du fragment II du composé IAB4.	65
Schéma 13. Corrélations HMBC entre le proton H-8 et les carbones C-7, C-6' et C-1' du composé IAB4.	66
Schéma 14. La corrélation NOESY la plus importante du composé IAB4.	68
Schéma 15. Corrélations HMBC du composé IAB5.	73
Schéma 16. Corrélations importantes HMBC et NOESY du composé ISp5.	80
Schéma 17. Quelques corrélations HMBC et NOESY du composé IAB8.	90
Schéma 18. Quelques corrélations HMBC, NOESY et COSY du composé IAB7.	97
Schéma 19. Quelques corrélations HMBC et COSY du composé IAB6.	104
Schéma 20. Quelques corrélations HMBC du composé ISp8.	108
Schéma 21. Corrélations HMBC du composé IAB12.	112
Schéma 22. Quelques corrélations HMBC du composé ISp11.	134
Schéma 23. Corrélations HMBC du composé ISp4.	141
Schéma 24. Voie biosynthétique possible pour la formation des composés phénoliques isolés de <i>Indigofera atriceps</i>.	144
Schéma 25. Voie biosynthétique possible pour la formation des composés isolés de <i>Indigofera spicata</i>	145

Liste des tableaux

Tableau 1. Position systématique de <i>I. atriceps</i>	7
Tableau 2. Position systématique de <i>I. spicata</i>	9
Tableau 3. Données RMN ¹ H (CD ₃ OD) de l'Ebenfuran I (Halabalaki et al., 2000)	15
Tableau 4: Données RMN ¹³ C (CD ₃ OD) de l'Ebenfuran I (Halabalaki et al., 2000).....	16
Tableau 5. Quelques benzofuranes isolés du genre <i>Indigofera</i>	16
Tableau 6. Quelques Flavonoïdes isolés du genre <i>Indigofera</i>	18
Tableau 7. Données RMN ¹ H (CD ₃ OD) de la (<i>E</i>)-11,13- <i>O</i> -β-diglucosideresvétratol (Arraki et al., 2013).....	26
Tableau 8. Données RMN ¹³ C (CD ₃ OD) de la (<i>E</i>)-13,15- <i>O</i> -β-diglucosideresvétratol (Arraki et al., 2013).....	27
Tableau 9. Quelques stibénoïdes isolés du genre <i>Indigofera</i>	28
Tableau 10. Quelques triterpènes isolés du genre <i>Indigofera</i>	29
Tableau 11. Quelques stéroïdes isolés de <i>Indigofera</i>	30
Tableau 12. Quelques acides gras et aminés isolés de <i>Indigofera</i>	31
Tableau 13. Quelques alcaloïdes isolés du genre <i>Indigofera</i>	32
Tableau 14. Quelques inhibiteurs enzymatiques.....	38
Tableau 15. Récapitulatif des composés isolés des deux plantes et regroupés en classes.	45
Tableau 16. Données de RMN ¹ H (600 MHz, CD ₃ COCD ₃) et ¹³ C (150 MHz) de l'atricephenol A (IAB3).	53
Tableau 17. Données de RMN ¹ H (500 MHz, CDCl ₃) de ISp7 comparées à celles du Dipentyl phtalate (300 MHz, CDCl ₃) (Korpayev et al., 2020)	57
Tableau 18. Données de RMN ¹ H (800 MHz, CDCl ₃) de IAB1 comparées à celles du <i>p</i> -hydroxybenzaldéhyde (300 MHz, CDCl ₃) (Andersen et al., 1974).	60
Tableau 19. Données de RMN ¹ H (600 MHz, CD ₃ OD) et ¹³ C (150 MHz) des conformères majoritaire (48) et minoritaire (47) de l'Atricephenol B (IAB4).	69
Tableau 20. Données spectrales de RMN ¹ H (400 MHz, CD ₃ OD) de IAB5 comparée à celles de la 2-(2'-hydroxy-4'-methoxyphenyl)-5,6-methylenedioxybenzofurane (400 MHz, CDCl ₃) (Komatsu et al., 1978).	74
Tableau 21. Données de RMN ¹ H (400 MHz, CD ₃ OD) et ¹³ C (100 MHz, CD ₃ OD) du Spibenzofurane comparées à celles de l'ebenzofurane I (CD ₃ OD) (Halabalaki et al., 2000)..	82
Tableau 22. Données de RMN ¹ H (500 MHz, CDCl ₃ /CD ₃ OD) de IAB9 comparées à celles de la génistéine (300 MHz, DMSO-d ₆) (Yasuda et al., 1996).	86

Tableau 23. Données de RMN ¹ H (400 MHz, CD ₃ COCD ₃) de IAB8 comparées à celles de la melilotocarpane D (400 MHz, CD ₃ OD) (Lotti et al., 2010).	93
Tableau 24. Données de RMN ¹ H (400 MHz, CDCl ₃) de IAB7 comparées à celles de la melilotocarpane A (400 MHz, CD ₃ OD) (Lotti et al., 2010).	100
Tableau 25. Données de RMN ¹ H (600 MHz, CD ₃ OD) de IAB6 comparées à celles de la maackiain (300 MHz, CD ₃ Cl) (Rahman et al., 2012).	105
Tableau 26. Données de RMN ¹ H (400 MHz, CD ₃ OD) de ISp8 comparées à celles de la 7,3'-dihydroxy-6,4'-dimethoxyflavone (300 MHz, CDCl ₃) (Yadava et Belwanshi, 2009).	109
Tableau 27. Données de RMN ¹³ C (100 MHz, DMSO-d ₆) de IAB12 comparées à celle du Bornesitol (75 MHz, D ₂ O) (Ichimura et al., 1999).	113
Tableau 28. Données de RMN ¹³ C (150 MHz, Pyridine-d ₅) de ISp2 comparées à celles de stigmastérol (100 MHz, CDCl ₃) (Luhata et al., 2015).	117
Tableau 29. Quelques données de RMN ¹ H (400 MHz, Pyridine-d ₅) de IAB11 comparées à celles de la 3-O-β-D-glucopyranoside de β-sitosterol (400 MHz, Pyridine-d ₅) (Mizushina et al., 2006).	120
Tableau 30. Données de RMN ¹ H (600 MHz, DMSO-d ₆) de IAB10 comparées à celles de la 3-O-β-D-glucopyranoside de β-sitosterol (600 MHz, CDCl ₃) (Khatun et al., 2012).	122
Tableau 31. Données de RMN ¹³ C (100 MHz, CDCl ₃) de ISp10 et du lupéol (Mahato et Kundu, 1994).	125
Tableau 32. Données de RMN ¹³ C (100 MHz, CDCl ₃) de ISp6 et de l'acide bétulinique (Mahato et Kundu, 1994).	128
Tableau 33. Comparaison des données de RMN ¹³ C (125 MHz, DMSO) de ISp11 et la Soyasaponine I.	135
Tableau 34. Données de RMN ¹ H (800 MHz, CDCl ₃) et de RMN ¹³ C (200 MHz, CDCl ₃) de ISp3.	139
Tableau 35. Données de RMN ¹ H (500 MHz, CDCl ₃) et de RMN ¹³ C (125 MHz, CDCl ₃) de ISp4.	143
Tableau 36. Diamètre des zones d'inhibition de quelques composés isolés.	146
Tableau 37. Activité inhibitrice de l'uréase de quelques composés isolés.	147
Tableau 38. Chromatogramme de la partition au CH ₂ Cl ₂ de <i>I. atriceps</i>	154
Tableau 39. Chromatogramme du traitement de la Série B.	155
Tableau 40. Chromatogramme du traitement de la Série C.	155
Tableau 41. Chromatogramme du traitement de la Série D.	156
Tableau 42. Chromatogramme de l'extrait brut de <i>I. spicata</i>	157

Liste des tableaux

Tableau 43. Chromatogramme du traitement de la série II.....	158
Tableau 44. Chromatogramme du traitement de la série IV.	158
Tableau 45. Chromatogramme du traitement de la série V.....	159

Résumé

Le présent travail porte sur l'extraction, l'isolement, l'élucidation structurale et l'évaluation des activités antimicrobiennes et inhibitrices de l'Uréase, des métabolites secondaires de deux plantes médicinales camerounaises, *Indigofera atriceps* et *Indigofera spicata* (Fabaceae).

Des extraits au CH₂Cl₂/CH₃OH (1:1) des deux plantes entières, nous avons isolé et purifié 21 composés grâce à l'application des méthodes chromatographiques en phase liquide telles que la chromatographie flash, la Chromatographie sur Colonne (CC) et les Chromatographies sur Couche Mince (CCM) analytique et préparative. Ces composés ont été regroupés en neuf classes à savoir:

- Trois acides benzoïques dont un dérivé nouveau, l'atricephenol A et deux dérivés connus, la *p*-hydroxybenzaldéhyde et le dipentyl phtalate;
- Une stilbénolide nouvelle à savoir l'atricephenol B;
- Deux benzofuranes dont un dérivé nouveau, la spibenzofurane, et un dérivé connu le 2-(2'-hydroxy-4'-methoxyphenyl)-5,6-methylenedioxybenzofuran;
- Cinq flavonoïdes connues à savoir: la genistéine, la (-)-melilotocarpane A, la (-)-melilotocarpane D, la maackiain et la 7,3'-dihydroxy-6,4'-dimethoxyflavone;
- Un polyol cyclique connu, le bornesitol;
- Une saponine connue, la soyasaponine I;
- Quatre stéroïdes connus, le β -sitostérol, le stigmasterol, le sitosterol-3-*O*- β -D-glucopyranoside et le stigmasterol-3-*O*- β -D-glucopyranoside;
- Deux triterpènes connus, le lupéol et l'acide bétulénique;
- Deux acides gras connus, l'acide behénique et le dodécanoate de n-butyle.

Les structures de ces composés ont été élucidées au moyen des méthodes spectroscopiques (UV, IR, DC, SM, RMN ¹H et ¹³C, HSQC, HMBC, COSY et NOESY) ou par comparaison de leurs données spectrales à celles de la littérature.

L'évaluation des activités antibactériennes et inhibitrices de l'uréase a été effectuée sur quelques composés isolés. En ce qui concerne l'activité antibactérienne, elle a été évaluée sur six souches bactériennes (*Pseudomonas aeruginosa*; *Escherichia coli*; *Salmonella typhi*; *Klebsiella pneumoniae*; *Streptococcus faecalis*; et *Micrococcus* sp) en utilisant la méthode de diffusion par disque avec pour référence la streptomycine. De tous les composés testés, seule la soyasaponine I a présenté une activité significative sur trois différentes souches bactériennes: *Salmonella typhi* (ZI=13 mm), *Streptococcus faecalis* (ZI=14 mm) et

Résumé

Micrococcus sp. (ZI=16 mm). D'autres composés tels que la maackiain et le bornesitol ont également présenté une activité significative contre *Salmonella typhi* (ZI=13 et 15 mm respectivement).

Pour les propriétés inhibitrices de l'uréase, elles ont été évaluées par la méthode décrite par Weatherburn en 1967, avec pour référence la thiourée. Il ressort des résultats que le β -sitostérol et le bornesitol ont présenté une activité meilleure que celle de la référence (la thiourée de CI_{50} 21.5 $\mu\text{g/mL}$) avec les valeurs de CI_{50} de 18,6 et 19,3 $\mu\text{g/mL}$ respectivement. Par contre la génistéine et la soyasaponine I ont montré une bonne activité inhibitrice avec les valeurs de CI_{50} à 28,9 et 23,6 $\mu\text{g/mL}$ respectivement.

Mots clés: *Indigofera atriceps*; *Indigofera spicata*; Fabaceae; Atricephenols A et B; Spibenzofurane; Métabolites secondaires; Antibactériens; Uréase.

Abstract

The present work deals with the extraction, isolation, purification, structural elucidation and evaluation of antimicrobial activities and inhibitory activities against urease of secondary metabolites isolated from two Cameroonian medicinal plants, *Indigofera atriceps* and *Indigofera spicata* (Fabaceae).

From the CH₂Cl₂/CH₃OH (1:1) extracts of the whole plants, we isolated and purified 21 compounds by the application of liquid phase chromatographic methods such as Flash Chromatography, Column Chromatography (CC) and analytical and preparative Thin Layer Chromatographies (TLC). These compounds were distributed into nine families including:

- Three benzoic acids among which one new derivative named atricephenol A and two known derivatives identified as *p*-hydroxybenzaldehyd and dipentyl phtalate;
- One new stilbenoid named atricephenol B;
- Two benzofurans of which one new derivative named spibenzofuran, and one known derivative namely 2-(2'-hydroxy-4'-methoxyphenyl)-5,6-methylenedioxybenzofuran;
- Five known flavonoïds identified as genistein, (-)-melilotocarpan A, (-)-melilotocarpan D, maackiain and 7,3'-dihydroxy-6,4'-dimethoxyflavon;
- One known cyclic polyol named bornesitol;
- One known saponin identified as soyasaponin I;
- Four known steroids including β -sitostérol, stigmasterol, sitosterol-3-*O*- β -D-glucopyranoside and stigmasterol-3-*O*- β -D-glucopyranoside.
- Two known triterpens namely lupeol and betulenlic acid;
- Two known fatty acids including behenic acid and Eicosanoic acid n-butyl ester.

The structures of these compounds were determined by usual spectroscopic methods (UV, IR, CD, MS, NMR ¹H and ¹³C, HSQC, HMBC, COSY and NOESY), identification tests or comparison of their spectroscopic data with those reported in literature.

The antimicrobial and urease inhibitory activities tests were performed on compounds isolated from both plants. Concerning antimicrobial activities, they were evaluated, by an agar diffusion assay and compared with streptomycin, on six strains namely *Pseudomonas aeruginosa*; *Escherichia coli*; *Salmonella typhi*; *Klebsiella pneumonia*; *Streptococcus faecalis*; and *Micrococcus* sp. The results showed that, only soyasaponin I exhibited significant activity against 3 different strains: *Salmonella typhi* (ZI=13 mm), *Streptococcus faecalis* (ZI=14 mm) and *Micrococcus* sp. (ZI=16 mm). Other compounds such as maackiain

Abstract

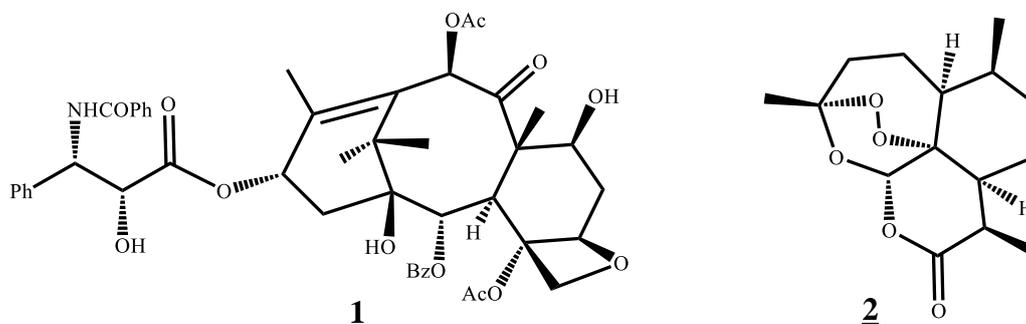
and bornesitol showed significant activity against *Escherichia coli* (ZI=13 and 15 mm respectively).

Concerning urease inhibitory properties, they were determined by using the indophenol method, as previously described by Weatherburn in 1967 and thiourea was used as the standard inhibitor of urease. The results showed that, β -sitosterol and bornesitol displayed greater activity than that of the standard (Thiourea with IC₅₀ value of 21.5 μ g/mL) with IC₅₀ values of 18.6 and 19.3 μ g/mL respectively. However, Genistein and soyasaponin I showed significant activity with IC₅₀ values of 28.9 and 23.6 μ g/mL respectively.

Keywords: *Indigofera atriceps*; *Indigofera spicata*; Fabaceae; Atricephenol A and B; Spibenzofuran; Secondary metabolites; Antibacterial; Ureae inhibitor.

Introduction générale

L'utilisation des plantes médicinales pour guérir ou prévenir certaines maladies est une pratique rencontrée dans tous les pays du monde. Le règne végétal est une source presque inépuisable de molécules pouvant présenter un intérêt thérapeutique. La mise au point continue de méthodes de criblages chimique et biologique contribue à la recherche de composés bioactifs à partir d'extraits végétaux (Poubelle et Borgeat, 2000). De plus, la performance croissante des techniques analytiques et préparatives, ainsi que l'accès de plus en plus facilité à la littérature, rendent leur caractérisation plus aisée. Cela se traduit par la naissance de molécules d'origine naturelle parmi lesquelles le taxol (**1**), issu de *Taxus brevifolia*, qui présente des propriétés anticancéreuses remarquables (cancers de l'ovaire et du sein) (Stierle et al., 1993) et de l'artémisinine (**2**), isolée de *Artemisia annua* L., connue pour ses propriétés antipaludiques (Hostettmann, 2001).

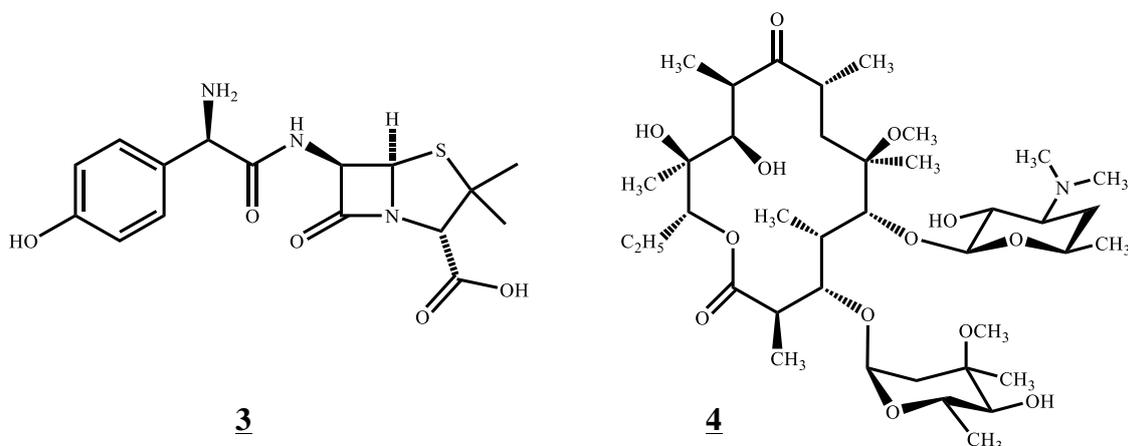


Malgré les progrès scientifiques et techniques, la médecine moderne reste impuissante face à l'émergence de certaines pathologies tels que: la Covid-19, le VIH-SIDA, certaines infections bactériennes et fongiques, les infections opportunistes (tuberculoses, diarrhées, maladies cutanées,...) et le paludisme.

Parmi ces pathologies, les infections bactériennes qui demeurent un problème de santé publique dans les pays en voie de développement, présentent un intérêt particulier car elles tuent chaque année environ 17 millions de personnes dans le monde (OMS, 2018). On assiste dès lors à l'apparition des phénomènes de résistance de certaines souches de bactéries aux médicaments existants (Balkis et al., 2002). La prolifération de ces bactéries résistantes aux antibiotiques est devenue une préoccupation majeure dans le domaine de la santé en raison de l'augmentation de la morbidité et la mortalité qu'elles induisent (OMS, 2018). Environ 700000 personnes meurent chaque année à cause de la résistance aux antibiotiques (OMS, 2018). En effet, l'émergence de ces multiples résistances engendre dans la plupart des cas une perte d'efficacité de l'antibiothérapie et finalement conduit à une impasse thérapeutique.

De plus il a été démontré que certaines enzymes telles que l'uréase interviennent dans la résistance ou sont les facteurs de virulence de certaines bactéries (Rego et al., 2018). Ainsi inhiber ces enzymes c'est aussi lutter contre ces infections bactériennes. Donc les molécules inhibitrices d'enzymes à l'instar de l'uréase sont très importantes dans la lutte contre les infections bactériennes.

C'est ainsi que le traitement des infections dues à la bactérie *Helicobacter pylori* (conduisant aux inflammations et aux ulcers gastriques) qui consistait à combiner les antibiotiques tels que l'amoxicilline (**3**) et la clarithromycine (**4**) avec l'omeprazole un inhibiteur des cellules pompes de protons (Rego et al., 2018; Sachs et al., 2005) a connu l'émergence de nouvelles thérapies comme celle incluant un sel de Bismuth, un métal ayant les propriétés anti-uréases (Zhang et al., 2006), combiné à un inhibiteur des cellules pompes de protons (Rego et al., 2018). Ceci étant dû à la résistance de cette bactérie à ces antibiotiques (plus particulièrement à la clarithromycine) rendant ainsi inefficace ce traitement (Rego et al., 2018; Graham et Fishbach, 2010; Follmer, 2010). Il est donc nécessaire de rechercher de nouveaux inhibiteurs d'uréase pour lutter contre certaines infections microbiennes.



C'est dans ce cadre d'idée que les Laboratoires de Chimie Organique en collaboration avec les Laboratoires de Pharmacologie et de Microbiologie de l'Université de Yaoundé I étudient les plantes à activités antimicrobiennes, antioxydantes et hépatoprotectrices. Pour apporter notre contribution à ce vaste programme de recherche, nous avons entrepris, en vue de l'obtention du Doctorat /PhD en Chimie Organique, l'étude chimique et l'évaluation des activités antibactériennes et inhibitrices de l'uréase des composés issus de deux plantes médicinales camerounaises à savoir *Indigofera atriceps* et *Indigofera spicata* de la famille des Fabaceae. Notre intérêt pour ces deux plantes est justifié d'une part par leur usage en médecine traditionnelle dans le traitement des infections bactériennes, et d'autre part par le potentiel antimicrobien des espèces du genre *Indigofera* (Birru et al., 2016; Soladoye et al.,

2010). De plus, à notre connaissance, l'espèce *Indigofera atriceps* n'a fait l'objet d'aucune étude chimique.

L'objectif général de ce travail a été d'isoler de nouvelles molécules bioactives, des plantes *Indigofera atriceps* et *Indigofera spicata*, capables de faire face aux résistances bactériennes en inhibant l'uréase.

A partir de cet objectif général, notre travail a été axé autour de la question de recherche : peut-on à partir des extraits bruts des plantes entières de *Indigofera atriceps* et *Indigofera spicata* obtenir des métabolites secondaires à potentiels antibactérien et inhibiteur de l'uréase ?

Compte tenu de leur usage en médecine traditionnelle contre les infections bactériennes et des marqueurs chimiotaxonomiques des plantes du genre *Indigofera* à savoir les composés phénoliques qui possèdent une grande diversité d'activités biologiques, nous pensons que les métabolites secondaires issus de ces deux plantes pourraient posséder des activités biologiques intéressantes.

Pour venir à bout de cet objectif, nous avons procédé comme suit:

- Préparer l'extrait brut des plantes à étudier;
- Séparer et purifier les composés à l'aide des techniques chromatographiques;
- Elucider et identifier les composés grâce à l'utilisation de leurs données physiques, la spectrométrie de masse et les méthodes spectroscopiques;
- Préparer le matériel biologique nécessaire pour les tests antimicrobiens et d'inhibition de l'Uréase;
- Evaluer les activités antimicrobiennes et inhibitrices de l'Uréase.

La présentation de notre travail s'articulera autour de trois parties principales: Une partie revue de la littérature, une partie résultats et discussion et une partie expérimentale.

CHAPITRE I : REVUE DE LA LITTÉRATURE

I.1. GÉNÉRALITÉS SUR LE GENRE *INDIGOFERA* (FABACEAE)

I.1.1. Aperçu botanique des Fabaceae

Les Fabaceae constituent la troisième famille des angiospermes de par le nombre de ses constituants, avec environ 19500 espèces réparties en 700 genres dont le genre *Indigofera* (Janaina et al., 2018). Cette famille est constituée de plantes ligneuses (zones tropicales) et herbacées (zones tempérées) avec quelques arbres et arbustes. La répartition des Fabaceae est très cosmopolite, on les trouve partout dans le monde (Judd et al., 2002 ; Spichiger et al., 2004).

Les plantes de la famille des Fabaceae possèdent des feuilles généralement alternes, imparipennées, trifoliolées et stipulées. Cependant on peut noter quelques légères variations sur le nombre et la forme de folioles. Leurs racines sont généralement pivotantes et laissent apparaître des nodosités à rhizobium qui se forment si le sol est pauvre en azote (Judd et al., 2002; Spichiger et al., 2004).

Les Fabaceae possèdent un seul carpelle et un ovaire unique qui est supère, surmonté d'un style et d'un stigmate. Les inflorescences sont en grappes plus ou moins allongées, les fleurs sont cyclisées, hermaphrodites et fortement zygomorphes par la corolle. La corolle présente une forme dite "papillonacée"; c'est-à-dire à symétrie bilatérale et une préfloraison imbriquée, descendante ou vexillaire. Elle est constituée de cinq pétales disposés en forme de papillon (Heywood, 1996).

La grande famille des Fabaceae doit son unité à son fruit, appelé gousse ou légume et à sa corolle papilionacée d'où le nom de Légumineuses sous lequel cette famille est plus connue. La gousse est un follicule déhiscent qui s'ouvre par deux fentes longitudinales en deux valves portant chacune une rangée de graines exalbuminées (Janaina et al., 2018).

Dans la famille des Fabaceae on peut citer, parmi les genres les plus répandus, *Acacia*, *Mimosa*, *Albizia*, *Eriosema*, *Baphia*, *Obolonga*, *Parkia*, *Arachis*, *Phaseolus* et *Indigofera* qui fera l'objet de notre étude.

I.1.2. Aperçu botanique sur le genre *Indigofera*

Indigofera qui signifie en grec colorant indigo, est célèbre pour les couleurs bleues naturelles obtenues à partir des feuilles et des branches de ses espèces (Wu et al., 1999). Les plantes du genre *Indigofera* sont principalement des arbustes, bien que certaines soient herbacées et que quelques-unes puissent devenir de petits arbres de 5 à 6 pieds de hauteur (Bernard, 1979). Elles ont généralement une seule tige, des feuilles vertes et foncées qui sont

sous forme ovale dans la plus part des espèces et des grappes de fleurs rouges qui ressemblent à des papillons. Ces fleurs, généralement en grappes axillaires denses ou solitaires, sont situées à l'aisselle des feuilles et sont presque toujours assez petites avec une corolle rouge ou rose. Le filament supérieur est libre et les autres sont réunis en un tube avec des anthères uniformes, presque toujours apiculées (Bernard, 1979). Les fruits des *Indigofera* sont sous forme ovale et allongés avec de nombreuses graines.

Le genre *Indigofera* à lui seul représente plus de 700 espèces réparties dans les régions tropicales et subtropicales Africaines, Asiatiques, Australiennes, Nord et Sud Américaines (Hassen et al., 2006). Au Cameroun, on dénombre jusqu'ici environ 54 espèces (HNC, 2017) parmi lesquelles *Indigofera atriceps* et *Indigofera spicata* qui font l'objet de notre étude.

I.1.3. Aperçu botanique sur *Indigofera atriceps* et *Indigofera spicata*

I.1.3.1. Aperçu botanique sur *Indigofera atriceps*

I.1.3.1.1. Description botanique

I. atriceps (Figure 1) est une plante herbacée annuelle, haute de 20 à 50 cm, à feuilles imparipennées alternes. Son rachis long de 4 à 5 cm, porte 5 à 6 paires de folioles opposées. Ces folioles elliptiques longues de 8 à 15 mm et larges de 4 à 6 mm, ont une base en coin et un sommet arrondi, courtement mucroné. Les deux faces étant couvertes de poils naviculaires. Les pétioles de leurs feuilles longs de 8 à 30 mm avant les premières folioles ont des pétiolules terminaux longs de 1 à 3 mm alors que ceux latéraux ont à peine 1 mm (Behraut, 1976).

I. atriceps a des fleurs en racème axillaire ou co-pétiolaire assez denses, plus courtes que les feuilles. Ces fleurs aux étendards verdâtres et aux ailes roses, longues de 3 mm possède une carène verdâtre longue de 4 mm (Behraut, 1976).

Les fruits de *I. atriceps* ont une gousse cylindrique longue de 5 à 8 mm, large de 2 mm, couverte de longs poils étalés brun rougeâtre. Ces gousses pendent généralement toutes du même côté de l'épi (Behraut, 1976) comme l'illustre sur la figure 1.



Figure 1. Image d'une tige de *Indigofera atriceps* (Photo Iliassou, 2017)

I.1.3.1.2. Position systématique de *Indigofera atriceps*

La position systématique de *I. atriceps* est donnée dans le [tableau 1](#).

Tableau 1. Position systématique de *I. atriceps*.

Règne	Plantae
Sous-règne	Tracheobionta
Division	Magnoliophyta
Classe	Magnoliopsida
Sous-classe	Rosidae
Ordre	Fabales
Famille	Fabaceae
Sous-famille	Faboideae
Genre	<i>Indigofera</i>
Espèce	<i>Indigofera atriceps</i>

I.1.3.1.3. Répartition géographique de *Indigofera atriceps*

I. atriceps ([Figure 1](#)) est une plante de savane, répartie à travers les zones tropicales et subtropicales d'Afrique, d'Asie et d'Amérique ([Rahman et al., 2018](#)). En Afrique on la retrouve au Sénégal, au Mali, en Mauritanie, au Nigéria, au Niger, au Ghana et au Cameroun ([Behraut, 1976](#)). Au Cameroun on la retrouve aux pieds des monts Manengoumba (Nord-Ouest, Cameroun) et Mbapit à Koutaba (Ouest, Cameroun) ([HNC, 2017](#)) où elle a été récoltée.

I.1.3.1.4. Synonymes et noms vernaculaires de *Indigofera atriceps*

I. atriceps a pour synonymes: *Indigofera secundiflora*, *Indigofera alboglandulosa* Engl., *Indigofera djalonica* A. Chev. ex Baker f., *Indigofera masukuensis* Baker et pour nom vernaculaire nanandé vordé (Peul), nonan nak (Séréré au Sénégal), ngandal nak (Volof au Sénégal) (Behraut, 1976).

I.1.3.2. Aperçu botanique sur *Indigofera spicata*

I.1.3.2.1. Description botanique

I. spicata est une plante herbacée à tiges subérigées, décombrantes, ou étalées et à feuilles imparipennées alternes. Son rachis, long de 3 à 5 cm, porte 10 à 11 folioles subopposées ou alternes mais jamais opposées, avec une terminale un peu plus grande. Les folioles elliptiques, longues de 10 à 20 mm et larges de 4 à 9 mm, possèdent une base et un sommet arrondis. Elles ont une face supérieure glabre et une face inférieure à poils naviculaires peu denses et sont légèrement pétiolées (2 à 3 mm) (Behraut, 1976).

Les fleurs, en racème axillaire dense, long de 3 à 7 cm et pédonculé de 15 mm environ, ont une corolle rose longue de 4 mm, un étendard large de 4 mm et un calice long de 2 mm, à dents filiformes (Behraut, 1976).

Les fruits ont une gousse linéaire droite, longue de 20 mm et ne dépassant pas 1,5 mm de large. Cette gousse a un sommet en pointe acuminée aigue et contient 6 à 7 graines à l'intérieur (Behraut, 1976).

I. spicata semble préférer les fossés frais et les lieux humides des Niayes et des galeries forestières (Behraut, 1976).

La [figure 2](#) présente l'image d'un échantillon d'*I. spicata* recolté à Koutaba.



Figure 2. Image de *Indigofera spicata*. (Photo Iliassou, 2017).

I.1.3.2.2. Position systématique de *Indigofera spicata*

La position systématique de *I. spicata* est donnée dans le [tableau 2](#).

Tableau 2. Position systématique de *I. spicata*.

Règne	Plantae
Sous-règne	Tracheobionta
Division	Magnoliophyta
Classe	Magnoliopsida
Sous-classe	Rosidae
Ordre	Fabales
Famille	Fabaceae
Sous-famille	Faboideae
Genre	<i>Indigofera</i>
Espèce	<i>Indigofera spicata</i>

I.1.3.2.3. Répartition géographique de *Indigofera spicata*

I. spicata est une plante originaire d'une partie de l'Afrique de l'Est, de Madagascar, de Philippines et de l'Indonésie ([Bueno et al., 2013](#)). Elle est aujourd'hui répartie à travers les zones tropicales et en Afrique on la retrouve au Sénégal, en Guinée Equatoriale, au Mali, au Libéria, au Ghana, au Togo, au Gabon, en Afrique du Sud, à Madagascar et au Cameroun ([Behraut, 1976](#)).

Au Cameroun on la retrouve à Yingui, à Ndikiminiki, à Mvomeka et aux pieds des monts Manengoumba (Sud-Ouest, Cameroun) et Mbapit à Koutaba (Ouest, Cameroun) ([HNC, 2017](#)) où elle a été récoltée.

I.1.3.2.4. Synonymes et noms vernaculaires de *Indigofera spicata*

I. spicata a pour synonymes: *Indigofera endecaphylla* Jacq. ex Poir, *Indigofera parkeri* Baker et *Indigofera pusilla* Lam. ([Bueno et al., 2013](#)) et pour nom vernaculaire Indigotier rampant (France), trailing indigo (Angleterre), aika ou egitra (Madagascar), iniko (USA), balerio (foulbé, Tchad), jakija (sara mbaye, Tchad) ([Gaston et Fotius, 1971](#)).

I.1.4. Quelques usages des espèces du genre *indigofera*

Les plantes du genre *Indigofera*, connues surtout pour leur potentiel en Indigo (colorants) (Wu et al., 1999) et pour leurs rôles prépondérants dans les fourrages des animaux, car peu toxiques, sont largement utilisées en médecine traditionnelle et dans l'industrie du textile.

Au Cameroun, les écorces de *I. tinctoria* sont mâchées contre la toux et la décoction de ses feuilles est bue pour le traitement des douleurs de la poitrine, de l'épilepsie, des troubles nerveux, de l'asthme, des bronchites, de la fièvre, des douleurs à l'estomac et de la rate (Jensen et Cardon, 2005).

Les feuilles pilées de *I. tinctoria* se mettent sur les datres blanches, elles s'emploient aussi en bains comme fébrifuges. La poudre de feuille déterge les plaies anciennes. Les racines sont diurétiques, et utilisées contre la blennorragie (Berhaut, 1974).

Dans la pharmacopée traditionnelle Kenyane et Nigériane, *I. atriceps* est utilisée dans le traitement de la dhiarrée et des douleurs corporelles (Soladoye et al., 2010).

I. spicata est utilisée dans le traitement de la méningite, de la diarrhée, du mal d'estomac et du diabète (Birru et al., 2016). En Ethiopie, les racines de *I. spicata* sont utilisées comme brosse à dent (Burkill, 1995).

La poudre de la plante entière de *I. hirsuta* est utilisée en Tanzanie, par application externe, contre le mal de dos et au Kenya pour les maladies thoraciques (Burkill, 1995).

Dans la pharmacopée Burkinabée, les tiges feuillées de *I. macrocalyx* sont utilisées en interne tout comme en externe contre la fatigue, les retards locomoteurs des enfants, le paludisme, la constipation et l'impuissance. Ses racines en outre sont utilisées contre les poux (Nacoulma, 1996). D'autre part il a été rapporté que le décocté d'inflorescences séchées, additionné de jus de citron et de sel, est donné en boisson, comme purgatif (Berhaut, 1974).

Les tiges feuillées de *I. nigritana* sont utilisées , au Burkina Faso, pour le traitement du paludisme, des douleurs gastro-intestinales chez l'enfant, des dermatoses, des mycoses, de la bourbouille, des infections sexuellement transmissibles et du diabète (Nacoulma, 1996).

La decoction des feuilles et fleurs de *I. aspalathoides* est utilisée dans le traitement de la lèpre et du cancer. La pâte de ses feuilles pilées est appliquée sur les abcès. Ses racines sont mâchées contre les ulcers de la bouche (Saraswathy et al., 2013).

Les colorants indigo, obtenus à partir des plantes du genre *Indigofera*, sont utilisés par les teinturiers Yoruba du Sud-Ouest du Nigéria pour produire un tissu indigo appelé « Adire eleko » (Dalziel, 1937).

La plante entière de *I. trita*, connue pour son potentiel d'engrais vert, est utilisée dans la culture de couverture au Zimbabwe (Burkill, 1995).

C'est certainement à cause de la très grande utilisation des plantes du genre *Indigofera* que plusieurs chercheurs s'y sont intéressés ces dernières années pour rechercher les principes actifs et justifier ou confirmer l'utilisation empirique de ces plantes.

I.2. TRAVAUX ANTERIEURES SUR LE GENRE *INDIGOFERA*

I.2.1. Travaux chimiques antérieurs

Les plantes du genre *Indigofera*, en plus d'être largement utilisées en médecine traditionnelle pour le traitement de plusieurs maladies, ont fait l'objet de plusieurs travaux chimiques en vue de l'identification et la caractérisation des principes actifs associés à leurs propriétés pharmacologiques. La littérature disponible à cet effet indique que plusieurs classes de métabolites secondaires ont été isolées des espèces de *Indigofera*. Parmi ces classes de composés, on peut citer les alcaloïdes, les acides gras, les céramides, les triterpénoïdes, les stéroïdes, les saponines, et les composés phénoliques (flavonoïdes, rotenoïdes, chalcones et stilbènes).

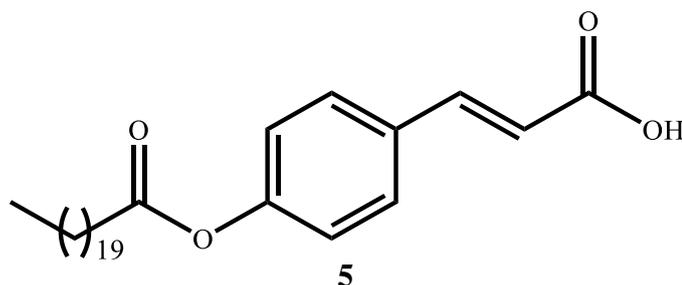
I.2.1.1. Les composés phénoliques

Les composés phénoliques se caractérisent pour la plupart par la présence d'une ou de plusieurs unités phénoliques dans leurs structures. Ils représentent la grande majorité des composés isolés du genre *Indigofera*, et peuvent être rangés en cinq sous-classes de métabolites à savoir les acides phénoliques (dérivés de l'acide benzoïque ou cinnamique), les benzofuranes, les flavonoïdes, les isoflavanoïdes et les stilbénoloïdes

I.2.1.1.1. Les acides phénoliques

Ce sont des composés formés d'au moins un noyau phénolique ou de son dérivé, présentant une ou plusieurs fonctions carboxyliques. Ils dérivent des acides benzoïque et cinnamique parmi lesquels on peut citer les acides férulique, cinnamique, caféique et p-coumarique (Bruneton 1993, Velazquez et al., 2003).

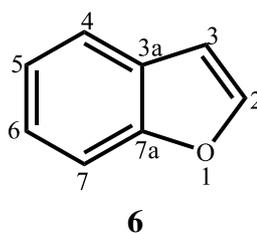
L'acide indigoferique (**5**) est un acide phénolique isolé de *Indigofera oblongifolia* Forssk. par Sharif et al. (2005).



Les acides phénoliques sont utilisés pour leurs propriétés anti-inflammatoires antiseptiques urinaires. Les propriétés anti-inflammatoires sont surtout attribuées aux dérivés salicyliques. Ils sont aussi utilisés pour leurs propriétés anti-oxydante, anti-tumorale, antifongique et antibactérienne (Vélasquez et al., 2003).

I.2.1.1.2. Les benzofuranes

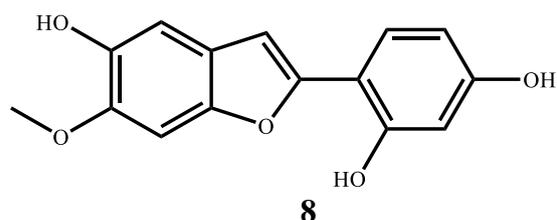
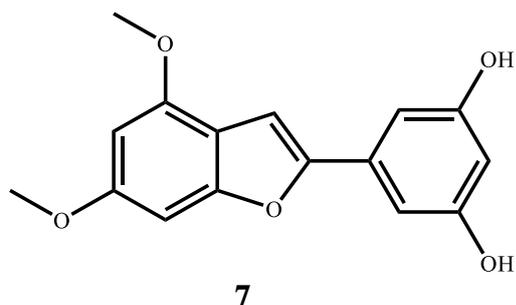
Les benzofuranes ou coumarones, de formule chimique C_8H_6O , sont des composés aromatiques hétérocycliques. Ils peuvent être décrits schématiquement comme résultant de l'accolement d'une molécule de benzène et d'une molécule de furane (**6**). A partir de ce squelette de base, il existe plusieurs molécules dérivées, principalement celles découlant de la fixation d'un autre atome ou groupe d'atomes sur le carbone 2 des benzofuranes. Les benzofuranes et leurs dérivés sont de composés omniprésents dans la nature (Miao et al., 2019).



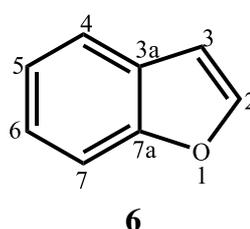
Ayant isolé, au cours de nos travaux, une benzofurane nouvelle, nous avons jugé important de présenter quelques données supplémentaires relatives à cette famille de composés.

I.2.1.1.2.1. Nomenclature des benzofuranes

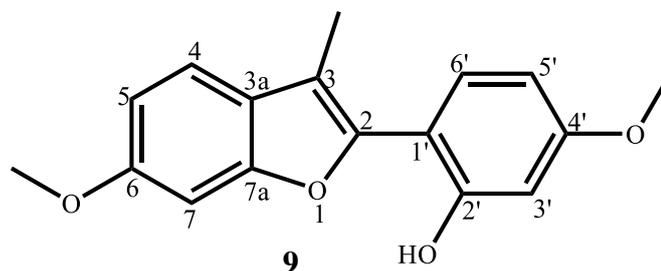
Comme la majorité des substances naturelles, les noms que portent les benzofuranes ont des origines diverses. Certains d'entre eux dérivent des noms des plantes où elles ont été isolées. Nous pouvons citer les cas du moracin A (**7**) isolé de *Morus alba* (Moraceae) (Naik et al., 2015) et de l'ebenfuran I (**8**) isolé de *Onobrychis ebenoides* (Halabalaki et al., 2000).



Cependant il existe une nomenclature systématique qui permet de nommer tous ces composés, en prenant pour squelette de base le benzofurane (6) et en considérant la numérotation sur le squelette de base.



A titre d'exemple nous avons le 2-(2'-hydroxy-4'-methoxyphenyl)-3-methyl-6-methoxybenzofurane (9) (Maria et al., 1988).



I.2.1.1.2.2. Biosynthèse des benzofuranes

La biosynthèse des composés hétérocycliques comme les benzofuranes dérivent de la cyclisation des squelettes des dérivés cinnamiques ortho-substitués par un groupe fonctionnel réactif. Le groupe fonctionnel pour le cas des benzofuranes est le groupement hydroxyle qui réagira avec la liaison éthylénique du dérivé cinnamique pour former l'hétérocycle furane (Horaguchi et Hosokawa, 2002; Li et al., 2005; Shaikh et Varvounis, 2015)

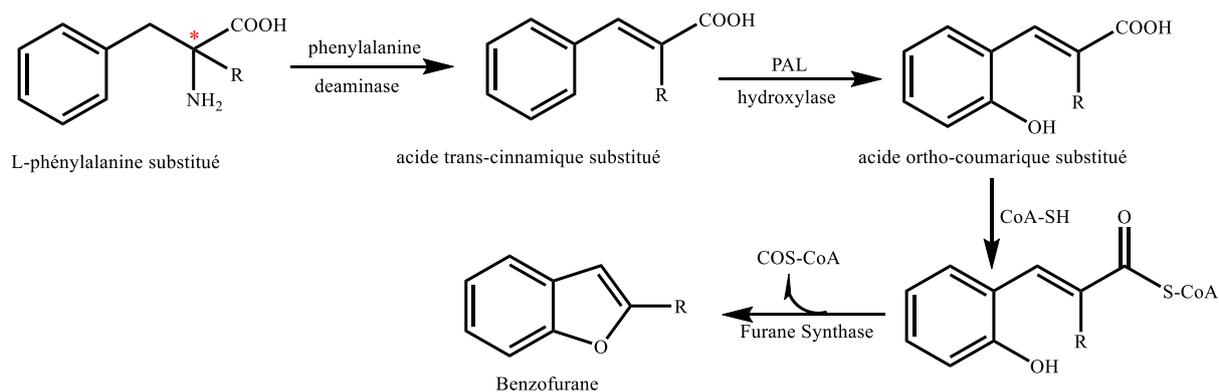


Schéma 1. Voie biosynthétique proposée pour la formation des benzofuranes.

I.2.1.1.2.3. Intérêts biologiques des benzofuranes

Les benzofuranes sont des hétérocycles rencontrés dans de nombreux produits naturels et présentant un large panel d'activités biologiques et d'applications diverses. Ils présentent à cet effet des propriétés antimicrobiennes, anticancerigène, inhibitrice des enzymes, antivirales, antituberculose, anti-oxydante (Reshma et al., 2015; Naik et al., 2015; Miao et al., 2019), antidiabétique, anti-Alzheimer et anti-inflammatoire (Dawood, 2019).

I.2.1.1.2.4. Aperçu sur les méthodes spectroscopiques utilisées dans l'élucidation des structures des benzofuranes.

Les techniques utilisées pour la détermination des structures des benzofuranes sont presque les mêmes utilisées pour les autres familles des composés. On peut citer : L'IR, l'UV, la RMN ^1H , la RMN ^{13}C , la RMN à deux dimensions (COSY, TOCSY, NOESY, INADEQUATE, HMBC et HSQC) et la spectrométrie de masse.

I.2.1.1.2.5. La spectroscopie infrarouge

L'analyse infrarouge est utilisée pour déterminer la présence des groupes aromatiques, carbinols aromatiques et hydroxyles. C'est ainsi que les absorptions entre 1630 et 1500 cm^{-1} la présence des groupes aromatiques. Les absorptions entre 1200 et 1145 cm^{-1} correspondent aux groupes carbinols (C – O) et celles entre 3600 et 3380 cm^{-1} suggèrent la présence du groupe hydroxyle. (Rahman et al., 2012; Zeng et al., 2013).

I.2.1.5.2.6. La résonance magnétique nucléaire du proton

La RMN ^1H des benzofuranes montre principalement les signaux des protons aromatiques entre δ_{H} 6,45 et 7,80 ppm (Halabalaki et al., 2000; Komatsu et al., 1978; Souza et al., 1988) et les signaux des protons oléfiniques en positions 2 et 3 des benzofuranes, s'il existent, entre 6,70 et 7,50 ppm (Komatsu et al., 1978; Halabalaki et al., 2000).

Pour les benzofuranes substitués, on observera aussi sur ce spectre RMN ^1H les signaux des protons des groupes substituants.

Le [tableau 3](#) présente les données RMN ^1H de l'Ebenfuran I (**8**) isolé de l'*Onobrychis ebenoides* (Halabalaki et al., 2000).

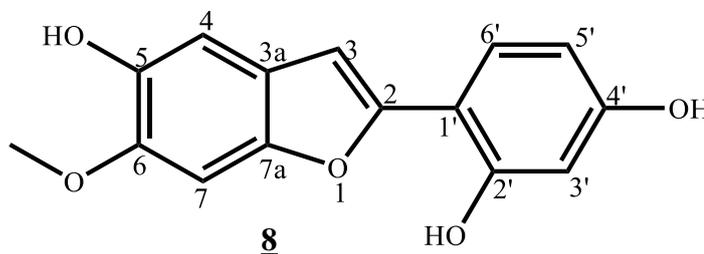


Tableau 3. Données RMN ^1H (CD_3OD) de l'Ebenfuran I (Halabalaki et al., 2000)

N°	δ_{H} (m, J en Hz)
2	–
3	7,02 (s)
3a	–
4	6,91 (s)
5	–
6	–
7	7,10 (s)
7a	–
1'	–
2'	–
3'	6,42 (d, J = 1,9)
4'	–
5'	6,41 (dd, J = 1,9, 8,3)
6'	7,86 (d, J = 8,3)
6-OCH ₃	3,89 (s)

I.2.1.1.2.7. La résonance magnétique nucléaire du carbone

Sur le spectre RMN ^{13}C des benzofuranes, on observe au moins huit signaux. Les plus caractéristiques étant les signaux des carbones aromatiques entre 98 et 130 ppm, le signal d'un carbone oléfinique (C-3) entre 100 et 130 ppm et celui d'un carbone oléfinique oxygéné (C-2) entre 145 et 166 ppm (Halabalaki et al., 2000; Komatsu et al., 1978; Souza et al., 1988).

Le [tableau 4](#) présente les données RMN ^{13}C de l'Ebenfuran I (**8**) isolé de l'*Onobrychis ebenoides* (Halabalaki et al., 2000).

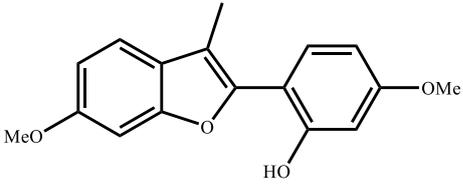
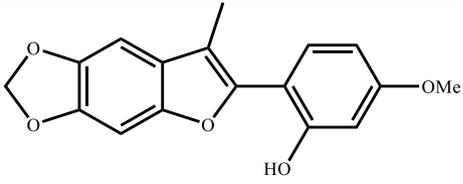
Tableau 4: Données RMN ¹³C (CD₃OD) de l'Ebenfuran I (Halabalaki et al., 2000)

N°	δ _C (ppm)
2	154,6
3	104,5
3a	124,4
4	106,5
5	144,7
6	147,7
7	96,3
7a	149,7
1'	112,1
2'	157,3
3'	104,3
4'	159,8
5'	108,5
6'	128,6
6-OCH ₃	57,3

Les informations que nous fournissent les spectres RMN à deux dimensions sont également capitales pour bien élucider les structures des benzofuranes. C'est ainsi que le spectre COSY montre des corrélations entre 2 protons séparés par 3 liaisons. La technique HMBC donne des corrélations entre protons et carbones séparés par 2 ou 3 liaisons tandis que la technique HSQC donne les corrélations entre carbones et protons directement liés.

Le [tableau 5](#) présente quelques benzofuranes isolés des plantes de *Indigofera*.

Tableau 5. Quelques benzofuranes isolés du genre *Indigofera*.

Structures et noms	Sources	Références
 <p>2-(2'-hydroxy-4'-methoxyphenyl)- 3-methyl-6-methoxybenzofurane 9</p>	<i>I. microcorpa</i>	Maria et al., 1988
 <p>2-(2'-hydroxy-4'-methoxyphenyl)- 3-méthyl-5,6- dioxométhylènebenzofurane 10</p>	<i>I. microcorpa</i>	Maria et al., 1988

I.2.1.1.3. Flavonoïdes

I.2.1.1.3.1. Généralités

Occupant une place prépondérante dans le groupe des phénols, les flavonoïdes sont des métabolites secondaires ubiquistes des plantes. Ils sont responsables de colorations des fruits, des fleurs et souvent des feuilles. Plus de 5000 types de flavonoïdes ont été identifiés dans les plantes. Ces composés possèdent tous un squelette de base de quinze atomes de carbone constitué de deux cycles benzéniques reliés entre eux par une chaîne aliphatique de trois carbones (noyau diphenylpropane : C₆-C₃-C₆) (Bravo, 1998) (Figure 3).

Les flavonoïdes sont présents dans toutes les parties des végétaux supérieurs : racines, tiges, feuilles, fleurs, pollens, fruits, graines et bois. Certains flavonoïdes sont spécifiques de certains tissus (Bruneton, 1999).

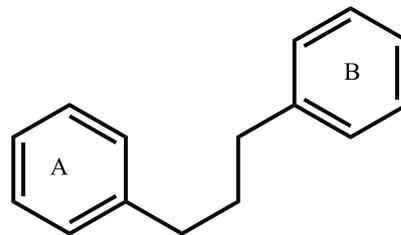


Figure 3. Squelette de base des flavonoïdes.

I.2.1.1.3.2. Biosynthèse des Flavonoïdes et Classification

La biosynthèse des flavonoïdes se fait à partir d'un précurseur commun, la 4,2',4',6'-tétrahydroxychalcone. Par l'action successive d'enzymes, cette chalcone de couleur jaune, est métabolisée en différentes classes de flavonoïdes (Bruneton, 1999).

Structurellement, les flavonoïdes se répartissent en 12 classes de molécules, à savoir: les chalcones, les aurores, les flavanones, les flavones, les flavonols, les flavanonols, les isoflavones, les isoflavanones les pterocarpanes les flavan-3-ols, les roténoïdes et les anthocyanines. Ces diverses substances se rencontrent à la fois sous forme libre ou sous forme de glycosides (Bruneton, 1993).

Les flavonoïdes sont les composés les plus rencontrés dans le genre *Indigofera* et sont majoritairement sous forme de glycosides (Rahman et al., 2018). Une ou plusieurs de leurs fonctions hydroxyles sont alors glycosylées. La partie du flavonoïde autre que le sucre est appelée aglycone.

Le schéma 2 présente la biosynthèse des flavonoides:

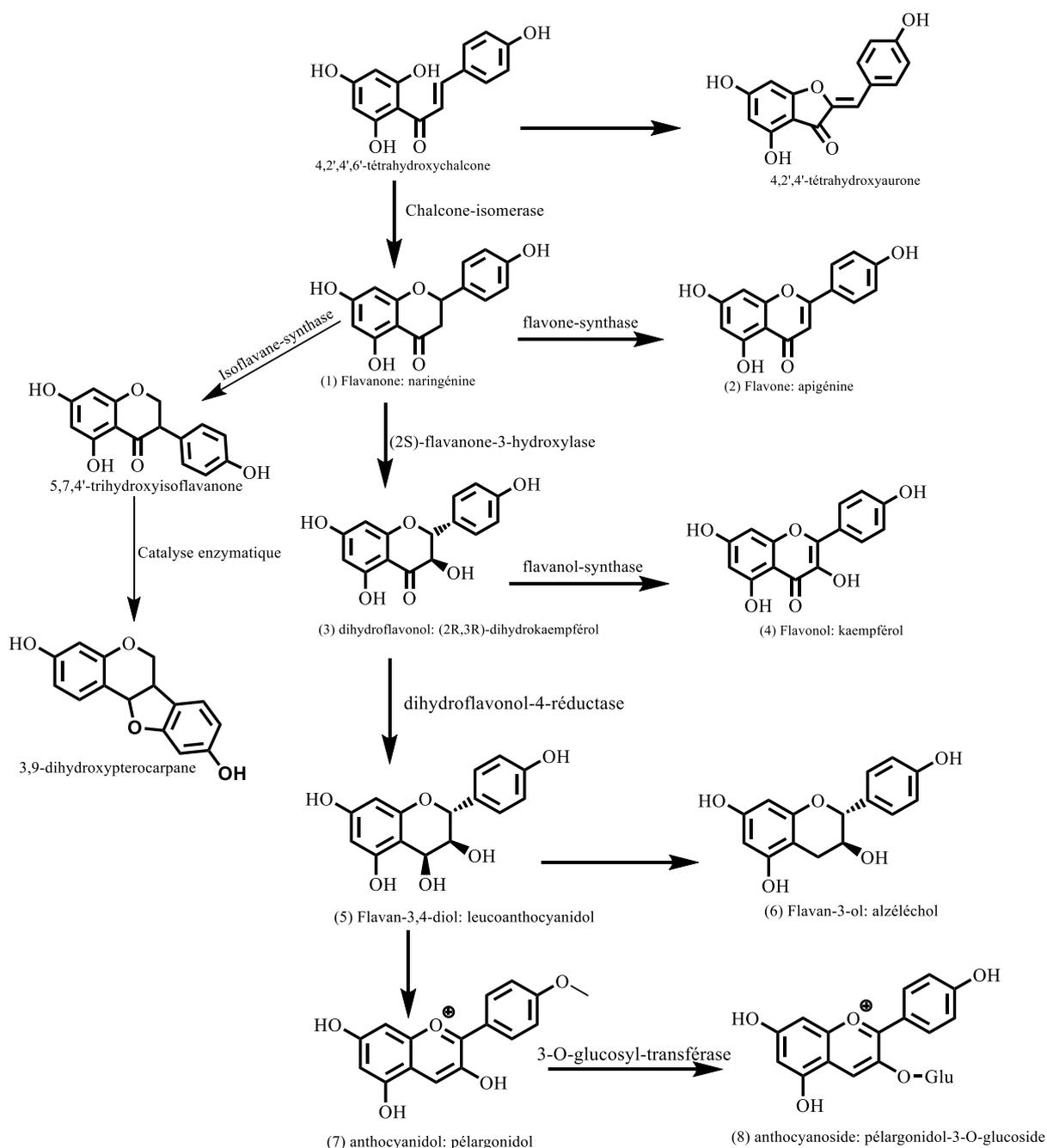
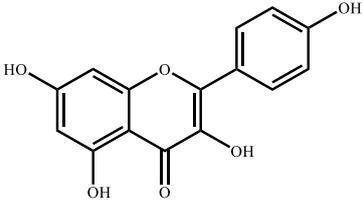
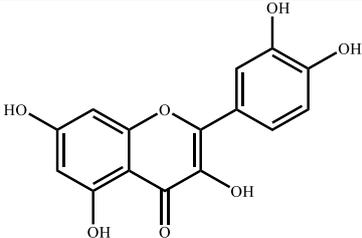
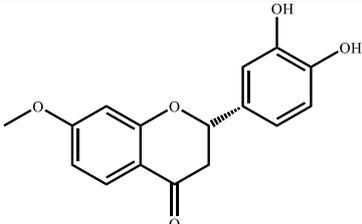
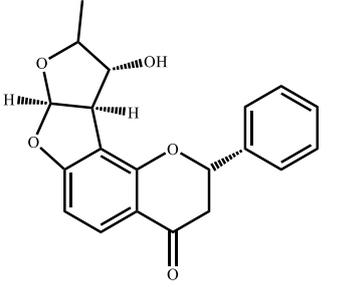
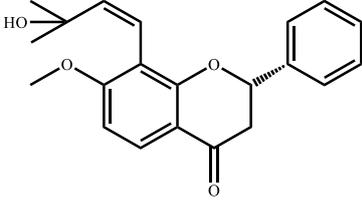
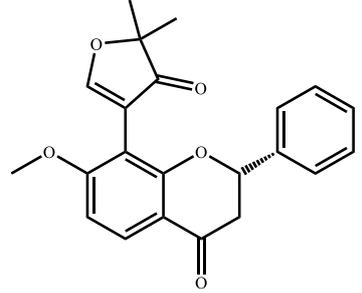
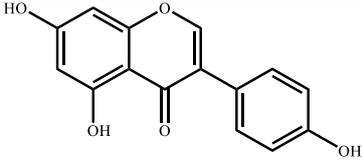


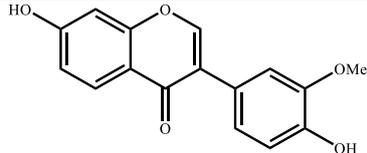
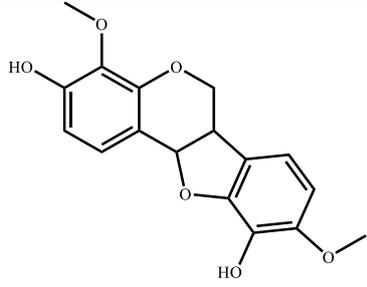
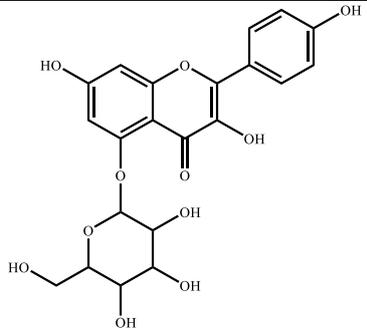
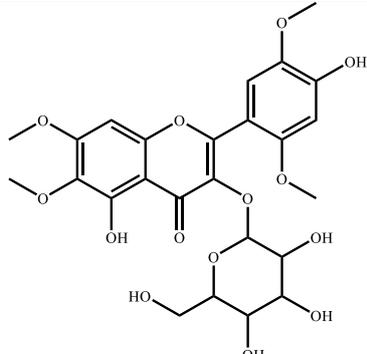
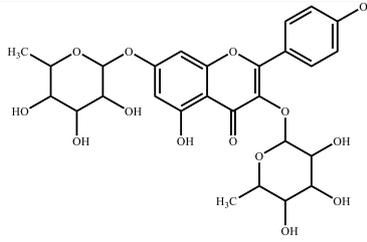
Schéma 2. Biosynthèse des flavonoïdes (Bruneton, 1999).

Le [tableau 6](#) présente quelques flavonoïdes isolés des plantes du genre *Indigofera*.

Tableau 6. Quelques Flavonoïdes isolés du genre *Indigofera*.

Structures et noms	Sources	Références
 <p>Kaempferol 11</p>	<p><i>I. aspalathoides</i> Vahl ex DC.</p>	<p>Swarnalatha et al., 2015</p>

 <p>Quercetine 12</p>	<p><i>I. aspalathoides</i> Vahl ex DC.</p>	<p>Swarnalatha et al., 2015</p>
 <p>Hetranthin A 13</p>	<p><i>I. hetrantha</i> Wall.</p>	<p>Subramaniam et Ayarivan, 2014</p>
 <p>(+)-5''-deacetylpurpurin 14</p>	<p><i>I. spicata</i></p>	<p>Bueno et al., 2013</p>
 <p>(2S)-2,3-dihydrotephroapollin C 15</p>	<p><i>I. spicata</i></p>	<p>Bueno et al., 2013</p>
 <p>(2S)-2,3-dihydrotephroglabrin 16</p>	<p><i>I. spicata</i></p>	<p>Bueno et al., 2013</p>
 <p>Genistein 17</p>	<p><i>I. pseudotinctoria</i></p>	<p>Rahman et al., 2018</p>

 <p>7,4'-Dihydroxy-3'-methoxy isoflavone 18</p>	<p><i>I. pseudotinctoria</i></p>	<p>Rahman et al., 2018</p>
 <p>3,10-dihydroxy-4,9-diméthoxypterocarpane 19</p>	<p><i>I. aspalathoides</i></p>	<p>Swarnalatha et al., 2015</p>
 <p>Kaempferol 7-alloside 20</p>	<p><i>I. hebeptala</i></p>	<p>Rahman et al., 2018</p>
 <p>Hetrantin B 21</p>	<p><i>I. hetrantha</i> Wall.</p>	<p>Subramaniam et Ayarivan, 2014</p>
 <p>Kaempferitrin 22</p>	<p><i>I. arrecta</i></p>	<p>Rahman et al., 2018</p>

Les flavonoïdes sont des composés doués de propriétés anti-allergiques, hépatoprotectrice, antispasmodique, diurétique, antibactériennes, antivirales et rarement cytostatique (Bruneton, 1993). La principale activité attribuée aux flavonoïdes est celle de la

« vitamine P ». Potentiellement veino-actifs, ils diminuent la perméabilité capillaire et renforcent leur résistance (Bruneton, 1993).

I.2.1.1.4. Les stilbénoides

Les stilbénoides sont les polyphénols naturels qui ont un enchaînement C₆-C₂-C₆ dans lequel deux cycles benzéniques sont reliés par un pont éthylène. Il en existe deux formes isomériques, la forme (*E*)-1,2-diphényléthylène ((*E*)-stilbène) et la forme (*Z*)-1,2-diphényléthylène ((*Z*)-stilbène) (Figure 7) (Hart, 1981). La forme *cis* (*Z*) est obtenue par photoisomérisation ou par l'action de la chaleur (Hart, 1981). La forme *trans* (*E*) étant la forme la plus stable et bioactive (Mérillon et al., 1997), est en général plus abondante dans les différentes espèces végétales productrices de stilbènes (Hart, 1981).

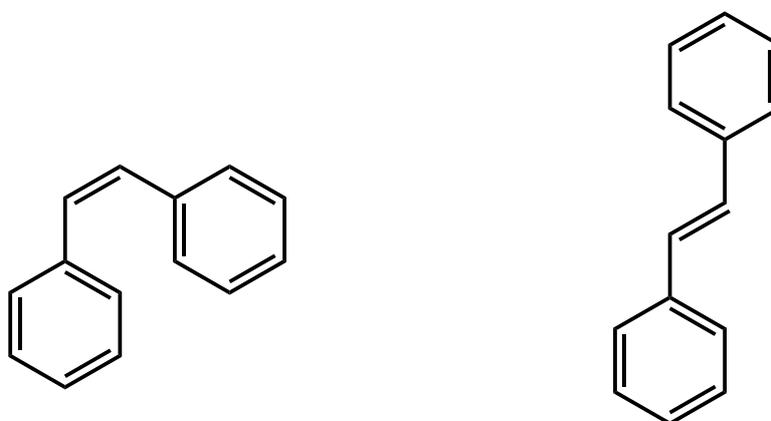


Figure 4. Structure générale des stilbènes sous leurs formes *cis* à gauche et *trans* à droite.

Ayant isolé, au cours de nos travaux, une stilbénolide nouvelle, nous avons jugé important de présenter quelques données supplémentaires relatives à cette famille de composés.

I.2.1.1.4.1. Description générale des stilbènes

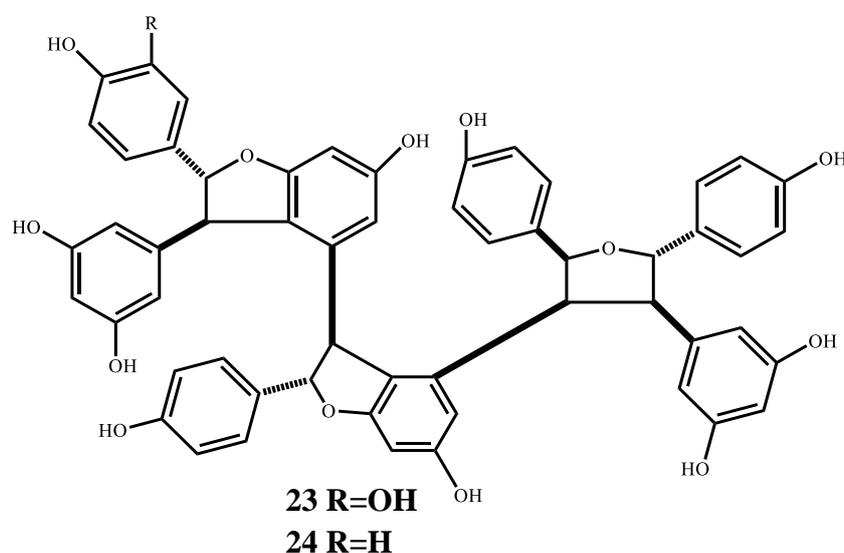
Le mot stilbène dérive du grec stilbos, signifiant « briller », un nom donné suite à l'observation d'une forte fluorescence bleue sous l'action de rayonnements ultraviolets (UV) (Poutaraud et al., 2007). Cette propriété physico-chimique fait des stilbènes des molécules facilement caractérisables en chromatographie sur couche mince (CCM), en chromatographie en phase liquide (HPLC), par utilisation d'un détecteur UV ou d'un détecteur à barrettes de diodes, ou même directement par fluorescence en lumière UV (Poutaraud et al., 2007).

Les stilbènes présentent une forte absorbance à des longueurs d'onde comprise entre 220 et 307 nm. A l'exception des formes glycosylées, les stilbènes sont faiblement solubles dans l'eau, mais sont généralement solubles dans des solvants organiques comme l'éthanol, le méthanol, l'acétate d'éthyle, l'acétone ou l'acide acétique (Hart, 1981).

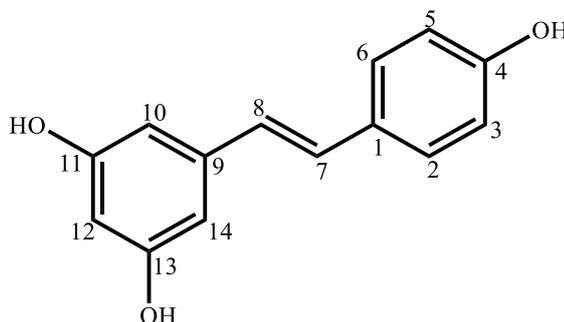
Les stilbènes sont rencontrés sous forme de monomères et d'oligomères en grande quantité dans un nombre limité de familles botaniques, parmi lesquelles nous avons : les Fabaceae, les Moraceae, les Pinaceae, les Cyperaceae, les vitaceae et les Polygonaceae (Rivière et al., 2012).

I.2.1.1.4.2. Nomenclature des stilbènes

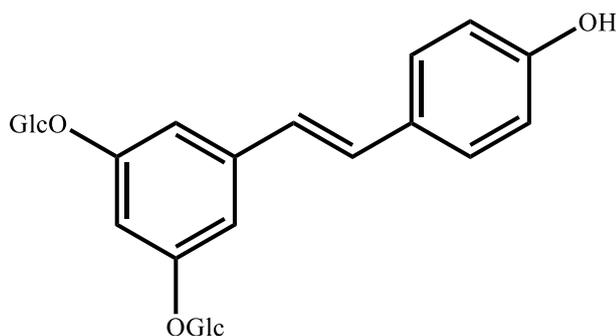
Les noms que portent les stilbènes ont des origines diverses. C'est ainsi que certains d'entre eux dérivent des noms des plantes dont elles ont été isolées. Nous pouvons citer les cas du carexinol A (**23**) isolé de *Carex cuprina* (Arraki et al., 2013) et du kobophenol A (**24**) isolé de *Carex kobomugi* (Kurihara et al., 1991)



Cependant il existe une nomenclature systématique qui permet de nommer tous ces composés, en prenant pour squelette de base le resvératrol (**25**) et en considérant la numérotation sur le squelette de base. L'isomérisie *E/Z* ou *Cis/trans* sera précisé sur le nom.



A titre d'exemple nous avons le (*E*)-11,13-*O*- β -diglucosideresvératrol (**26**).



26

I.2.1.1.4.3. Biosynthèse

Les stilbènes dérivent de la voie des phénylpropanoïdes, et leur synthèse est initiée par une enzyme caractéristique des plantes productrices de stilbènes : la stilbène synthase (STS) (Chong et al., 2009). Cette enzyme a été identifiée puis purifiée pour la première fois en 1984 à partir de suspension cellulaire d'Arachide (Schöppner et Kindl, 1984). La stilbène synthase permet la synthèse de resvératrol ou de pinosylvine à partir de 3 molécules de malonyl-CoA et d'un dérivé ester-CoA d'acide hydroxycinnamique : le *p*-coumaryl-CoA dans le cas du resvératrol, et le *p*-cinnamoyl-CoA dans le cas de la pinosylvine (Jeandet et al., 2002). La réaction est complexe et implique la condensation de 3 unités de malonyl-CoA au niveau de l'ester-CoA d'acide hydroxycinnamique, la formation d'un polycétide intermédiaire qui sera par la suite cyclisé par une condensation du carbone 2 sur le carbone 7, accompagnée d'une étape de décarboxylation (Tropf et al., 1994). Cette condensation est dite de type Aldol (Schéma 3).

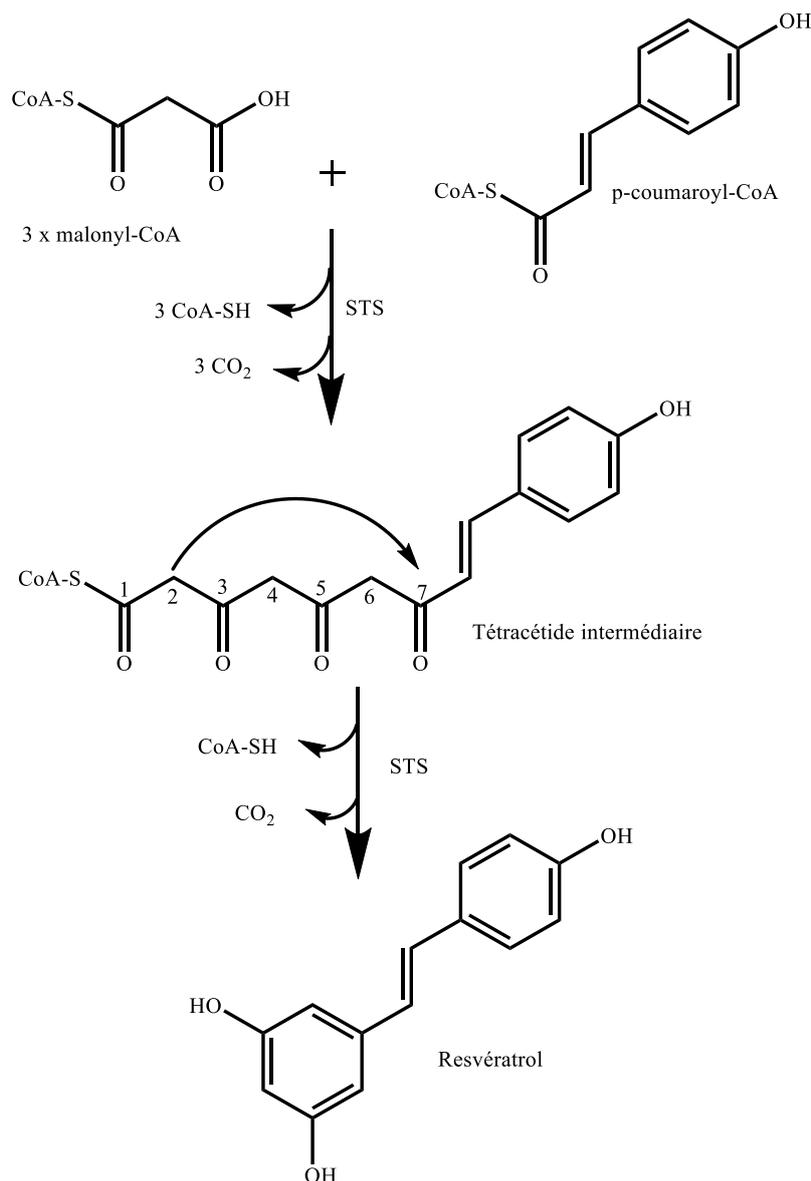


Schéma 3. Biosynthèse du resvératrol par la stilbène synthase.

I.2.1.1.4.4. Intérêt biologique des stilbènes

Les stilbènes sont des métabolites secondaires présentant une potentialité de propriétés biologiques de par leur grande variabilité chimique pouvant dépendre du nombre d'unités de resvératrol, du nombre de OH vicinaux et de la conformité spatiale des molécules. Ces propriétés biologiques peuvent avoir un impact bénéfique sur la santé humaine et végétale.

Dans le cadre de la santé humaine, les stilbènes, comme tout polyphénol, sont tout d'abord connus pour leurs propriétés antioxydantes; ils sont d'excellents candidats pour le piégeage de radicaux libres (Rodriguez-Mateos et al., 2014). Cependant, ces molécules sont également capables de moduler l'expression de gènes et de protéines impliquées dans différentes pathologies. Ces deux activités interviennent notamment dans la prévention des

maladies cardiovasculaires, de certains cancers, des maladies neurodégénératives et métaboliques (Rodriguez-Mateos et al., 2014).

En ce qui concerne les végétaux, les stilbènes s'accumulent de façon constitutive dans le bois et l'écorce de certaines plantes ligneuses et en moindre quantité dans les tissus verts, le plus souvent conjugués à des glycosides ou à des groupements méthyles (Hart, 1981). De par leur présence constitutive, les stilbènes sont souvent considérés comme des phytoanticipines, terme donné aux composés de défense naturellement synthétisés et accumulés dans les plantes (Hart, 1981). En dehors de leur présence constitutive dans les parties ligneuses ou les racines d'un certain nombre de plantes, les stilbènes sont également connus en tant que composés de défense, inductibles suite à un stress et sont alors considérés comme des phytoalexines (aident à la défense de la plante lors de l'agression biotique ou abiotique) (Langcake et Pryce, 1976), qui présentent deux effets puissants en santé végétale: antifongiques et allélopathiques (Fiorentino et al., 2006).

I.2.1.1.4.5. Aperçu sur les méthodes spectroscopiques utilisées dans l'élucidation des structures des stilbènes

Les techniques utilisées pour la détermination des structures des stilbènes sont presque les mêmes utilisées pour les autres familles des composés. On peut citer: l'IR, l'UV, la RMN ^1H , la RMN ^{13}C , la RMN à deux dimensions (COSY, TOCSY, NOESY, INADEQUATE, HMBC et HSQC) et la spectrométrie de masse.

I.2.1.1.4.5.1. La spectroscopie InfraRouge

Comme pour tous les composés aromatiques, l'analyse infrarouge est utilisée pour déterminer la présence des groupes hydroxyles, aromatiques et carbinols. En plus de cela dans le cas spécifique des stilbénoides, cette analyse permet de détecter les carbones oléfiniques. C'est ainsi que les absorptions entre 3600 et 3380 cm^{-1} suggèrent la présence du groupe hydroxyle. Les carbones aromatiques apparaissent entre 1630 et 1500 cm^{-1} . Les absorptions entre 1200 et 1145 cm^{-1} correspondent aux groupes carbinols (C–O) (Rahman et al., 2012; Zeng et al., 2013). Les carbones oléfiniques apparaissent entre 1600 et 1660 cm^{-1} (Arraki et al., 2013).

I.2.1.1.4.5.2. La résonance magnétique nucléaire du proton

Le spectre de RMN ^1H des stilbénoides montre généralement s'ils existent des pics des protons caractéristiques de la resvératrol, compris entre 6,7 et 7,4 ppm, correspondant aux protons aromatiques et oléfiniques (entre 6,7 et 7,1 ppm) (Arraki et al., 2013; Kurihara et al.,

1991). Cependant, l'isomérisie *cis* ou *trans* est donnée par les constantes de couplages des protons oléfiniques. C'est ainsi qu'entre 5 et 12 Hz nous avons une configuration *cis*, alors qu'entre 12 et 18 Hz c'est l'isomère *trans* (Arraki et al., 2013; Kurihara et al., 1991).

Le tableau 7 présente les données RMN ¹H de la (*E*)-13,15-*O*-β-diglucosideresvétratol (26) isolée de *Carex hirta* (Arraki et al., 2013).

Tableau 7. Données RMN ¹H (CD₃OD) de la (*E*)-11,13-*O*-β-diglucosideresvétratol (Arraki et al., 2013).

N°	δ _H (m, J en Hz)
2	7,38 (<i>d</i> ; 8,0)
3	6,78 (<i>d</i> ; 8,0)
5	6,78 (<i>d</i> ; 8,0)
6	7,38 (<i>d</i> ; 8,0)
7	6,89 (<i>d</i> ; 16,4)
8	7,08 (<i>d</i> ; 16,4)
10	6,94 (<i>d</i> ; 2,0)
12	6,75 (<i>d</i> ; 2,0)
14	6,94 (<i>d</i> ; 2,0)
Glucose	
1'-1''	4,94 (<i>d</i> ; 7,0)
2'-2''	3,36 – 3,56
3'-3''	3,36 – 3,56
4'-4''	3,36 – 3,56
5'-5''	3,36 – 3,56
6'-6''	3,94 (<i>dd</i> ; 12,0; 2,0)
	3,70 (<i>dd</i> ; 12,0; 6,0)

I.2.1.1.4.5.3. La résonance magnétique nucléaire du carbone 13

Sur le spectre de RMN ¹³C des stilbénoides, on observe entre 100 et 140 ppm au moins 14 signaux correspondant aux deux carbones oléfiniques et aux 12 carbones aromatiques (Arraki et al., 2013; Kurihara et al., 1991).

Le tableau 8 présente les données RMN ¹³C de la (*E*)-11,13-*O*-β-diglucosideresvétratol (26) (Arraki et al., 2013).

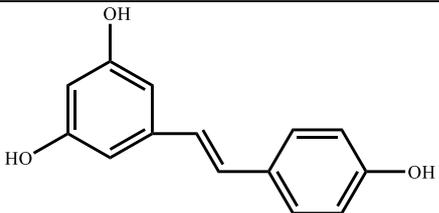
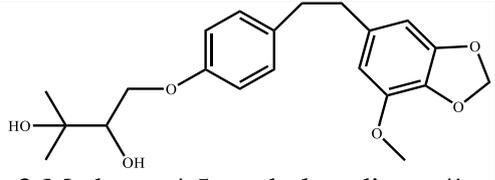
Tableau 8. Données RMN ^{13}C (CD_3OD) de la (*E*)-13,15-*O*- β -diglucosidèresvétatrol (Arraki et al., 2013).

N°	δ_{C} (ppm)
1	128,2
2	129,4
3	115,7
4	158,1
5	115,7
6	129,4
7	129,6
8	125,5
9	140,6
10	108,8
11	157,7
12	104,1
13	157,5
14	108,8
Glucose	
1'-1''	101,6
2'-2''	74,2
3'-3''	77,2
4'-4''	71,3
5'-5''	77,5
6'-6''	62,4

Les informations que nous fournissent les spectres de RMN à deux dimensions sont également capitales pour bien élucider les structures des stilbénoides. C'est ainsi que le spectre COSY montre des corrélations entre 2 protons séparés par 3 liaisons. La technique HMBC donne des corrélations entre protons et carbones séparés par 2 ou 3 liaisons tandis que la technique HSQC donne les corrélations entre carbones et protons directement liés (Arraki et al., 2013).

Le [tableau 9](#) présente quelques stilbénoides isolés du genre *Indigofera*.

Tableau 9. Quelques stibénoïdes isolés du genre *Indigofera*.

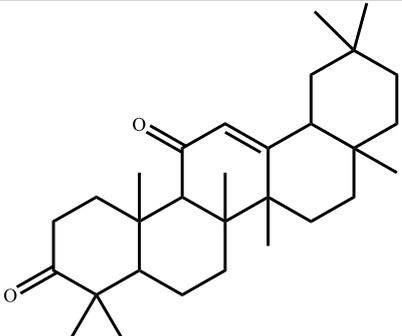
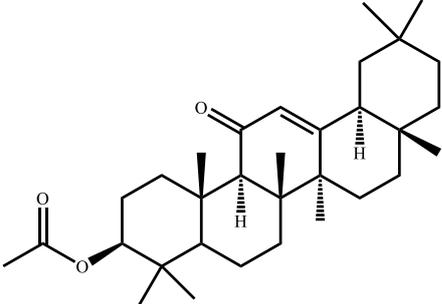
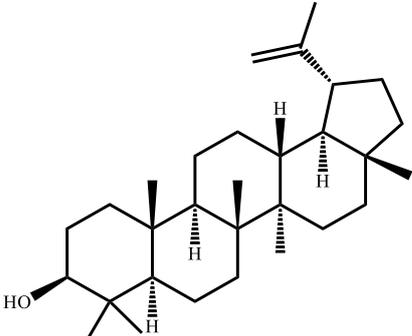
Structures et noms	Sources	Références
 <p>(E)-resvératrol 27</p>	<i>I. linnaei</i>	Sandhyavali et al., 2014
 <p>3-Methoxy-4,5-methylenedioxy-4'- O-(2ξ,3-dihydroxy-3-methylbutyl)- dihydrostilbene 28</p>	<i>I. pulchra</i>	Musa et al., 2008

I.2.1.2. Les triterpénoïdes

Les triterpénoïdes représentent une des classes de composés presque toujours isolés des plantes et se divisent en plusieurs classes de métabolites secondaires ayant le squalène ou son dérivé 2,3-*S*-époxy-squalène comme précurseurs biosynthétiques (Dewick, 2002). Le squalène lui-même provient d'une série de réactions faisant intervenir les unités isopréniques formées par les organismes vivants par la voie mevalonate avec l'acide mevalonique comme composé de départ (Santelli, 2012). Les triterpènes sont presque toujours hydroxylés en C3 du fait de l'ouverture de l'époxyde et présentent une forte unité structurale (Bruneton, 1993). Les différences majeures sont d'ordre configurationnels et liés à la conformation adoptée par l'époxy-squalène ou du squalène avant la cyclisation (Bruneton, 1993).

Le [tableau 10](#) présente quelques triterpènes isolés du genre *Indigofera*.

Tableau 10. Quelques triterpènes isolés du genre *Indigofera*.

Structures et noms	Sources	Références
 <p>Oléan-12-ène-3,11-dione 29</p>	<i>I. pseudotinctoria</i>	Rahman et al., 2018
 <p>3β-acétoxyoléan-12-én-11-one 30</p>	<i>I. pseudotinctoria</i>	Rahman et al., 2018
 <p>Lupéol 31</p>	<i>I. kirilowi</i>	Subramanian et Ayarivan, 2014

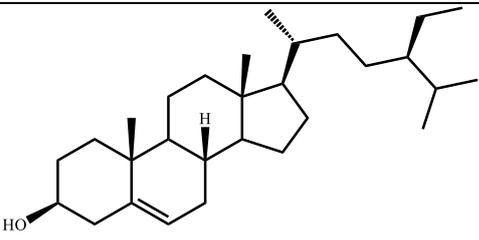
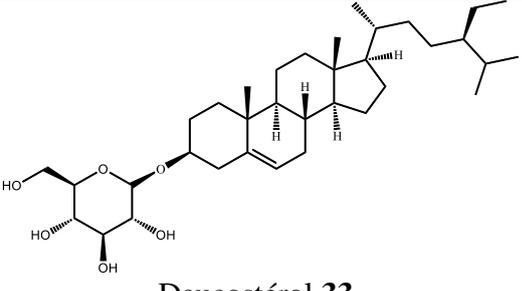
Les triterpénoïdes jouent un rôle important dans la physiologie des plantes. Ils présentent des activités antimicrobiennes, anti-inflammatoires, cytotoxiques, antiulcéreuses, antivirales et antifongiques (Parie et Moyse, 1965; Bass, 1985).

I.2.1.3. Les stéroïdes

Les stéroïdes constituent le groupe de métabolites secondaires le plus prédominant dans les plantes. Ils regroupent les composés tels que les acides biliaires, les hormones sexuelles, les glucosides cardiaques, les amines stéroïdiennes, etc. Ils dérivent du même précurseur que les triterpènes et sont considérés comme des triterpènes tétracycliques qui ont perdu au moins trois groupes méthyles dont deux méthyles en C-4 du cycle A et le méthyle C-14 adjacent aux cycles C et D (Bruneton, 1999)

Le [tableau 11](#) donne quelques stéroïdes isolés de *Indigofera*.

Tableau 11. Quelques stéroïdes isolés de *Indigofera*.

Structures et noms	Sources	Références
 <p>β-Sitostérol 32</p>	<i>I. pseudotinctoria</i>	Rahman et al., 2018
 <p>Daucostérol 33</p>	<i>I. pseudotinctoria</i>	Rahman et al., 2018

Les stéroïdes présentent plusieurs propriétés pharmacologiques. C'est ainsi que le β -sitostérol et le stigmasitostérol sont des matières premières dans la production des médicaments stéroïdiens (contraceptifs, anti-inflammatoire, anabolisant, etc.) (Bruneton, 1993). Le β -sitostérol joue un rôle essentiel dans la régulation du taux de cholestérol sanguin, il atténue l'hypertrophie bénigne de la prostate et est très réactif contre le venin du serpent (Welter et al., 2000).

I.2.1.4. Les acides gras et les acides aminés

Les acides gras, molécules peu abondantes sous forme de matières grasses fraîches, sont les acides carboxyliques à chaîne aliphatique hydrophobe saturée ou insaturée (Cuvelier et al., 2004). On classe les acides gras en différentes catégories :

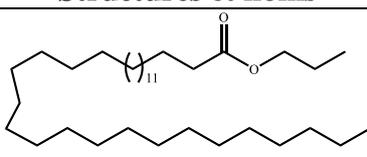
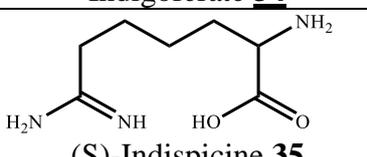
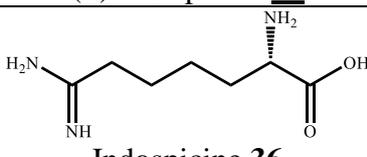
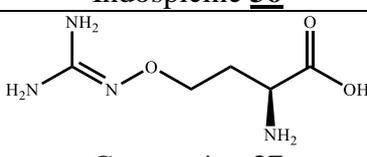
- Les **acides gras saturés** linéaires ou ramifiés qui sont majoritairement présents dans les matières grasses d'origine animale et sous forme cachée dans les viandes, les charcuteries, les fromages, les pâtisseries.
- Les **acides gras monoinsaturés** se rencontrent aussi bien dans le monde animal que végétal.
- Les **acides gras polyinsaturés** qui se retrouvent principalement dans les huiles végétales et les poissons gras (Cuvelier et al., 2004).

Un acide aminé est un acide carboxylique qui possède également un groupe fonctionnel amine. Dans le monde vivant, on connaît environ 500 acides aminés, dont 149 sont présents dans les protéines (Ambrogelly et al., 2007). Les acides aminés peuvent être

classés de nombreuses manières (Wagner et Musso, 1983) : on les classe ainsi souvent en fonction de la position du groupe amine par rapport au groupe carboxyle en distinguant par exemple les acides α -aminés, β -aminés, γ -aminés ou δ -aminés; on peut également les classer en fonction de leur polarité, de leur point isoélectrique ou de leur nature aliphatique, aromatique, cyclique ou à chaîne ouverte.

Le [tableau 12](#) présente quelques acides gras et aminés isolés du genre *Indigofera*.

Tableau 12. Quelques acides gras et aminés isolés de *Indigofera*.

Structures et noms	Sources	Références
 <p>Indigoferate 34</p>	<i>I. heterantha</i>	Rahman et al., 2014
 <p>(S)-Indispicine 35</p>	<i>I. spicata</i> et <i>I. endecaphylla</i>	Warjeet et al., 2011
 <p>Indospicine 36</p>	<i>I. spicata</i>	Subramaniam et Ayarivan, 2014
 <p>Canavanine 37</p>	<i>I. spicata</i>	Rosenthal, 1991

Les acides aminés et en particulier les α -aminés jouent un rôle crucial dans la structure, le métabolisme et la physiologie des cellules de tous les êtres vivants, en tant que constituants des peptides et des protéines (Ambrogelly et al., 2007). Ils constituent à ce titre, après l'eau, l'essentiel de la masse du corps humain.

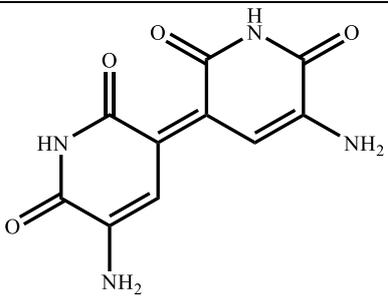
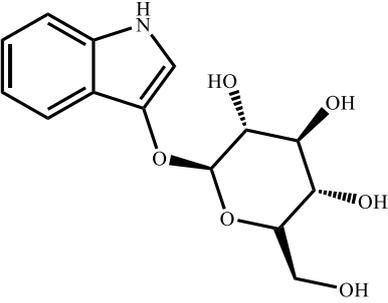
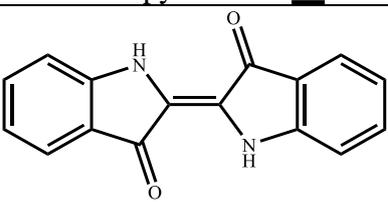
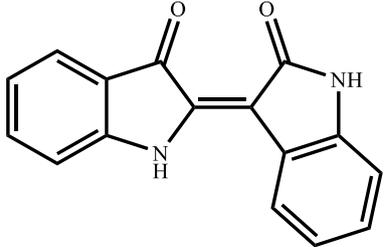
I.2.1.2 Les alcaloïdes

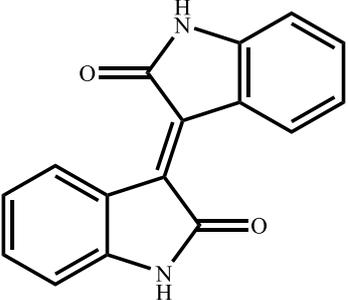
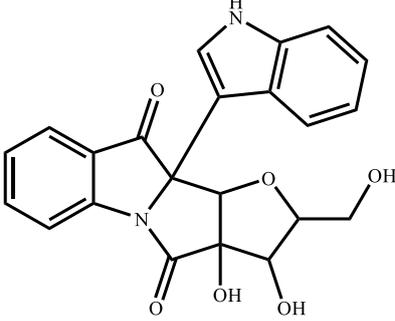
Les alcaloïdes sont des composés organiques azotés et considérés comme des bases de Lewis à cause du doublet d'électrons libres que porte l'atome d'azote. Habituellement, les alcaloïdes dérivent des acides aminés et sont fréquemment trouvés dans les plantes à fleurs, les champignons et certains groupes d'animaux tels que les fourmis et les grenouilles (Harborne, 1995). Les alcaloïdes peuvent être classés en trois grands groupes (Bruneton, 1993):

- Les alcaloïdes vrais, pour qui l'azote est inclus dans le système hétérocyclique et qui biogénétiquement dérivent des acides aminés;
- Les proto- alcaloïdes qui sont des amines simples dont l'azote n'est pas inclus dans le système hétérocyclique. Ils sont réalisés *in vitro* à partir des acides aminés;
- Les pseudo- alcaloïdes qui présentent toutes les caractéristiques des alcaloïdes vrais à la seule différence qu'ils ne dérivent pas des acides aminés. Il s'agit dans la majorité des cas des alcaloïdes terpénoïques (Bruneton, 1993).

Le [tableau 13](#) présente quelques alcaloïdes isolés de *Indigofera*.

Tableau 13. Quelques alcaloïdes isolés du genre *Indigofera*.

Structures et noms	Sources	Références
 <p>Indigoidin 38</p>	<i>I. pseudomonas</i>	Souza et al., 1988
 <p>1H-Indol-O-β-Glucopyranoside 39</p>	<i>Indigofera spp</i>	Rahman et al., 2018
 <p>Indigotin 40</p>	<i>I. tinctoria</i>	Finnegan et Mueller, 1965
 <p>Indirubin 41</p>	<i>I. tinctoria</i>	Andreotti et al., 2004

 <p>[3,3'-Biindoline]-2,2'-dione 42</p>	<p><i>I. tinctoria</i></p>	<p>Andreotti et al., 2004</p>
 <p>Isatisine A 43</p>	<p><i>I. isatis</i></p>	<p>Rahman et al., 2018</p>

Les alcaloïdes agissent sur le système nerveux central comme dépresseurs (morphine), comme stimulants (caféine) ou sur le système nerveux autonome comme sympathomimique (éphedrine), parasymphomimétrique (serine), anti-cholinergique (atropine). Ils sont aussi curarissants, anesthésiques locaux (cocaïne), antifibrillants (quinidine), anti-tumoraux (ellipticine), antipaludiques (quinine) et amoebicides (émetine) (Bruneton 1993; Christina et al., 2003; Nacoulma 1996).

I.2.2. Travaux biologiques antérieurs sur le genre *Indigofera*

Les *Indigofera* constituent de nos jours une source importante de composés polyphénoliques dont les rôles pharmacologiques sont bien connues. Leurs activités anti-protozoaire (Kamal et al., 1993), antimicrobienne (Adamu et al., 2005), antitumorale (Christina et al., 2003), antioxydante et antiinflammatoire (Aziz et al., 2005; Christina et al., 2003) ont été prouvées antérieurement.

I.2.2.1. Propriétés antiprotozoaires

Des études ont montré que *I. tinctoria* est utilisée pour ses propriétés antiprotozoaires dans le plateau central du Burkina Faso (Nacoulma et al., 1996). C'est ainsi que Kamal et al., (1993) ont pu isoler des roténoïdes dans l'extrait de *I. tinctoria* à qui des propriétés antiprotozoaires ont été attribuées (Kamal et al., 1993). Les propriétés antiprotozoaires de cette plante peuvent donc être attribuées aux roténoïdes.

I.2.2.2. Propriétés antimicrobiennes

Plusieurs espèces du genre *Indigofera* ont montré des propriétés antimicrobiennes. En effet, les travaux réalisés sur le décocté de *I. pulchra* par Adamu et al., (2005) ont montré des activités inhibitrices sur *Proteus mirabilis* et *Staphylococcus aureus*; l'extrait méthanolique de *I. colutea* inhibe *proteus vulgaris* (Perumal et al., 1998). D'autres travaux ont montré que les extraits de *I. dendroïdes* (Esimone et al., 1999), *I. doleoides* (Mathabe et al., 2006), *I. oblongifolia* (Dahot, 1999) et *I. suffruticosa* (Leite et al., 2006) ont des propriétés antibactériennes. En plus, *I. oblongifolia* (Dahot, 1999) et *I. suffruticosa* (Leite et al., 2006) ont des propriétés antifongiques.

I.2.2.3. Propriétés antitumorales

Des études menées sur les extraits de *I. aspalathoides* ont montré qu'ils inhibent la prolifération de certaines cellules tumorales comme *Ehrlich ascitic lymphoma* leur conférant ainsi des propriétés antitumorales (Rajkapoor et al., 2004; Christina et al., 2003). En chine, des études biologiques sur *I. tinctoria* ont permis d'identifier l'indirubine qui serait efficace contre les leucémies chroniques (Han, 1994).

I.2.2.4. Propriétés anti-inflammatoires

Plusieurs espèces du genre *Indigofera* ont aussi montré des propriétés anti-inflammatoires, c'est le cas de *I. aspalathoides* (Amala et al., 1982; Christina et al., 2003), de *I. dendroïdes* (Esimone et al., 1999), *I. hetrantha* (Aziz et al., 2005) et *I. colutea* (Perumal et al., 1998). L'espèce *I. oblongifolia*, à travers l'indigotine et l'acide indigoferique qu'il contient, inhibe la lipoxygénase. Cette inhibition *in vitro* confère à cette plante des propriétés anti-inflammatoires (Sharif et al., 2005).

I.2.2.4. Propriétés anti-radicalaires et hépatoprotectrice

L'activité antioxydante des extraits de certaines espèces du genre *Indigofera* a été aussi prouvée. Ainsi les extraits de *I. tinctoria* et *I. arrecta* ont montré des activités antioxydantes en inhibant le DPPH (Sreepriya et al., 2001; Gyamfi et al., 1999).

Par ailleurs, les études de toxicité induite par le tétrachlorure de carbone et le D-galactosamine, réalisées sur les rats ont montré l'effet protecteur de *I. oblongifolia* (Sharif et al., 2005) *I. tinctoria* (Sreepriya et al., 2001) vis-à-vis du foie des rats.

Ayant réalisé des tests d'activités antimicrobiennes et enzymatiques sur les composés isolés dans le cadre de ce travail, nous jugeons utile de présenter quelques généralités sur ces activités.

I.2.2.5. Propriétés antimicrobiennes

I.2.2.5.1. Définition et classification des bactéries

Les infections microbiennes sont des maladies dues aux microorganismes pathogènes, notamment les bactéries pathogènes qui causent plus de 17 millions de décès par an, ce qui représente un tiers de la mortalité observée annuellement sur la planète (WHO, 2018). Ces bactéries sont classées en trois grands groupes:

- Les bactéries Gram-positifs: ce sont des bactéries à paroi fine qui peuvent réagir positivement à la coloration de Gram. Elles sont responsables des infections oculaires et respiratoires, des furoncles, des pneumonies, des angines et des rhumatismes.

Exemples: *Bacillus cereus*, *Staphylococcus aureus*, *Streptococcus hémolitique* et *Streptococcus pneumoniae*.

- Les bactéries Gram-négatifs: ce sont des bactéries à paroi épaisse qui réagissent négativement à la coloration Gram. Elles sont responsables des maladies tels que le Choléra, les infections urinaires, la méningite, la fièvre typhoïde et les diarrhées infectueuses;

Exemples: *Vibrio cholerae*, *Escherichia coli*, *Salmonella typhirium* et *Proteus mirabilis*.

- Les Bactéries acido-alcool-résistantes: Elles sont responsables des maladie tel que la lèpre, la pneumonie et la tuberculose.

Exemples: *Mycobacterium leprae*, *mycobacterium arium* et *mycobacterium tuberculosis*.

I.2.2.5.2. Mise en évidence de la coloration de Gram

La technique de coloration de Gram repose sur les caractéristiques membranaires et de paroi de la bactérie. La coloration au Gram est un facteur déterminant dans la taxonomie bactérienne.

Dans la coloration de Gram, les bactéries sont d'abord colorées par du violet de gentiane, puis elles sont traitées par la liqueur de Gram. Après lavage à l'éthanol, les bactéries qui retiennent la coloration bleu-foncée du violet de gentiane sont des bactéries à Gram positif et celles qui ne retiennent aucune coloration sont appelées bactéries à Gram négatif (Kusari, 2013).

I.2.2.5.3. Préparation des milieux de culture pour une activité antimicrobienne

L'activation et la préparation des milieux de culture sont faites d'après les procédures établies par Kusari et collaborateur, (2009). Les composés à tester sont dissouts dans le MeOH à des concentrations précises. De plus, plusieurs antibiotiques à l'instar de Tétracycline, Gentamicine et Streptomycine peuvent être utilisés comme référence.

L'antibiotique de référence est dissout dans l'eau bi-distillée stérile aux mêmes concentrations que celles des composés à tester.

I.2.2.5.4. Méthodes d'évaluation d'une activité antimicrobienne

Plusieurs méthodes peuvent être utilisées pour évaluer l'activité antimicrobienne :

- La méthode de Stokes, E-test,
- La méthode de diffusion par puits,
- La méthode de diffusion par disque.

Mais nous allons décrire ici la méthode de diffusion par disque qui est celle que nous avons utilisée.

Méthode de diffusion par disque

La méthode de diffusion par disque est une des méthodes employées pour la détermination des activités antibactériennes des composés d'après la "*Clinical and Laboratory Standards Institute, CLSI*" (Wikler, 2006). Toutes les boîtes de pétri stérile (90 mm) préparées contiennent chacune environ 22 mL de milieu Agar, soit d'une épaisseur de 4 mm. Le milieu de culture bactérien (100 µL) est étendu à l'aide d'une micro pipette biologique dans chacune des boîtes de pétri contenant le milieu solide. Après avoir imprégné 40 µL de solution des composés à tester sur les papiers disques stériles (de 6,0 mm de diamètre), laissé sécher dans le "*clean bench*", et mis ces papiers disques dans les boîtes de pétri contenant milieu de culture bactérien, il faut laisser ces boîtes à 4 °C pendant 2 heures et incubé à 37 °C pendant 24 heures. Faire trois contrôles bien déterminés. Le premier contrôle est celui de l'organisme de contrôle et consiste à ensemencer la boîte de pétri sans aucun composé. Le deuxième contrôle consiste à appliquer les composés dans les boîtes de pétri non ensemencées dans le but de rechercher leur stérilité. Le troisième contrôle consiste à contrôler l'effet du solvant par imprégnation sur papier disque de 40 µL de MeOH-HPLC ou de 40 µL d'eau doublement distillée stérile.

Choisir un (ou plusieurs) antibiotique(s) de référence en parallèle afin de comparer son (ses) activité(s) antimicrobienne(s) à celles des composés contre les organismes testés. Le diamètre d'inhibition de l'antibiotique de référence et de chaque composé testé contre chacune des bactéries est déterminé. Il est à noter que chaque test est fait trois fois.

I.2.2.6. Propriétés enzymatiques

I.2.2.6.1. Définition de l'homéostasie et de l'enzyme

L'homéostasie est un processus par lequel un organisme maintient constantes les conditions internes nécessaires à la vie. Cet équilibre fait intervenir le système de surveillance

(vérification), le système nerveux central, le système neuroendocrinien, les mécanismes d'ajustement et les valeurs normales physiologiques. L'homéostasie est nécessaire parce que les organismes sont le siège de nombreuses réactions chimiques (métabolismes) qui produisent des déchets toxiques et épuisent les réserves de réactifs indispensables.

Les enzymes sont des biocatalyseurs protéiques qui activent chacune, une réaction biochimique spécifique contribuant ainsi à l'homéostasie dans le système biologique (Granner et al., 1989).

I.2.2.6.2. Rôle des enzymes dans l'organisme vivant

Les enzymes jouent un rôle très important dans le maintien de l'équilibre de l'organisme. Leur importance biomédicale est indiscutable car elles régulent le métabolisme et l'homéostasie, contrôlent les vitesses de synthèses et, interviennent dans le processus de défense de l'organisme. En effet, l'organisme dispose de systèmes de défense, contre les radicaux libres, constitués d'un dispositif endogène de nature enzymatique représenté par les superoxydes dismutases (SOD), les catalyses à cofacteur fer et les glutathions peroxydases à cofacteur sélénium (GPx). De nombreux autres systèmes enzymatiques existent comme les glutathions transférases; les thioredoxines réductases ou la thyroïde peroxydase.

Cependant, si certaines enzymes interviennent dans la défense de l'organisme ou dans d'autres activités contribuant à l'homéostasie, plusieurs autres enzymes sont responsables de plusieurs pathologies (Enzymo-pathologies) telles que les inflammations, la goutte, la maladie d'Alzheimer et les ulcères. C'est le cas de la xanthine oxydase (XO), des lipoxigénases (LOX), des cyclo-oxygénases (COX) de l'acétylcholinestérase (AChE) et de l'Uréase qui a fait l'objet de notre étude.

Ces enzymes peuvent être des marqueurs dans les traitements des maladies dans lesquelles elles sont impliquées. On peut donc à défaut de tester les drogues sur modèle animal ('*in vivo*'), évaluer leur activité '*in vitro*', en ciblant les enzymes (sur modèle enzymatique) connaissant leur responsabilité dans l'étiologie des différentes maladies.

C'est ainsi qu'on peut inhiber la LOX et la COX pour traiter ou soulager les inflammations (Editorial, 2005; Li et al., 2003; Poubelle et al., 2000), l'AChE pour traiter la maladie d'Alzheimer ou lutter contre la résistance aux insecticides (Lopez et al., 2002) la XO pour traiter ou soulager la goutte (Kong et al., 2000) et l'Uréase pour traiter les ulcères (Arfan et al., 2010).

I.2.2.6.3. Quelques inhibiteurs enzymatiques connus

La plupart des inhibiteurs des enzymes sont synthétiques et souvent non spécifiques. Toutes ces caractéristiques font d'eux des composés souvent à effet secondaires. Le [tableau 14](#) donne quelques exemples d'inhibiteurs enzymatiques utilisés dans le traitement de certaines maladies.

Tableau 14. Quelques inhibiteurs enzymatiques.

Inhibiteurs	Maladie traitée	Enzyme ciblée	Limites/Effets secondaires
Allopurinol	Goutte	Xanthine oxydase	Diarrhées, crampes d'estomac, éruptions cutanées, urticaire, démangeaisons
Naproxène, Ibuprofène et Piroxican	Inflammations	Lipoxygénase et Cyclo-oxygénase	Douleur gastro-intestinale, ulcères, insuffisance rénale, hypertension
Thiourea	Infections bactériennes	Uréase	Prurit, urticaire, arthralgies

Compte tenu du fait que l'enzyme inhibée dans le cadre de notre travail est l'uréase, nous allons donner quelques généralités sur cet enzyme et son inhibiteur de référence (Thiourea)

II.2.6.4. L'uréase

L'uréase (urée amidohydroxylase EC 3.5.15) est une enzyme qui catalyse la réaction de transformation de l'urée en dioxyde de carbone et ammoniac ([Schéma 4](#)) ([Arfan et al., 2010](#); [Kot et al., 2010](#); [Rego et al., 2018](#)). Elle est présente chez les bactéries (Exemples: *Helicobacter pylori*, *Klebsiella pneumoniae*, *streptococcus salivarius*, *Proteus mirabilis* et *Ureaplasma urealyticum*), les champignons, les algues, les levures, et certaines plantes comme *Canavalia ensiformis* (Fabaceae) où elle a été découverte pour la première fois ([Kot et al., 2010.](#), [Rego et al., 2018](#)). L'uréase est une enzyme complexe qui contient plusieurs fonctions thiols (au moins 15 par unité) et dont le site actif possède deux ions Nickels (Ni⁺) qui rendent difficile leur liaison avec les différents inhibiteurs ([Kot et al., 2010](#)). Cette enzyme est un critère biochimique de différenciation très utilisé lors de l'identification des bactéries.

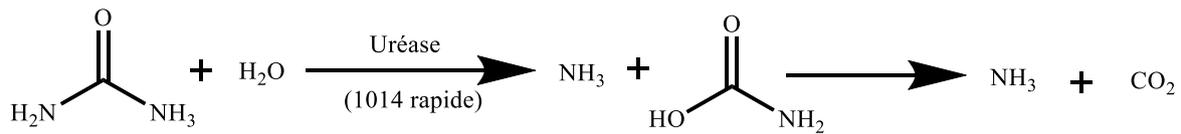


Schéma 4. Hydrolyse de l'urée, catalysée par l'uréase.

L'augmentation moyenne du pH dans l'organisme, due à l'accumulation de l'ammoniac, est donc généralement le fait de la présence dans l'organisme de l'uréase et cela provoque dans la majorité des cas des complications dans la santé des humains et animaux (Rego et al., 2018). C'est ainsi que lors des infections urinaires et gastro-intestinales causées par des bactéries uréolytiques (produisant l'uréase), l'accumulation de l'ammoniac entraîne des complications graves parmi lesquelles nous avons la formation des bosses sur les reins, la pyélonéphrite, l'encéphalopathie hépatique et dans le pire des cas un coma hépatique (Rego et al., 2018).

A titre illustratif, nous avons le cas de l'*Helicobacter pylori*, une bactérie Gram négatif dont l'infection conduit aux inflammations et aux ulcers gastriques, qui peut vivre dans les milieux acides comme l'estomac (où le pH est compris entre 1 et 2) sans toute fois causer dans l'organisme hôte les symptômes des maladies (Rego et al., 2018). Cependant, l'uréase contenu dans le cytoplasme ou lié à la surface de cette bactérie est le facteur de virulence pathogène de cette bactérie dans l'organisme. Car après rupture de la liaison avec la bactérie ou sa libération, par les cellules infectées, l'uréase va accélérer l'hydrolyse de l'urée (présente dans l'organisme avec une concentration de 3 mM) qui va provoquer l'accumulation de l'ammoniac et il va s'en suivre une augmentation moyenne du pH, l'apparition des symptômes de la maladie et parfois des complications dans l'organisme (Rego et al., 2018).

Durant les 20 dernières années, le traitement des infections dues à la bactérie *Helicobacter pylori* consistait à combiner les antibiotiques telques l'amoxicilin et le clarithromycin avec l'omeprazole un inhibiteur des cellules pompes de protons (Rego et al., 2018; Sachs et al., 2005). Par conséquent, la croissance de la résistance de cette bactérie à ces antibiotiques (plus particulièrement au clarithromycin) a rendu inefficace ce traitement ces derniers temps (Rego et al., 2018; Graham et Fishbach, 2010; Follmer, 2010). D'où l'émergence de nouvelles thérapies comme celle incluant un sel de Bismuth, un métal ayant les propriétés anti-uréases (Zhang et al., 2006), combiné à un inhibiteur des cellules pompes de protons (Rego et al., 2018). C'est ce qui nous a amené dans le cadre de nos travaux, de rechercher des inhibiteurs d'uréase.

CHAPITRE II : RÉSULTATS ET DISCUSSION

II.1. ETUDE CHIMIQUE

II.1.1. Matériel végétal, extraction et isolement des produits

II.1.1.1. Partie entière de *Indigofera atriceps*

La plante entière de *I. atriceps* a été récoltée à Koutaba (Région de l'Ouest Cameroun) en Mars 2018 et a été identifiée par M. Victor NANA, botaniste de l'Herbier National du Cameroun à Yaoundé. Un échantillon de cette plante a été enregistré et conservé à l'Herbier National du Cameroun sous le numéro 41126/HNC. Le matériel végétal a été découpé, séché puis broyé. Une masse de 3,8 kg de poudre a été obtenue et a subi une extraction par macération avec le mélange CH₂Cl₂/MeOH (1:1) toutes les 24 heures pendant trois jours. Le filtrat obtenu a été concentré à l'aide d'un évaporateur rotatif et a donné 360,7 g d'extrait brut. Une partie de l'extrait brut (350 g) a été soumise à une chromatographie liquide sous vide (CLV) et sur gel de silice et éluee tour à tour avec le n-hexane (n-Hex), le chlorure de méthylène (CH₂Cl₂), l'acétate d'éthyle (AcOEt), le n-butanol et l'eau. La partition au Chlorure de méthylène (182,4 g), choisie sur la base de son profil chromatographique, a été soumise à une Chromatographie sur Colonne (CC) sur gel de silice et éluee avec des mélanges de n-Hex/AcOEt de polarité croissante. Les fractions issues de la CLV ont ensuite été chromatographiées sur colonne de gel de silice pour donner 12 produits indexés de IAB1 à IAB12 (schéma 5).

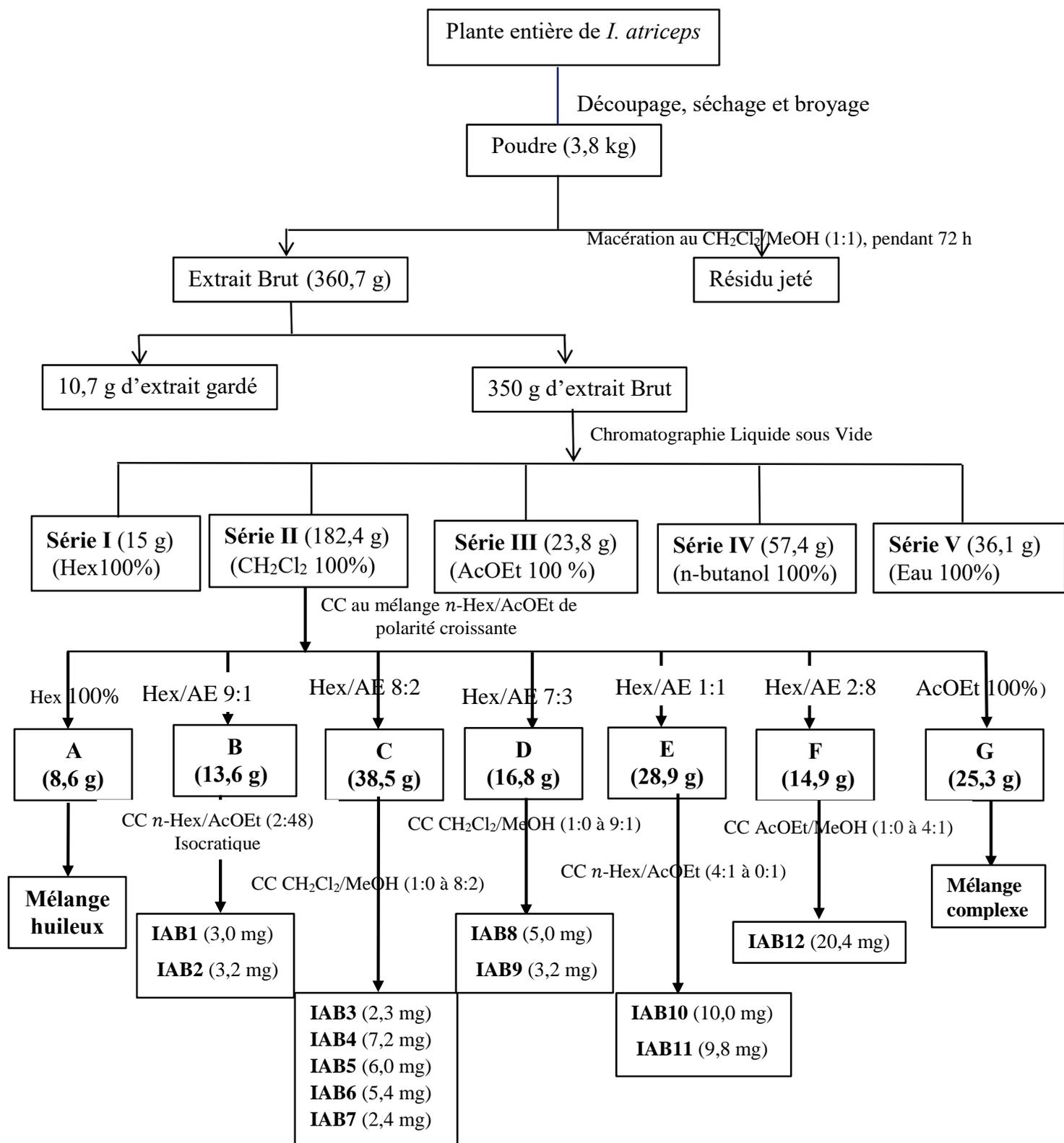


Schéma 5. Protocole d'extraction et d'isolement des composés de *Indigofera atriceps*.

II.1.1.2. Partie entière de *Indigofera spicata*

La plante entière de *I. spicata* a aussi été récoltée à Koutaba (Région de l'Ouest Cameroun) en Mars 2018 et a été identifiée par M. Victor NANA, botaniste de l'Herbier National du Cameroun à Yaoundé. Un échantillon de cette plante a été enregistré et conservé à l'Herbier National du Cameroun sous le numéro 35294/HNC. Le matériel végétal a été séché et broyé. Une masse de 2,5 kg de poudre a été obtenue et a subi une extraction avec le mélange CH₂Cl₂/MeOH (1:1) toutes les 48 heures pendant trois jours. Le filtrat obtenu a été concentré à l'aide d'un évaporateur rotatif et a donné 175 g d'extrait brut. Une partie de l'extrait brut (170 g) a été soumise à une chromatographie flash sur gel de silice et éluée avec des mélanges de *n*-Hex/AcOEt de polarité croissante. Les fractions issues de la chromatographie flash ont ensuite été chromatographiées sur colonne de gel de silice pour donner 11 produits indexés de ISp1 à ISp11 ([schéma 6](#)).

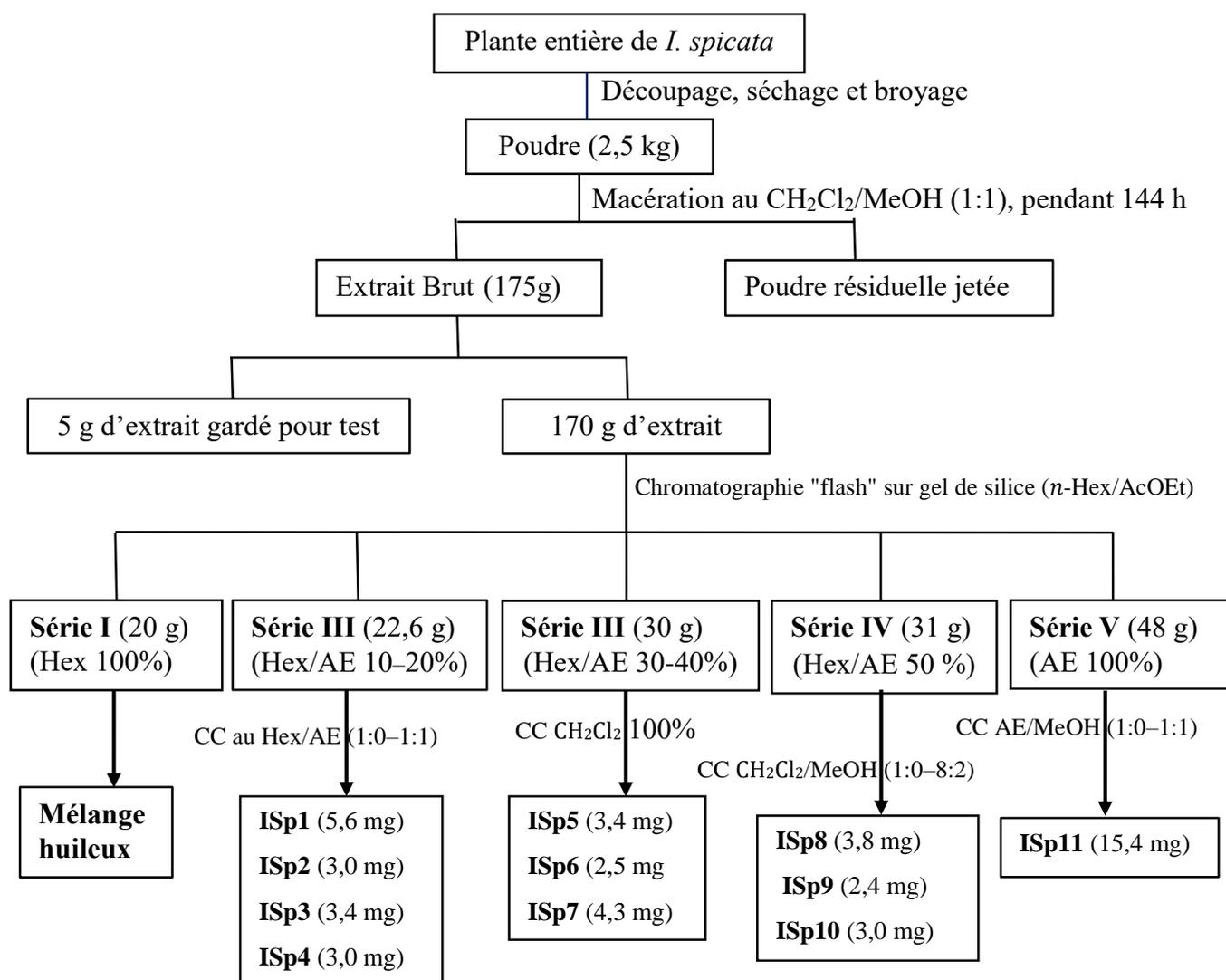


Schéma 6. Protocole d'extraction et d'isolement des composés de *Indigofera spicata*

Le [tableau 15](#) nous donne le récapitulatif des composés isolés des deux plantes et regroupés en classes.

Tableau 15. Récapitulatif des composés isolés des deux plantes et regroupés en classes.

Classes des composés	Codes des composés	Noms et numéros des composés
Les acides benzoïques	IAB3	Atricephenol A (44)
	IAB1	<i>p</i> -hydroxybenzaldéhyde (46)
	ISp7	Dipentyl phtalate (45)
La stibénoïde	IAB4	Atricephenol B (48a)
Les benzofuranes	ISp5	Spibenzofurane (51)
	IAB5 et ISp9	2-(2'-hydroxy-4'-methoxyphenyl)-5,6-methylenedioxybenzofuran (49)
Les flavonoïdes	IAB9	Genistéine (17)
	IAB7	(-)-melilotocarpane A (53)
	IAB8	(-)-melilotocarpane D (52)
	IAB6	Maackiain (54)
	ISp8	7,3'-dihydroxy-6,4'-dimethoxyflavone (55);
Le polyol	IAB12	Bornesitol (56)
La saponine	ISp11	Soyasaponine I (61);
Les stéroïdes	IAB2 et ISp1	β -sitostérol (32)
	ISp2	Stigmasterol (57)
	IAB11	Sitosterol-3- <i>O</i> - β -D-glucopyranoside (58)
	IAB10	Stigmasterol-3- <i>O</i> - β -D-glucopyranoside (59).
Les triterpènes	ISp10	Lupéol (31)
	ISp6	Acide bétulénique (60);
Les acides gras	ISp3	Acide behénique (62)
	ISp4	Dodécanoate de n-butyle (63)

II.1.2. Analyse structurale des composés isolés des deux plantes

Les structures des composés isolés ont été établies sur la base de leurs données spectrales et par comparaison de leurs données spectroscopiques avec celles tirées de la littérature. Ces composés appartiennent à différentes classes que sont : Les flavonoïdes, les stéroïdes, les triterpènes, les acides gras, les acides phénoliques, les stilbènes et les benzofuranes.

II.1.2.1. Les acides Benzoïques et les benzaldéhydes

Dans le cadre de ce travail, nous avons isolé deux acides benzoïques (Atricephénol A et le dipentyl phtalate) et un benzaldéhyde (*p*-hydroxybenzaldehyde).

II.1.2.1.1. Détermination structurale de l'atricephénol A (IAB3)

Le composé IAB3 a été obtenu sous forme de poudre amorphe beige dans le CH_2Cl_2 pur. Il est soluble dans le méthanol et donne une coloration violette en présence du chlorure ferrique, caractéristique des dérivés phénoliques. Sa formule brute $\text{C}_{16}\text{H}_{12}\text{O}_7$ a été déduite de son spectre de masse à haute résolution ESI en mode négatif (Figure 5) qui montre le pic de l'ion pseudomoléculaire $[\text{M}-\text{H}]^-$ à m/z 315,0506 (calc. pour $\text{C}_{16}\text{H}_{11}\text{O}_7$: 315,0510) et contient onze degrés d'insaturations.

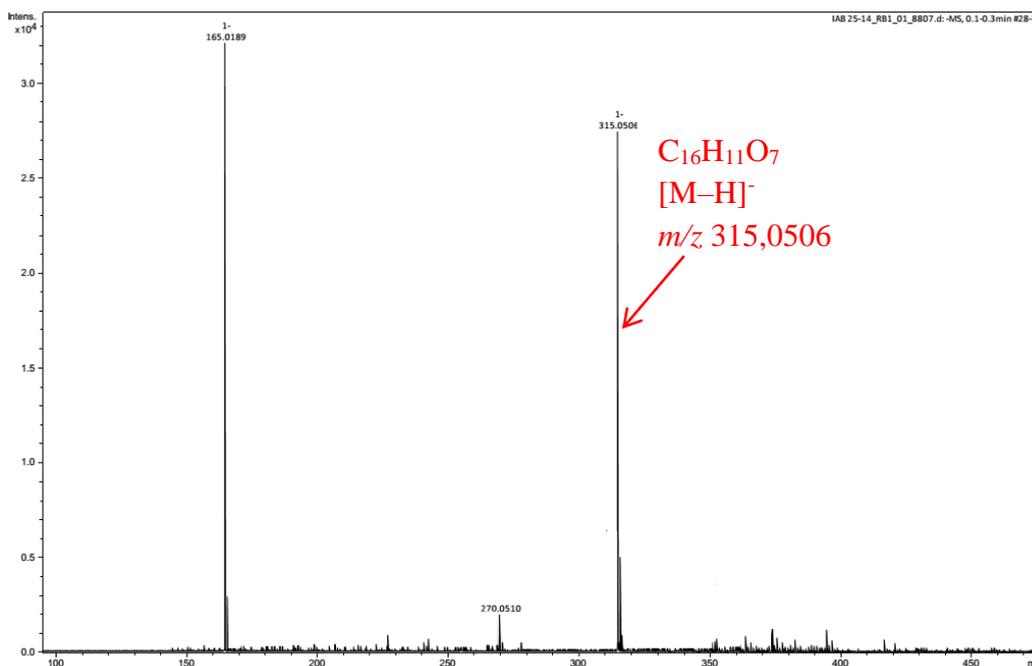


Figure 5. Spectre de Masse (ESI) à haute résolution en mode négatif du composé IAB3.

Le spectre UV (Figure 6) du composé IAB3 montre des bandes d'absorption à λ_{max} 297, 262 et 230 nm suggérant la présence des chromophores carbonyles et benzéniques. Son spectre IR (Figure 7) quant à lui présente des bandes d'absorption à ν_{max} 3469 cm^{-1} (OH libres), 2850 et 2919 cm^{-1} (fonction aldéhyde), 1725 et 1728 cm^{-1} (groupe carbonyle conjugué), 1606 et 1582 cm^{-1} (C=C aromatiques); et 1250 cm^{-1} (CH_3 oxygénés).

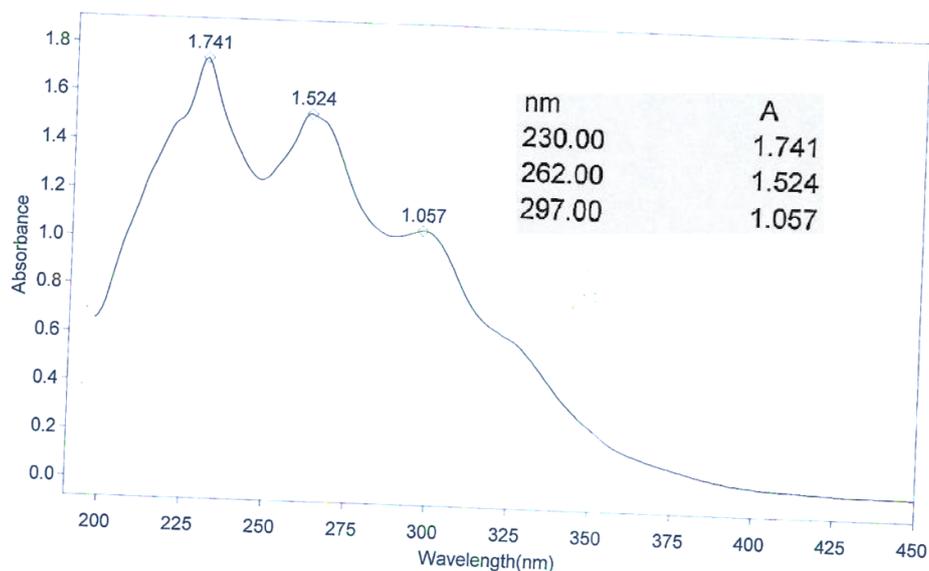


Figure 6. Spectre UV (MeOH) du composé IAB3.

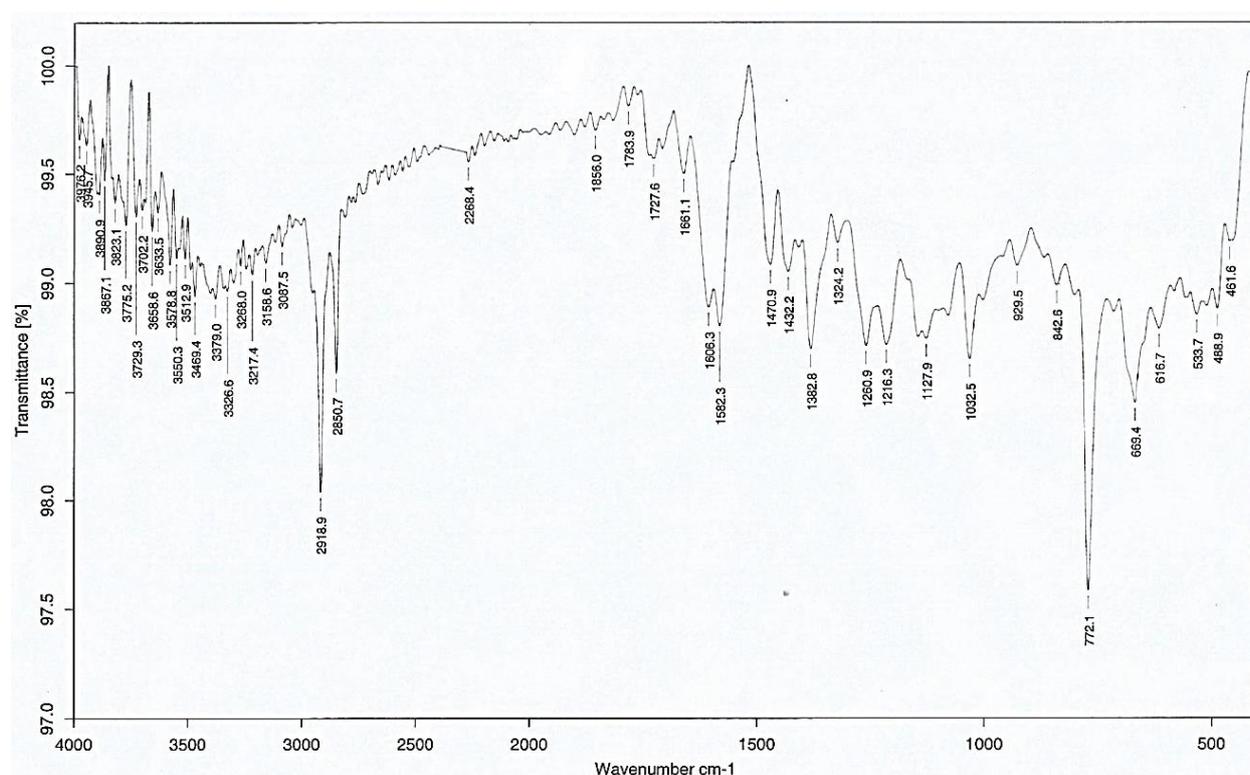


Figure 7. Spectre IR (KBr) du composé IAB3.

Le spectre RMN ^1H du composé IAB3 (Figure 8) présente:

- Un singulet d'un proton à δ_{H} 9,99 attribuable au proton d'un aldéhyde;
- Les signaux d'un système ABX à δ_{H} 7,96 (1H; *d*; 8,0 Hz; H-6), 6,54 (1H; *d*; 1,6 Hz; H-3) et 6,48 (1H; *dd*; 8,0; 1,6 Hz; H-5) attribuables aux protons d'un cycle benzénique trisubstitué;
- Deux singulets d'un proton chacun à δ_{H} 7,27 et 6,83, assignables aux protons d'un cycle aromatique tétrasubstitué;

- Un singulet de deux protons à δ_H 6,12 attribuable aux protons d'un dioxyméthylène;
- Un singulet de trois protons à δ_H 3,87 assignable aux protons d'un groupement méthoxyle.

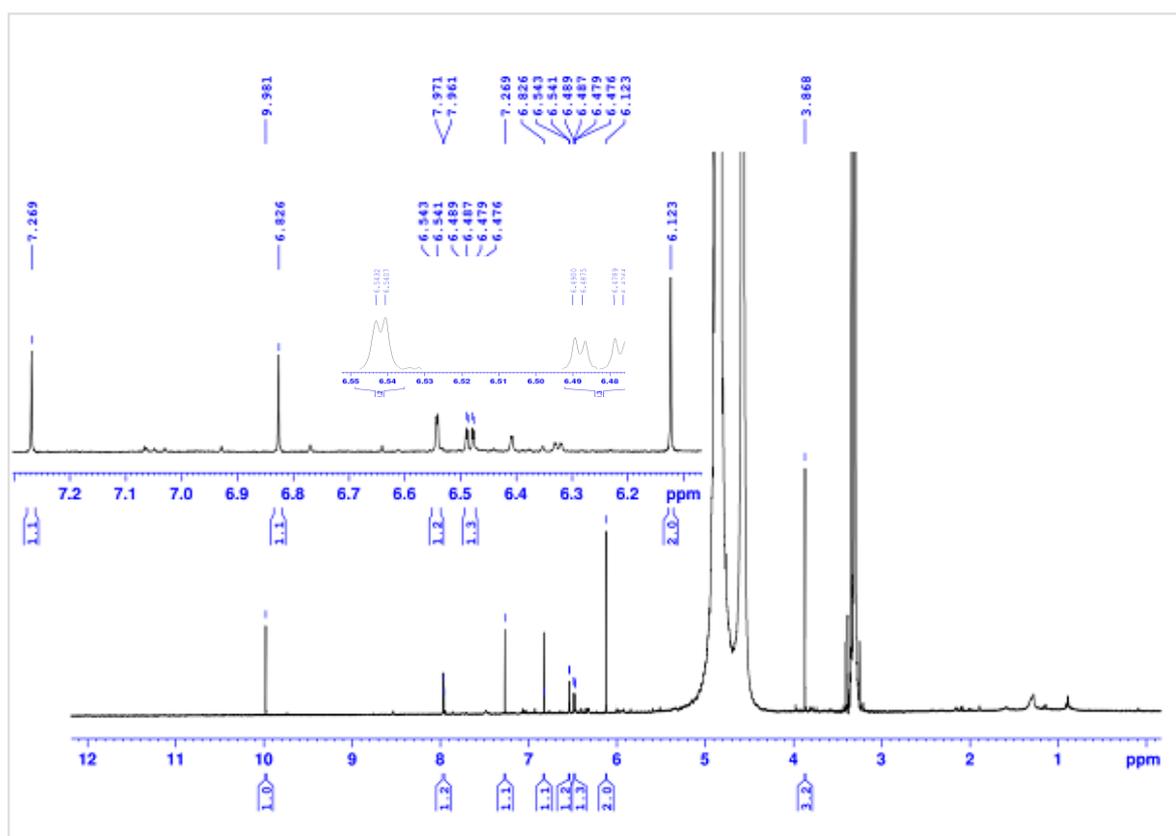


Figure 8. Spectre de RMN 1H (CD_3OD , 600 MHz) du composé IAB3.

Les spectres de RMN ^{13}C et DEPT du composé IAB3 montrent seize signaux de carbones dont ceux d'un méthoxyle (δ_C 57,3), d'un méthylène (δ_C 104,1), de cinq méthines aromatiques (δ_C 101,1; 106,1; 107,1; 109,3 et 136,2), de sept carbones quaternaires aromatiques (δ_C 108,1; 124,1; 147,5; 152,3; 154,8; 164,3 et 165,1) et de deux carbonyles d'ester et d'aldéhyde (δ_C 165,2 et 189,0).

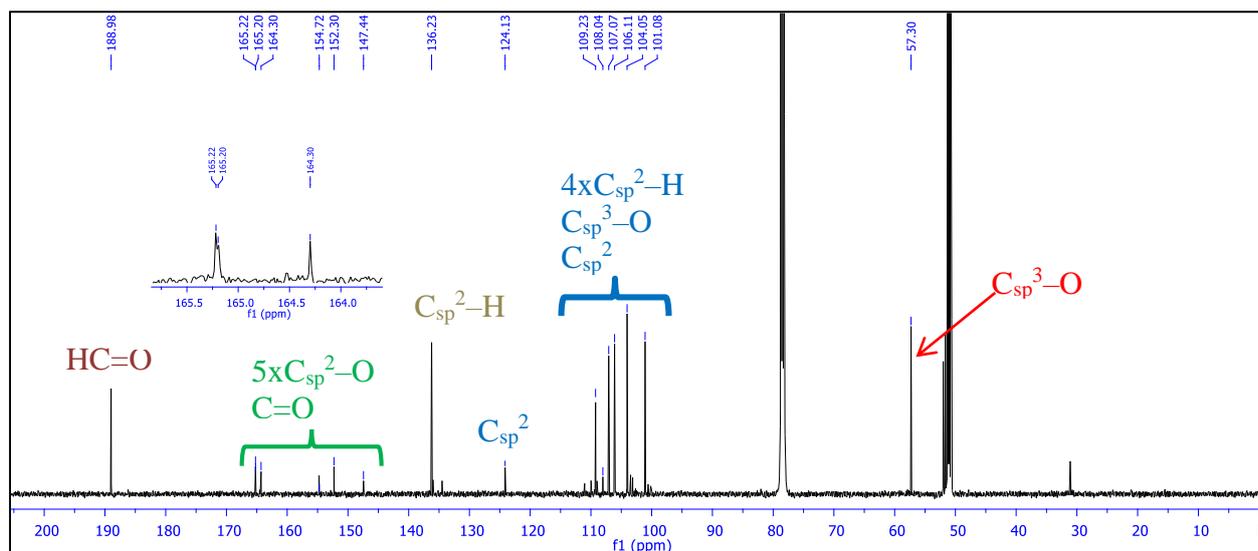


Figure 9. Spectre RMN ^{13}C (CD_3OD , 150 MHz) du composé IAB3.

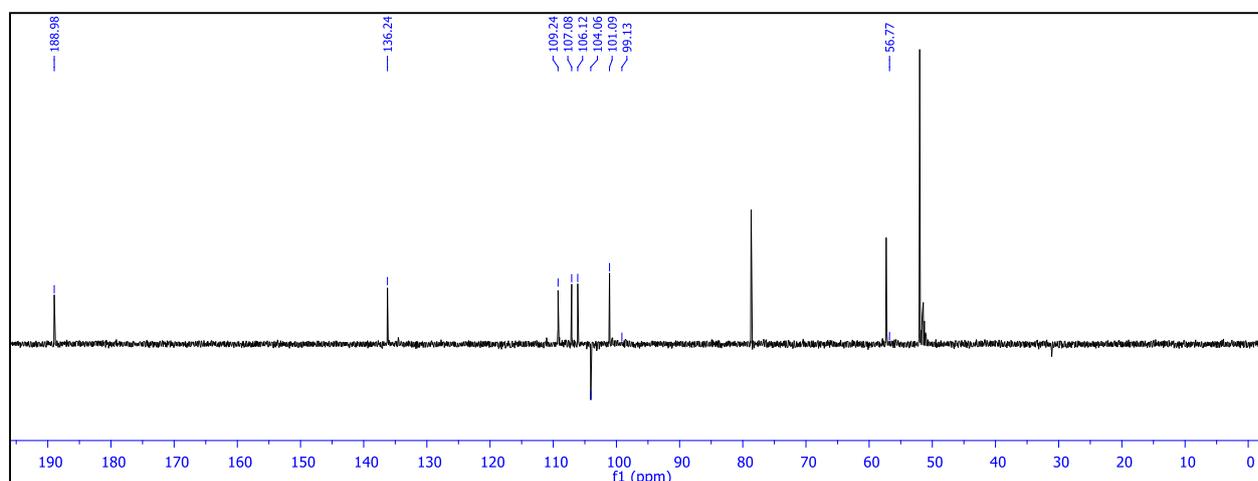


Figure 10. Spectre DEPT 135 (CD_3OD , 150 MHz) du composé IAB3.

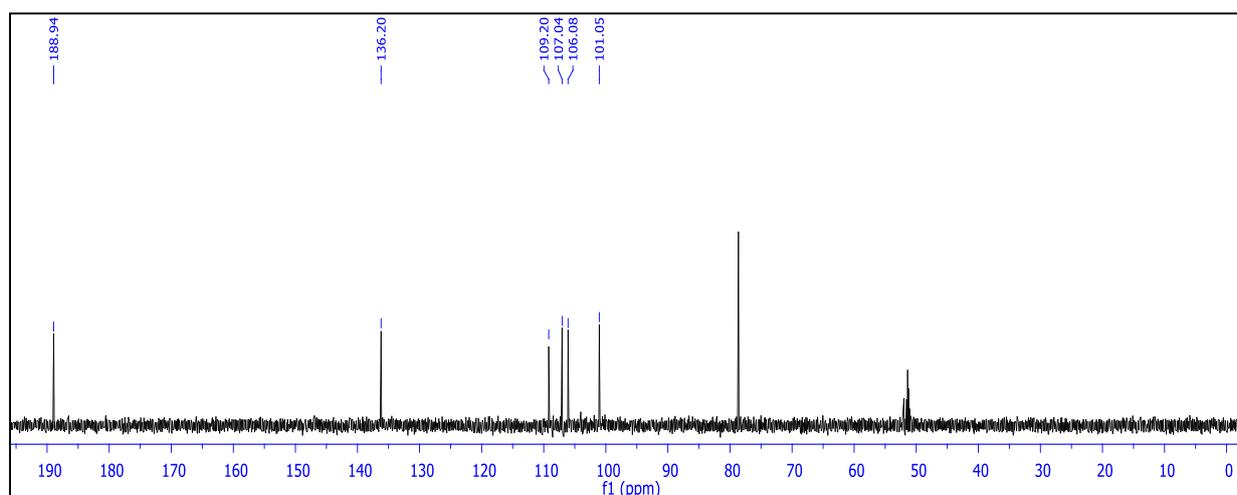


Figure 11. Spectre DEPT 90 (CD_3OD , 150 MHz) du composé IAB3.

Les déplacements chimiques des carbones et protons des fragments du composé IAB3 ont été complètement assignés (Tableau 23) grâce aux analyses complètes des spectres de HMBC, HSQC, COSY et NOESY.

Pour le **fragment I**, on observe sur le spectre HMBC (Figure 13), des taches de corrélation entre:

- Le proton à δ_H 7,97 (H-6) et les carbones à δ_C 164,3 (C-2), 165,1 (C-4) et 165,2 (C-7);
- Le proton à δ_H 6,54 (H-3) et les carbones à δ_C 164,3 (C-2) et 108,1 (C-1);
- Le proton à δ_H 6,48 (H-5) et le carbone à δ_C 108,1 (C-1);
- Le proton à δ_H 3,87 (2-OCH₃) et le carbone à δ_C 164,3 (C-2).

Pour ce même **fragment I**, le spectre NOESY (Figure 14) montre une corrélation entre les protons δ_H 3,87 (2-OCH₃) et 6,54 (H-3).

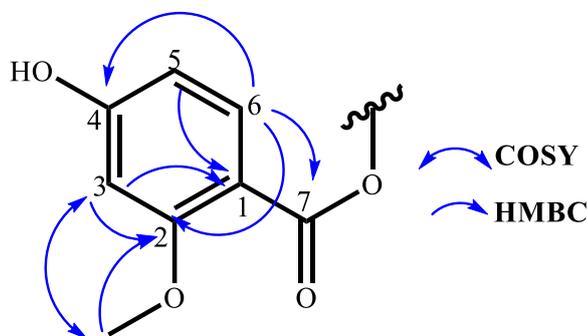


Schéma 7. Corrélation HMBC et COSY du fragment I de IAB3.

En ce qui concerne le **fragment II**, nous observons sur le spectre HMBC de la molécule, des corrélations entre:

- Le proton à δ_H 9,99 (C-7') et les carbones à δ_C 124,1 (C-2') et 107,1 (C-3')
- Le proton à δ_H 7,27 (H-3') et les carbones à δ_C 189,0 (C-7'), 154,8 (C-4'), 152,3 (C-1') et 147,5 (C-5');
- Le proton à δ_H 6,83 (H-6') et les carbones à δ_C 124,1 (C-2'), 154,8 (C-4'), 152,3 (C-1') et 147,5 (C-5');
- Les protons à δ_H 6,12 (H-2'') et les carbones à δ_C 147,5 (C-5') et 154,8 (C-4').

Tout ceci permet d'avoir le fragment II suivant:

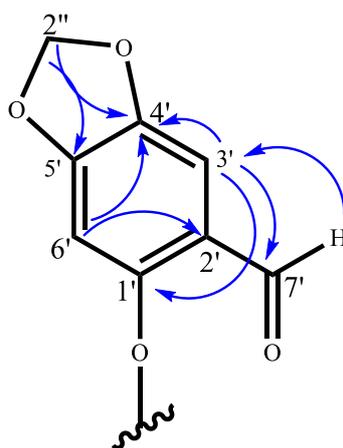


Schéma 8. Corrélations HMBC du fragment II de IAB3.

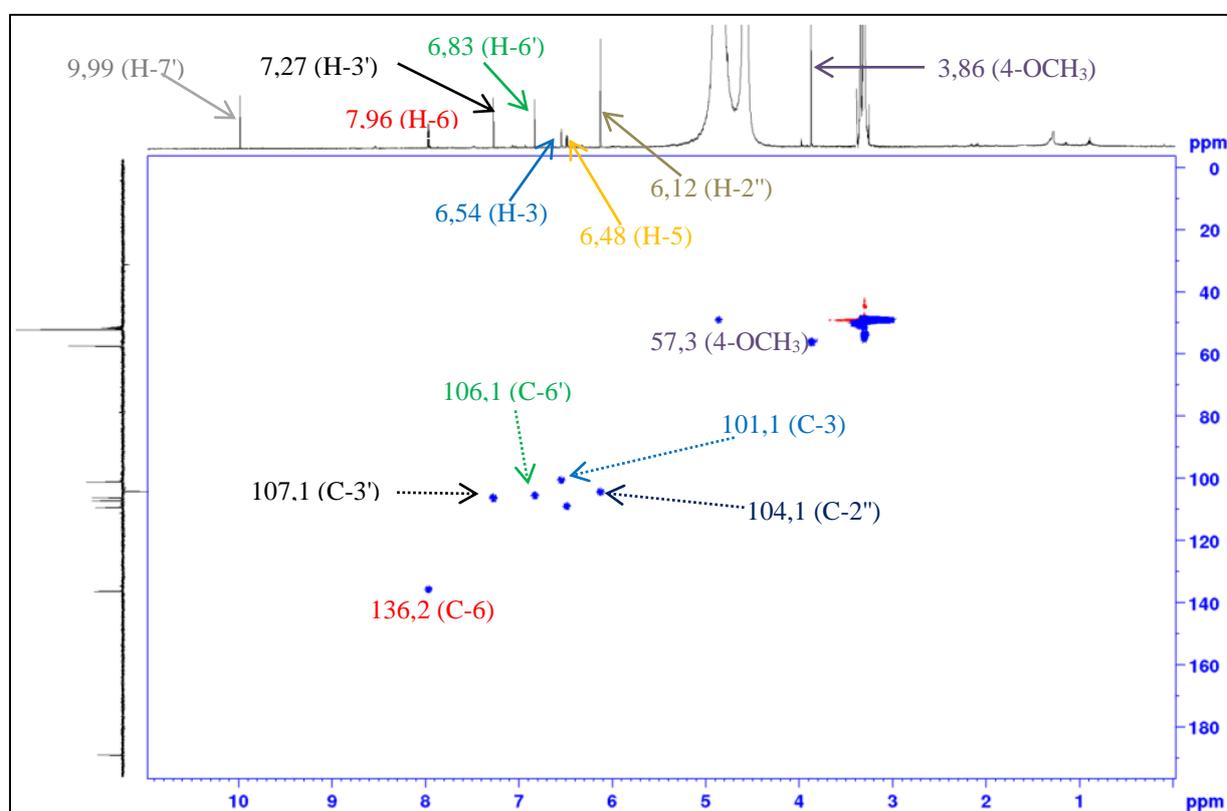


Figure 12. Spectre HSQC du composé IAB3.

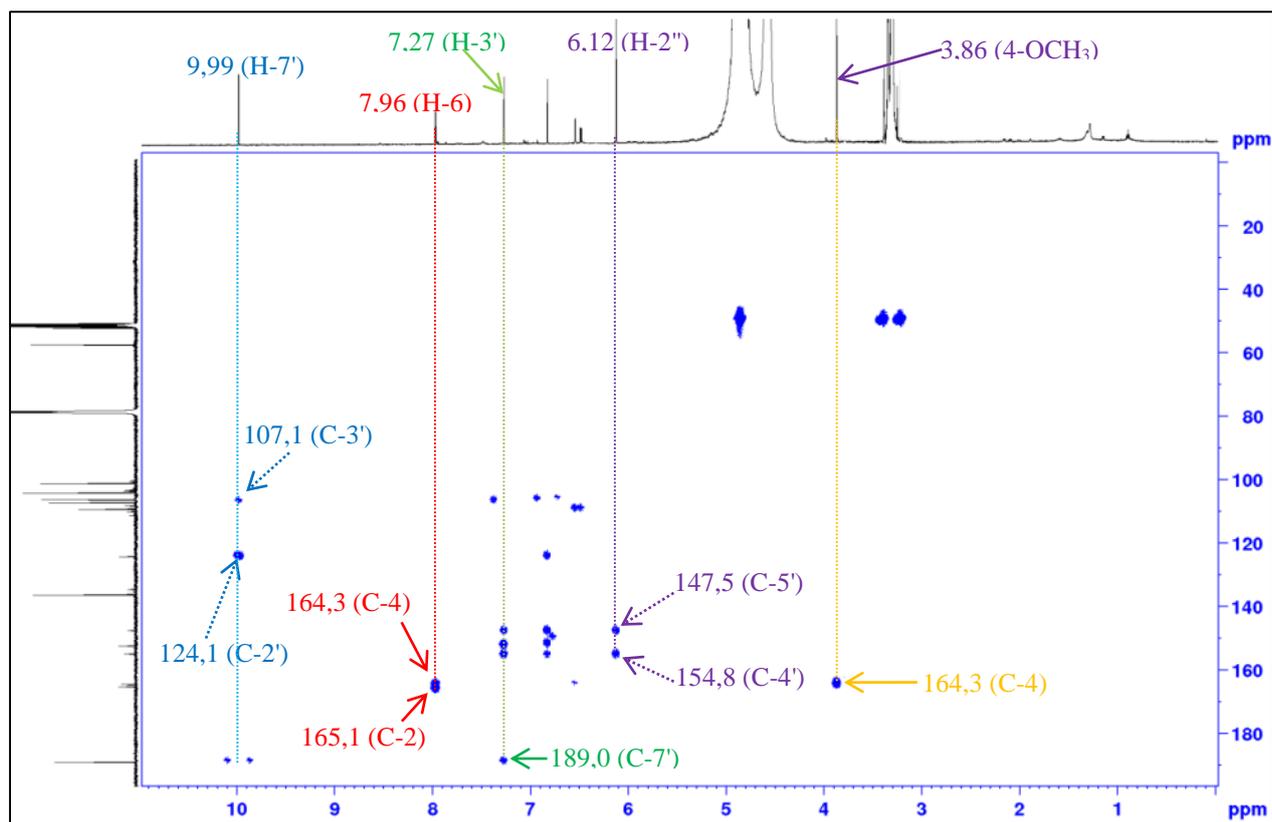


Figure 13. Spectre HMBC du composé IAB3.

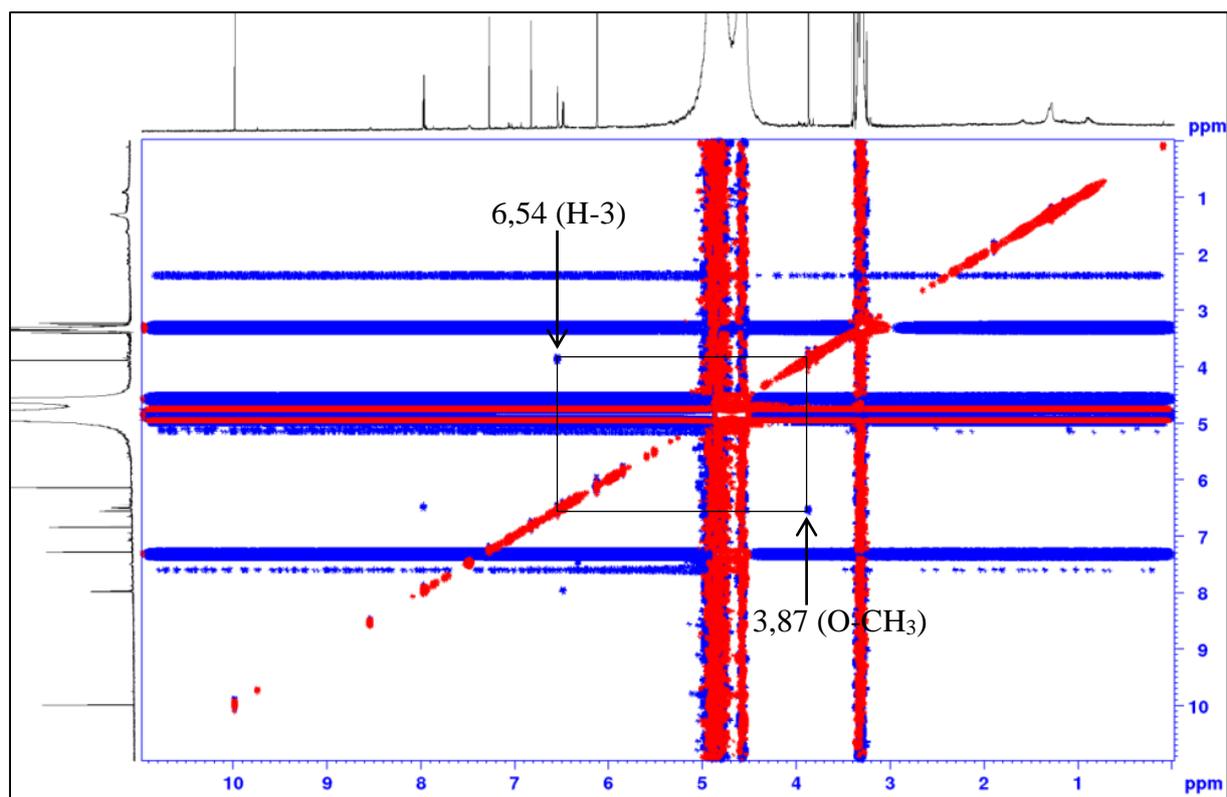
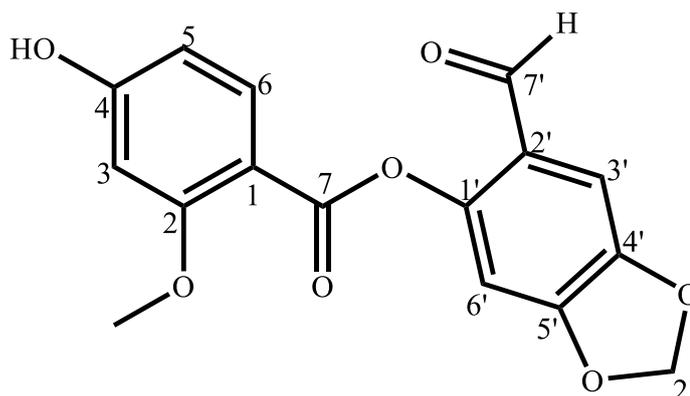


Figure 14. Spectre NOESY du composé IAB3

La position du groupement hydroxyle en C-4 est confirmée par la valeur de ce carbone à δ_C 165,1. La liaison entre le groupe ester du **fragment I** et le carbone C-1' du **fragment II** est due à la valeur de ce carbone C-1' à δ_C 152,3 qui est celle d'un carbone aromatique oxygéné.

Toutes ces données de RMN (**Tableau 16**) ont permis d'attribuer au composé IAB3 la structure **44**, à laquelle nous avons donné le nom d'atricephénol A, qui est un dérivé décrit pour la première fois.



44

Tableau 16. Données de RMN ^1H (600 MHz, CD_3COCD_3) et ^{13}C (150 MHz) de l'atricephénol A (IAB3).

N° C/H	δ_{H} ppm (mult.; J/Hz)	δ_{C} ppm
1	–	108,1
2	–	164,3
3	6,54 (<i>d</i> , 1,6)	101,1
4	–	165,1
5	6,48 (<i>dd</i> , 8,0, 1,6)	109,3
6	7,96 (<i>d</i> , 8,0)	136,2
7	–	165,2
1'	–	152,3
2'	–	124,1
3'	7,27 (<i>s</i>)	107,1
4'	–	154,8
5'	–	147,5
6'	6,83(<i>s</i>)	106,1
7'	9,99 (<i>s</i>)	189,0
2''	6,12 (<i>s</i>)	104,1
2-OCH ₃	3,87 (<i>s</i>)	57,3

II.1.2.1.2. Identification du dipentyl phtalate (ISp7)

Le composé ISP7 a été obtenu sous forme de poudre belge dans le mélange *n*-Hex/AcOEt (7:3). Il est soluble dans le chloroforme. L'analyse de son spectre de masse à Impact Electronique (Figure 15), qui montre le pic de l'ion moléculaire $[M+H]^+$ à m/z 307, en conformité avec ses spectres de RMN, a permis de déduire la formule brute $C_{18}H_{26}O_4$ qui correspond à six degrés d'insaturations.

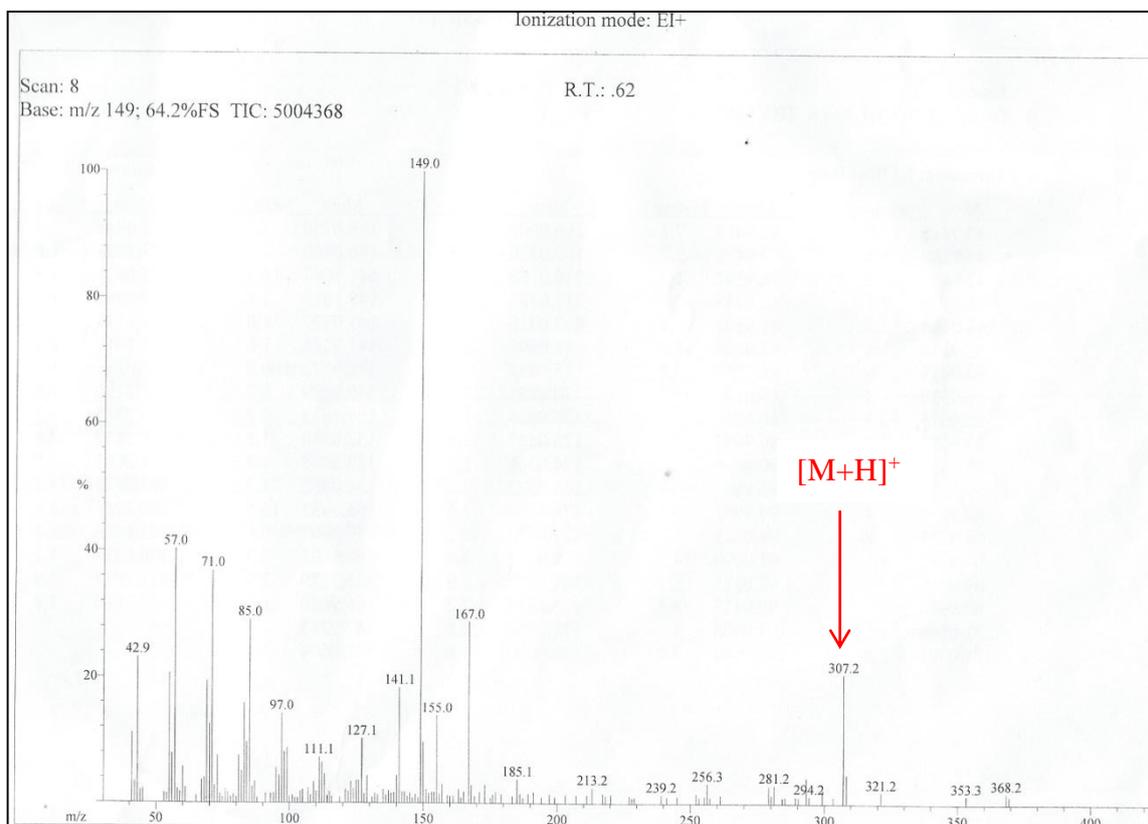


Figure 15. Spectre de masse (IE) du composé ISp7.

Sur les spectres de RMN 1H (Figure 16) et HSQC (Figure 17) du composé ISp7, on observe:

- Les signaux d'un système AA'BB' caractérisés par deux doublets dédoublés de deux protons chacun de constantes de couplage 2,7 et 7,4 Hz à $\delta_{H/C}$ 7,68/128,7 et 7,51/130,8 ppm, attribuables aux protons H-2/5, H-3/4 d'un cycle aromatique disubstitué;
- Les signaux de deux méthyles terminaux caractérisés par un triplet de six protons de constante de couplage 6,2 Hz à $\delta_{H/C}$ 0,90/14,1 ppm;
- Le signal d'un oxyméthylène caractérisé par un multiplet de deux protons à $\delta_{H/C}$ 4,20/67,8 ppm, attribuable à un méthylène lié à un ester,
- Les signaux d'une chaîne méthylénique entre δ_H 1,23 et 1,42 ppm.

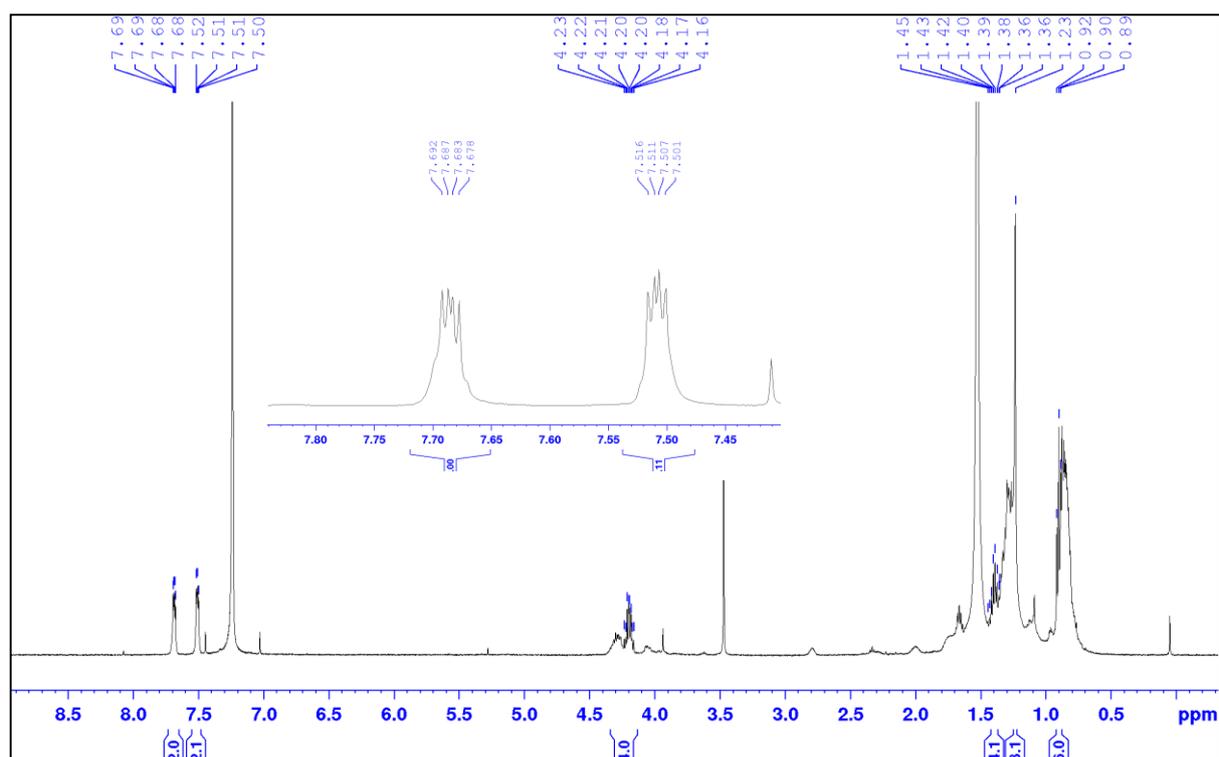


Figure 16. Spectre de RMN ^1H (500 MHz, CDCl_3) du composé ISp7.

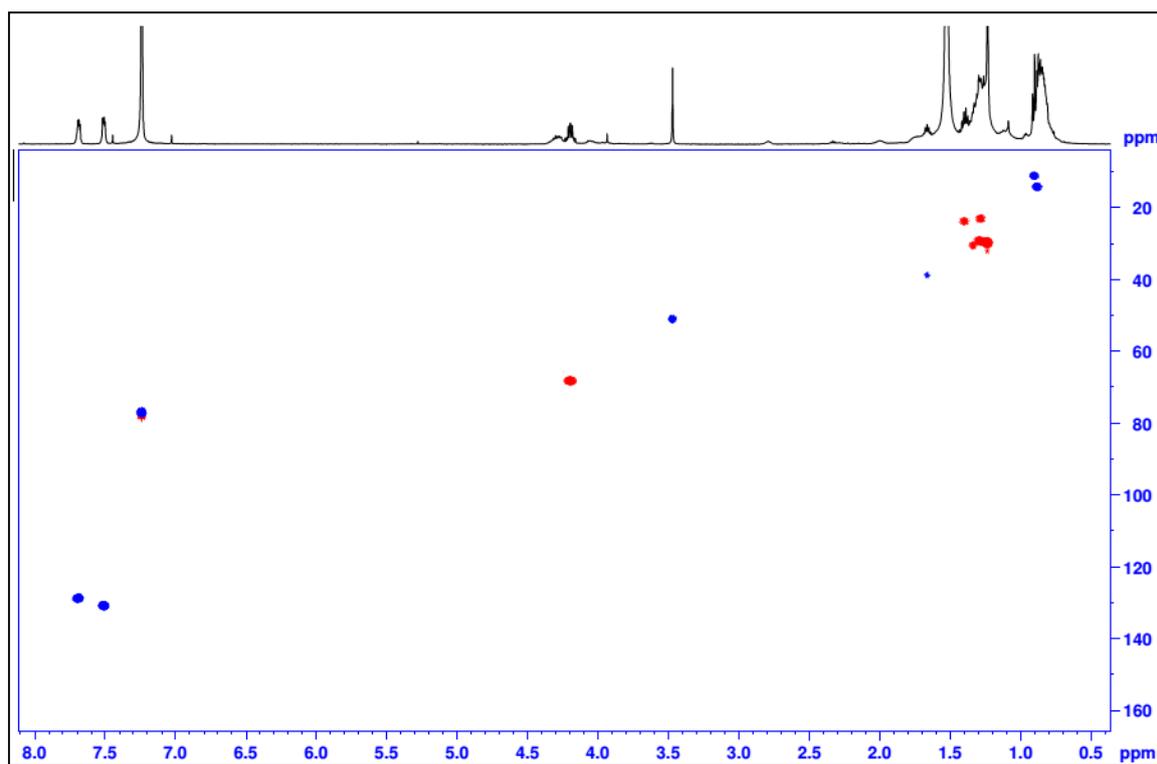


Figure 17. Spectre HSQC du composé ISp7.

Les positions des groupements dans la molécule ont été confirmées en analysant son spectre HMBC (Figure 18) où l'on observe les corrélations entre:

- Le proton à δ_{H} 7,68 (H-2/5) et les carbones à δ_{C} 130,8 (C-3/4) et 167,8 (C-1');

- Le proton à δ_H 7,51 (H-3/4) et les carbones à δ_C 128,7 (C-2/5) et 132,6 (C-1/6);
- Le proton à δ_H 4,20 (H-3') et les carbones à δ_C 167,8 (C-1'), 30,3 (C-4') et 23,8 (C-5')
- Le proton à δ_H 0,90 (H-7') et le carbone à δ_C 29,5 (C-6').

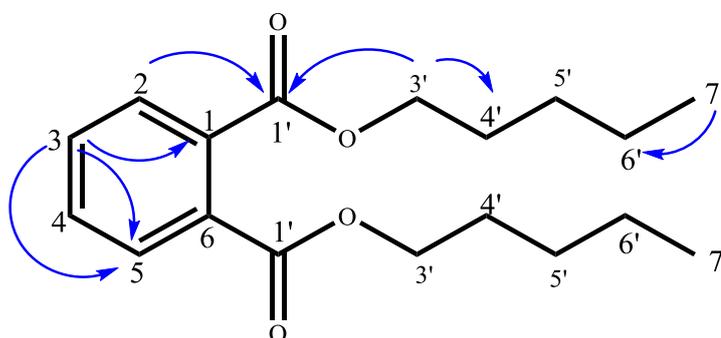


Schéma 9. Quelques corrélations HMBC du composé ISp7.

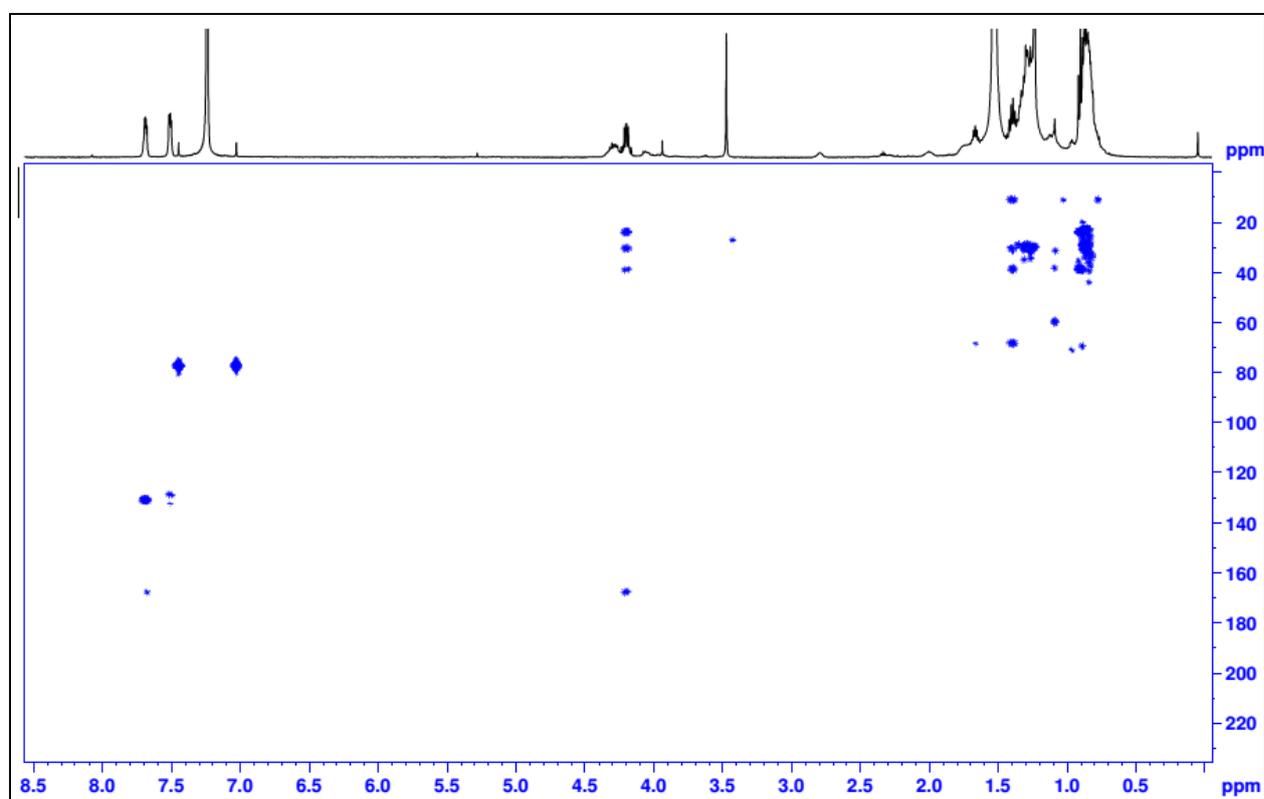


Figure 18. Spectre HMBC du composé ISp7.

L'ensemble de ces données spectrales comparées ont permis d'attribuer à ISp7 la structure **45** qui est celle du dipentyl phtalate (Korpayev et al., 2020), bien connu pour son rôle de régulation dans la production de la testostérone fœtale des rats (Gray et al., 2016).

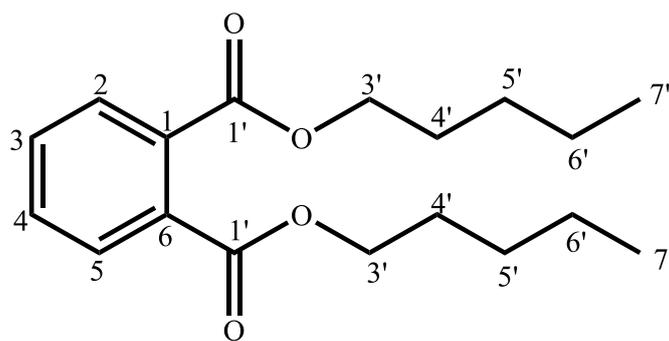
**45**

Tableau 17. Données de RMN ^1H (500 MHz, CDCl_3) de ISp7 comparées à celles du Dipentyl phtalate (300 MHz, CDCl_3) (Korpayev et al., 2020) .

N° H	ISp7	Dipentyl phtalate
2/5	7,68 (2H; <i>dd</i> ; 7,4 et 2,7 Hz)	7,77 (2H; <i>dd</i> ; 7,8 et 1,3 Hz)
3/4	7,51 (<i>dd</i> ; 2,7 et 7,4)	7,67 (2H; <i>dd</i> ; 7,8 et 1,3 Hz)
3'	4,20 (4H; <i>m</i>)	4,28 (4H; <i>t</i> ; 7,1 Hz)
4'	1,32 (4H; <i>m</i>)	1,27 (4H; <i>q</i> ; 7,0 Hz)
5'	1,41 (4H; <i>m</i>)	1,38 (4H; <i>tt</i> ; 7,0; 5,8 Hz)
6'	1,23 (4H; <i>m</i>)	1,24 (4H; <i>m</i>)
7'	0,90 (6H; <i>t</i> ; 6,2 Hz)	0,89 (6H; <i>t</i> ; 7,0 Hz)

II.1.2.1.3. Identification du *p*-hydroxybenzaldehyde (IAB1)

Le composé IAB1 a été obtenu sous forme de poudre blanche dans le mélange *n*-Hex/AcOEt 9:1. Il est soluble dans le chloroforme et donne une coloration violette en présence du chlorure ferrique, caractéristique des dérivés phénoliques. Sa formule brute $\text{C}_7\text{H}_6\text{O}_2$ a été déduite de l'analyse de son spectre de masse (IE) (Figure 19), qui montre le pic de l'ion moléculaire à m/z 122,0, en combinaison avec ses spectres de RMN et contient cinq degrés d'insaturations.

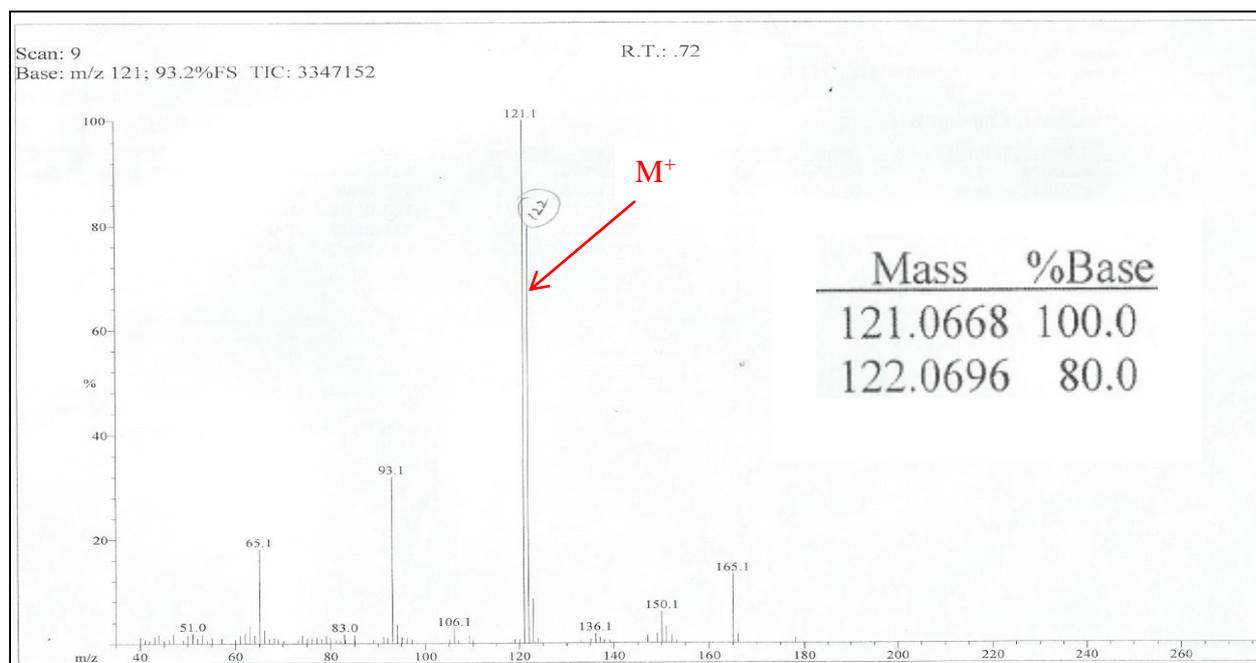


Figure 19. Spectre de masse EI du composé IAB1.

Le spectre de RMN ^1H du composé IAB1 (Figure 20) présente:

- Un singulet d'un proton à δ_{H} 9,90 caractéristique du proton d'un aldéhyde;
- Les signaux d'un système AA'BB' caractérisé par deux doublets de deux protons chacun de constante de couplage 8,6 Hz à δ_{H} 7,79 et 6,93, attribuables aux protons H-2/6, H-3/5 d'un cycle aromatique para-substitué;
- Un singulet à 5,85 caractéristique du proton d'un hydroxyde.

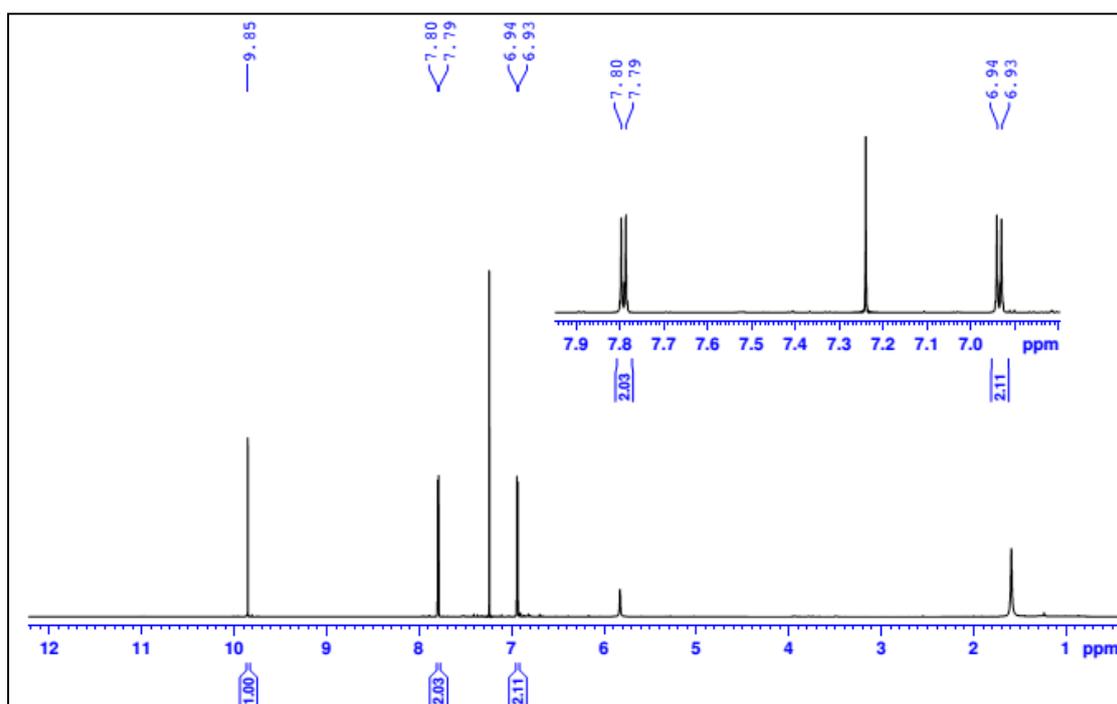


Figure 20. Spectre de RMN ^1H (800 MHz, CDCl_3) du composé IAB1.

Sur le spectre HMBC (Figure 21) l'on observe des corrélations entre:

- Le proton à δ_H 9,90 (H-1') et les carbones à δ_C 130,2 (C-1) et 132,4 (C-2/6);
- Les protons à δ_H 7,79 (H-2/6) et les carbones à δ_C 115,9 (C-3/5); 132,4 (C-2/6); 161,1 (C-4) et 190,8 (C-1');
- Les protons à δ_H 6,93 (H-3/5) et les carbones à δ_C 115,9 (C-3/5); 130,2(C-1) et 161,1 (C-4).
- Le proton à δ_H 5,85 (OH-C4) et les carbones à δ_C 115,9 (C-3/5) et 161,1 (C-4).

Certaines de ces corrélations sont représentées sur le schéma 10 suivant:

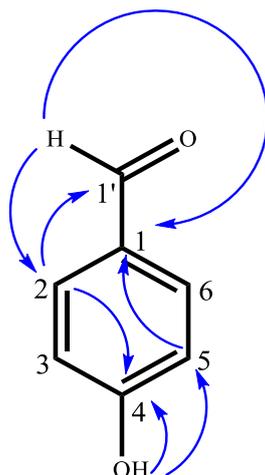


Schéma 10. Corrélations HMBC du composé IAB1.

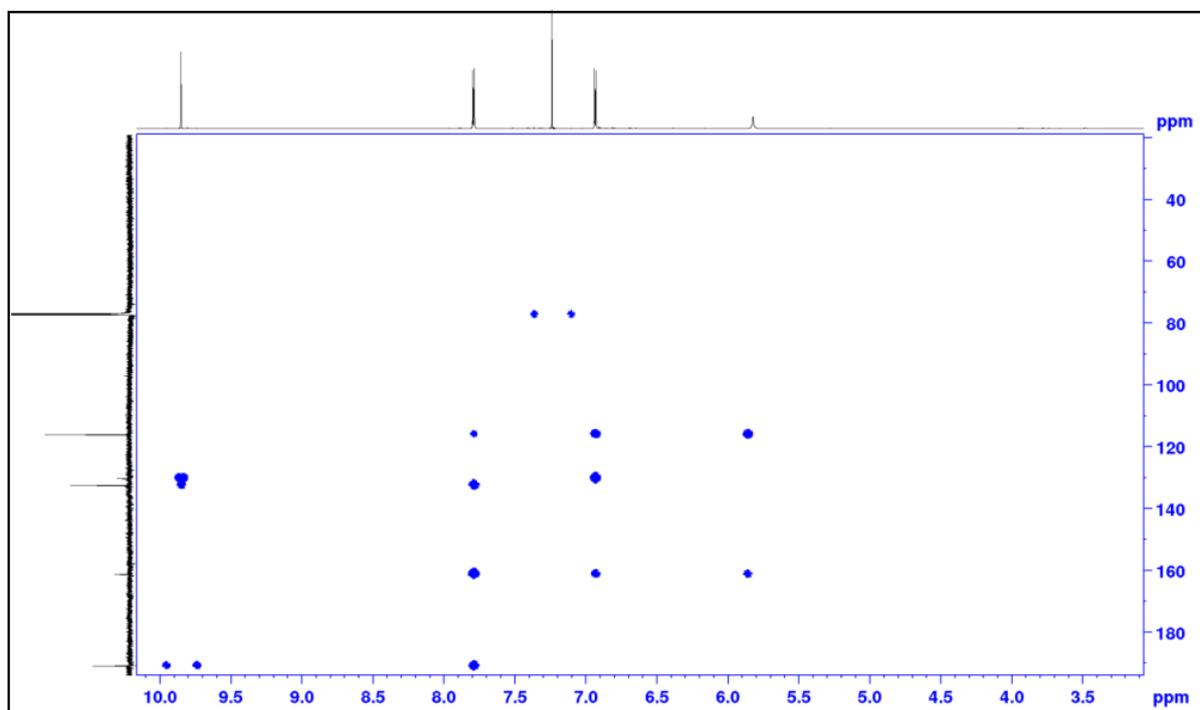
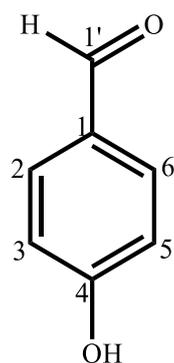


Figure 21. Spectre HMBC du composé IAB1.

La position du groupement hydroxyde est due à la valeur du carbone C-4 à δ_C 161,1. Toutes ces données (Tableau 18) comparées à celles de la littérature nous ont permis

d'attribuer au composé IAB1 la structure **46**, connu sur le nom de *p*-hydroxybenzaldéhyde et qui présente des propriétés antibiotiques (Andersen et al., 1974).



46

Tableau 18. Données de RMN ^1H (800 MHz, CDCl_3) de IAB1 comparées à celles du *p*-hydroxybenzaldéhyde (300 MHz, CDCl_3) (Andersen et al., 1974).

N° H	IAB1	<i>p</i> -hydroxybenzaldéhyde
1	–	–
2/6	7,79 (<i>d</i> ; 8,6)	7,80 (2H, <i>d</i> ; 8,0 Hz)
3/5	6,93 (2H, <i>d</i> ; 8,6)	7,02 (2H, <i>d</i> ; 8,0 Hz)
4	–	–
1'	9,90 (1H, <i>s</i>)	9,90 (1H, <i>s</i>)

II.1.2.2. La stilbénoloïde : Identification structurale de l'Atricephénol B (IAB4)

Le composé IAB4 a été obtenu sous forme de poudre blanche amorphe dans le mélange $\text{CH}_2\text{Cl}_2/\text{MeOH}$ 39:1. Il est soluble dans le méthanol et donne une coloration pourpre en présence du chlorure ferrique, caractéristique d'un phénol. Sa formule brute $\text{C}_{17}\text{H}_{15}\text{O}_8$ a été déduite de son spectre de masse ESI à haute résolution et en mode négatif (Figure 22), qui présente les pics des ions pseudomoléculaires $[\text{M}-\text{H}]^-$ à m/z 347.0775 (calc. pour $\text{C}_{17}\text{H}_{15}\text{O}_8$: 347.0772) et $[2\text{M}-\text{H}]^-$ à m/z 695.1612 (calc. pour $\text{C}_{34}\text{H}_{31}\text{O}_{16}$: 695.1618), correspondant à dix degrés d'insaturations.

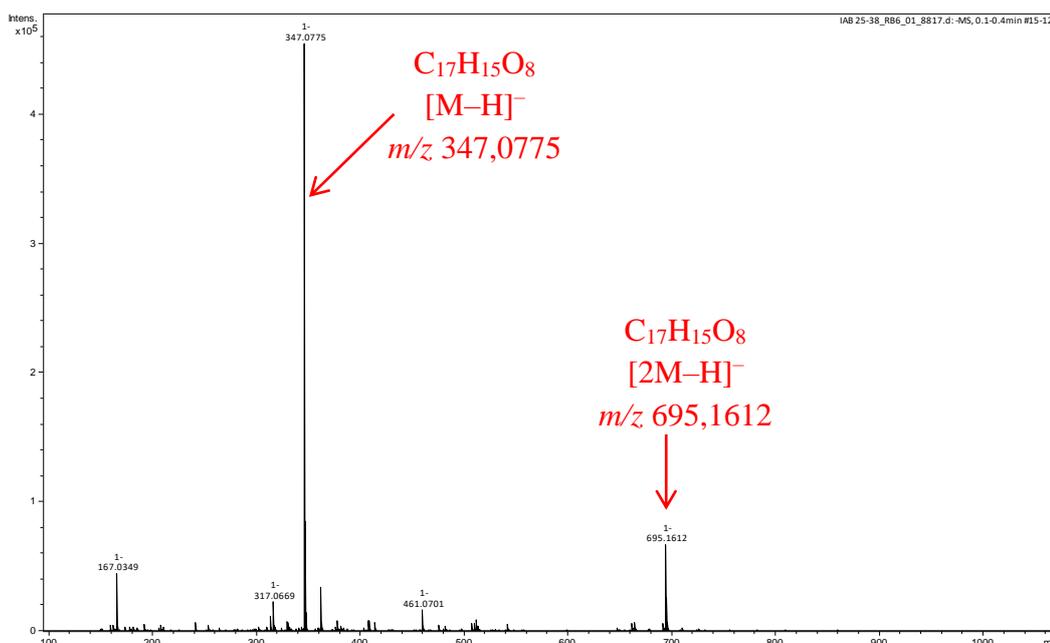


Figure 22. Spectre de masse (ESI) à Haute résolution en mode négatif du composé IAB4.

Le spectre UV (figure 23) du composé IAB4 présente les absorptions maximales à λ_{\max} 305, 273 et 230 nm, suggérant la présence de chromophores benzène et carbonyle (Mayo, 1968; Kumar, 2006). Son spectre IR (figure 24) montre des bandes d'absorption à 3366 cm^{-1} (pour les groupes hydroxyles), 1739 et 1696 cm^{-1} (pour les carbonyles conjugués), 1602 et 1585 cm^{-1} (pour les doubles liaisons aromatiques).

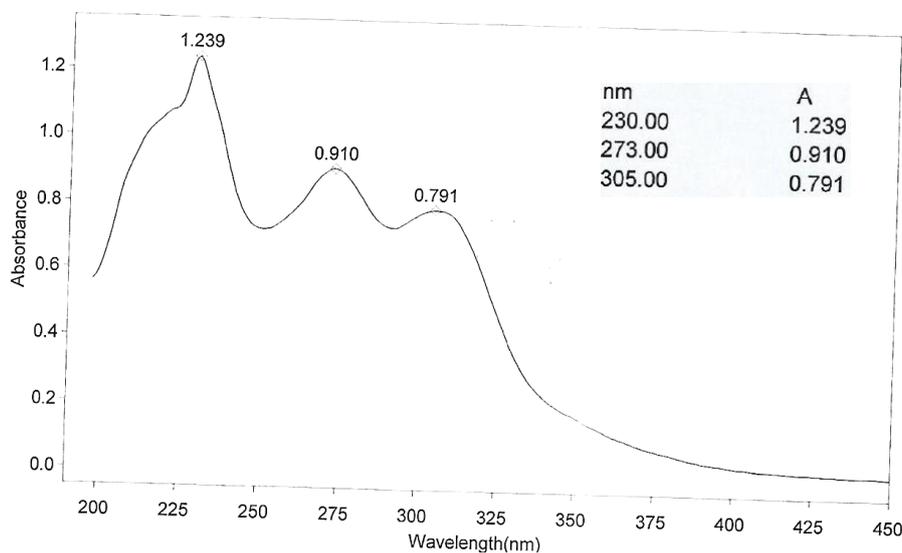


Figure 23. Spectre UV (MeOH) du composé IAB4.

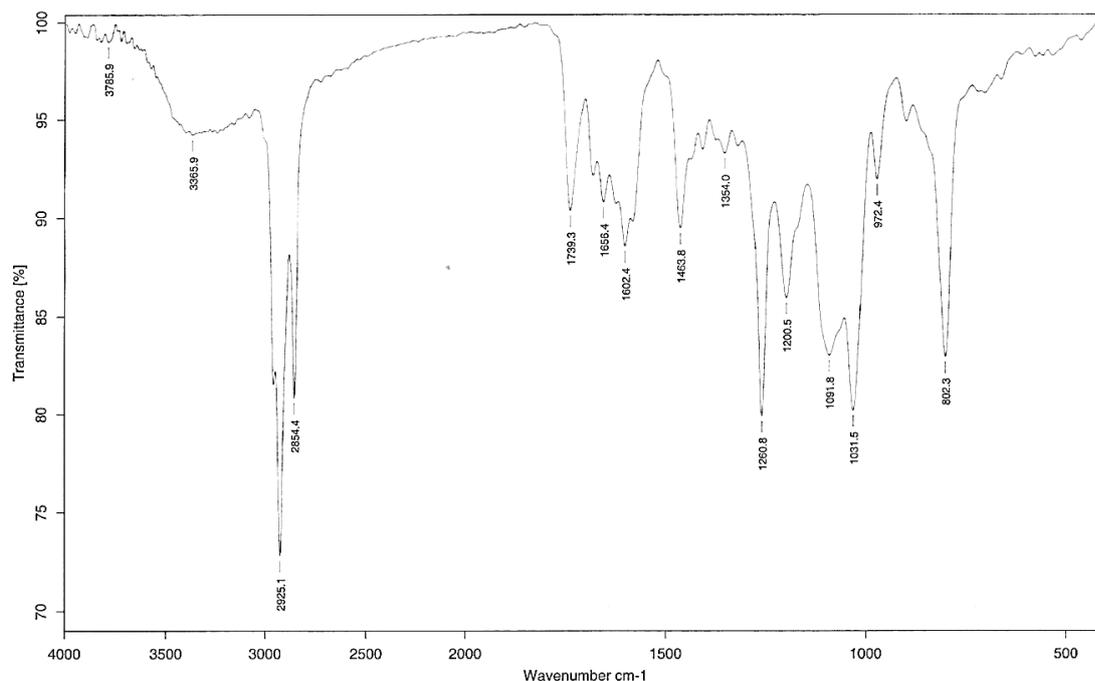


Figure 24. Spectre IR (KBr) du composé IAB4.

Bien que les profils CCM, HPLC et LC-MS du composé IAB4 ont montré qu'il s'agit d'un composé pur, ses spectres de RMN ^1H et ^{13}C (à 25 °C) ont montré des signaux en doublons; ce qui a permis de suggérer la présence de deux isomères dans un rapport de 1:3. Cependant, il est important de noter qu'à haute température, les doublons des signaux de RMN de ces diastéréoisomères pourraient fusionner en un seul signal, celui du diastéréoisomère le plus stable (Li et al., 2002). La description sera faite ici en considérant le diastéréoisomère majoritaire.

Sur le spectre de RMN ^1H (Figure 25) du composé IAB4, on a observé:

- Les signaux d'un système ABX à δ_{H} 7,88 (*d*; 8,4 Hz; H-6); 6,46 (*dd*; 1,8; 8,4 Hz; H-5) et 6,38 (*d*; 1,8; H-3) attribuables à un cycle benzénique trisubstitué;
- Un singlet d'un proton à δ_{H} 5,96 (H-8) attribuable à un méthine oxygéné;
- Deux singlets d'un proton chacun à δ_{H} 5,55 (H-3') et 6,63 (H-6') attribuables à deux méthines oléfiniques
- Deux singlets de trois protons chacun à δ_{H} 3,70 et 2,92 assignables aux protons des groupes méthoxyles;
- Un singlet de deux protons à δ_{H} 5,56 (H-2'') attribuable aux protons d'un dioxyméthylène;
- Un singlet d'un proton à δ_{H} 5,59 assignable au proton d'un hydroxyle phénolique libre.

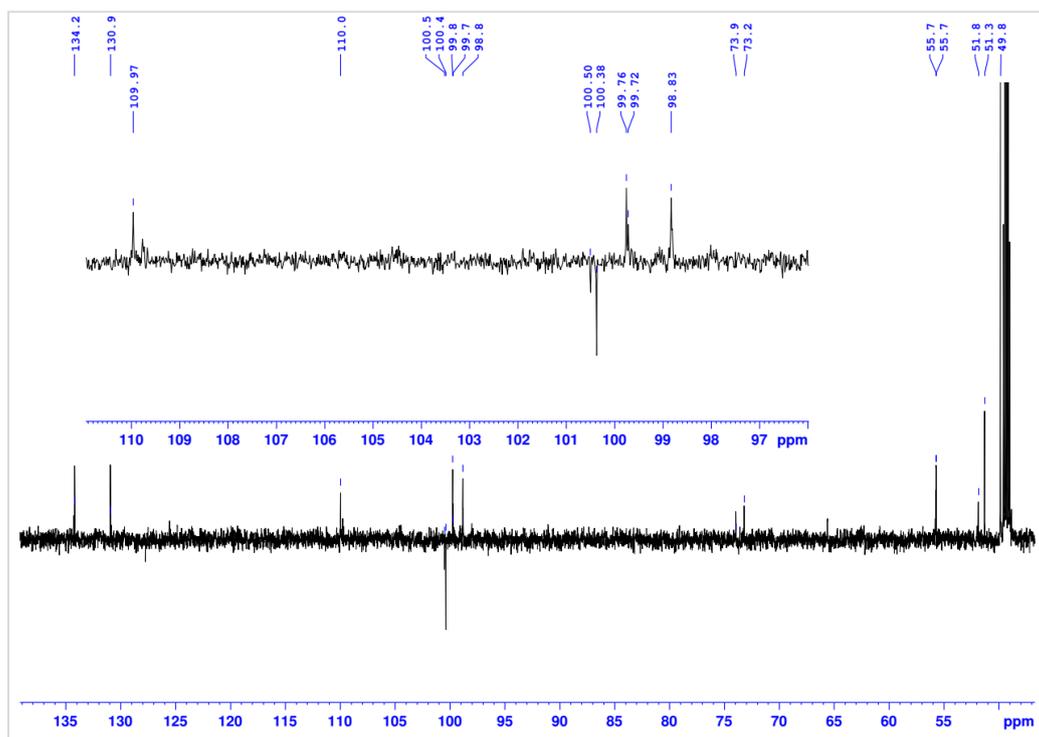


Figure 27. Spectre DEPT 135 (CD₃OD, 150 MHz, 25 °C) du composé IAB4.

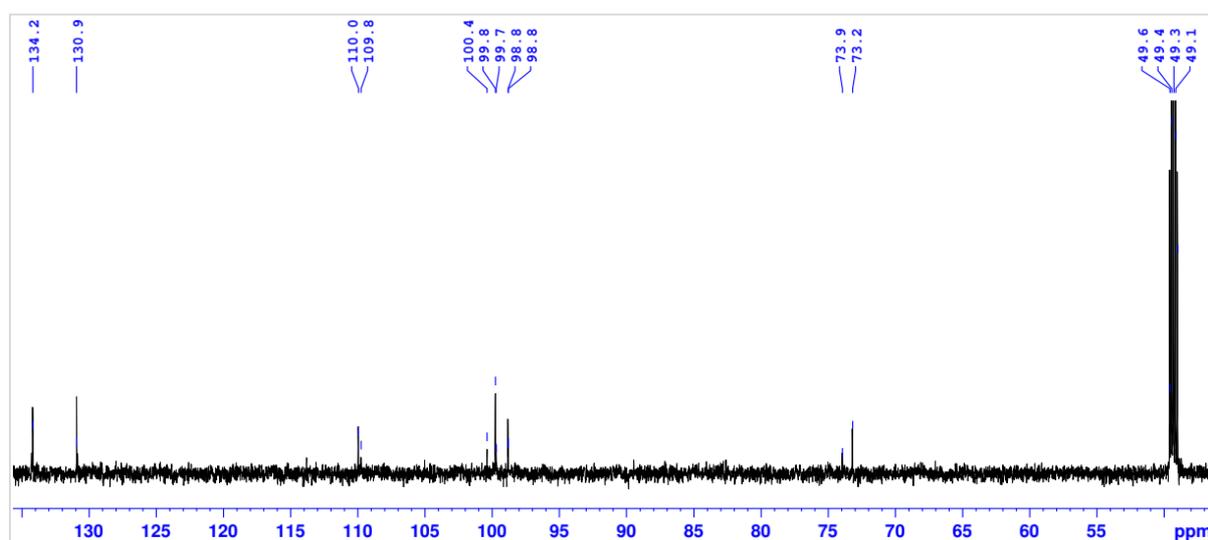


Figure 28. Spectre DEPT 90 (CD₃OD, 150 MHz, 25 °C) du composé IAB4.

Les déplacements chimiques des carbones et protons du composé IAB4 ont été complètement assignés (Tableau 26) grâce aux analyses complètes des spectres de HMBC, HSQC, COSY et NOESY.

Sur son spectre HMBC (Figure 30), on observe d'une part des taches de corrélation dont certaines sont présentées sur le schéma 11 entre :

- Le proton à δ_H 7,88 (H-6) et les carbones à δ_C 198,2 (C-7); 166,8 (C-4) et 163,0 (C-2);
- Le proton à δ_H 6,46 (H-5) et les carbones à δ_C 99,7 (C-3) et 116,8 (C-1);

- Le proton à δ_H 6,38 (H-3) avec les carbones à δ_C 166,8 (C-4) et 163,0 (C-2) 116,8 (C-1) et 110,0 (C-5);
- Le proton à δ_H 3,69 et le carbone à δ_C 163,0.

Ce qui a permis de construire le **fragment I** suivant:

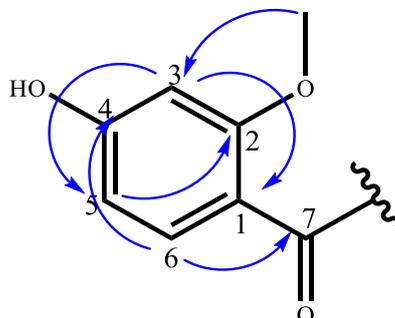


Schéma 11. Corrélations HMBC du fragment I du composé IAB4.

D'autre part le spectre HMBC montre des tâches de corrélations entre:

- Le proton à δ_H 6,63 (H-6') et les carbones à δ_C 186,9 (C-2'); 170,7 (C-4'); 143,7 (C-1'); 98,8 (C-5') et 73,2 (C-8);
- Le proton à δ_H 5,55 (H-3') et les carbones à δ_C 170,7 (C-4'); 143,7 (C-1') et 98,8 (C-5');
- Le proton à δ_H 5,56 (H-2'') et les carbones à δ_C 170,7 (C-4') et 98,8 (C-5');
- Le proton à δ_H 5,96 (H-8) et les carbones à δ_C 143,7 (C-1'), 131,0 (C-6'), 186,9 (C-2') et 198,2 (C-7);
- Le proton à δ_H 2,92 et le carbone à δ_C 98,8 (C-5')

Toutes ces corrélations permettent d'avoir le **fragment II** suivant:

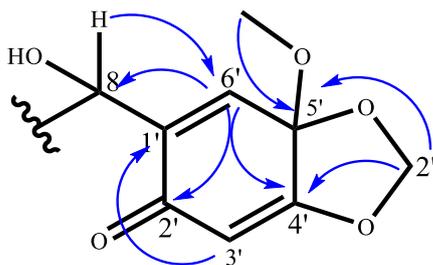


Schéma 12. Corrélations HMBC du fragment II du composé IAB4.

Les fragments I et II ont été liés grâce aux tâches de corrélations observées sur le spectre HMBC entre le proton à δ_H 5,96 (H-8) et les carbones δ_C 198,2 (C-7); 131,0 (C-6') et 143,7 (C-1'), représentées sur le [schéma 13](#) suivant:

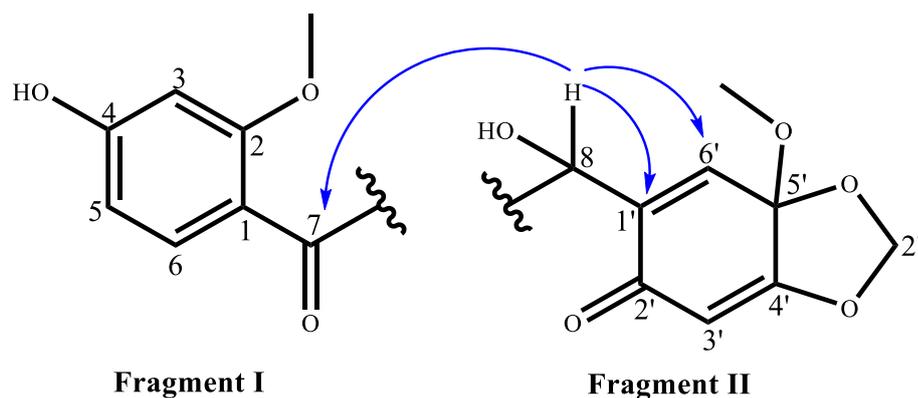


Schéma 13. Corrélations HMBC entre le proton H-8 et les carbones C-7, C-6' et C-1' du composé IAB4.

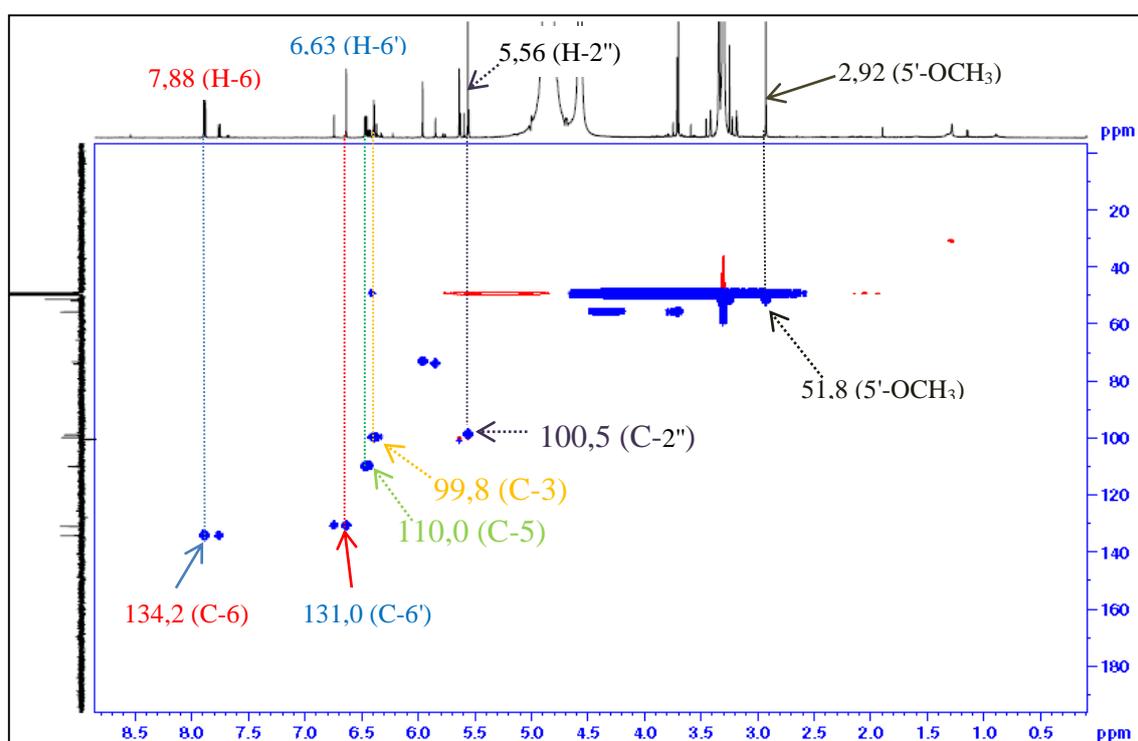


Figure 29. Spectre HSQC du composé IAB4.

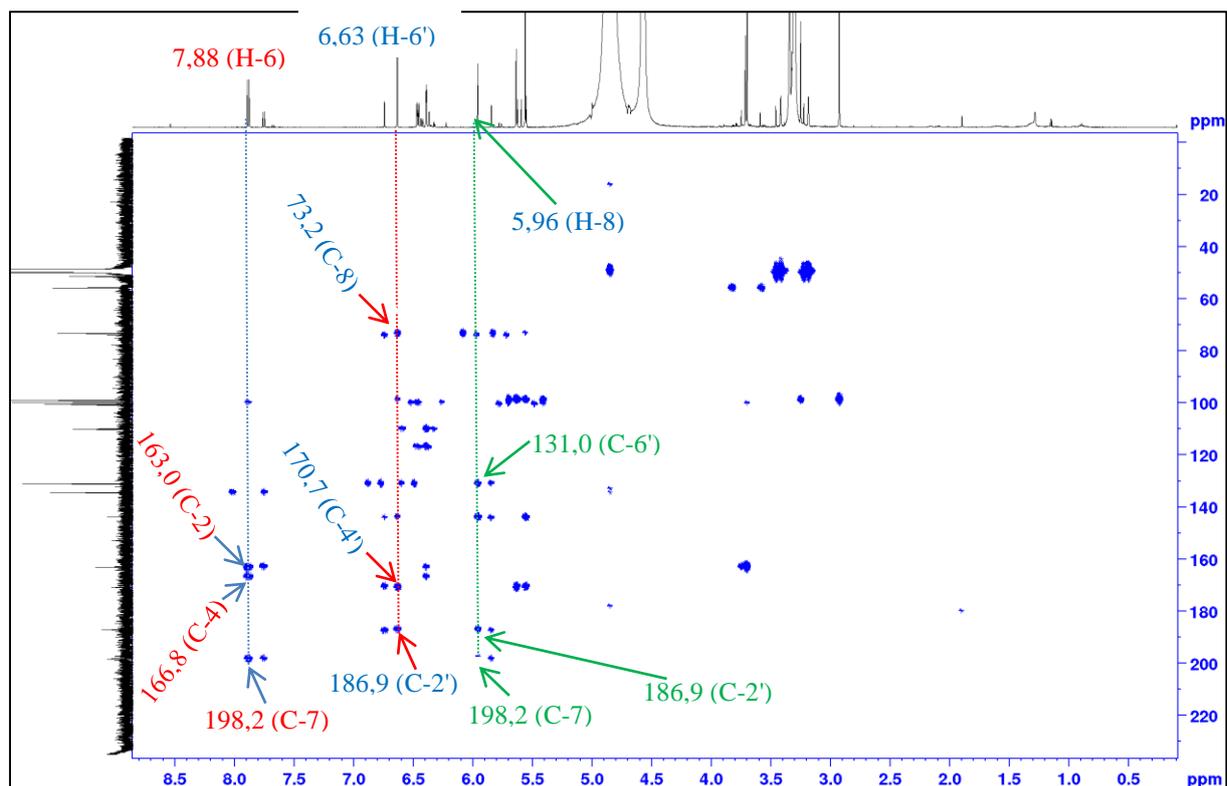
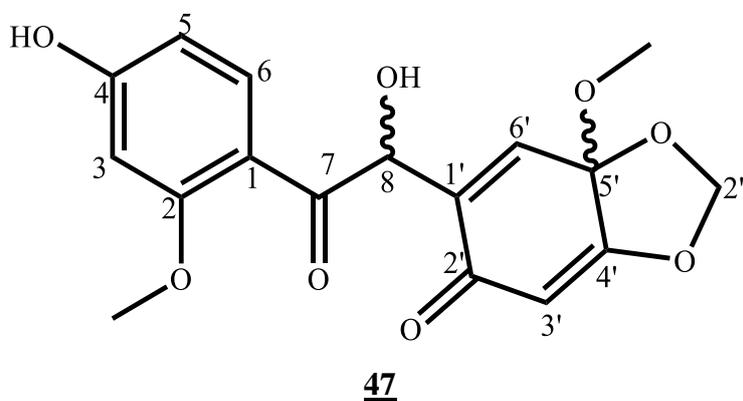


Figure 30. Spectre HMBC du composé IAB4.

Toutes les données spectrales analysées jusqu'ici ont permis de proposer au composé IAB4 la structure 47.



Cette structure proposée a permis de constater qu'il existe une libre rotation autour de la liaison C-8→C-1' qui permet de confirmer la présence de deux rotamères (47 et 48) (Niesen et al., 2013). L'orientation du conformère choisi pour IAB4 (48) a été faite sur la base de son spectre NOESY (Figure 31) sur lequel on observe la corrélation entre le proton à δ_H 3,70 (2-OCH₃) et celui à δ_H 2,92 (5'-OCH₃), illustrée sur le Schéma 14 suivant :

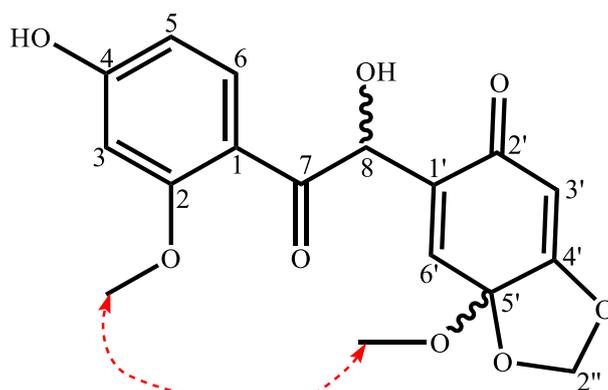


Schéma 14. La corrélation NOESY la plus importante du composé IAB4.

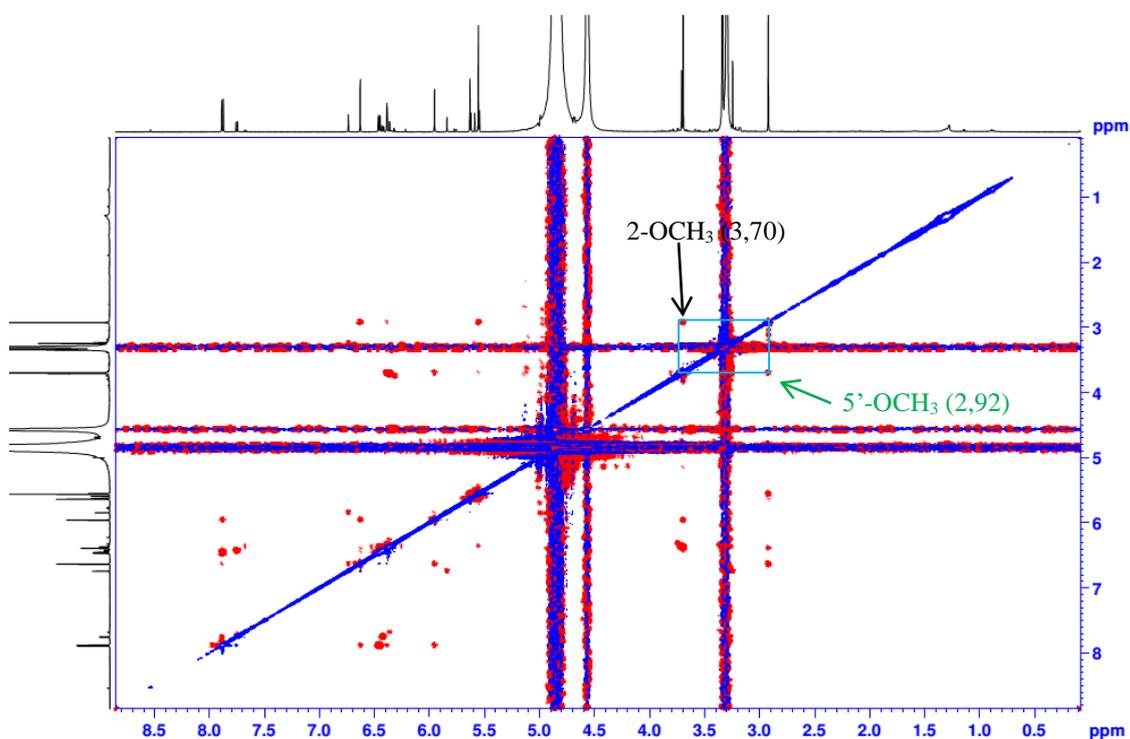


Figure 31. Spectre NOESY du composé IAB4.

L'ensemble de ces données de RMN a permis d'attribuer au composé **IAB4** la structure **48**, à laquelle nous avons donné le nom d'Atricephénol B, qui est un dérivé décrit pour la première fois.

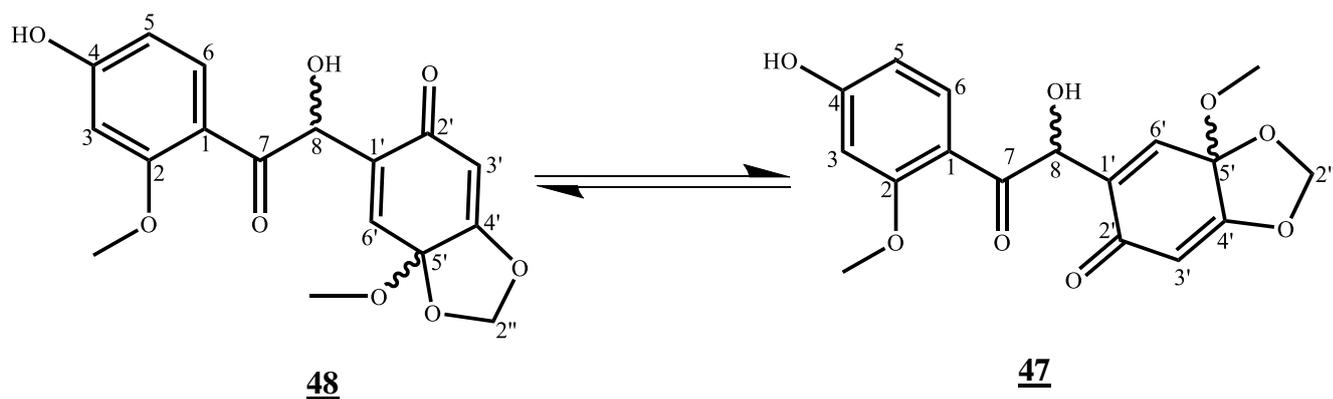


Tableau 19. Données de RMN ^1H (600 MHz, CD_3OD) et ^{13}C (150 MHz) des conformères majoritaire (**48**) et minoritaire (**47**) de l'Atricephenol B (IAB4).

N°	^1H (600 MHz)		^{13}C (150 MHz)	
	48	47	48	47
	δ_{H} (mult.; J/Hz)		δ_{C}	
1	–	–	116,8	116,8
2	–	–	163,0	163,0
3	6,38 (<i>d</i> ; 1,8)	6,36 (<i>d</i> ; 1,8)	99,8	99,7
4	–	–	166,8	166,8
5	6,46 (<i>dd</i> ; 1,8, 8,4)	6,42 (<i>dd</i> ; 1,8, 8,4)	110,0	110,0
6	7,88 (<i>d</i> ; 8,4)	7,75 (<i>d</i> ; 8,4)	134,2	134,2
7	–	–	198,2	198,2
8	5,96 (<i>s</i>)	5,84 (<i>s</i>)	73,2	73,9
1'	–	–	143,7	143,7
2'	–	–	186,9	186,9
3'	5,55 (<i>s</i>)	5,62 (<i>s</i>)	99,8	99,7
4'	–	–	170,7	170,7
5'	–	–	98,8	98,9
6'	6,63 (<i>s</i>)	6,74 (<i>s</i>)	131,0	131,0
2''	5,56 (<i>s</i>)	5,63 (<i>s</i>)	100,5	100,4
4-OH	5,59 (<i>s</i>)	5,59 (<i>s</i>)	–	–
2-OCH ₃	3,70 (<i>s</i>)	3,71 (<i>s</i>)	55,7	55,7
5'-OCH ₃	2,92 (<i>s</i>)	3,25 (<i>s</i>)	51,8	51,8

II.1.2.3. Les benzofuranes

Au cours de ce travail, nous avons isolé deux benzofuranes à savoir le 2-(2'-hydroxy-4'-methoxyphenyl)-5,6-methylenedioxybenzofuran et le spibenzofurane.

II.1.2.3.1. Identification du 2-(2'-hydroxy-4'-methoxyphenyl)-5,6-methylenedioxybenzofuran (IAB5 et ISp9).

Le composé **IAB5** se présente sous forme de poudre blanche dans le système $\text{CH}_2\text{Cl}_2/\text{MeOH}$. Il est soluble dans le méthanol et répond positivement au test des phénols.

Sa formule brute $\text{C}_{17}\text{H}_{16}\text{O}_4$ a été déduite de l'analyse de ses spectres de RMN et de son spectre de masse ESI en mode négatif qui présente le pic de l'ion pseudomoléculaire $[\text{M}-\text{H}]^-$ à m/z 283.

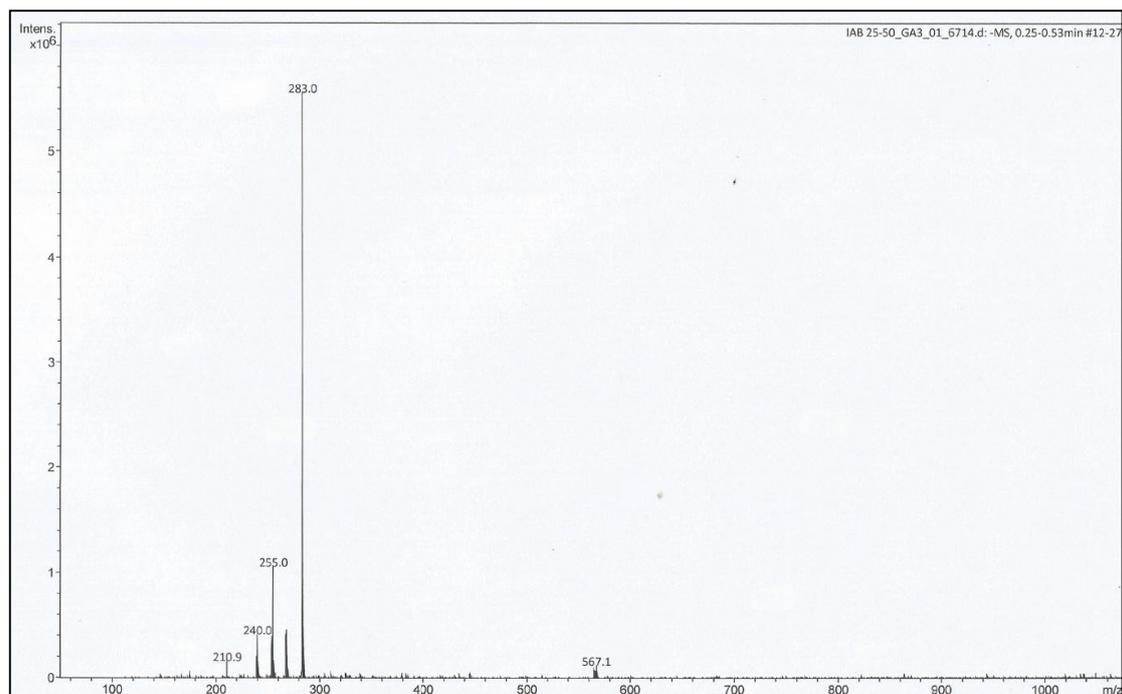


Figure 32. Spectre de masse (ESI) en mode négatif du composé IAB5.

Sur le spectre RMN ¹H (Figure 33) de IAB5, on observe:

- Un singulet d'un proton à δ_H 7,0 (s; H-3) correspondant au proton 3 du furane;
- Deux singulets d'un proton chacun à δ_H 6,97 (s; H-7) et 6,91 (s; H-4) attribuables aux protons d'un cycle aromatique tétrasubstitué;
- Les signaux d'un système ABX à δ_H 7,70 (d; 8,4 Hz; H-6'); 6,47 (dd; 2,0; 8,4 Hz; H-5') et 6,52 (d; 2,0; H-3') attribuables à un cycle benzénique trisubstitué;
- Un singulet de deux protons à δ_H 5,92 (s; H-2'') attribuable aux protons d'un dioxyméthylène;
- Un singulet de trois protons à δ_H 3,92 correspondant aux protons d'un groupe méthoxyle.

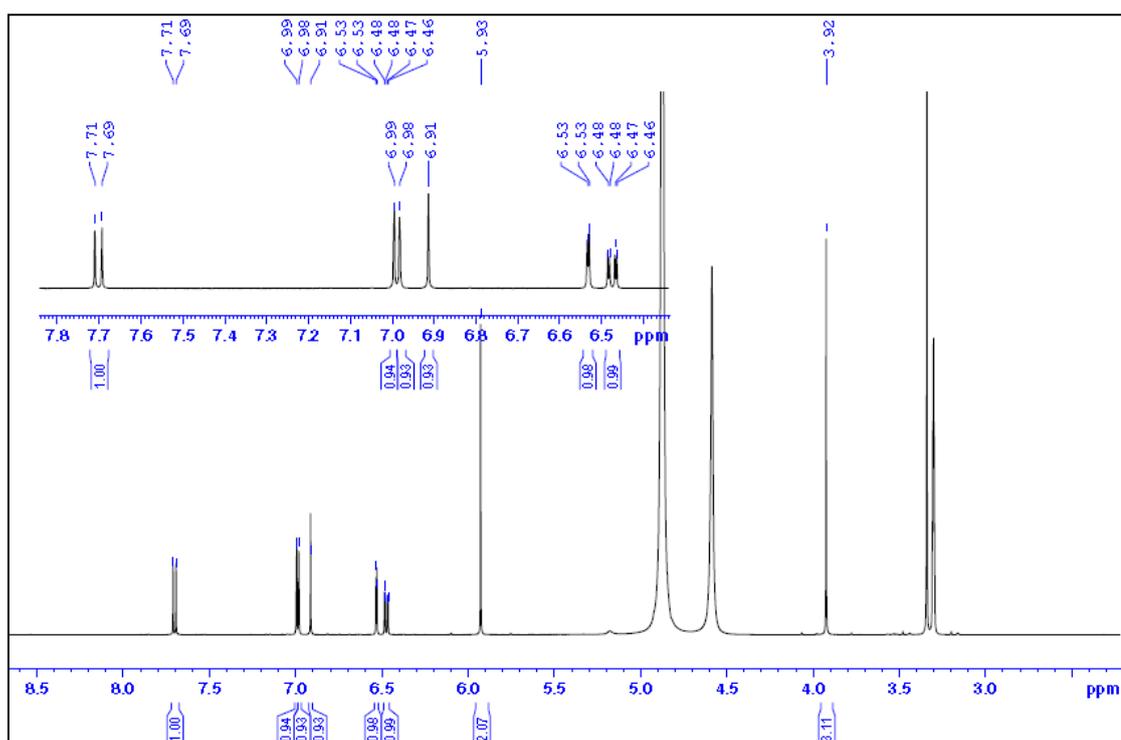


Figure 33. Spectre de RMN ^1H (400 MHz, CD_3OD) du composé IAB5.

Sur le spectre de RMN ^{13}C (BB; DEPT-135) (Figures 34 et 35) du composé on observe 16 signaux de carbones comprenant un méthoxy (δ_{C} 55,8), un dioxyméthylène (δ_{C} 102,4), six méthines (δ_{C} 93,8; 100,1; 100,2; 105,1; 108,5 et 128,2) et huit carbones quaternaires (δ_{C} 112,7; 124,6; 145,7; 147,0; 150,0; 153,8; 158,9 et 159,9).

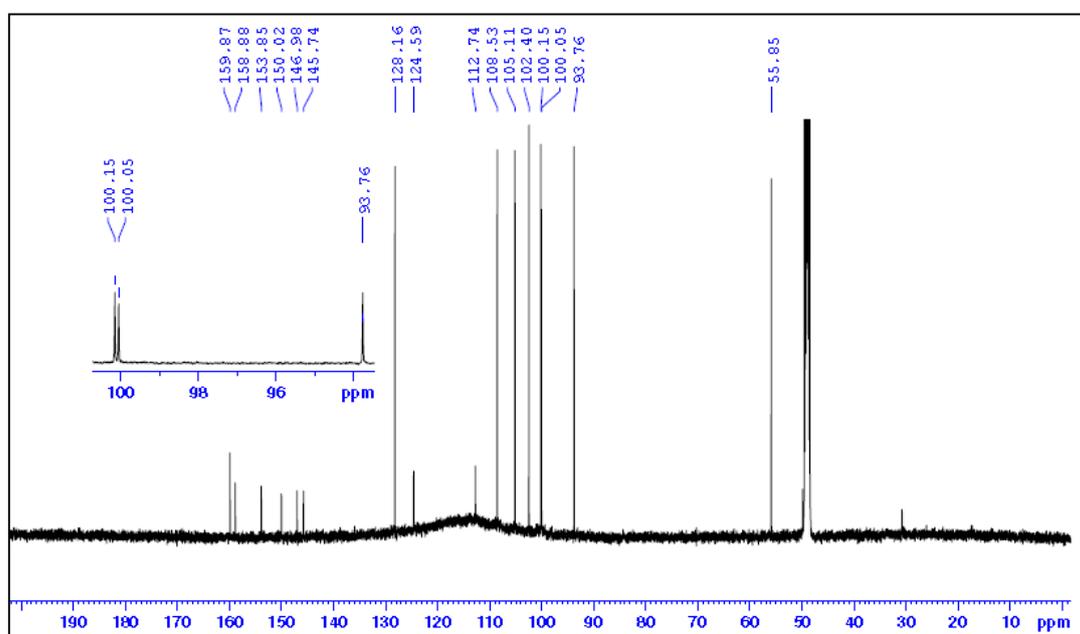


Figure 34. Spectre de RMN ^{13}C (100 MHz, CD_3OD) du composé IAB5.

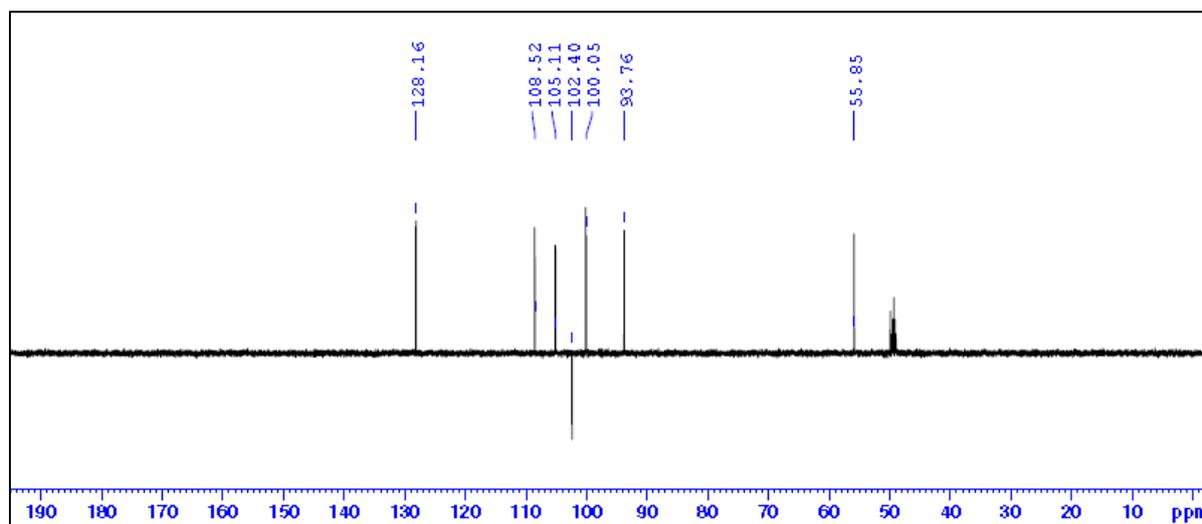


Figure 35. Spectre DEPT-135 du composé IAB5.

Les déplacements chimiques des carbones et protons du composé IAB5 ont été complètement assignés ([Tableau 20](#)) grâce aux analyses complètes des spectres de HMBC et de HSQC.

Sur le spectre HMBC, on observe des corrélations, dont certaines sont représentées sur le [schéma 15](#), entre:

- Le proton à δ_H 7,70 (H-6') et les carbones à δ_C 153,8 (C-2); 158,9 (C-4') et 159,9 (C-2');
- Le proton à δ_H 6,47 (H-5') et les carbones à δ_C 100,2 (C-3') et 112,7 (C-1');
- Le proton à δ_H 6,52 (H-3') et les carbones à δ_C 108,5 (C-5'); 112,7 (C-1') et 159,9 (C-2');
- Le proton à δ_H 7,0 (H-3) et les carbones à δ_C 100,1 (C-4); 124,6 (C-3a); 150,0 (C-7a) et 153,8 (C-2);
- Le proton à δ_H 6,97 (H-7) et les carbones à δ_C 124,6 (C-3a); 145,7 (C-5) et 150,0 (C-7a);
- Le proton à δ_H 6,91 (H-4) et les carbones à δ_C 105,1 (C-3); 147,0 (C-6) et 150,0 (C-7a);
- Le proton à δ_H 5,92 (H-2'') et les carbones 145,7 (C-5) et 147,0 (C-6);
- Le proton à δ_H 3,92 et le carbone à δ_C 158,9 (C-4').

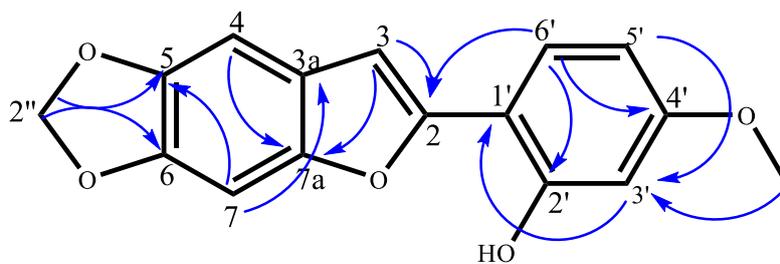


Schéma 15. Corrélations HMBC du composé IAB5.

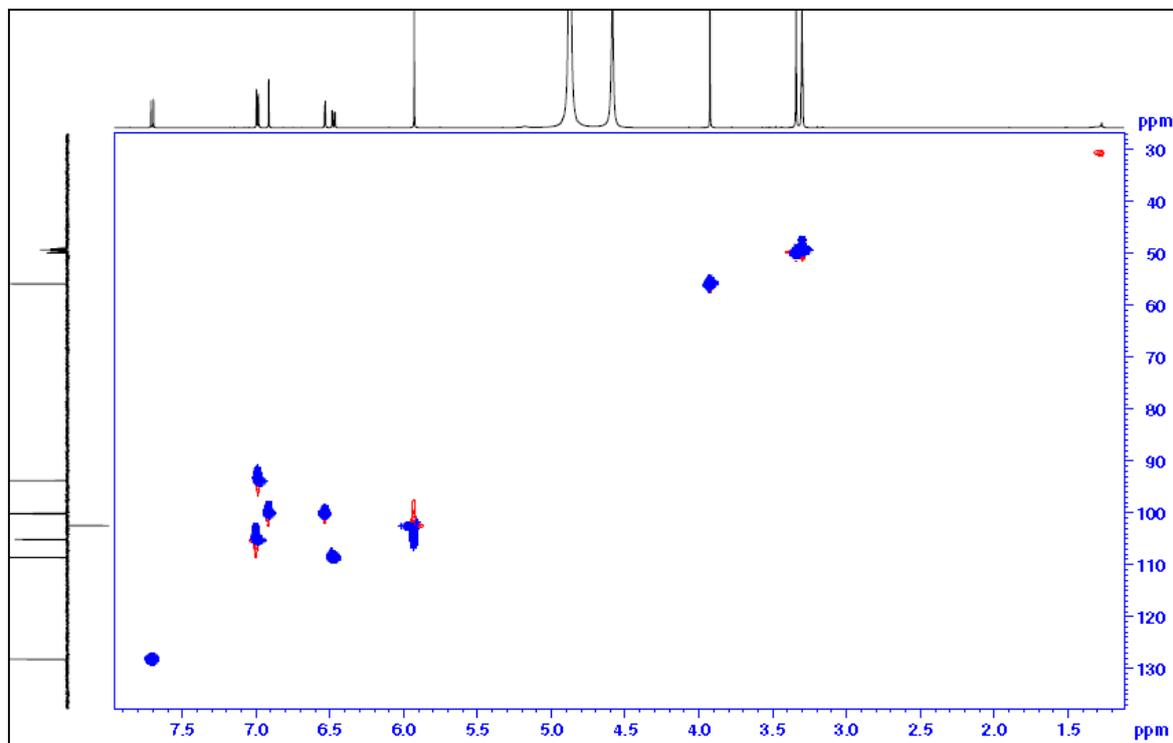


Figure 36. Spectre de HSQC du composé IAB5.

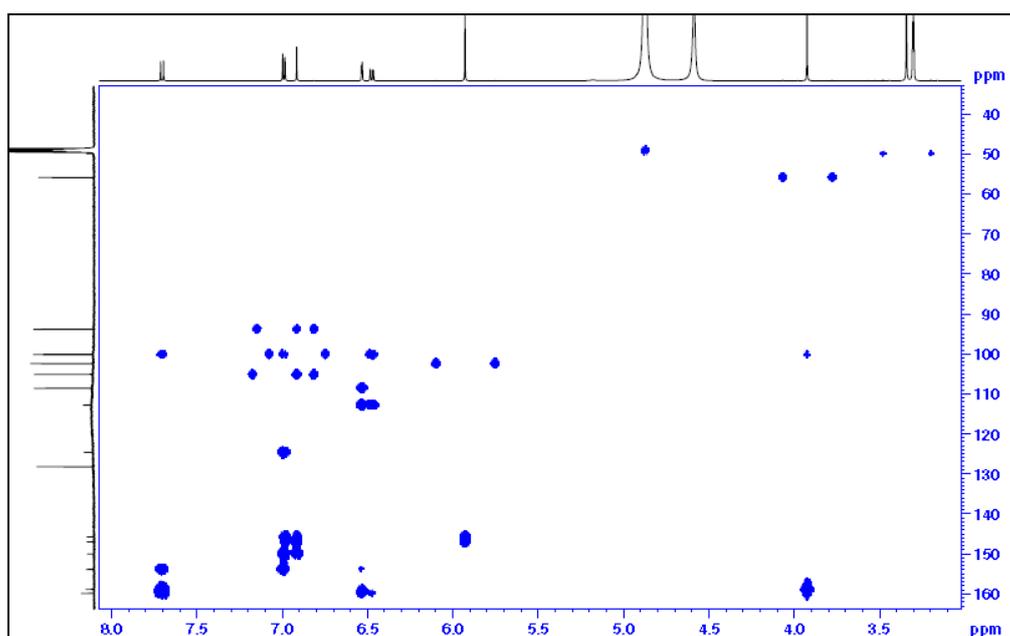
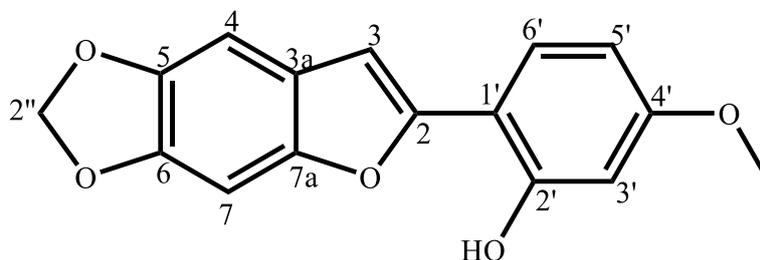


Figure 37. Spectre de HMBC du composé IAB5.

L'ensemble de ces données comparées à celles de la littérature a permis d'attribuer à IAB5 la structure **49** qui est celle de 2-(2'-hydroxy-4'-methoxyphenyl)-5,6-methylenedioxybenzofurane, isolée pour la première fois de *Sophora tomentosa* L. (Komatsu et al., 1978) et connue pour ses activités anti-oxydantes (Khatana et Gupta, 2020).



49

Tableau 20. Données spectrales de RMN ^1H (400 MHz, CD_3OD) de IAB5 comparée à celles de la 2-(2'-hydroxy-4'-methoxyphenyl)-5,6-methylenedioxybenzofurane (400 MHz, CDCl_3) (Komatsu et al., 1978).

N° H	IAB5	2-(2'-hydroxy-4'-methoxyphenyl)-5,6-methylenedioxybenzofurane
3	7,0 (1H; s)	7,01 (1H; s)
4	6,91 (1H; s)	6,81 (1H; s)
7	6,97 (1H; s)	6,94 (1H; s)
3'	6,52 (1H; d; 2,0 Hz)	6,52 (1H; m)
5'	6,47 (dd; 2,0, 8,4)	6,62 (1H; m)
6'	7,70 (1H; d; 8,4)	7,50 (1H; d; 9 Hz)
2''	5,92 (1H; s)	6,02 (1H; s)
4'-OCH ₃	3,92 (1H; s)	3,83 (1H; s)

II.1.2.3.2. Identification de la spibenzofurane (ISp5)

Le composé ISp5 a été obtenu sous forme de poudre amorphe jaune dans le CH_2Cl_2 . Il est soluble au méthanol et donne une coloration violette en présence du chlorure ferrique, caractéristique des dérivés phénoliques. Sa formule brute $\text{C}_{15}\text{H}_{12}\text{O}_6$ a été déduite de son spectre de masse à haute résolution ESI en mode négatif (Figure 38) qui montre le pic de l'ion pseudomoléculaire $[\text{M}-\text{H}]^-$ à m/z 287,0563 (calc. pour $\text{C}_{15}\text{H}_{11}\text{O}_6$: 287,0561) correspondant à 10 degrés d'insaturations.

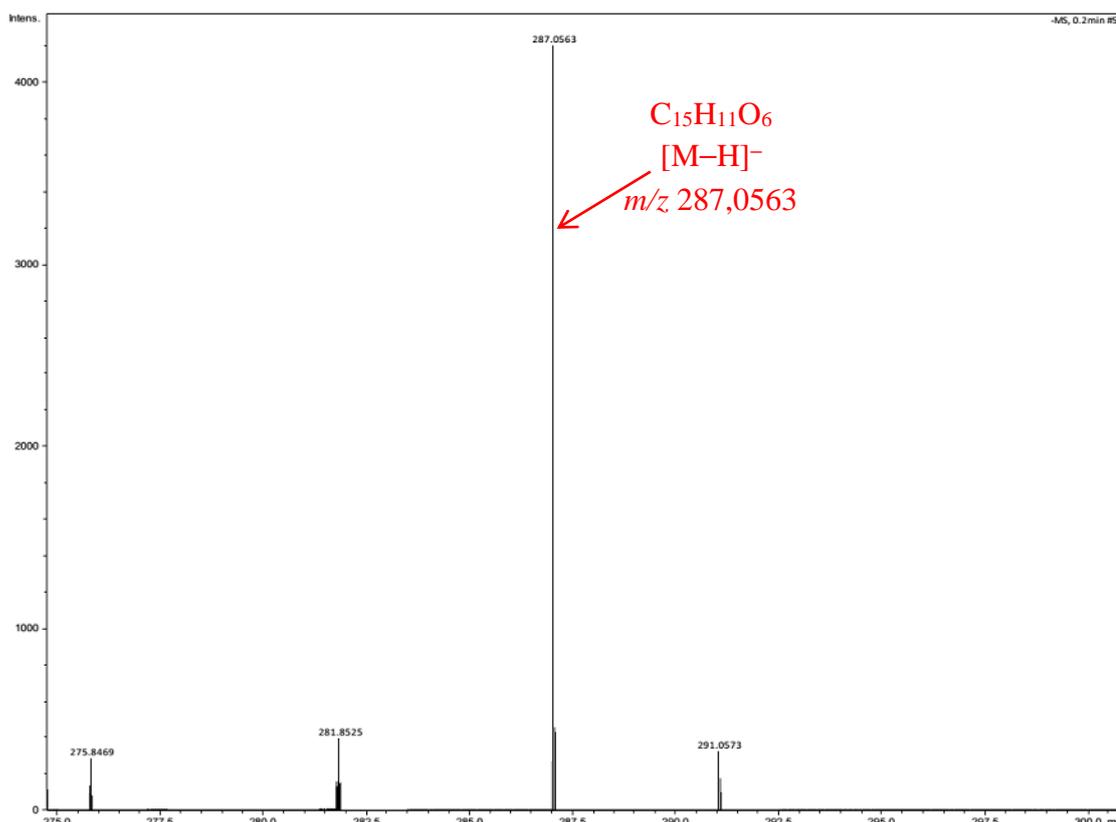


Figure 38. Spectre de masse (ESI) à haute résolution en mode négatif du composé ISp5

Le spectre UV (Figure 39) du composé ISp5 montre des bandes d'absorption à λ_{max} 347, 308, 248 et 229 nm suggérant la présence d'un chromophore benzofurannique (Komatsu et al., 1978) et benzène (Mayo, 1968). Son spectre IR (Figure 40) quant à lui présente des bandes d'absorption à ν_{max} 3398 cm^{-1} (OH libres), 1662 et 1572 cm^{-1} (C=C aromatiques), 1260 cm^{-1} (C-O aromatiques), et 1094 cm^{-1} (CH_3 oxygénés).

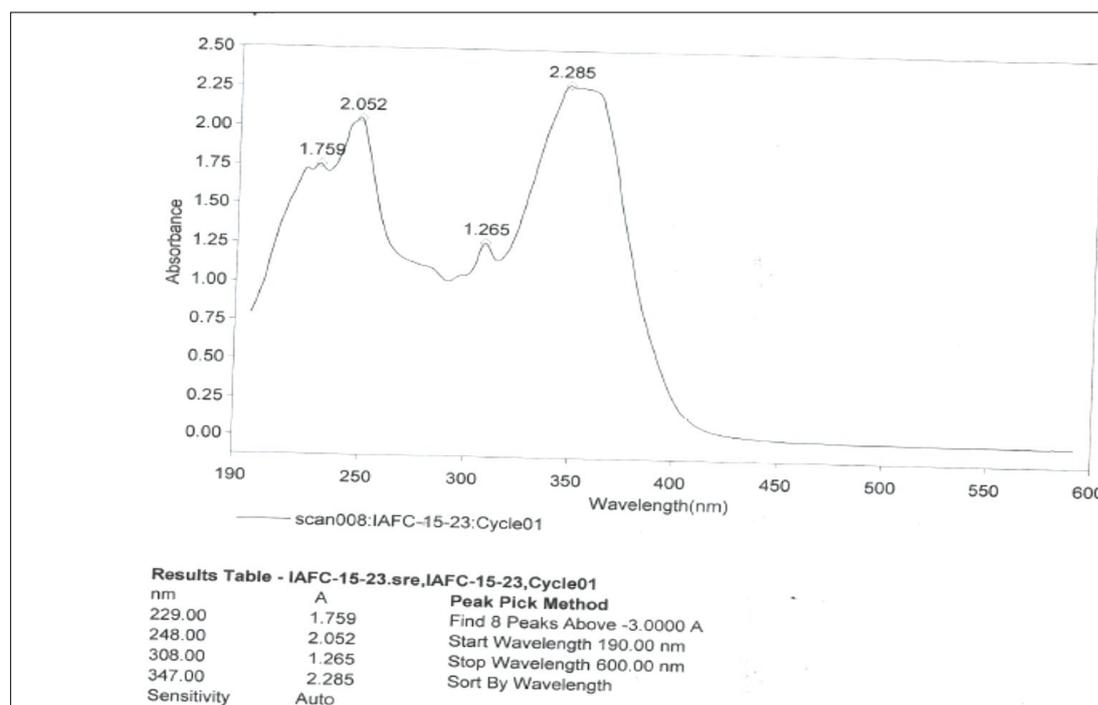


Figure 39. Spectre UV du composé ISp5

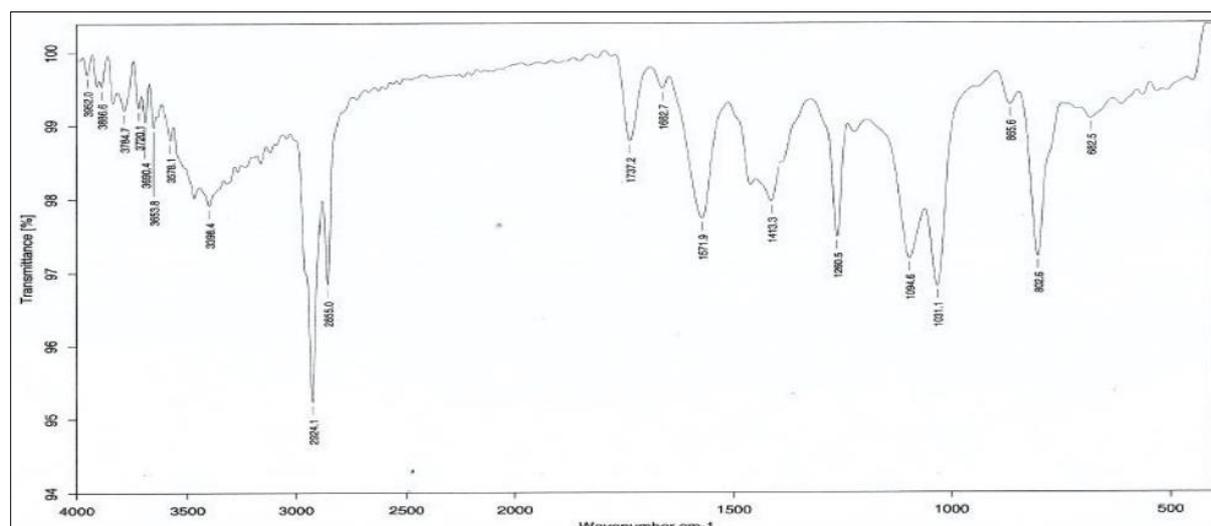


Figure 40. Spectre IR du composé ISp5

Le spectre de RMN ^1H du composé ISp5 (Figure 41) présente:

- Les signaux d'un système ABX à δ_{H} 7,82 (1H, *d*, 8,8 Hz, H-6'), 6,88 (1H, *dd*, 8,8; 2,4 Hz, H-5') et 6,82 (1H, *d*, 2,4 Hz, H-3') attribuables à un cycle benzénique trisubstitué;
- Deux singulets d'un proton chacun à δ_{H} 7,45 (s; H-4) et 7,15 (s; H-7) attribuables aux protons d'un cycle aromatique tétrasubstitué;
- Un singulet de trois protons à δ_{H} 3,96 correspondant aux protons d'un groupement méthoxyle.

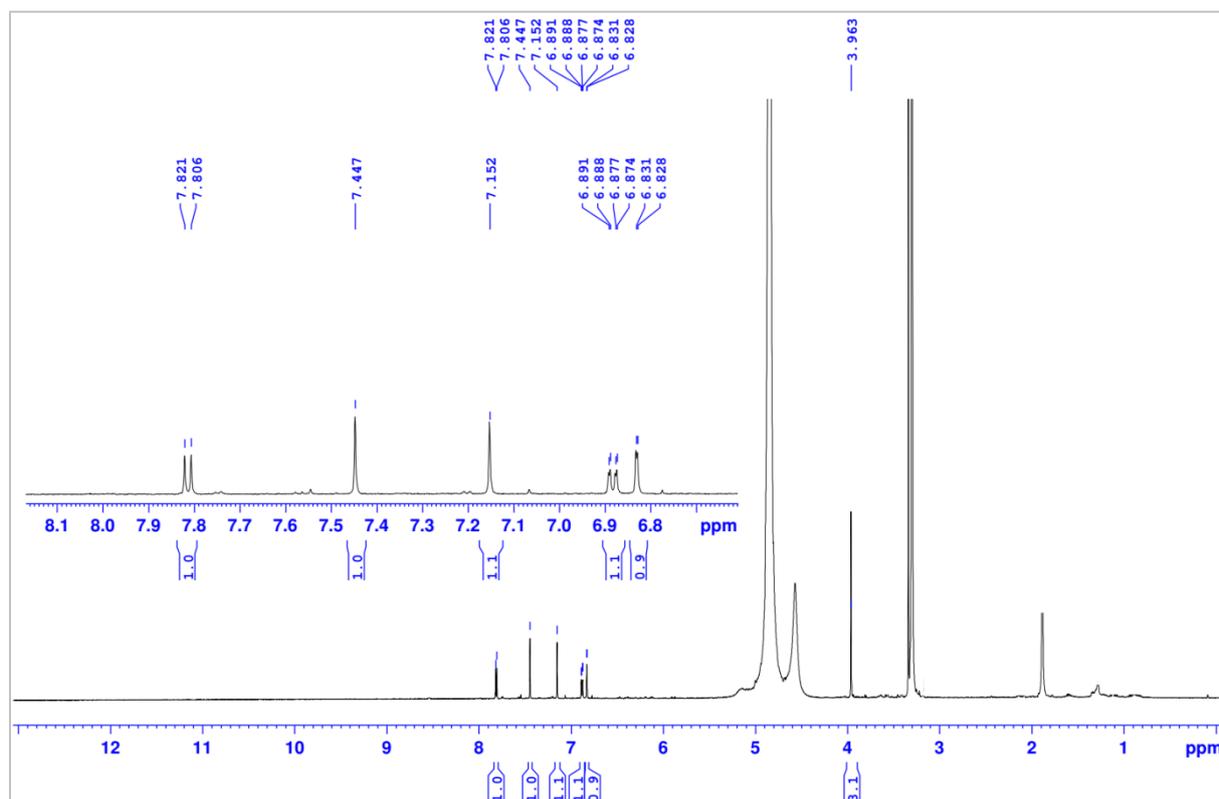


Figure 41. Spectre de RMN ^1H (CD_3OD , 400 MHz) du composé ISp5

Sur les spectres de RMN ^{13}C (Figure 42) et DEPT (Figures 43 et 44) du composé ISp5, on observe 15 signaux de carbones comprenant ceux dus à un méthoxyle (δ_{C} 57,0), cinq méthines aromatiques (δ_{C} 123,5, 116,0, 104,6, 103,4 et 99,8) et neuf carbones quaternaires (δ_{C} 165,7, 162,1, 156,7, 151,7, 148,3, 148,1, 115,9, 105,6 et 103,2).

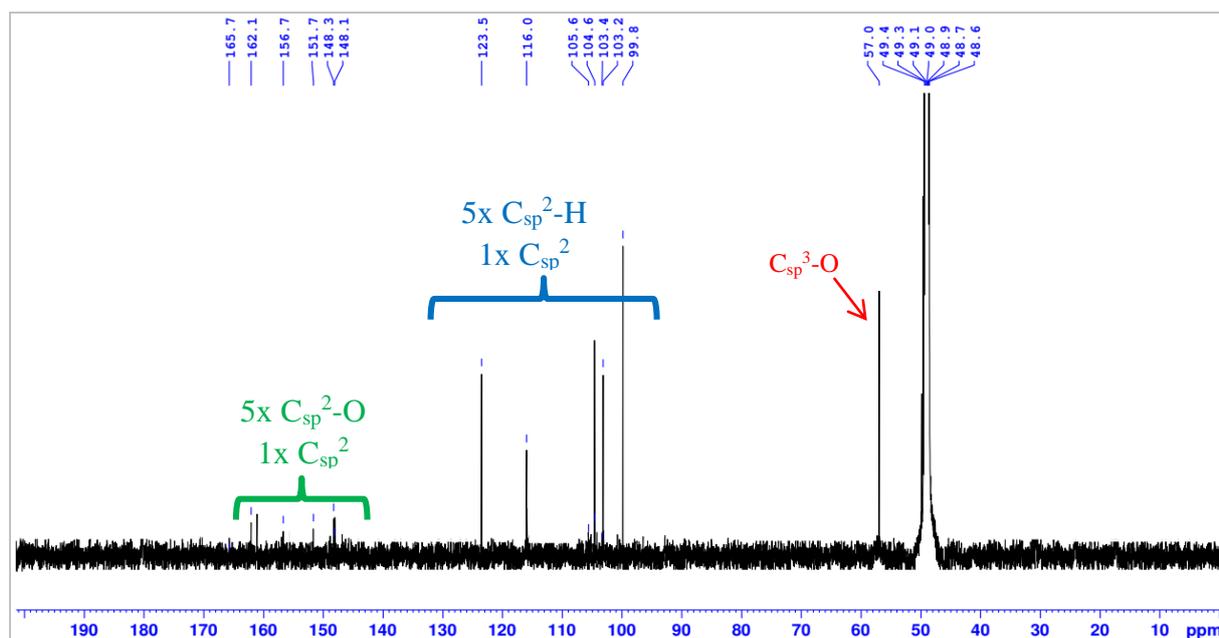


Figure 42. Spectre de RMN ^{13}C (CD_3OD , 100 MHz) du composé ISp5

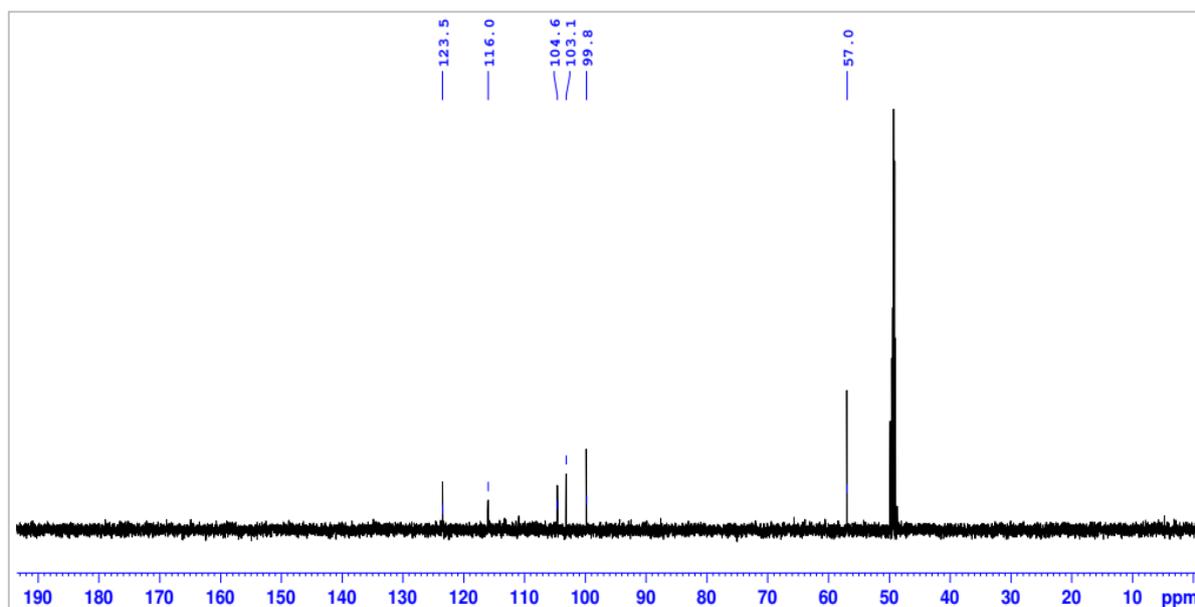


Figure 43. Spectre DEPT-135 du composé ISp5

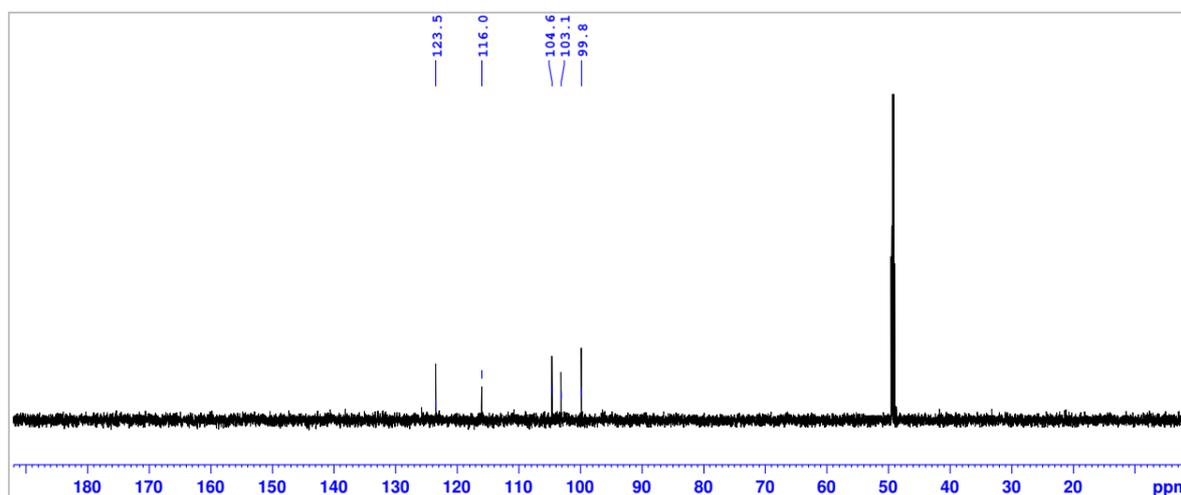


Figure 44. Spectre DEPT-90 du composé ISp5

Les déplacements chimiques des carbones et protons du composé ISp5 ont été complètement assignés (Tableau 21) grâce aux analyses complètes des spectres de HMBC, HSQC et NOESY.

Sur son spectre HMBC, on observe des taches de corrélations dont les plus importantes sont celles observées entre :

- Le proton à δ_H 7,82 (H-6') et les carbones à 165,7 (C-2), 162,1 (C-4') et 156,7 (C-2');
- Le proton à δ_H 6,88 (H-5') et le carbone à δ_C 105,6 (C-1');
- Le proton à δ_H 6,82 (H-3') et les carbones à δ_C 105,6 (C-1'), 116,0 (C-5') et 156,7 (C-2');
- Le proton à δ_H 7,45 (H-4) et les carbones à δ_C 103,2 (C-3), 148,1 (C-6) et 151,7 (C-7a);

- Le proton à δ_H 7,15 (H-7) et les carbones à δ_C 115,9 (C-3a), 148,3 (C-5) et 151,7 (C-7a)
- Le proton à δ_H 3,96 et le carbone à δ_C 148,3 (C-5).

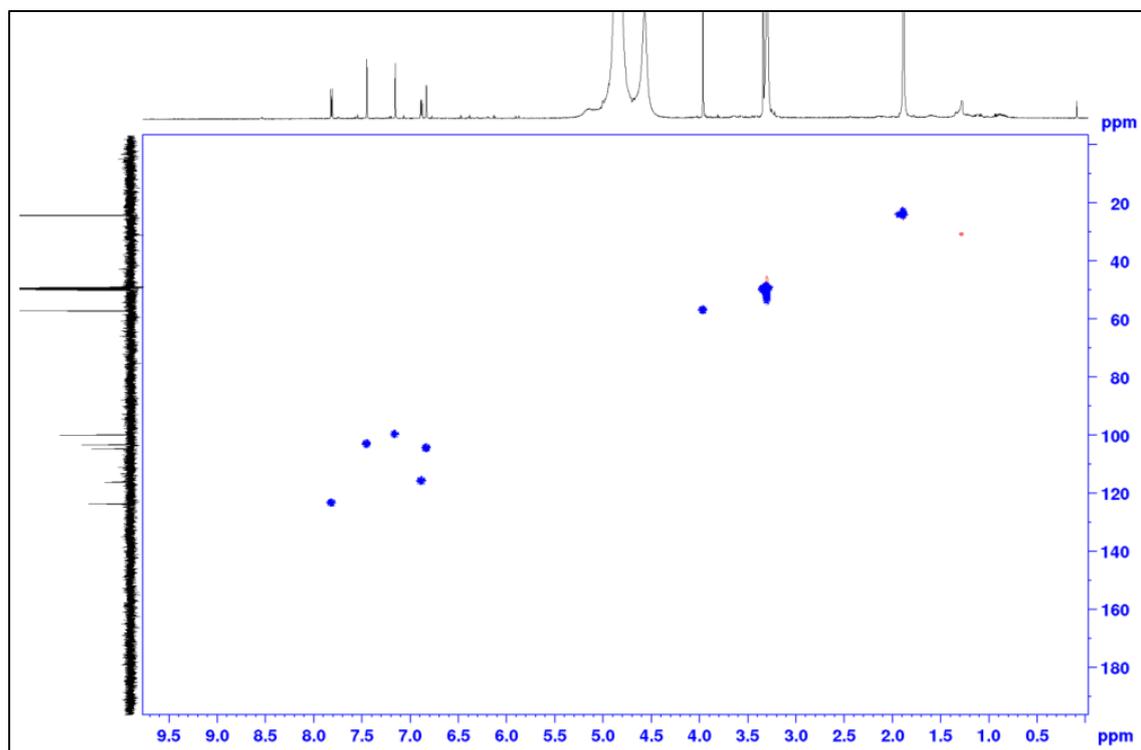


Figure 45. Spectre HSQC du composé ISp5

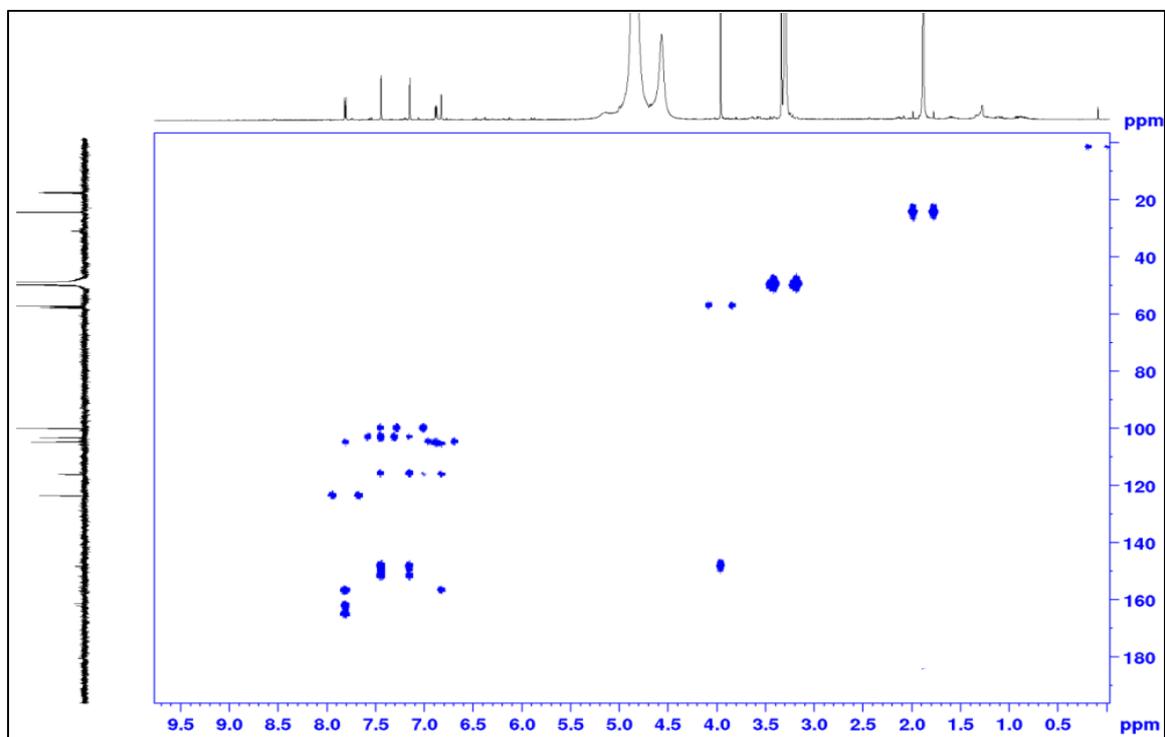


Figure 46. Spectre HMBC du composé ISp5

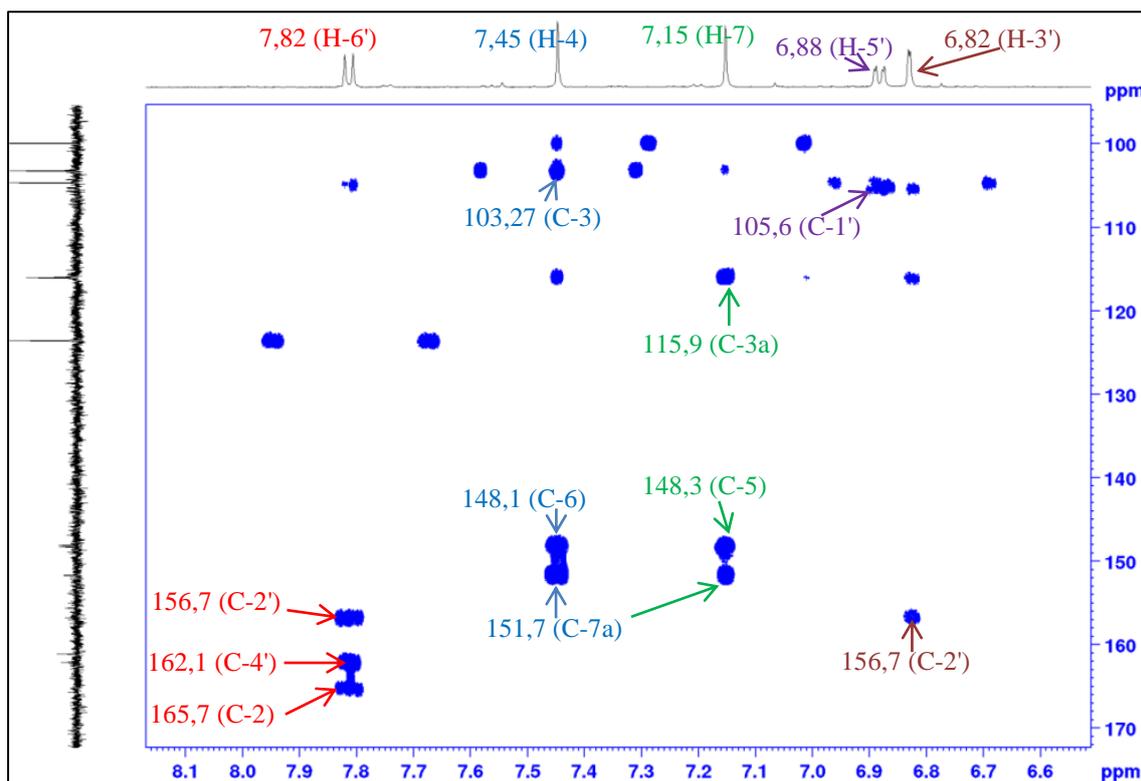


Figure 47. Spectre élargi de HMBC du composé ISp5

La position du groupement méthoxyle, porté par le carbone C-5, a été confirmée par le spectre NOESY du composé, sur lequel on observe une tache de corrélation entre le proton du méthoxyle à δ_H 3,96 et le proton à δ_H 7,45 (H-4).

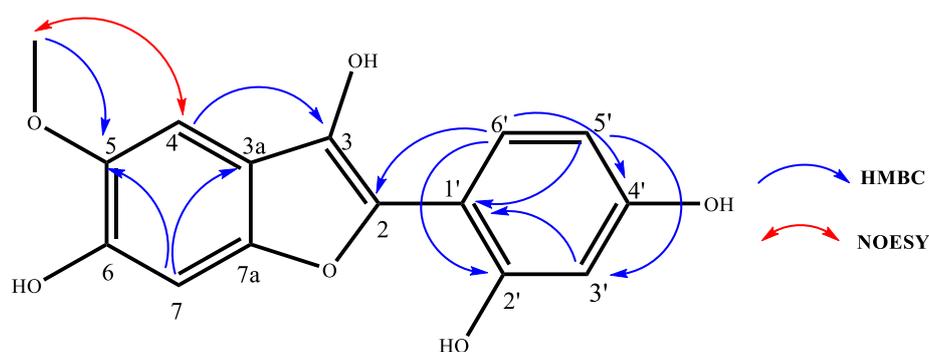


Schéma 16. Corrélations importantes HMBC et NOESY du composé ISp5

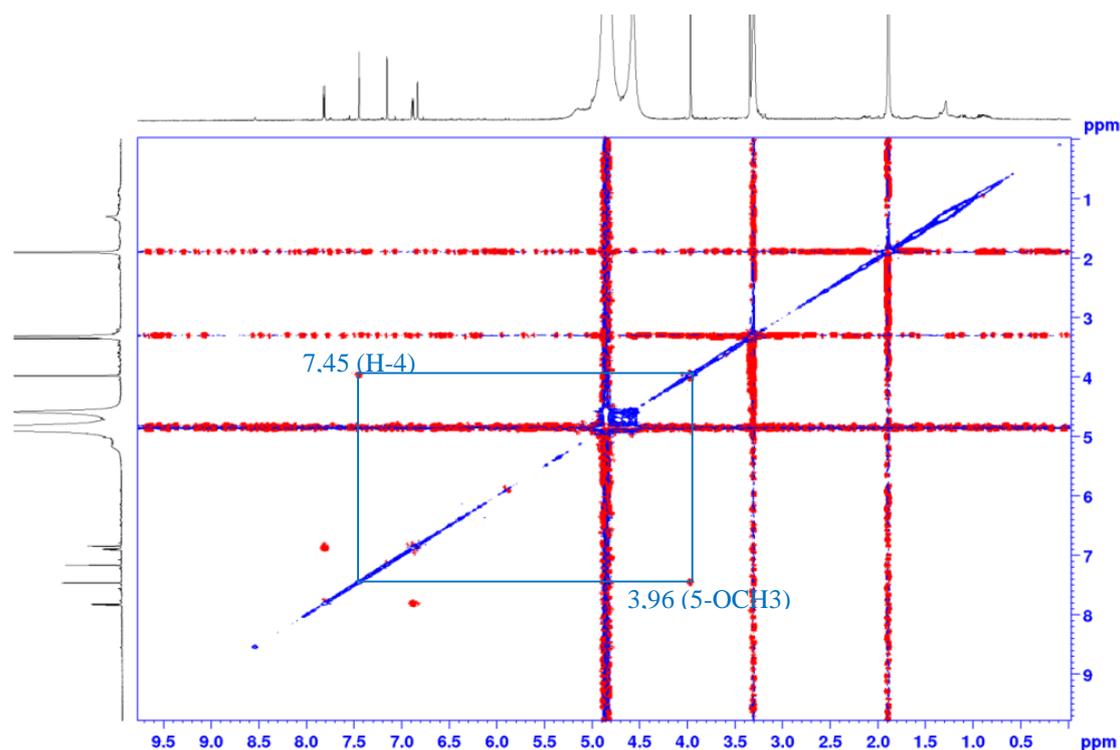
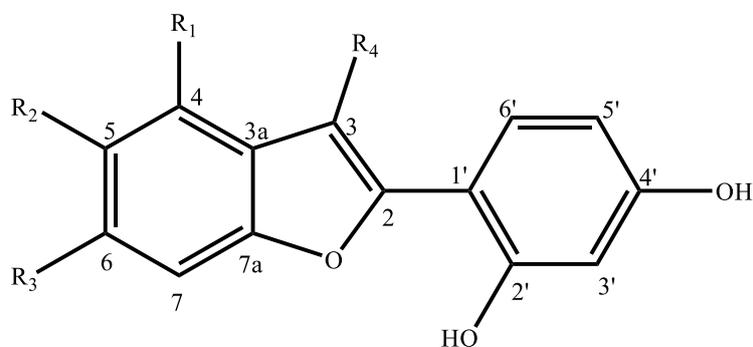


Figure 48. Spectre NOESY du composé ISp5

Les groupements hydroxyles ont été placés sur les carbones C-6, C-2' et C-4' à cause du déplacement chimique de ces carbones qui apparaissent dans le champ faible respectivement à δ_C 148,1; 156,7 et 162,1. Toutes les informations précédentes laissent penser que la structure du composé ISp5 est similaire à celle de l'ebenfurane I (**50**) isolé de *Onobrychis ebenoides* (Halabalaki et al., 2000). La différence de masses de 16 unité et l'absence du signal du proton à δ_H 7,02 (H-3) sur le spectre de ISp5 nous suggèrent la présence d'un groupement hydroxyle sur le carbone C-3 de la molécule.

L'ensemble de ces informations nous a permis d'attribuer au composé ISp5 la structure (**51**) à laquelle nous avons attribué le nom de spibenzofurane.



50 $R_1 = H$; $R_3 = OCH_3$; $R_2 = OH$; $R_4 = H$

51 $R_1 = H$; $R_2 = OCH_3$; $R_3 = R_4 = OH$

Tableau 21. Données de RMN ^1H (400 MHz, CD_3OD) et ^{13}C (100 MHz, CD_3OD) du Spibenzofurane comparées à celles de l'ebenzofurane I (CD_3OD) (Halabalaki et al., 2000).

N°	Spibenzofuran (51)		Ebenfuran I (50)	
	δ_{H} (mult.; J/ Hz)	δ_{C}	δ_{H} (mult.; J/Hz)	δ_{C}
2	–	165,7	–	154,6
3	–	103,2	7,02 (s)	104,5
3a	–	115,9	–	124,4
4	7,45 (s)	103,4	6,91 (s)	106,5
5	–	148,3	–	144,7
6	–	148,1	–	147,7
7	7,15 (s)	99,8	7,10 (s)	96,3
7a	–	151,7	–	149,7
1'	–	105,6	–	112,1
2'	–	156,7	–	157,3
3'	6,82 (d, 2,4)	104,6	6,42 (d, 1,9)	104,3
4'	–	162,1	–	159,8
5'	6.88 (dd, 2,4, 8,8)	116,0	6.41 (dd, 1,9, 8,3)	108,5
6'	7.82 (d, 8,8)	123,5	7.86 (d, 8,3)	128,6
5-OCH ₃	3.96 (s)	57,0	–	–
6-OCH ₃	–	–	3.89 (s)	57,3

II.1.2.4. Les flavonoïdes

Cinq flavonoïdes ont été isolés au cours de nos travaux et réparties ainsi qu'il suit: une isoflavone (la génistéine), trois pterocarpanes (le (–)-melilotocarpane D, le (–)-melilotocarpane A, et le maackiain) et une flavone (7,3'-dihydroxy-6,4'-diméthoxyflavone).

II.1.2.4.1. Identification de la génistéine (IAB9)

Le composé IAB9 se présente sous forme de poudre beige dans le système $\text{CH}_2\text{Cl}_2/\text{MeOH}$. Il est soluble dans le mélange chloroforme–méthanol et répond positivement au test des phénols et au test de Shinoda caractéristique des flavonoïdes.

Sa formule brute $\text{C}_{15}\text{H}_{10}\text{O}_5$ a été déduite de ses spectres de RMN et de son spectre de masse ESI en mode positif qui présente le pic de l'ion pseudomoléculaire $[\text{M}+\text{H}]^+$ à m/z 271.

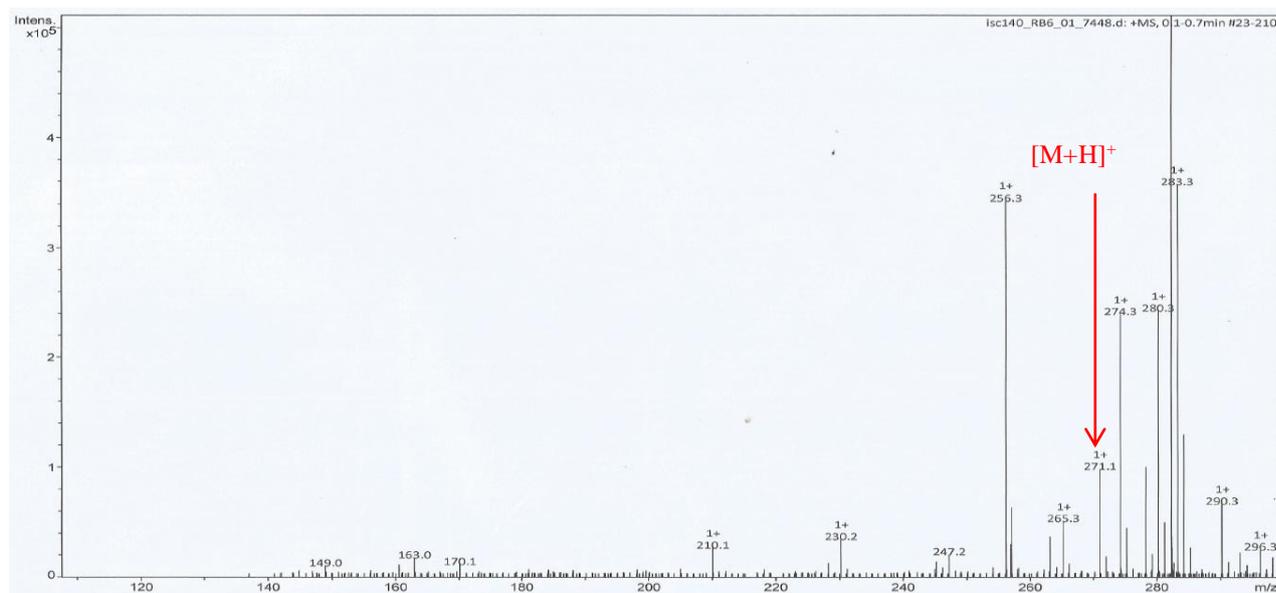


Figure 49. Spectre de masse (ESI) en mode positif du composé IAB9.

Le spectre de RMN ^1H (Figure 50, Tableau 22) du composé IAB9 présente à δ_{H} 7,77 ppm, un singulet d'un proton caractéristique du proton H-2 des isoflavones (Mabry *et al.*, 1970). Cette information est confirmée par le spectre de RMN ^{13}C où l'on observe des pics à δ_{C} 152,6, 123,5 et 181,0 ppm dus respectivement aux carbones C-2, C-3 et C-4 d'une isoflavone (Mabry *et al.*, 1970). Cela est aussi confirmé par le spectre HMBC (Figure 52) où l'on retrouve des corrélations entre le proton H-2 et les carbones C-4 (δ_{C} 181,0), C-8a (δ_{C} 158,4) et C-1' (δ_{C} 122,1).

Outre ces signaux, le spectre de RMN ^1H de IAB9 présente:

- Les signaux d'un système AB à δ_{H} 6,22 et 6,29 (*d*, 1,8 Hz) ppm, correspondant respectivement aux protons H-6 et H-8 du cycle A des isoflavones.
- Les signaux d'un système AA'BB' à δ_{H} 7,28 et 6,83 (*d*, 8,5 Hz), attribuables aux protons H-2'/6', H-3'/5' du cycle aromatique para-substitué.

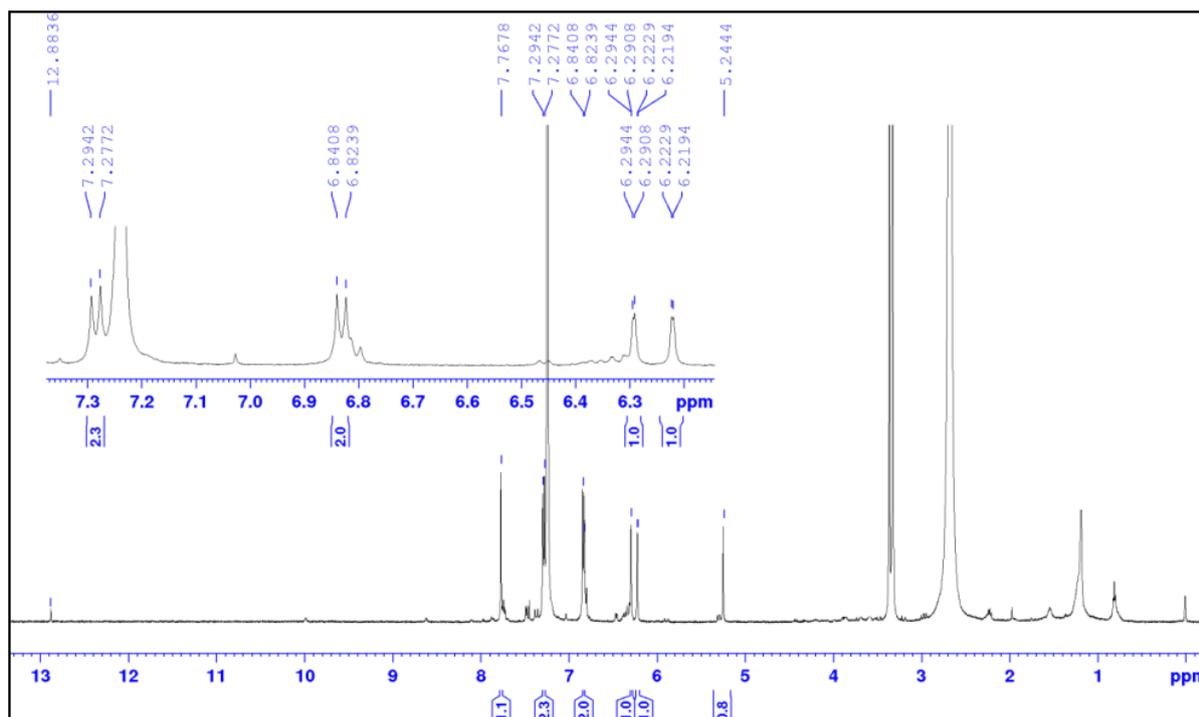


Figure 50. Spectre de RMN ^1H (500 MHz, $\text{CDCl}_3/\text{CD}_3\text{OD}$) du composé IAB9.

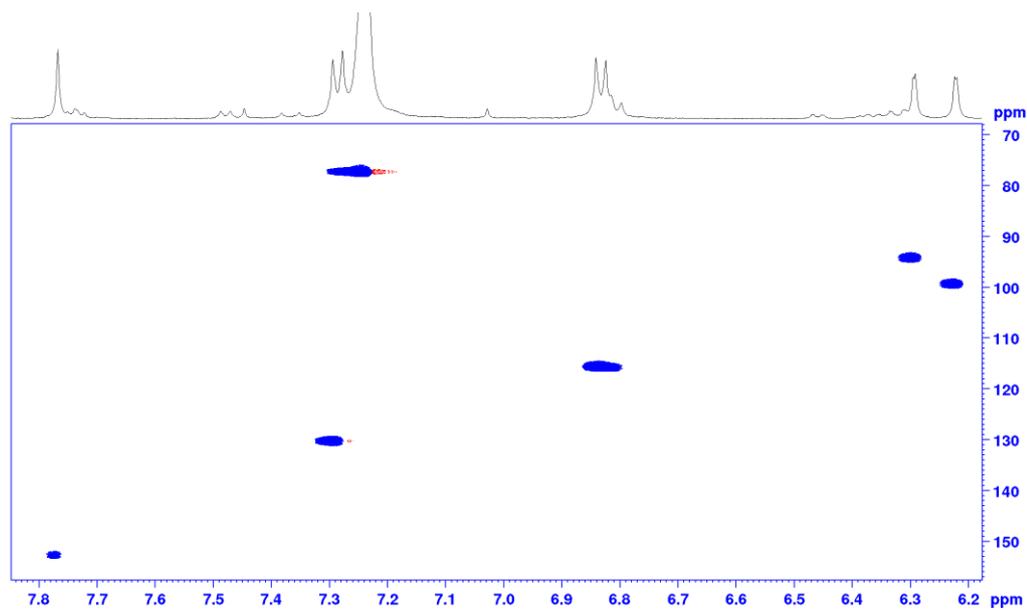


Figure 51. Spectre HSQC du composé IAB9.

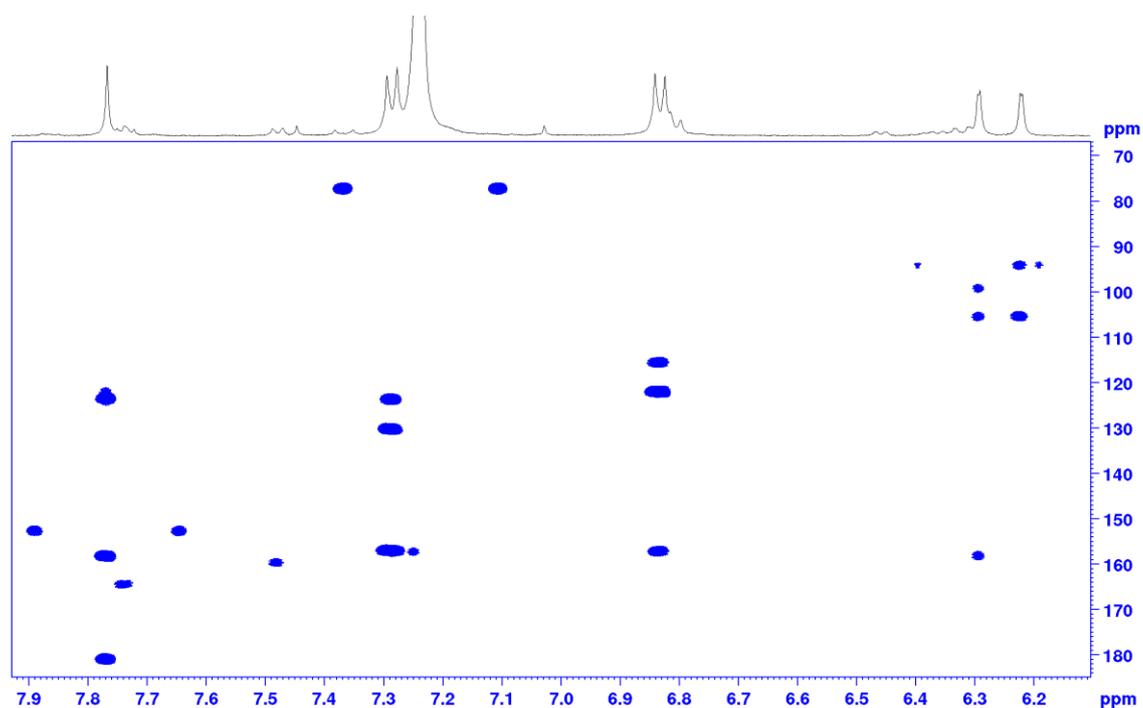
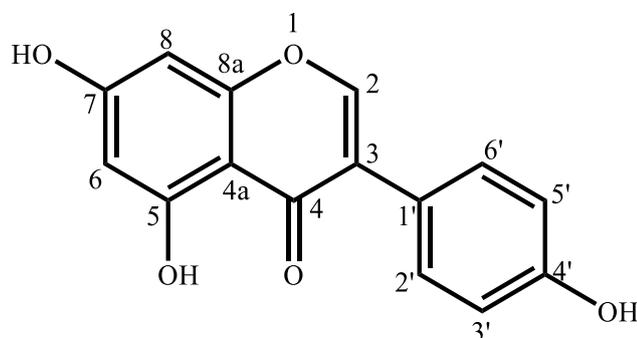


Figure 52. Spectre HMBC du composé IAB9.

L'ensemble de ces données spectrales comparées avec celles de la littérature a permis d'identifier cette isoflavone à la génistéine (**17**), déjà isolée par Yasuda et al., (1996). Ce composé présente des activités anti-oxydantes, anticancers et antimicrobiennes (Hamza et Gebreyohannes, 2018)



17

Tableau 22. Données de RMN ¹H (500 MHz, CDCl₃/CD₃OD) de IAB9 comparées à celles de la génistéine (300 MHz, DMSO-d₆) (Yasuda et al., 1996).

N° C/H	IAB9	Génistéine
2	7,77 (1H; s)	7,83 (1H; s)
6	6,22 (1H; d; 1,8 Hz)	6,22 (1H; d; 2,0 Hz)
8	6,29 (1H; d; 1,8 Hz)	6,39 (1H; d; 2,0 Hz)
2'	7,28 (1H; d; 8,5 Hz)	7,37 (1H; d; 8,4 Hz)
3'	6,83 (1H; d; 8,5 HZ)	6,82 (1H; d; 8,4 HZ)
5'	6,83 (1H; d; 8,5 HZ)	6,82 (1H; d; 8,4 HZ)
6'	7,28 (1H; d; 8,5 Hz)	7,37 (1H; d; 8,5 Hz)

II.1.2.4.2. Identification du (-)-melilotocarpane D (IAB8)

Le composé IAB8 a été obtenu sous forme de poudre amorphe de couleur jaune dans le CH₂Cl₂. Il est soluble dans l'acétone. Il répond positivement au test des phénols (coloration violette avec le chlorure ferrique) et au test de Shinoda (coloration rougeâtre avec le mélange Mg/HCl). Son spectre de masse EI à haute résolution (Figure 53) montre le pic de l'ion moléculaire à *m/z* 316,0957 (calc. pour C₁₇H₁₆O₆: 316,0947) correspondant à la formule brute C₁₇H₁₆O₆ renfermant 10 degrés d'insaturations.

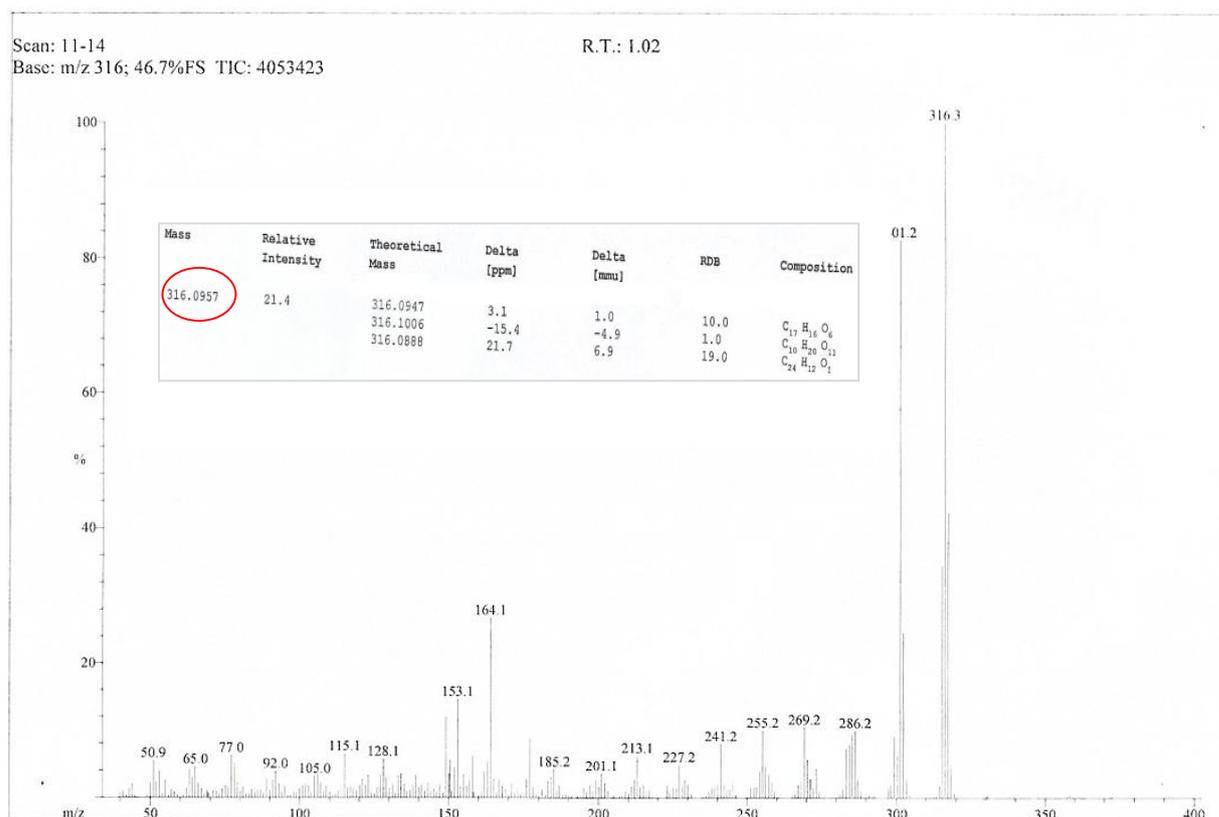


Figure 53. Spectre de masse (EI) à Haute Résolution du composé IAB8.

Le spectre de RMN ¹H du composé IAB8 (Figure 54) montre les quatre pics caractéristiques des pterocarpanes à δ_H 4,31 (1H, *dd*, 5,6; 10,0 Hz, H-6ax); 3,62 (1H, *dd*, 5,6; 10,0 Hz, H-6eq); 3,62 (1H, *dd*, 5,6; 10,0 Hz, H-6a) et 5,53 (1H, *d*, 5,6 Hz, H-11a) correspondant aux protons de l'hétérocycle B (Pachler and Underwood, 1967; Zeng et al., 2013; Wang et al., 2014).

En dehors de ces signaux, on peut également observer sur le spectre de RMN ¹H du composé IAB8:

- Les signaux de deux systèmes AB (*Ortho*) à δ_H 6,97 et 6,72 (1H chacun, *d*, 8,4 Hz, H-1; H-2) et 6,78 et 6,51 (1H chacun, *d*, 8,0 Hz, H-7, H-8) (Tableau 23) correspondant aux cycles aromatiques A et D de la pterocarpane.
- Les signaux de deux méthoxyles à δ_H 3,80 (3H, *s*) et 3,83 (3H, *s*).

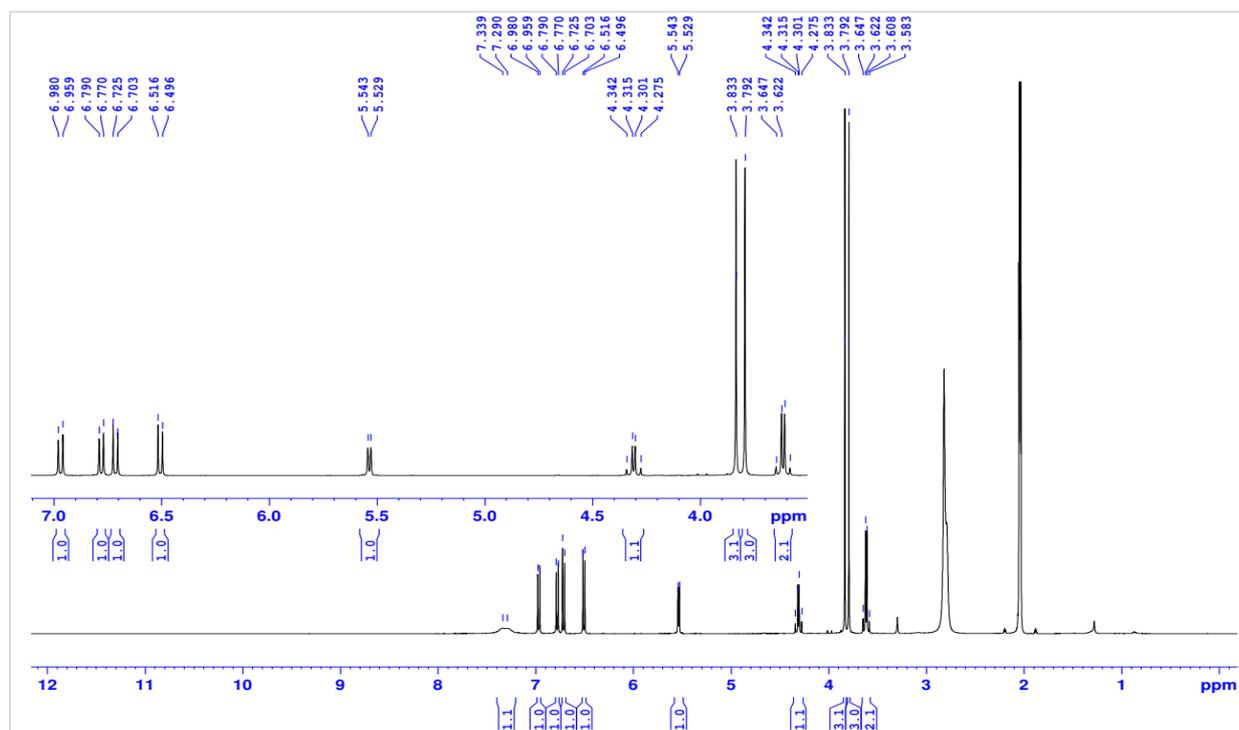


Figure 54. Spectre de RMN¹H (CD₃COCD₃, 400 MHz) du composé IAB8.

Les spectres de RMN¹³C (Figure 55) et DEPT (Figure 56) du composé IAB8 en conformité avec son spectre de RMN¹H, présentent 17 signaux correspondant à deux méthoxyles (δ_C 56,8 et 56,6), un méthylène aliphatique (δ_C 63,7), six méthines (δ_C 121,5; 115,1; 106,7; 105,3; 79,5 et 41,1) et huit carbones aromatiques quaternaires (δ_C 149,7; 148,9; 147,8; 145,0; 135,8; 132,3; 122,5 et 115,5) (Tableau 23).

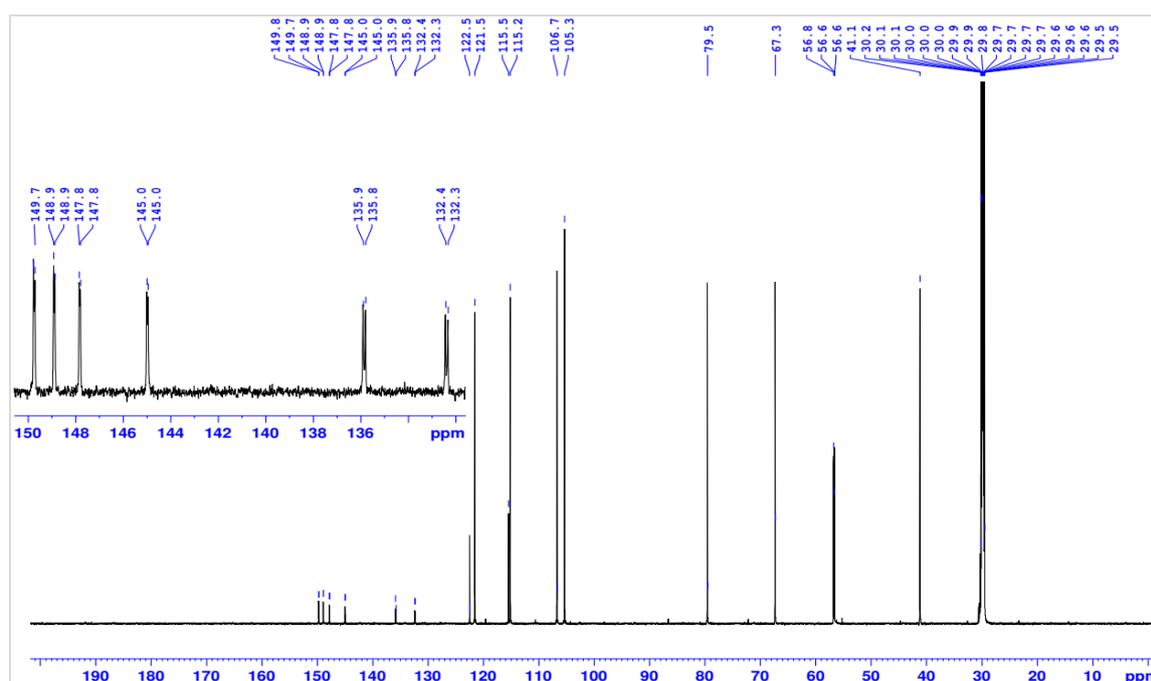


Figure 55. Spectre de RMN¹³C (CD₃COCD₃, 100 MHz) du composé IAB8.

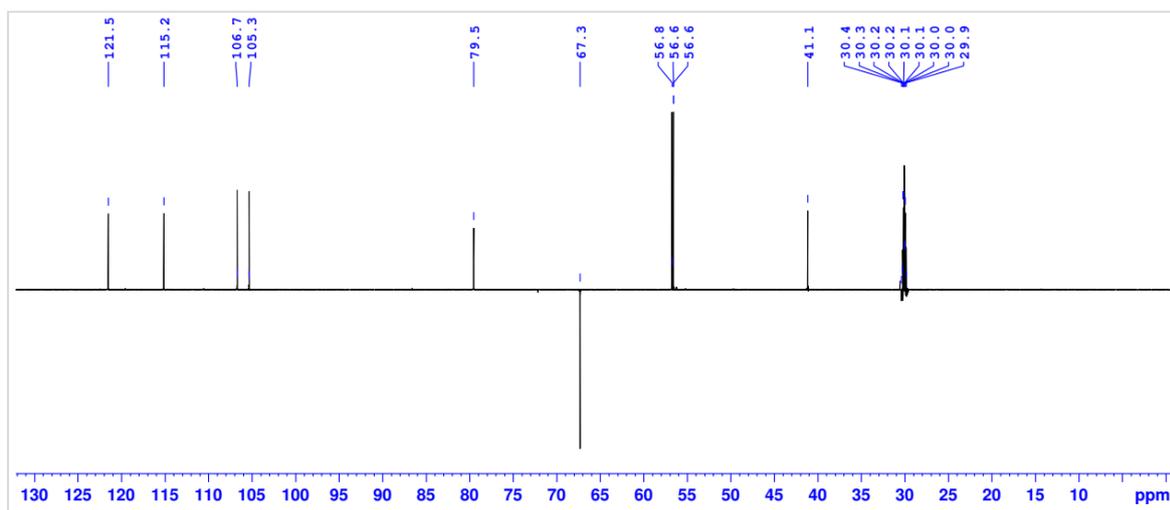


Figure 56. Spectre DEPT-135 (CD_3COCD_3 , 100 MHz) du composé IAB8.

Les déplacements chimiques des carbones et protons du composé IAB8 ont été complètement assignés (Tableau 23) grâce aux analyses complètes des spectres de HMBC, HSQC, COSY et NOESY. Sur son spectre HMBC (Figure 58), on observe des taches de corrélation dont certaines sont présentées sur le schéma 17 entre :

- Les protons des méthoxyles à δ_{H} 3,83 et 3,80 et les carbones à δ_{C} 148,9 (C-3) et 149,7 (C-9) respectivement, ce qui a permis de les lier à ces carbones;
- Le proton à δ_{H} 3,62 (H-6a) et les carbones à δ_{C} 79,5 (C-11a), 67,3 (C-6), 115,1 (C-7) et 147,8 (C-10a);
- Le proton à δ_{H} 5,53 (H-11a) et les carbones à δ_{C} 41,1 (C-6a), 147,8 (C-10a), 121,5 (C-1) et 145,0 (C-4a);
- Le proton à δ_{H} 6,97 (H-1) et les carbones à δ_{C} 79,5 (C-11a), 148,9 (C-3), et 145,0 (C-4a);
- Le proton à δ_{H} 6,72 (H-2) et les carbones à δ_{C} 148,9 (C-3) et 135,8 (C-4);
- Le proton à δ_{H} 6,78 (H-7) et les carbones à δ_{C} 41,1 (C-6a), 147,8 (C-10a) et 149,7 (C-9);
- Le proton à δ_{H} 6,51 (H-8) et les carbones à δ_{C} 149,7 (C-9), 132,3 (C-10) et 122,5 (C-6b).

Sur le spectre NOESY (Figure 59) nous observons les corrélations entre le proton à δ_{H} 6,72 (H-2) et celui à δ_{H} 3,83 (3-OCH₃) et aussi entre les protons à δ_{H} 6,51 (H-8) et 3,80 (9-OCH₃), qui ont permis de confirmer les positions des différents méthoxyles.

La présence des groupements hydroxyles sur la molécule en position C-4 et C-10 a été confirmée par les valeurs de leurs déplacements chimiques à δ_{C} 135,8 et 132,3 respectivement.

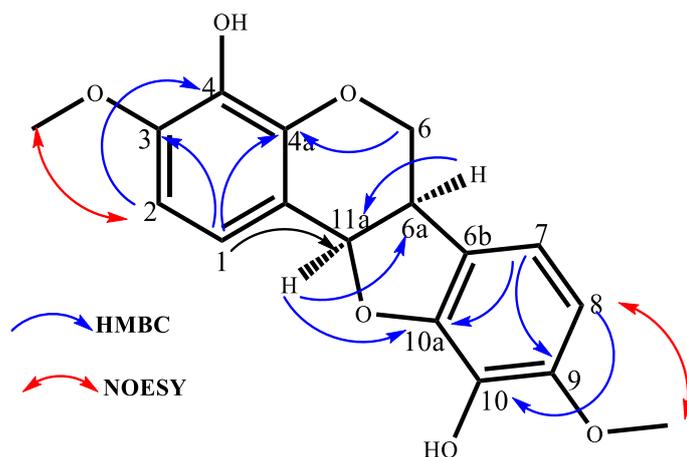


Schéma 17. Quelques corrélations HMBC et NOESY du composé IAB8.

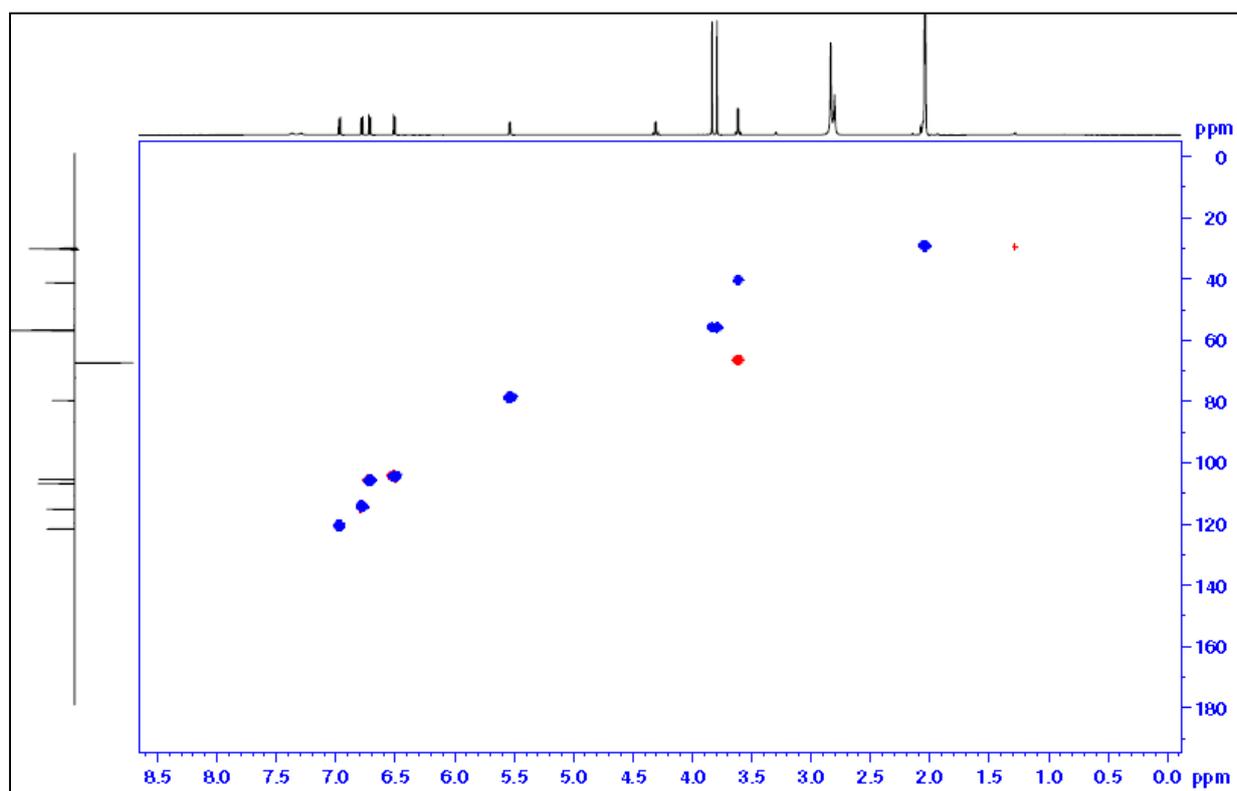


Figure 57. Spectre HSQC du composé IAB8.

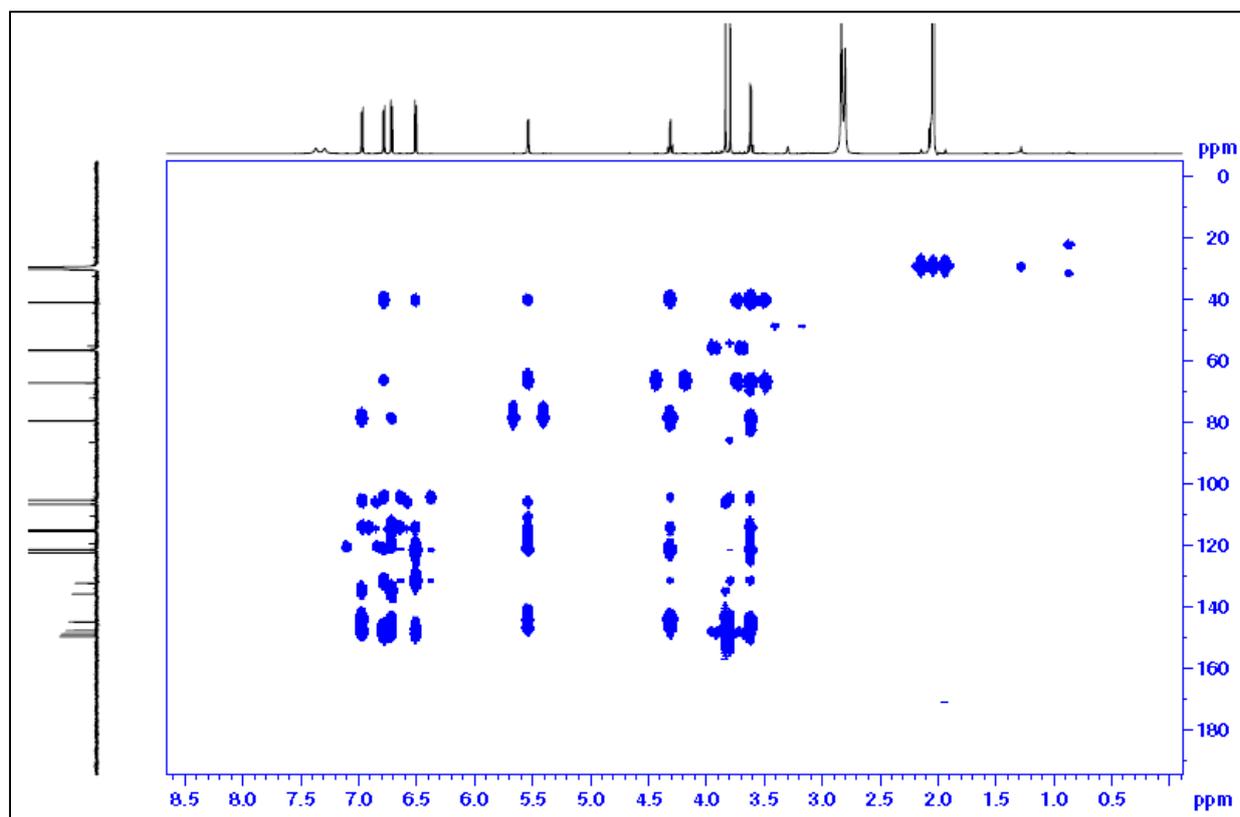


Figure 58. Spectre HMBC du composé IAB8.

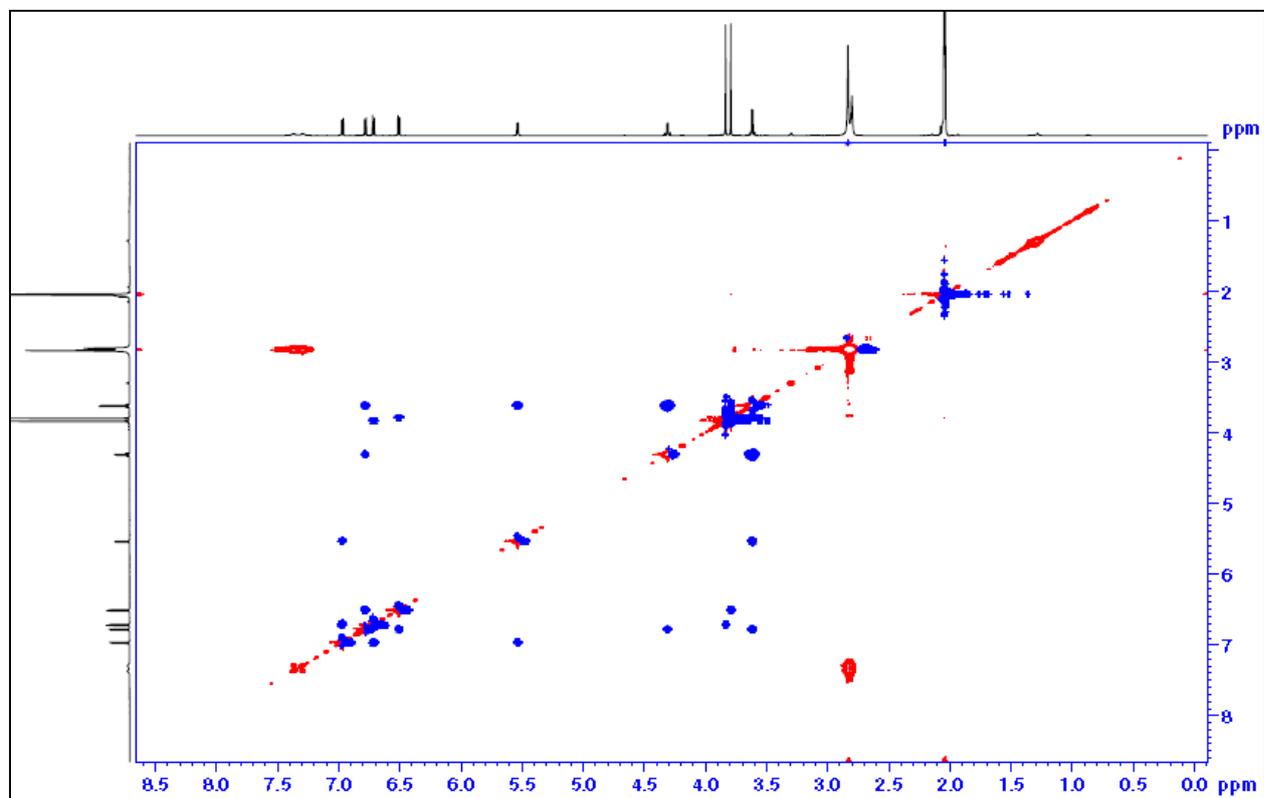


Figure 59. Spectre NOESY ^1H - ^1H du composé IAB8.

Les configurations absolues “*R*” et “*R*” respectives des carbones C-6a et C-11a du composé IAB8 ont été déterminées en comparant le spectre au Dichroïsme Circulaire (CD) (Figure 60) de ce composé à ceux des composés décrits dans la littérature (Antus et al., 2001; Piccinelli et al., 2005; Miyase et al., 1982). En effet, les relations entre les signes des valeurs des bandes 1L_a et 1L_b correspondant aux chromophores chromane et benzofurane des spectres CD des pterocarpanes avec leur configuration absolue sont largement utilisées. Dans le cas du composé IAB8, les bandes 1L_a (200–300) et 1L_b (300–400) de son spectre CD présentent un effet Cotton positif-négatif. Cet effet Cotton positif-négatif combiné avec le signe de son pouvoir rotatoire ($[\alpha]_D -148,2$) étant en accord avec la configuration *cis* (6a*R*/11a*R*) des pterocarpanes déjà décrites, nous avons déduit que le composé IAB8 a une configuration *cis* (6a*R*, 11a*R*).

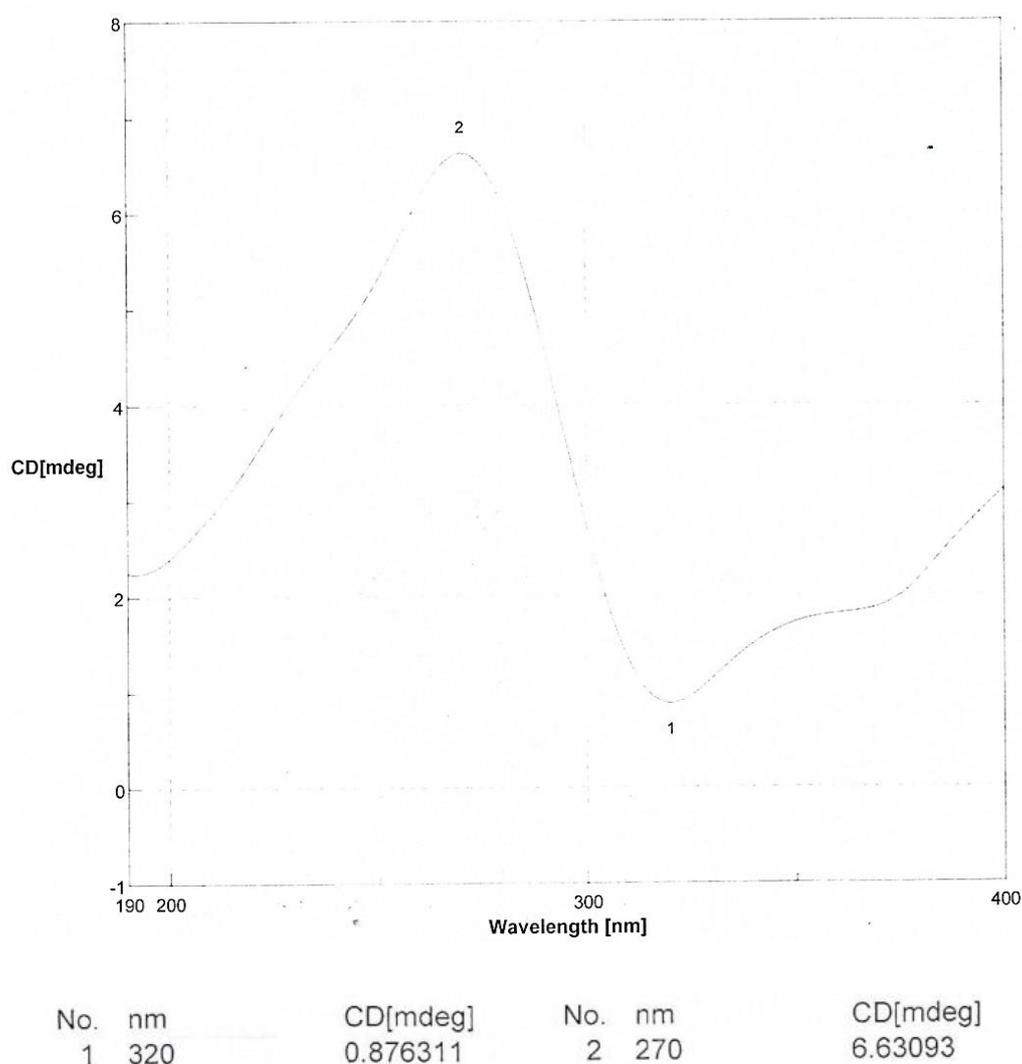
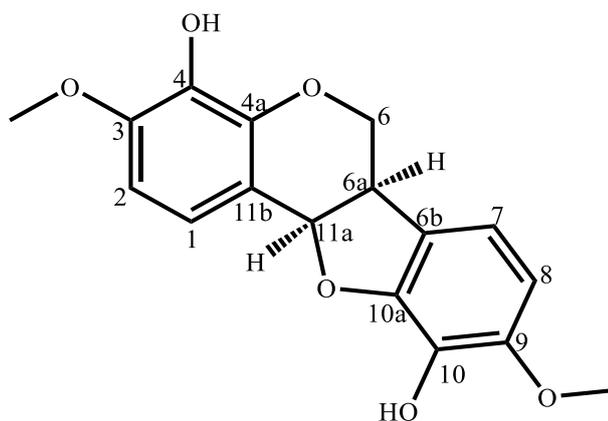


Figure 60. Spectre du Dichroïsme Circulaire à 27 °C du composé IAB8.

L'ensemble des informations ci-dessus a permis d'assigner complètement la structure du composé IAB8 (Tableau 23) qui correspond à (-)-(6a*R*, 11a*R*)-*cis*-4,10-dihydroxy-3,9-

dimethoxy-pterocarpane, connue sous le nom de melilotocarpane D (**52**) (Lotti et al., 2010) et présentant les activités anti-oxydantes (Miyase et al., 1982).



52

Tableau 23. Données de RMN ^1H (400 MHz, CD_3COCD_3) de IAB8 comparées à celles de la melilotocarpane D (400 MHz, CD_3OD) (Lotti et al., 2010).

N° H	IAB8	melilotocarpane D
1	6,97 (1H; <i>d</i> ; 8,4 Hz)	7,07 (1H; <i>d</i> ; 8,4 Hz)
2	6,72 (1H; <i>d</i> ; 8,4 Hz)	6,75 (1H; <i>d</i> ; 8,4 Hz)
6	3,62 (1H; <i>dd</i> ; 5,6 et 10,0 Hz) 4,31 (1H; <i>dd</i> ; 5,6 et 10,0 Hz)	3,61 (1H; <i>m</i>) 4,37 (1H; <i>m</i>)
6a	3,62 (1H; <i>dd</i> ; 5,6 et 10,0 Hz)	3,60 (1H; <i>m</i>)
7	6,78 (1H; <i>d</i> ; 8,0 Hz)	6,55 (1H; <i>d</i> ; 8,4 Hz)
8	6,51 (1H; <i>d</i> ; 8,0 Hz)	6,80 (1H; <i>d</i> ; 8,4 Hz)
11a	5,53 (1H; <i>d</i> ; 5,6 Hz)	5,57 (1H; <i>d</i> ; 6,0 Hz)
3-OCH ₃	3,83 (3H; <i>s</i>)	3,90 (3H; <i>s</i>)
9-OCH ₃	3,80 (3H; <i>s</i>)	3,84 (3H; <i>s</i>)

II.1.2.4.3. Identification du melilotocarpane A (IAB7)

Le composé IAB7 a été obtenu sous forme de poudre blanche dans le mélange $\text{CH}_2\text{Cl}_2/\text{MeOH}$ 9:1. Il est soluble dans le chloroforme et répond positivement au test des phénols et au test de Shinoda. Son spectre de masse EI à haute résolution (Figure 61) montre le pic de l'ion moléculaire à m/z 300,0979 (calc. pour $\text{C}_{17}\text{H}_{16}\text{O}_5$: 300,0998) correspondant à la formule brute $\text{C}_{17}\text{H}_{16}\text{O}_5$ renfermant 10 degrés d'insaturations.

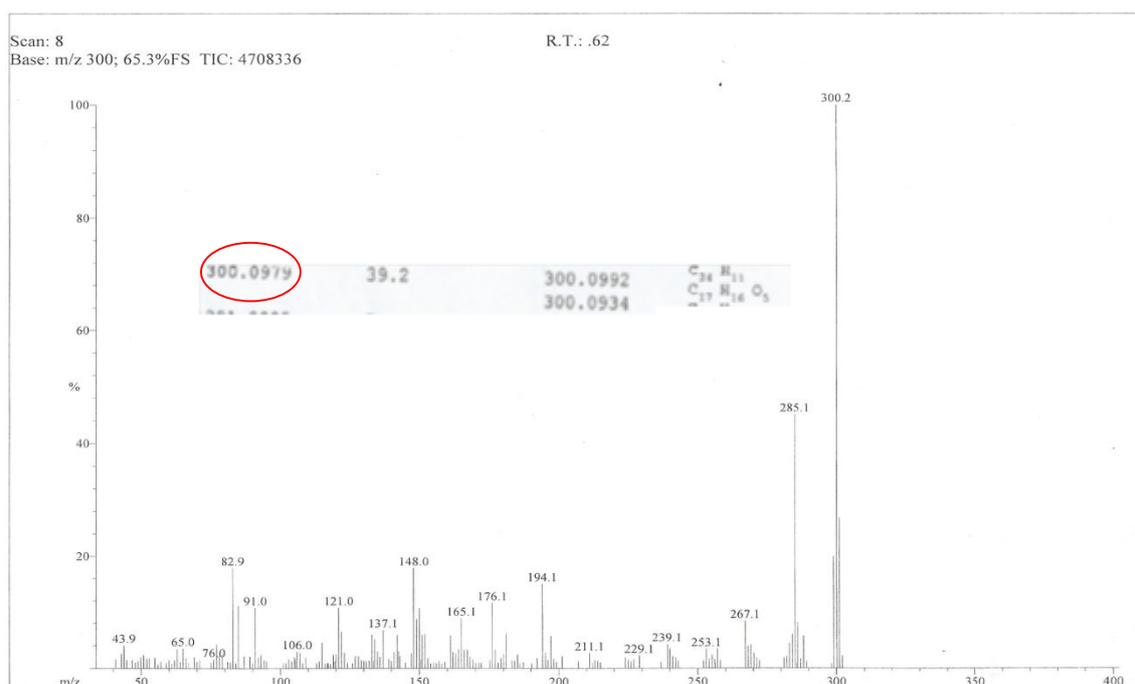


Figure 61. Spectre de masse (EI) à Haute Résolution du composé IAB7.

Sur le spectre de RMN ¹H du composé IAB7 (figure 62) on observe les quatre pics caractéristiques des pterocarpanes à δ_H 4,34 (1H; *dd*; 5,2; 10,8 Hz; H-6ax); 3,66 (1H; *t*; 10,8; 21,6 Hz, H-6eq); 3,57 (1H; *m*; H-6a) et 5,53 (1H, *d*, 7,2 Hz, H-11a) correspondant aux protons de l'hétérocycle B.

Outres ces signaux, on peut également observer sur le spectre de RMN ¹H de IAB7 :

- Les signaux d'un système AB à δ_H 7,05 et 6,66 (1H chacun; *d*; 8,4 Hz; H-1 et H-2) correspondant aux protons d'un cycle aromatique tétrasubstitué et attribué au cycle A de la pterocarpane.
- Les signaux d'un système ABX à δ_H 7,11 (1H; *d*; 8,8 Hz; H-7), 6,43 (1H; *dd*; 8,8 et 2,4 Hz; H-8) et 6,45 (1H; *d*; 2,4 Hz; H-10) correspondants aux protons d'un cycle aromatique trisubstitué et attribué au cycle D.
- Les signaux de deux méthoxyles à δ_H 3,74 (3H; *s*; 9-OCH₃) et 3,89 (3H; *s*; 3-OCH₃); Le signal d'un proton d'hydroxyde à δ_H 5,45 (1H; *s*; 4-OH).

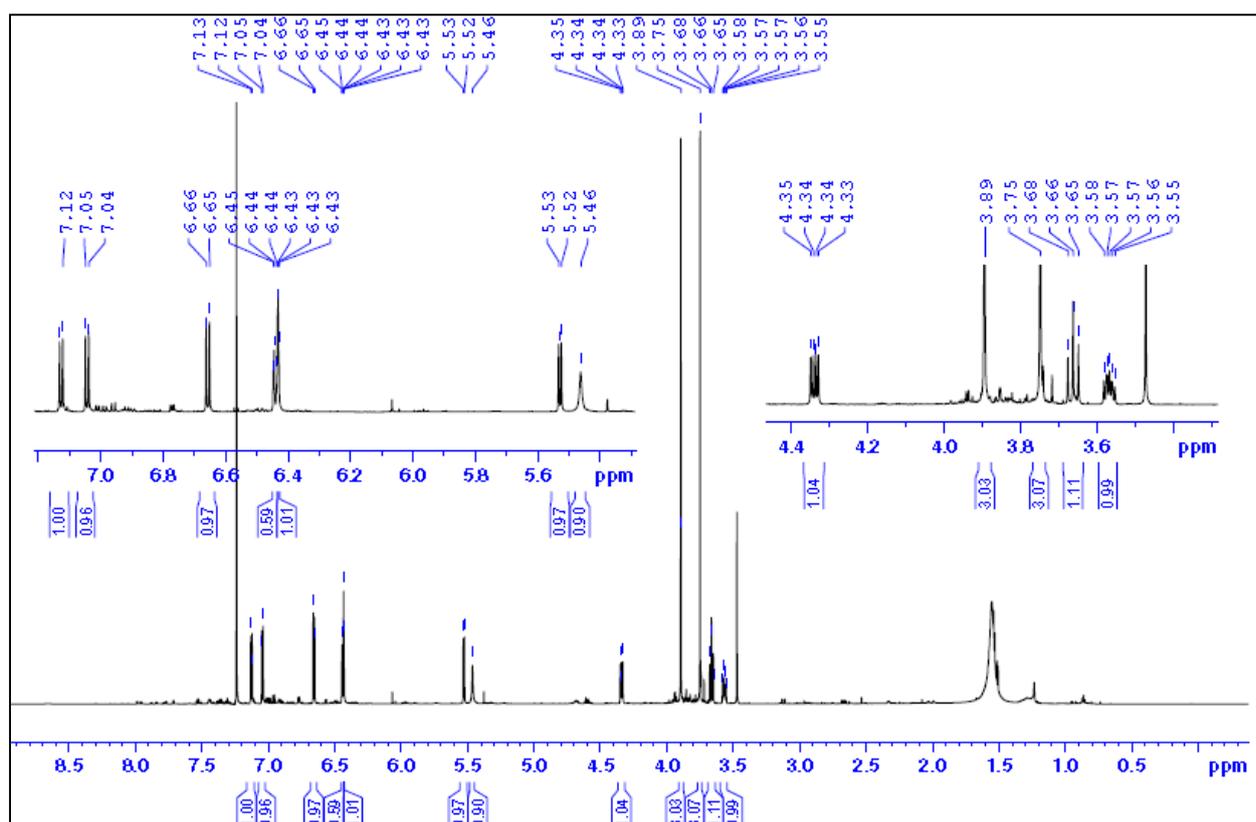


Figure 62. Spectre de RMN ^1H (CDCl_3 , 800 MHz) du composé IAB7.

Les spectres de RMN ^{13}C (Figure 63) et DEPT (Figure 64) du composé IAB7 en conformité avec son spectre de RMN ^1H , nous présentent 17 signaux correspondant à deux méthoxyles (δ_{C} 55,5 et 56,3), un méthylène aliphatique (δ_{C} 67,0), sept méthines (δ_{C} 124,8; 121,1; 106,4; 105,4; 97,0; 78,5 et 39,6) et sept carbones aromatiques quaternaires (δ_{C} 161,2; 160,7; 147,4; 143,3; 134,0; 118,9 et 114,0) (Tableau 24).

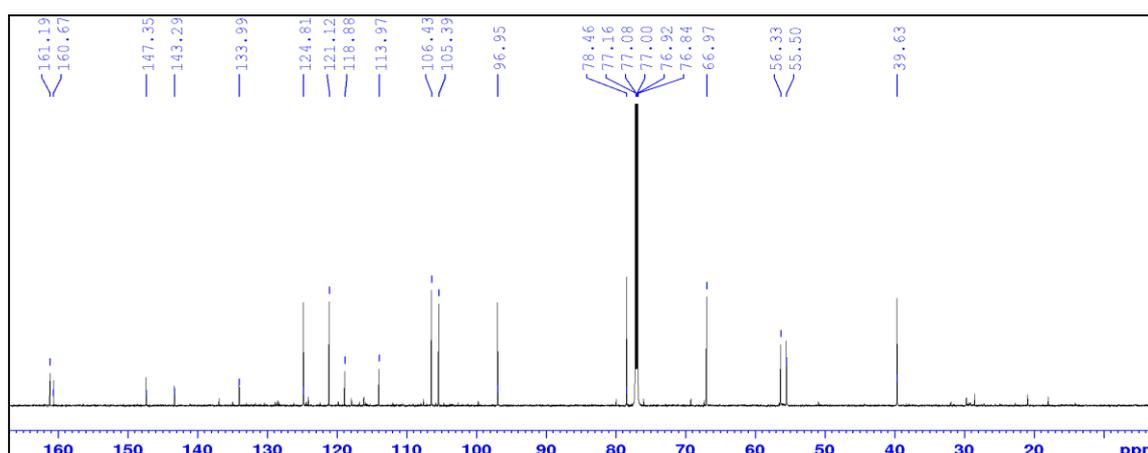


Figure 63. Spectre de RMN ^{13}C (CDCl_3 , 200 MHz) du composé IAB7.

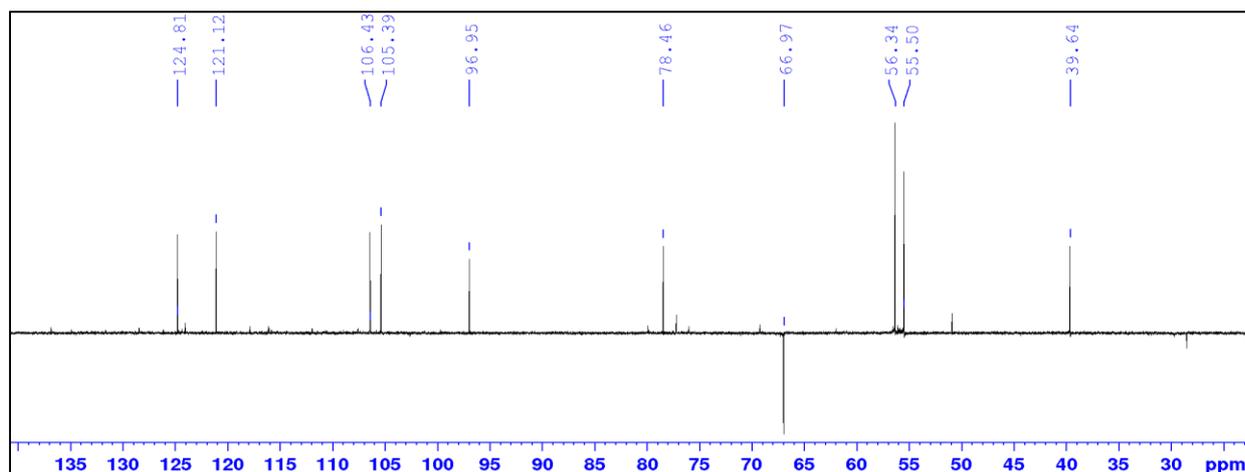


Figure 64. Spectre DEPT-135 (CDCl_3 , 200 MHz) du composé IAB7.

Les déplacements chimiques des carbones et protons du composé IAB7 ont été complètement assignés (Tableau 24) grâce aux analyses complètes des spectres de HMBC, HSQC, COSY et NOESY.

Sur son spectre HMBC (Figure 66), on observe des taches de corrélation dont certaines sont présentées sur le schéma 20 entre :

- Les protons des méthoxyles à δ_{H} 3,89 et 3,74 et les carbones à δ_{C} 147,4 (C-3) et 161,2 (C-9) respectivement, ce qui a permis de les lier à ces carbones;
- Le proton à δ_{H} 3,56 (H-6a) et les carbones à δ_{C} 67,0 (C-6), 118,9 (C-6b) et 160,7 (C-10a);
- Le proton à δ_{H} 5,53 (H-11a) et les carbones à δ_{C} 39,4 (C-6a), 67,0 (C-6), 114,0 (C-11b), 121,1 (C-1), et 143,3 (C-4a);
- Le proton à δ_{H} 7,05 (H-1) et les carbones à δ_{C} 78,5 (C-11a), 143,3 (C-4a) et 147,4 (C-3);
- Le proton à δ_{H} 6,66 (H-2) et les carbones à δ_{C} 114,0 (C-11b), 134,0 (C-4) et 147,4 (C-3);
- Le proton à δ_{H} 7,11 (H-7) et les carbones à δ_{C} 39,6 (C-6a) et 160,7 (C-10a);
- Le proton à δ_{H} 6,43 (H-8) et les carbones à δ_{C} 106,4 (C-10), 118,9 (C-6b) et 161,2 (C-9);
- Le proton à δ_{H} 6,45 (H-10) et les carbones à δ_{C} 97,0 (C-8) et 118,9 (C-6b);
- Le proton à δ_{H} 5,45 (4-OH) et les carbones à δ_{C} 134,0 (C-4), et 143,3 (C-4a) et 147,4 (C-3).

Sur le spectre COSY (Figure 67) l'on observe les corrélations entre les protons à δ_{H} 6,43 (H-8) et 7,11 (H-7) et entre les protons à δ_{H} 7,05 (H-1) et 6,66 (H-2) qui nous ont permis de confirmer la position de ces protons.

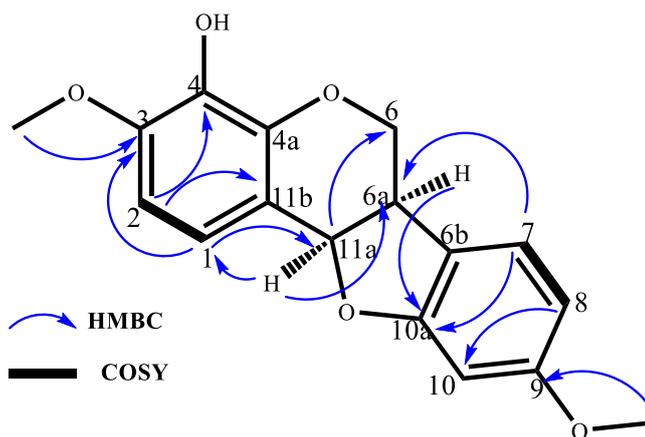


Schéma 18. Quelques corrélations HMBC, NOESY et COSY du composé IAB7.

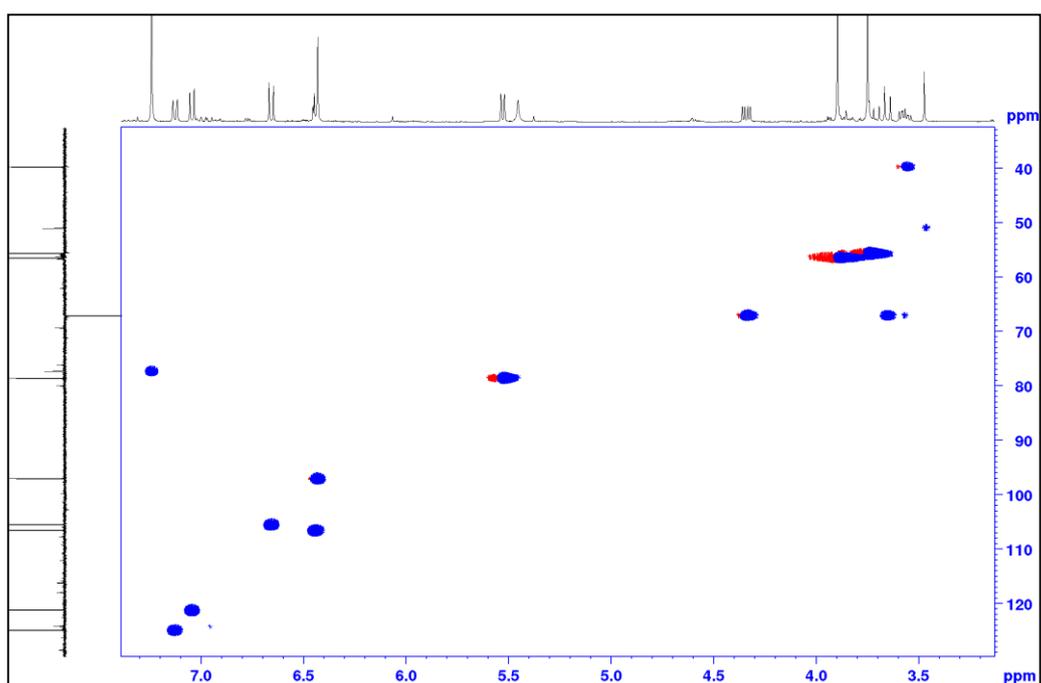


Figure 65 . Spectre HSQC du composé IAB7.

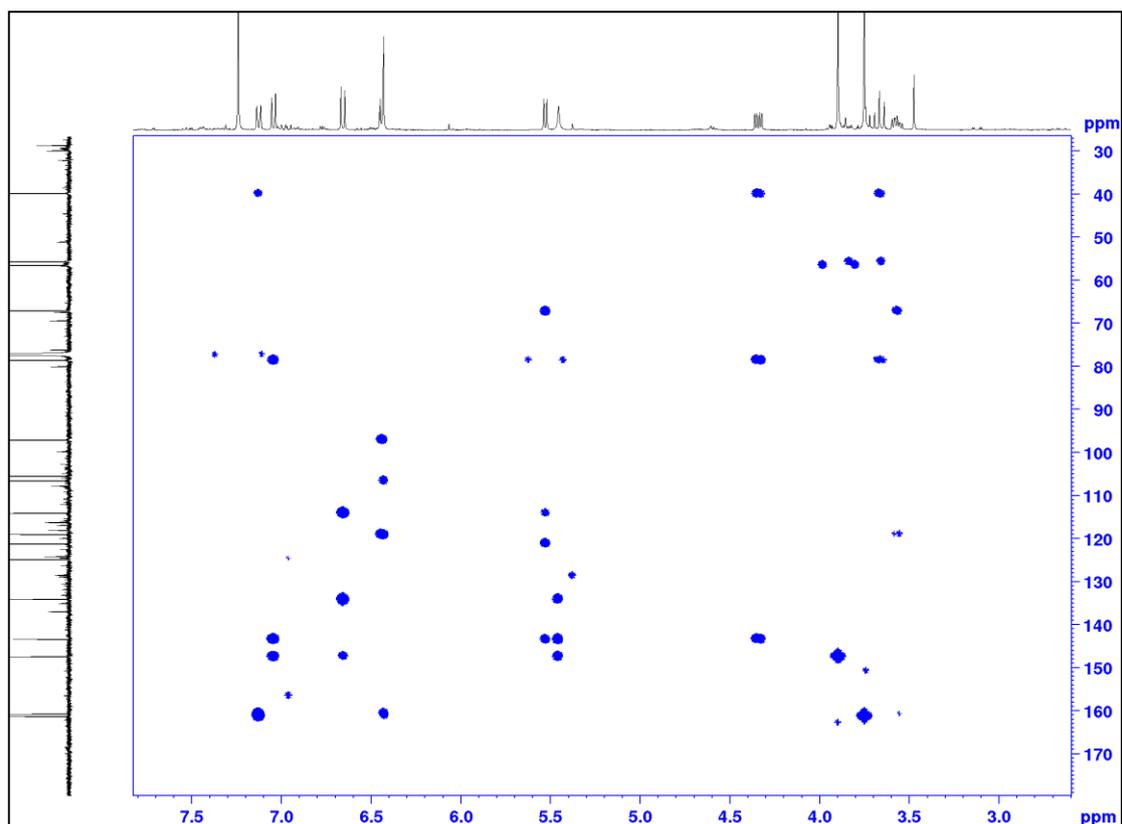


Figure 66. Spectre HMBC du composé IAB7.

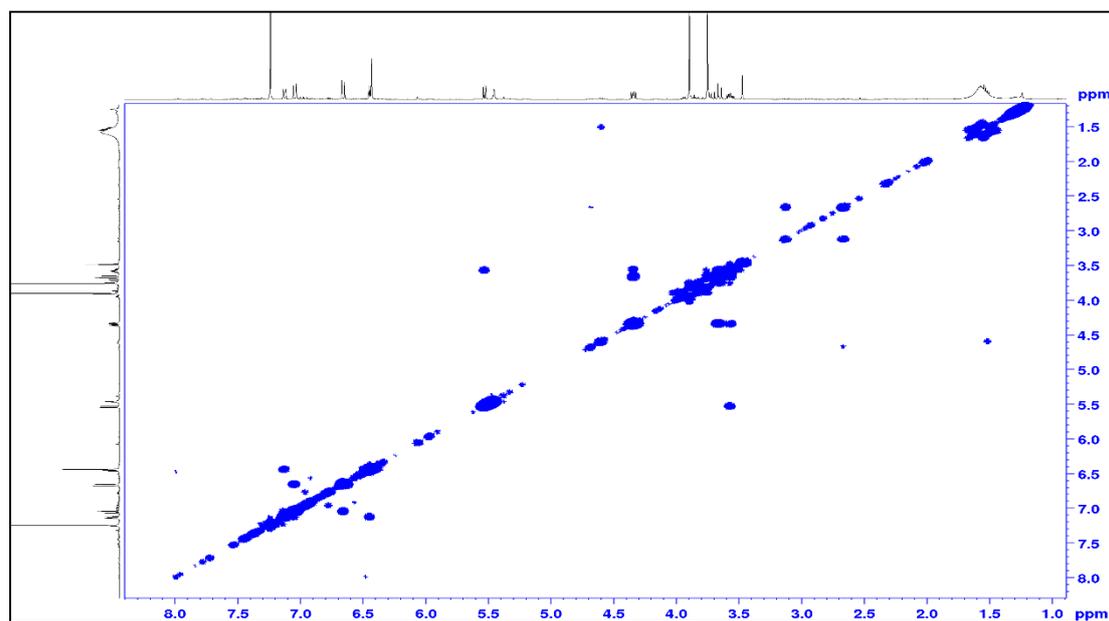
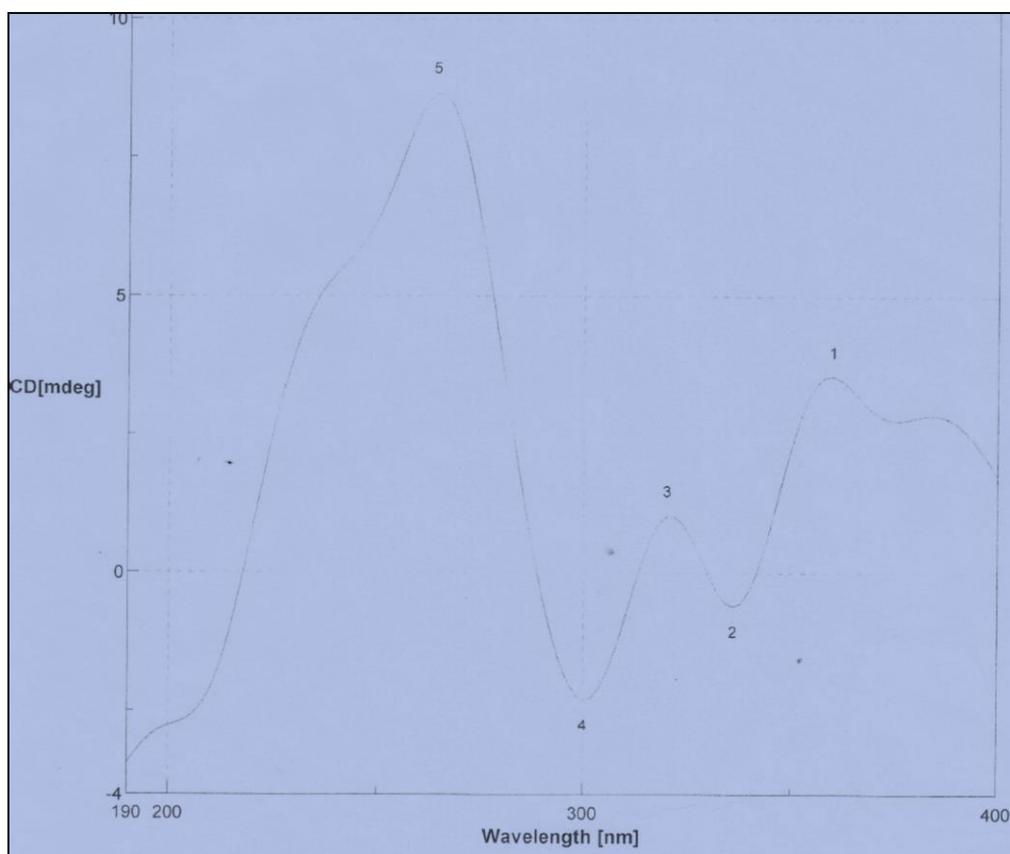


Figure 67. Spectre COSY du composé IAB7.

De la même manière qu’avec le composé IAB8, les configurations absolues “R” et “R” respectives des carbones C-6a et C-11a du composé IAB7 ont été déterminées en comparant le spectre au Dichroïsme Circulaire (CD) (Figure 68) de ce composé à ceux des composés décrits dans la littérature (Antus et al., 2001; Lotti et al., 2010). Pour le composé IAB7, les maximums absolus des bandes 1L_a (200–298) et 1L_b (298–315) de son spectre CD présentent

un effet Cotton positif-négatif. Par conséquent, le signe de son pouvoir rotatoire ($[\alpha]_D -141,4$) et son effet Cotton positif-négatif étant similaire à ceux de la pterocarpane (-)-Melilotocarpane synthétisée par Antus et al., (2001), nous pouvons conclure que IAB7 a une configuration *cis* 6aR/11aR.



No.	nm	CD[mdeg]	No.	nm	CD[mdeg]	No.	nm	CD[mdeg]
1	360	3.55612	2	336	-0.609384	3	320	1.02136
4	300	-2.29584	5	264	8.66755			

Figure 68. Spectre du Dichroïsme Circulaire à 27 °C du composé IAB7.

Toutes ces données de RMN et CD ont permis d'attribuer au composé IAB7 la structure **53** correspondant à la (-)-(6aR,11aR)-*cis*-4-hydroxy-3,9-dimethoxy-pterocarpane connue sous le nom de Melilotocarpane A déjà décrite par Lotti et al., (2010) et présentant les activités anti-oxydantes.

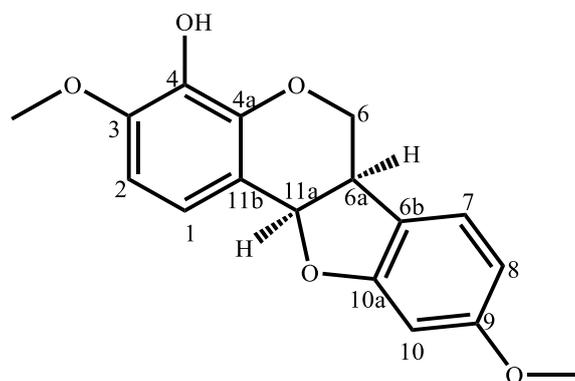


Tableau 24. Données de RMN ^1H (400 MHz, CDCl_3) de IAB7 comparées à celles de la melilotocarpane A (400 MHz, CD_3OD) (Lotti et al., 2010).

N° H	IAB7	Melilotocarpane A
1	7,05 (1H; <i>d</i> ; 8,4 Hz)	7,0 (1H; <i>d</i> ; 8,4 Hz)
2	6,66 (1H; <i>d</i> ; 8,4 HZ)	6,75 (1H; <i>d</i> ; 8,4 HZ)
6	3,66 (1H; <i>t</i> ; 10,8 et 21,6 Hz) 4,34 (1H; <i>dd</i> ; 5,2 et 10,8 Hz)	3,60 (1H; <i>m</i>) 4,36 (1H; <i>m</i>)
6a	3,57 (1H; <i>m</i>)	3,61 (1H; <i>m</i>)
7	7,11 (1H; <i>d</i> ; 8,8 Hz)	7,22 (1H; <i>d</i> ; 8,4 Hz)
8	6,43 (1H; <i>dd</i> ; 2,4 et 8,8 Hz)	6,49 (1H; <i>dd</i> ; 1,8 et 8,2 Hz)
10	6,45 (1H; <i>d</i> ; 2,4 Hz)	6,41 (1H; <i>d</i> ; 1,8 Hz)
11a	5.53 (1H; <i>d</i> ; 7,2 Hz)	5.56 (1H; <i>d</i> ; 8,4 Hz)
5-OH	5,45 (1H; <i>s</i>)	–
3-OCH ₃	3.89 (1H; <i>s</i>)	3.89 (1H; <i>s</i>)
9-OCH ₃	3,74 (1H; <i>s</i>)	3,77 (1H; <i>s</i>)

II.1.2.4.4. Identification de la maackiain (IAB6)

Le composé IAB6 a été obtenu sous forme de poudre blanche dans le mélange $\text{CH}_2\text{Cl}_2/\text{MeOH}$. Il est soluble dans le méthanol et répond positivement au test des phénols et au test de Shinoda caractéristique des flavonoïdes ayant des hydroxyles phénoliques. Son spectre de masse ESI en mode négatif (Figure 69) montre le pic de l'ion pseudomoléculaire à m/z 248 correspondant à l'ion $[\text{M}-2\text{H}_2\text{O}]^-$, ce qui a permis de déduire après analyse des spectres de RMN ^1H et ^{13}C , la formule brute $\text{C}_{16}\text{H}_{12}\text{O}_5$ qui renferme 11 degrés d'insaturations.

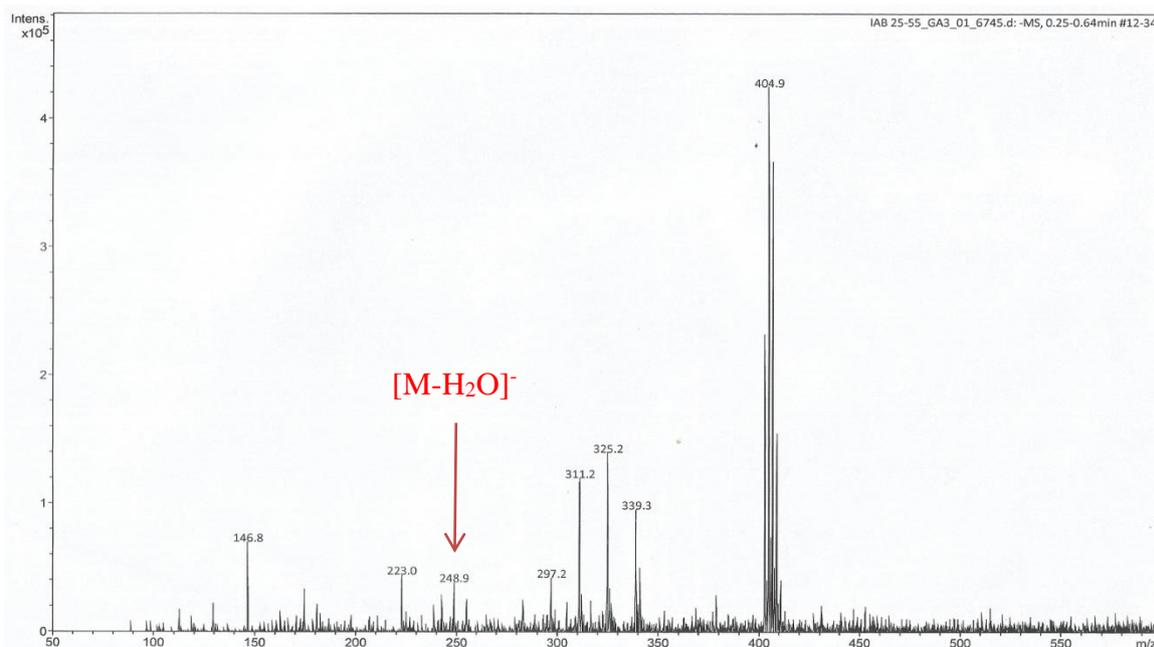


Figure 69. Spectre de masse (ESI) du composé IAB6.

Sur le spectre de RMN ^1H du composé IAB6 (figure 70), nous observons quatre pics caractéristiques des pterocarpanes à δ_{H} 4,21 (1H; *dd*; 4,9, 10,8 Hz; H-6ax); 3,55 (1H; *t*; 10,8 Hz, H-6eq); 3,47 (1H; *m*; H-6a) et 5,44 (1H, *d*, 7,0 Hz, H-11a) attribuable aux protons de l'hétérocycle B.

Outre ces signaux, on peut également observer sur le spectre de RMN ^1H de IAB6 :

- Les signaux d'un système ABX à δ_{H} 7,26 (1H; *d*; 8,4 Hz; H-1), 6,47 (1H; *dd*; 2,4, 8,4 Hz; H-2) et 6,29 (1H; *d*; 2,4 Hz; H-4) correspondant aux protons d'un cycle aromatique trisubstitué et attribué au cycle A de la pterocarpane.
- Deux singulets à δ_{H} 6,80 (1H; *s*; H-7) et 6,37 (1H; *s*; H-10) attribuable aux protons d'un cycle aromatique tétrasubstitué et attribuable au cycle D de la molécule.
- Un doublet de deux protons à δ_{H} 5,87 (2H; *d*; 15,5 Hz; H-12) correspondant aux protons d'un dioxyméthylène.

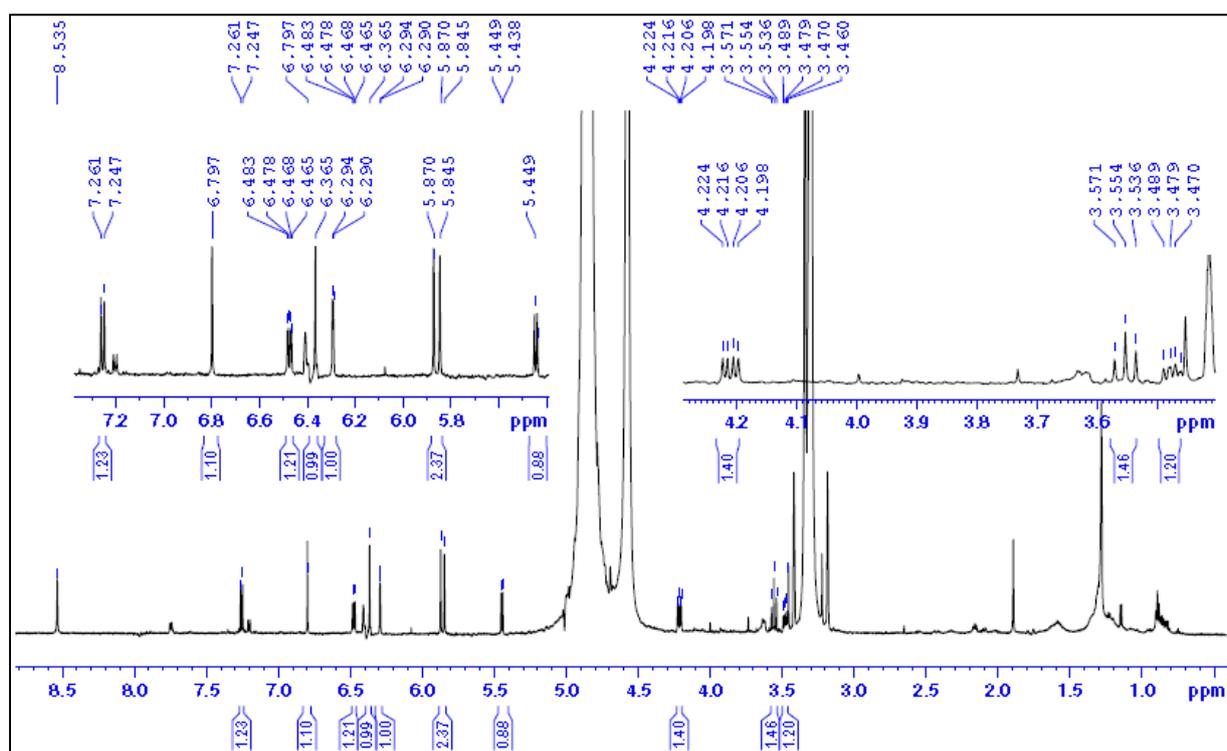


Figure 70. Spectre de RMN ^1H (CD_3OD , 600 MHz) du composé IAB6.

Les spectres de RMN ^{13}C (Figure 71), Dept 135 (Figure 72) et HSQC (Figure 73) du composé IAB6 en combinaison avec son spectre de RMN ^1H , présentent 16 signaux qui peuvent être assignés à un méthylène (δ_{C} 67,5), sept méthines (δ_{C} 133,1, 110,8, 106,0, 104,1, 94,2, 80,1 et 41,6) et sept carbones aromatiques quaternaires (δ_{C} 160,2, 158,0, 155,3, 149,5, 143,1, 114,2 et 112,4) et un dioxyméthylène (δ_{C} 102,5) (Tableau 25).

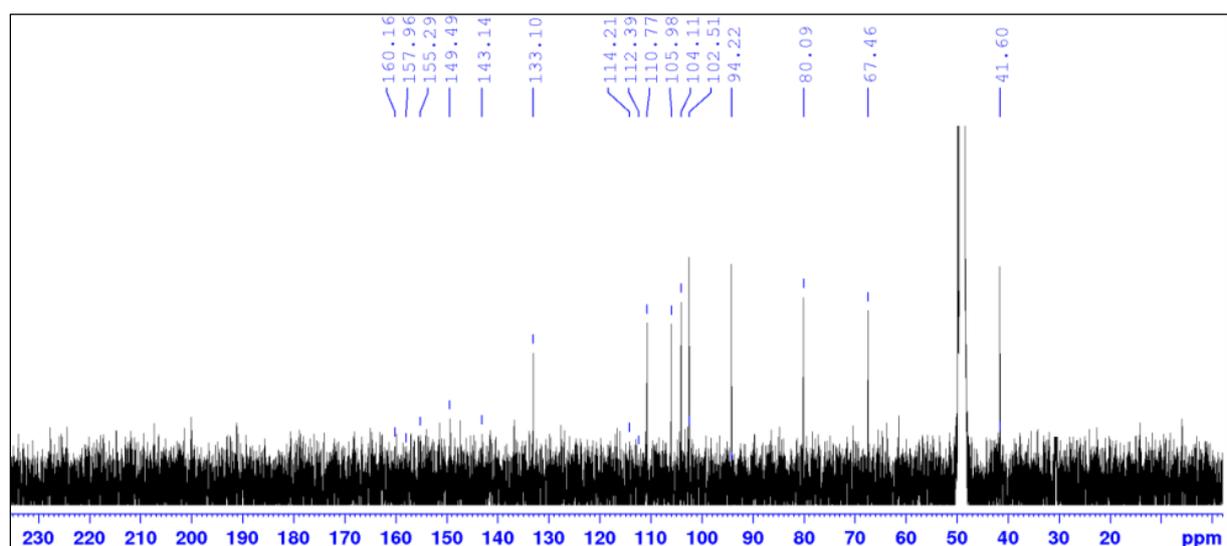


Figure 71. Spectre RMN ^{13}C (CD_3OD , 150 MHz) du composé IAB6.

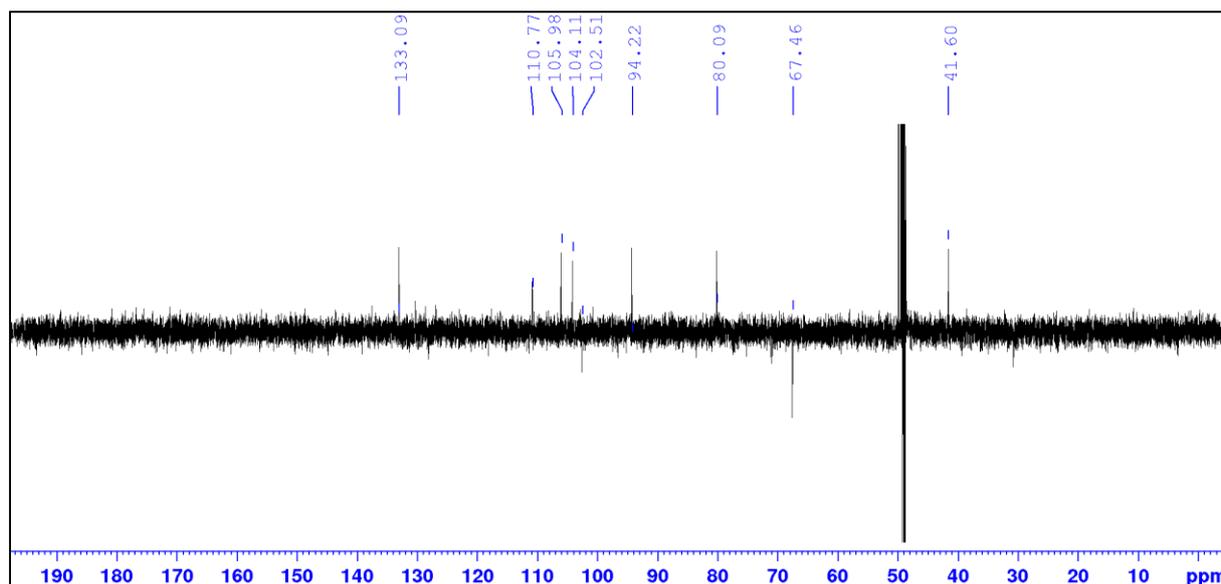


Figure 72. Spectre Dept-135 (CD₃OD, 150 MHz) du composé IAB6.

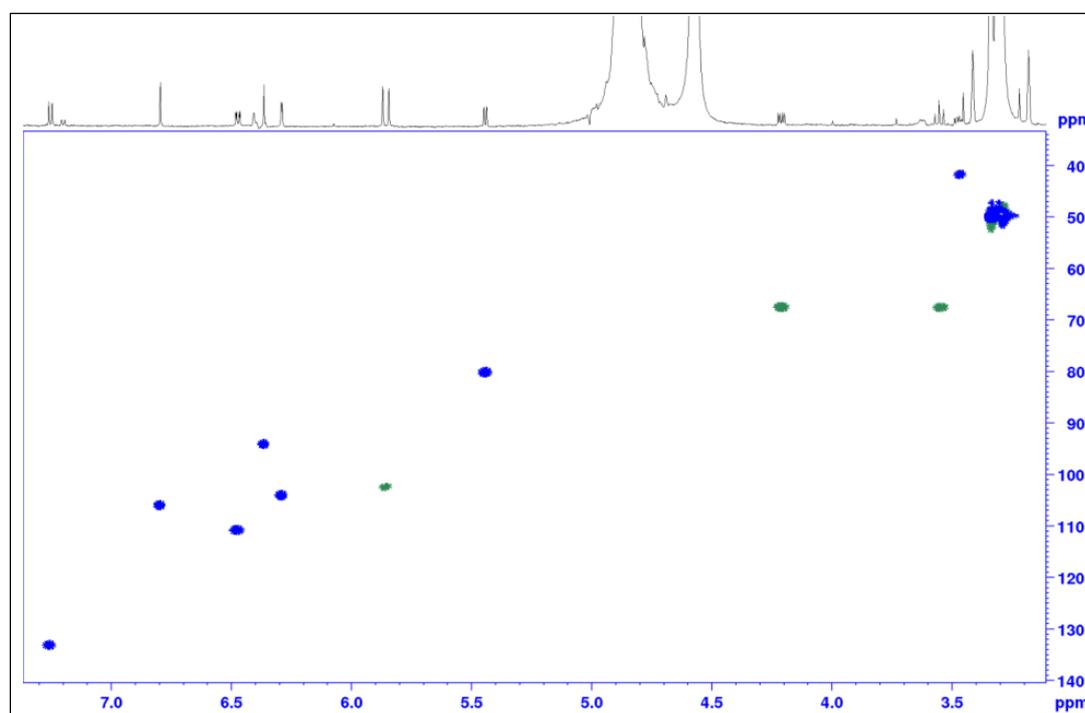


Figure 73. Spectre HSQC du composé IAB6.

Les déplacements chimiques des carbones et protons du composé IAB6 ont été complètement assignés (Tableau 21) grâce aux analyses complètes des spectres de HMBC, HSQC et COSY.

Sur son spectre HMBC (Figure 74), on observe des taches de corrélation dont certaines sont présentées sur le schéma 19 entre :

- Le proton à δ_H 3,55 (H-6eq) et les carbones à δ_C 41,6 (C-6a), 80,1 (C-11a) et 158,0 (C-4a);

- Le proton à δ_H 5,44 (H-11a) et les carbones à δ_C 67,5 (C-6), 133,1 (C-1) et 158,0 (C-4a);
- Le proton à δ_H 7,26 (H-1) et les carbones à δ_C 80,1 (C-11a), 158,0 (C-4a) et 160,2 (C-3);
- Le proton à δ_H 6,36 (H-10) et le carbone à δ_C 149,5 (C-9);
- Le proton à δ_H 6,80 (H-7) et les carbones à δ_C 41,6 (C-6a), 143,1 (C-8), 149,5 (C-9) et 155,3 (C-10a);
- Les protons à δ_H 5,87 (H-12) et les carbones à δ_C 143,1 (C-8) et 149,5 (C-9).

Sur le spectre COSY (Figure 75), on observe des corrélations entre le proton à δ_H 7,26 (H-1) et celui à 6,47 (H-2), entre le proton à δ_H 3,47 (H-6a) et ceux à 3,55 (H-6eq), 4,21 (H-6ax) et 5,47 (H-11a).

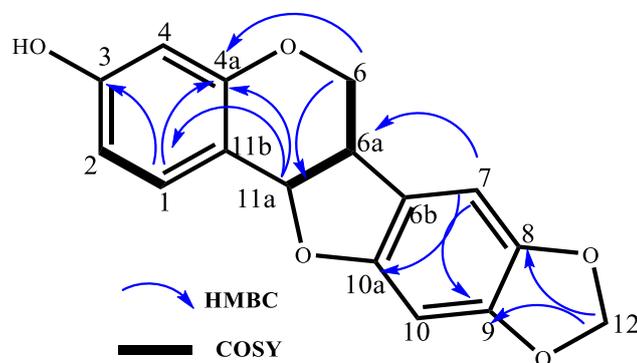


Schéma 19. Quelques corrélations HMBC et COSY du composé IAB6.

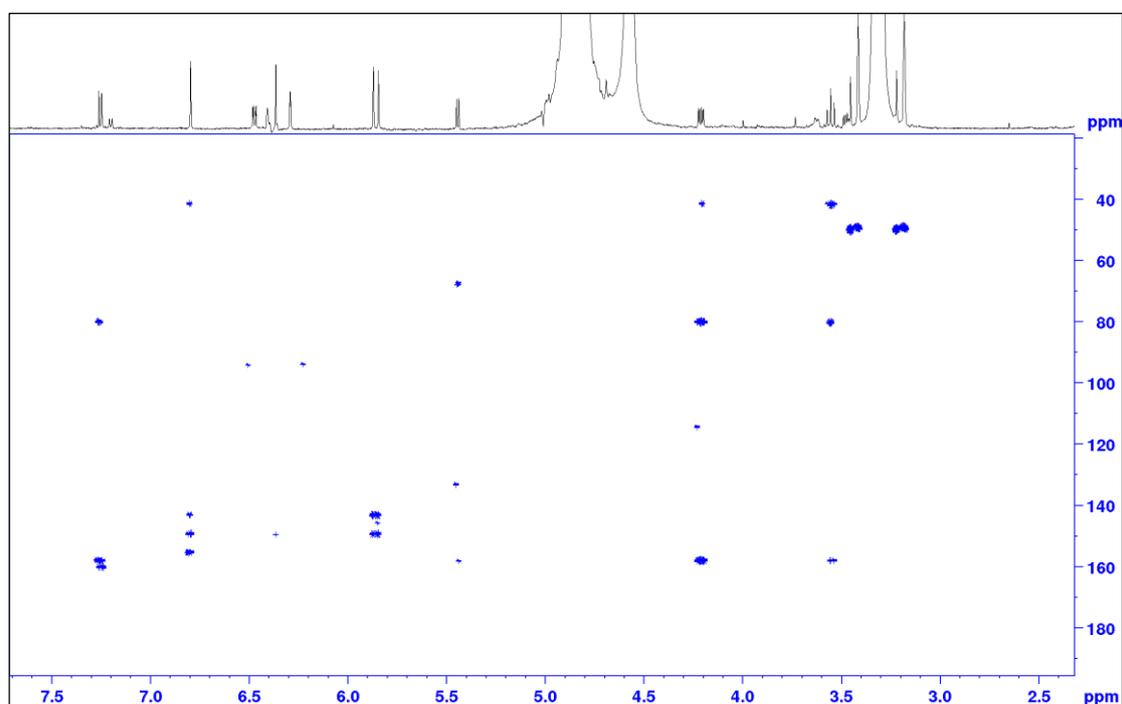


Figure 74. Spectre HMBC du composé IAB6.

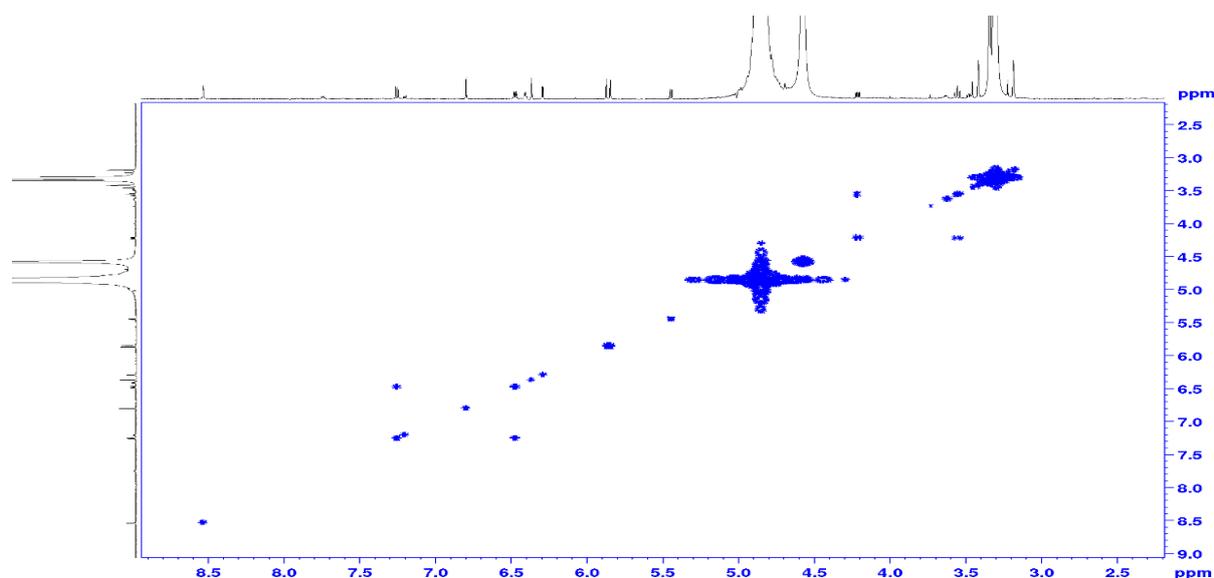
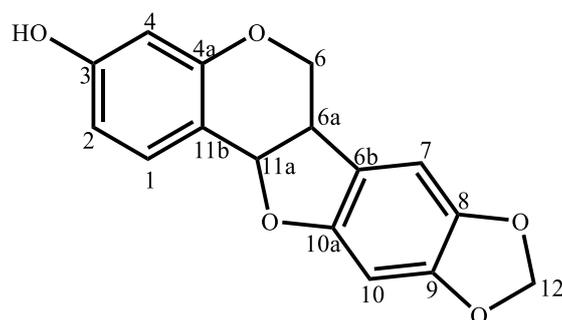


Figure 75. Spectre COSY du composé IAB6.

Toutes les données de RMN précédentes ont permis d'attribuer au composé IAB6 la structure **54** correspondant à la (-)-maackiain déjà décrite par [Rahman et al., \(2012\)](#) et connue pour ses propriétés anticancers.



54

Tableau 25. Données de RMN ^1H (600 MHz, CD_3OD) de IAB6 comparées à celles de la maackiain (300 MHz, CD_3Cl) ([Rahman et al., 2012](#)).

N° H	IAB6	Maackiain
1	7,26 (1H; <i>d</i> ; 8,4 Hz)	7,35 (1H; <i>d</i> ; 8,3 Hz)
2	6,47 (1H; <i>dd</i> ; 2,4; 8,4 Hz)	6,54 (1H; <i>dd</i> ; 2,4; 8,3 Hz)
4	6,29 (1H; <i>d</i> ; 2,4 Hz)	6,38 (1H; <i>d</i> ; 2,4 Hz)
6	3,55 (1H; <i>t</i> ; 10,8 Hz) 4,21 (1H; <i>dd</i> ; 4,9; 10,8 Hz)	3,65 (1H; <i>t</i> ; 11,0 Hz) 4,22 (1H; <i>dd</i> ; 4,7; 11,0 Hz)
6a	3,47 (1H; <i>m</i>)	3,48 (1H; <i>ddd</i> ; 4,7; 6,8; 11,0 Hz)
7	6,80 (1H; <i>s</i>)	6,69 (1H; <i>s</i>)
10	6,37 (1H; <i>s</i>)	6,41 (1H; <i>s</i>)
11a	5,44 (1H; <i>d</i> ; 7,0 Hz)	5,44 (1H; <i>d</i> ; 6,8 Hz)
12	5,87 (2H; <i>d</i> ; 15,5 Hz)	5,87 (2H; <i>d</i> ; 15,3 Hz)

II.1.2.4.5. Identification de la 7,3'-dihydroxy-6,4'-diméthoxyflavone (ISp8)

Le composé ISp8 se présente sous forme de poudre blanche dans le chlorure de méthylène. Il est soluble dans le méthanol et répond positivement au test des phénols et au test de Shinoda. Sa formule brute $C_{17}H_{14}O_6$ a été déduite de ses spectres de RMN et de son spectre de masse ESI en mode positif (Figure 76) qui montre le pic de l'ion pseudomoléculaire $[M+H]^+$ à m/z 315.

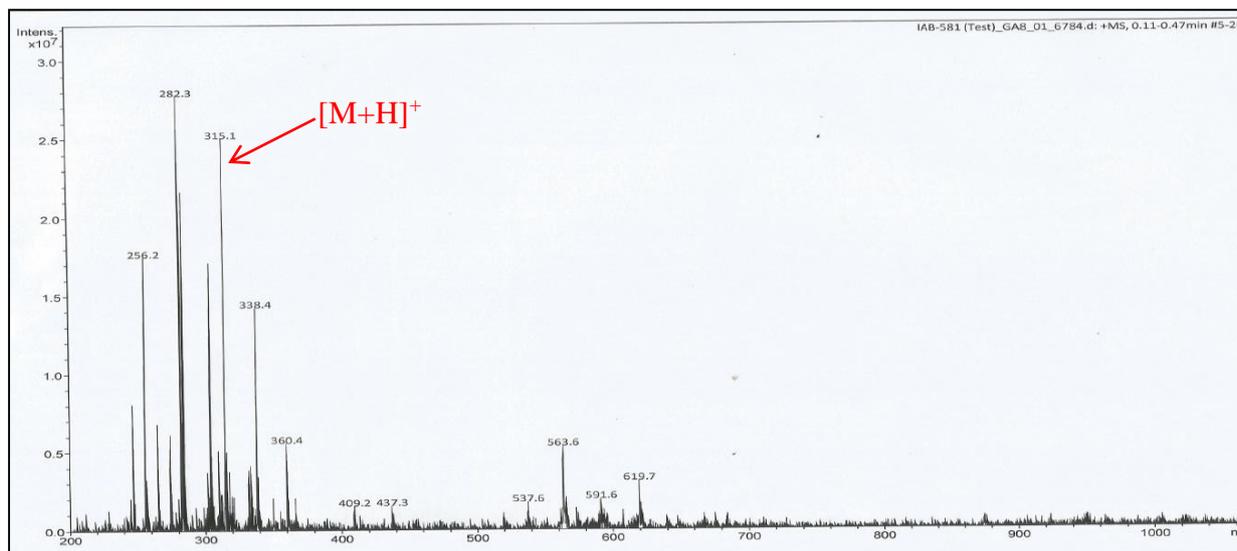


Figure 76. Spectre de Masse (ESI) en mode positif du composé ISp8.

Le spectre de RMN 1H (Figure 77) du composé ISp8 présente:

- un singulet d'un proton à δ_H 6,57 ppm, caractéristique du proton H-3 des flavones (Abegaz et al., 1998)
- Deux singulets d'un proton chacun à δ_H 6,95 (H-5) et 6,40 (H-8), correspondant aux protons d'un cycle aromatique tétrasubstitué;
- Les signaux d'un système ABX à δ_H 7,35 (1H; *dd*; 8,3; 1,9 Hz; H-6'), 6,85 (1H; *d*; 8,3 Hz; H-5') et 7,54 (1H; *d*; 1,9 Hz; H-2') correspondant aux protons d'un cycle benzénique trisubstitué;
- Deux singulets de trois protons chacun à δ_H 3,82 et 3,93 correspondant aux protons de deux groupements méthoxyles;

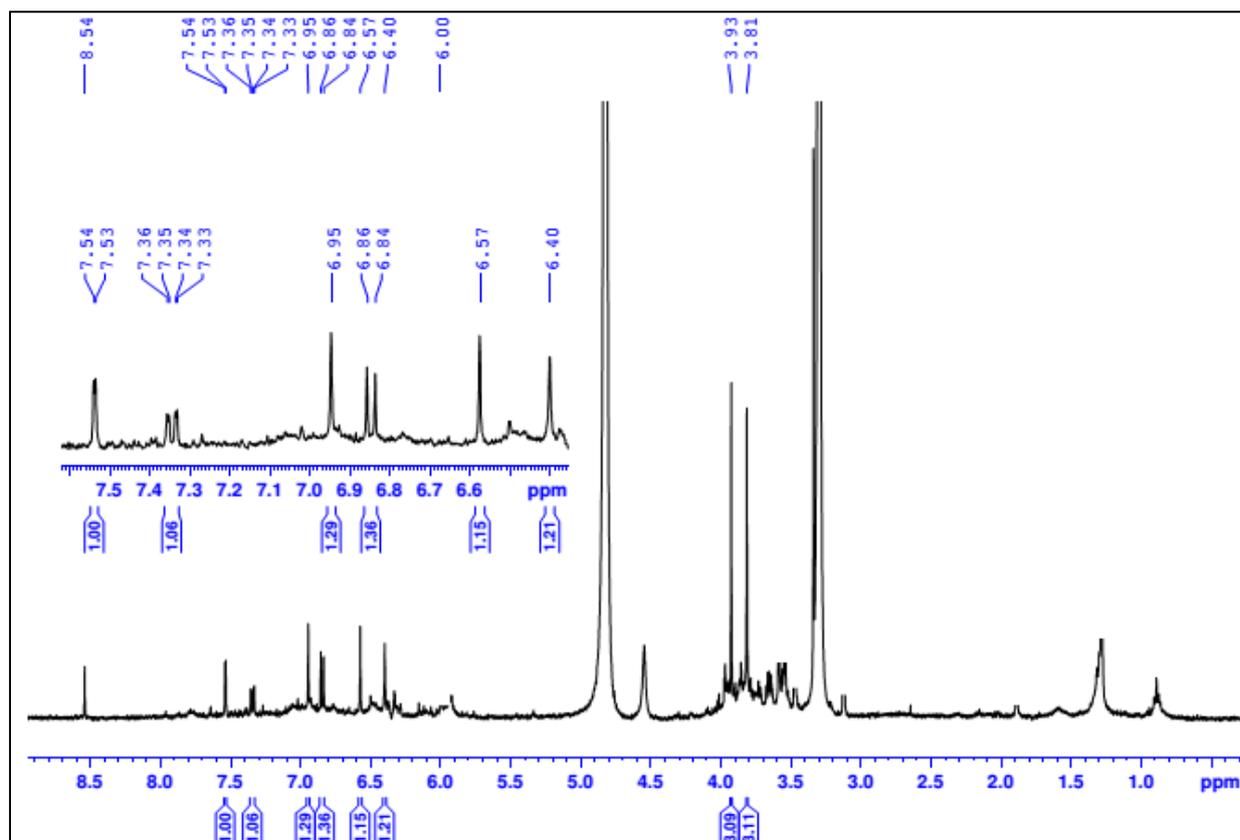


Figure 77. Spectre de RMN ^1H (CD_3OD , 400 MHz) du composé ISp8.

Les positions des différents protons et carbones (Tableau 26) du composé ISp8 ont été confirmées grâce aux spectres HSQC et HMBC.

Sur le spectre HMBC, on observe des corrélations entre:

- Le proton à δ_{H} 7,54 (H-2') et les carbones à δ_{C} 111,6 (C-3), 126,6 (C-6') et 149,6 (C-4');
- Le proton à δ_{H} 7,35 (H-6') et les carbones à δ_{C} 114,8 (C-2') et 149,6 (C-4');
- Le proton à δ_{H} 6,85 (H-5') et les carbones à δ_{C} 126,3 (C-1') et 149,2 (C-3');
- Le proton à δ_{H} 6,57 (H-3) et les carbones à δ_{C} 126,3 (C-1') et 182,2 (C-4);
- Le proton à δ_{H} 6,95 (H-5) et les carbones à δ_{C} 150,0 (C-7), 167,7 (C-8a) et 182,2 (C-4);
- Le proton à δ_{H} 6,40 (H-8) et les carbones à δ_{C} 108,0 (C-4a), 150,5 (C-6) et 167,7 (C-8a);
- Les protons à δ_{H} 3,92 et le carbone à δ_{C} 149,6 (C-4');
- Les protons à δ_{H} 3,82 et le carbone à δ_{C} 150,5 (C-6).

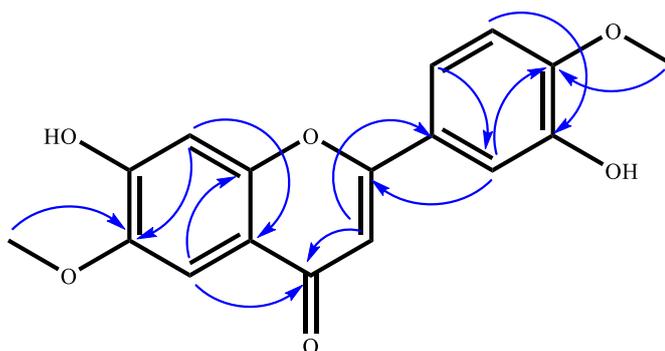


Schéma 20. Quelques corrélations HMBC du composé ISp8.

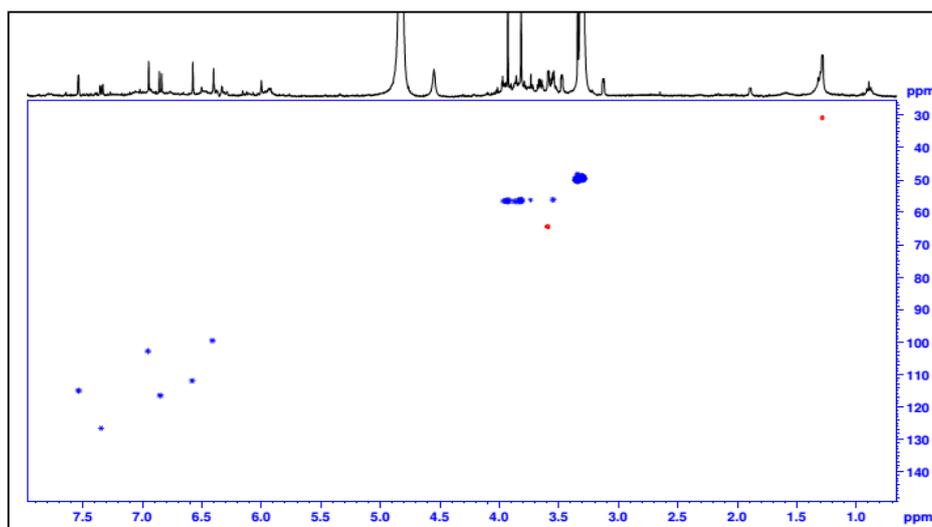


Figure 78. Spectre HSQC de ISp8.

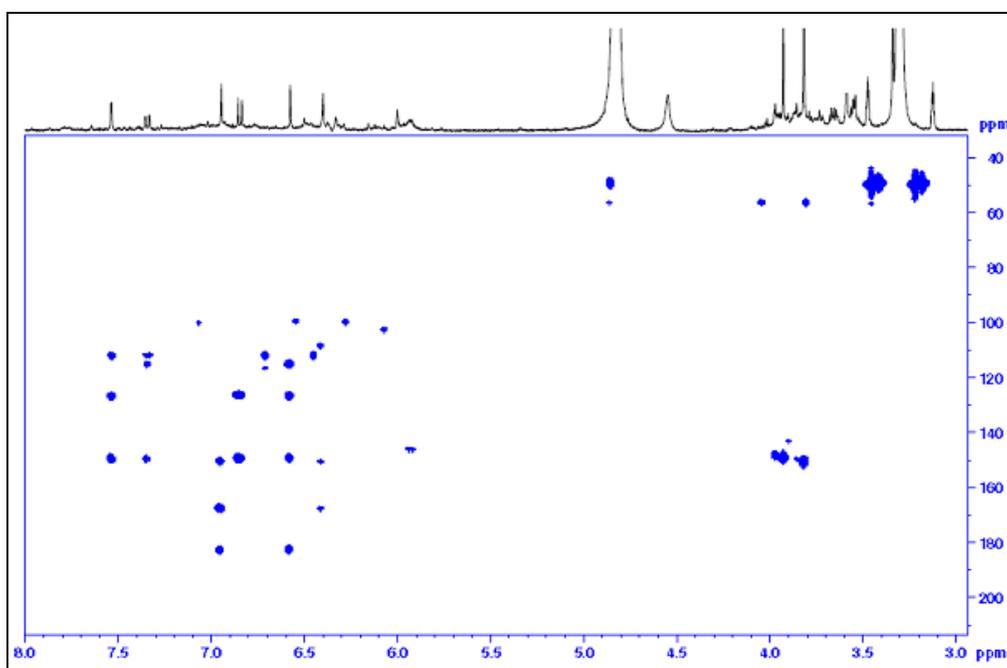
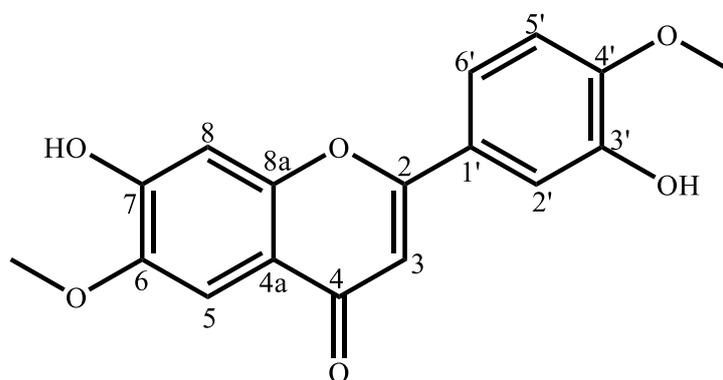


Figure 79. Spectre HMBC de ISp8.

L'ensemble de ces données spectrales comparées avec celles décrites dans la littérature, a permis d'attribuer à ISp8 la structure (55) qui est celle de la 7,3'-dihydroxy-6,4'-diméthoxyflavone, présentant une activité antifongique (Yadava et Belwanshi, 2009).



55

Tableau 26. Données de RMN ^1H (400 MHz, CD_3OD) de ISp8 comparées à celles de la 7,3'-dihydroxy-6,4'-diméthoxyflavone (300 MHz, CDCl_3) (Yadava et Belwanshi, 2009).

N° H	ISp8	7,3'-dihydroxy-6,4'-diméthoxyflavone
3	6,57 (1H; s)	6,60 (1H; s)
5	6,95 (1H; s)	7,12 (1H; s)
8	6,40 (1H; s)	6,87 (1H; s)
2'	7,54 (1H; d; 1,9 Hz)	7,45 (1H; d; 2,1 Hz)
5'	6,85 (1H; d; 8,3 Hz)	7,02 (1H; d; 8,2 Hz)
6'	7,35 (1H; dd; 1,9 et 8,3 Hz)	7,62 (1H; dd; 2,1 et 8,2 Hz)
6-OCH ₃	3,82 (3H; s)	3,86 (3H; s)
4'-OCH ₃	3,92 (3H; s)	3,92 (3H; s)

II.1.2.5. Le polyol: Identification du bornesitol (IAB12)

Le composé **IAB12** se présente sous forme de poudre blanche et a été obtenu dans le mélange AcOEt /MeOH (37:3). Sa formule brute $\text{C}_7\text{H}_{14}\text{O}_6$ a été déduite de l'analyse de ses spectres de RMN couplé avec celle de son spectre de masse ESI en mode positif (Figure 80) qui montre le pic de l'ion pseudomoléculaire $[\text{M}+\text{H}]^+$ à m/z 195; ce qui correspond à un degré d'insaturation.

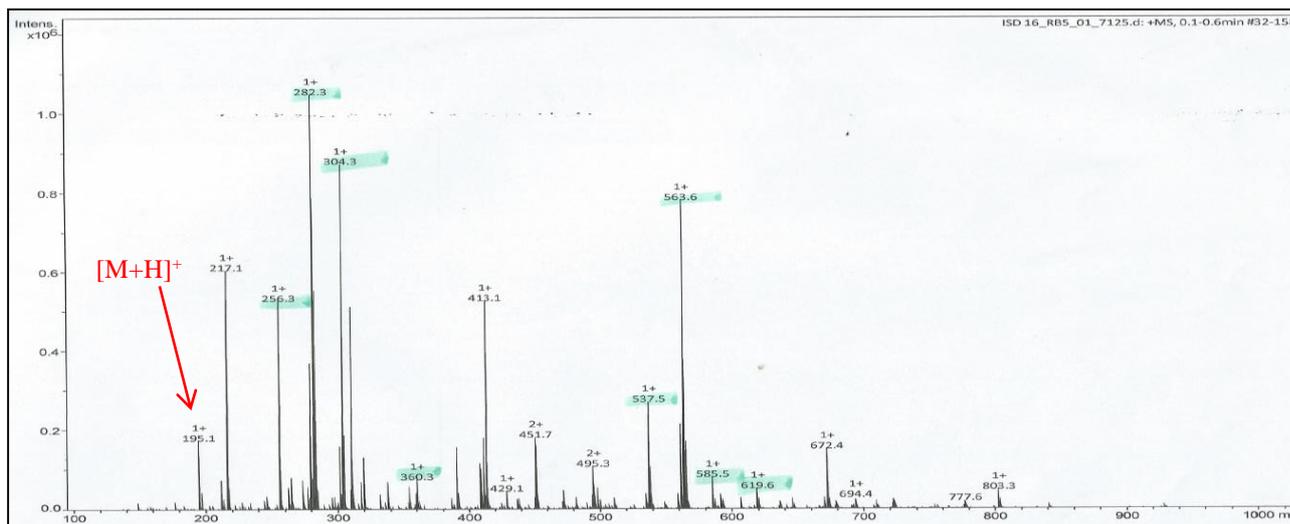


Figure 80. Spectre de masse (ESI) en mode positif du composé IAB12.

Les spectres de RMN ^1H (Figure 81), HSQC (Figure 82) et RMN ^{13}C (Figure 83) du composé IAB12 indiquent :

- Un singulet de trois protons à $\delta_{\text{H}}/\delta_{\text{C}}$ (3,43/59,6) attribuable à un méthoxy;
- Deux triplets d'un proton chacun à $\delta_{\text{H}}/\delta_{\text{C}}$ 2,99 (9,3 Hz)/83,9 et $\delta_{\text{H}}/\delta_{\text{C}}$ 3,34 (9,3 Hz)/72,6 attribuables aux protons des hydroxyméthines;
- Un singulet large d'un proton à $\delta_{\text{H}}/\delta_{\text{C}}$ 3,40/70,9 assignable à un hydroxyméthine;
- Un multiplet d'un proton à $\delta_{\text{H}}/\delta_{\text{C}}$ 3,50/70,1 assignable à un hydroxyméthine;
- Un singulet large de deux protons à $\delta_{\text{H}}/\delta_{\text{C}}$ 3,61/72,4 et 72,0 attribuable à deux protons de deux hydroxyméthines;
- Cinq doublets d'un proton chacun à δ_{H} 4,31 (5,8 Hz), 4,43 (6,5 Hz), 4,48 (4,8 Hz), 4,60 (2,4 Hz) et 4,69 (2,4 Hz) correspondant aux protons des hydroxydes libres.

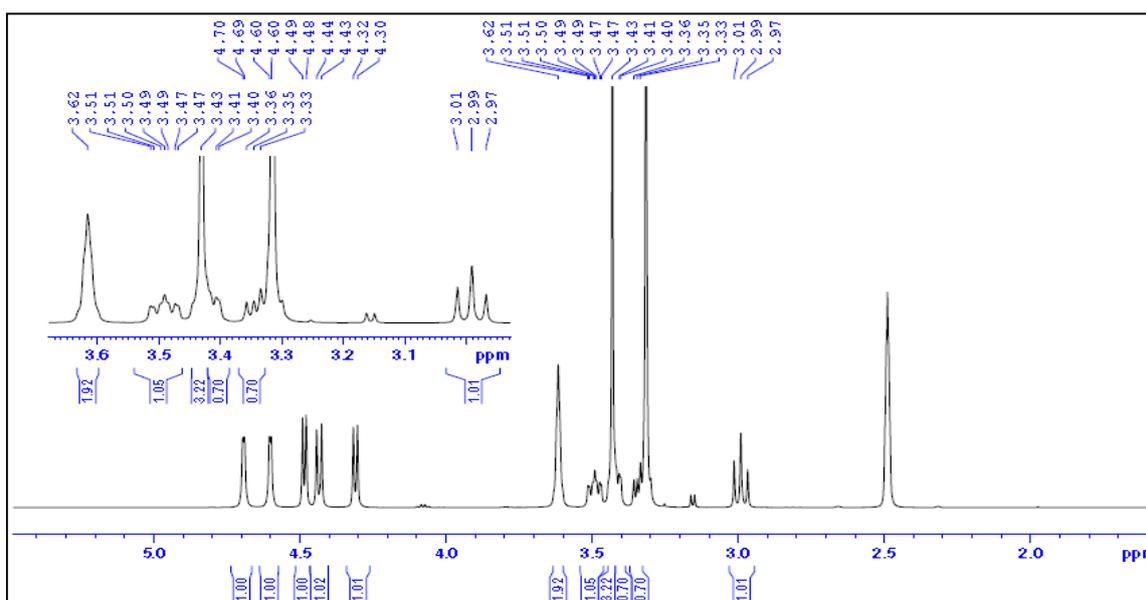


Figure 81. Spectre de RMN ^1H (400 MHz, DMSO- d_6) du composé IAB12.

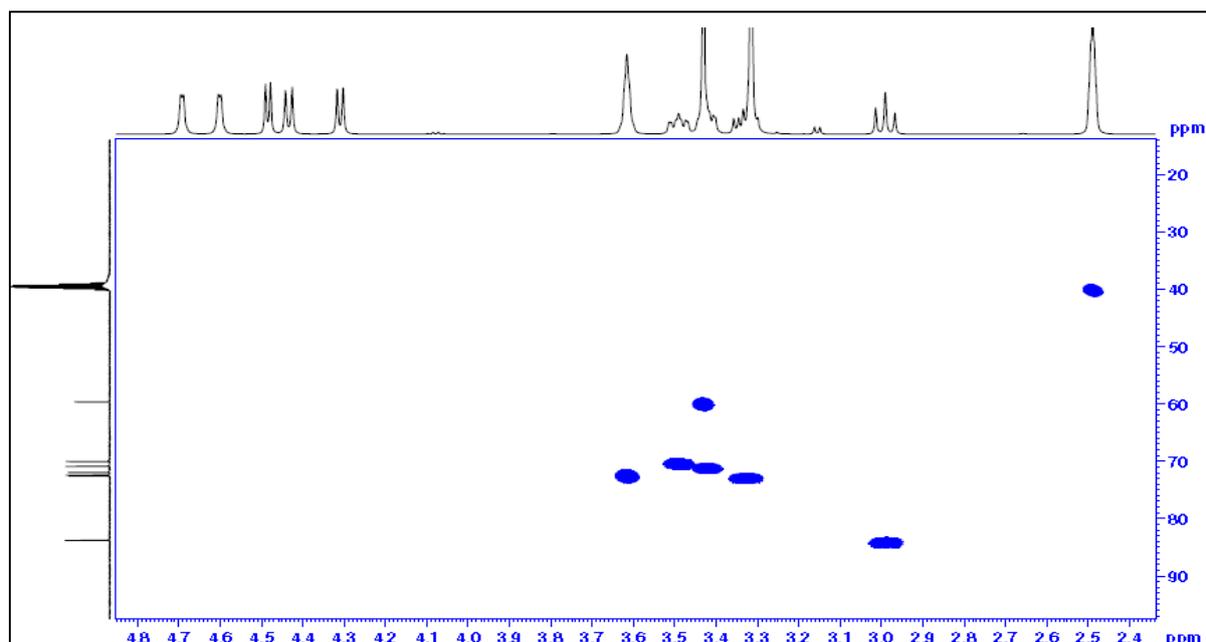


Figure 82. Spectre HSQC du composé IAB12.

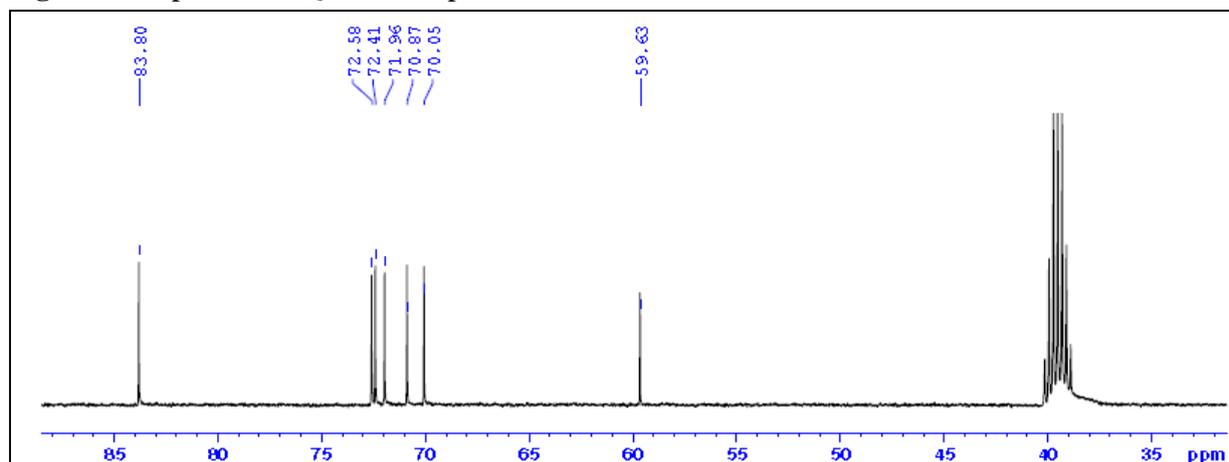


Figure 83. Spectre de RMN ^{13}C (100 MHz, DMSO- d_6) du composé IAB12.

Le spectre HMBC du composé IAB12 (Figure 84) montre d'importantes corrélations, dont les plus importantes sont représentées sur le schéma 21, entre:

- Le proton à δ_{H} 3,43 (OCH₃) et le carbone à δ_{C} 83,9 (C-1);
- Le proton à δ_{H} 2,99 (H-1) et les carbones à δ_{C} 59,6 (OCH₃), 70,9 (C-5) et 72,4 (C-2);
- Le proton à δ_{H} 3,34 (H-3) et les carbones à δ_{C} 70,9 (C-5) et 83,9 (C-1);
- Le proton à δ_{H} 3,40 (H-5) et le carbone à δ_{C} 72,6 (C-3);
- Le proton à δ_{H} 3,50 (H-4) et le carbone à δ_{C} 83,9 (C-1);
- Les protons δ_{H} 3,61 (H-2 et H-6) et les carbones à δ_{C} 70,9 (C-5) et 83,9 (C-1);
- Le proton à δ_{H} 4,31 et le carbone δ_{C} 70,9 (C-5);
- Le proton à δ_{H} 4,43 et les carbones à δ_{C} 70,1 (C-4), 72,4 (C-2) et 83,9 (C-1);
- Le proton à δ_{H} 4,48 et les carbones à δ_{C} 72,0 (C-6) et 83,9 (C-1);

- Le proton à δ_H 4,60 et le carbone à δ_C 72,6 (C-3);
- Le proton à δ_H 4,69 et les carbones à δ_C 70,1 (C-4) et 72,6 (C-3).

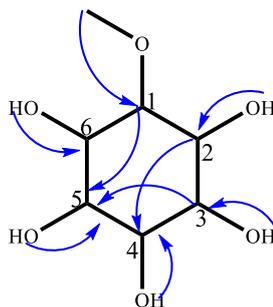


Schéma 21. Corrélations HMBC du composé IAB12.

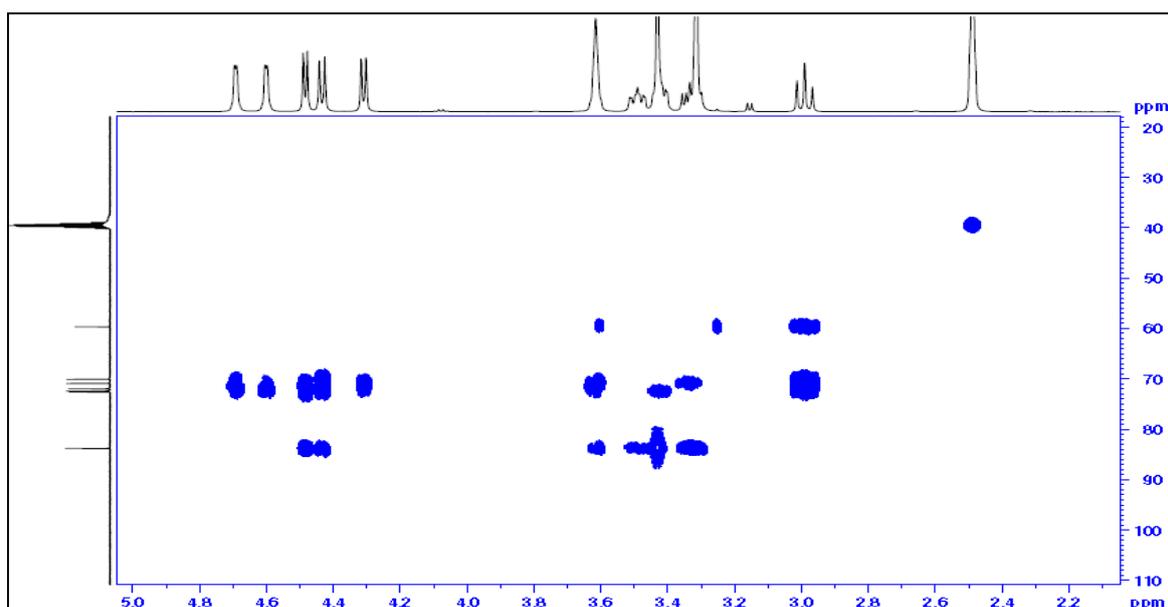


Figure 84. Spectre HMBC du composé IAB12.

L'ensemble de ces données spectrales comparées avec celles décrites dans la littérature nous a permis d'assigner au composé IAB12 la structure **56** qui est celle du bornesitol ou 1-méthoxycyclohexane-1,2,3,4,5-pentaol (Ichimura et al., 1999).

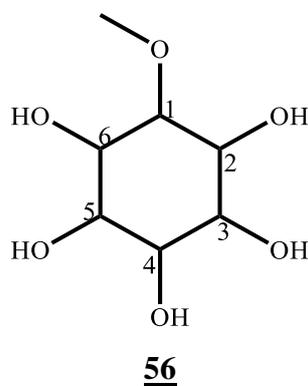


Tableau 27. Données de RMN ^{13}C (100 MHz, DMSO- d_6) de IAB12 comparées à celle du Bornesitol (75 MHz, D_2O) (Ichimura et al., 1999).

N° C	IAB12	Bornesitol
1	83,9	80,5
2	72,4	67,7
3	72,6	71,1
4	70,1	72,3
5	70,9	74,5
6	72,0	71,7
1-OCH ₃	59,6	56,7

II.1.2.6. Les Stéroïdes (Phytostéroïls)

Dans le cadre de ce travail nous avons isolé quatre phytostéroïls à savoir: le β -sitostérol, le stigma-sitostérol, le glucoside du β -sitostérol et le glucoside du stigma-sitostérol.

II.1.2.6.1. Identification du β -sitostérol (IAB2 et ISp1)

Ce composé précipite sous forme d'aiguilles blanches dans le mélange *n*-Hex/AcOEt 9:1. Il réagit positivement au test de Libermann-Buchard en donnant une coloration bleu-vert caractéristique des phytostéroïls. Il a été identifié à la β -sitostérol (**32**) par comparaison sur une plaque de CCM avec un échantillon disponible dans notre laboratoire et par confirmation avec son spectre de masse EI (figure 85) qui montre le pic de l'ion moléculaire à m/z 414.

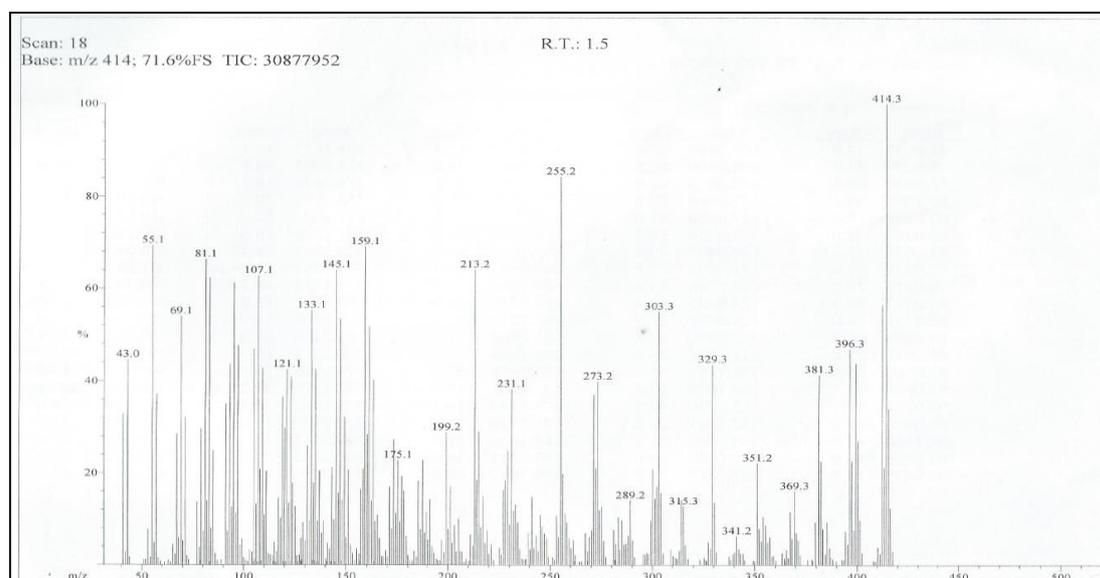
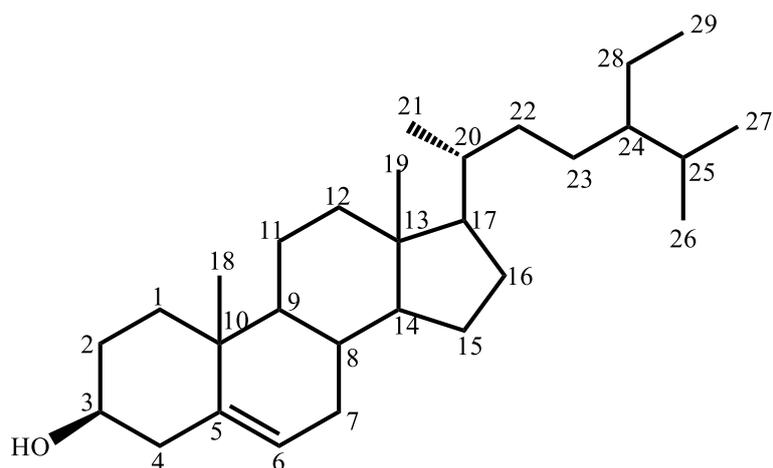


Figure 85. Spectre de masse (EI) du composé IAB2.



32

Ce composé est connu pour son rôle essentiel joué dans la régulation du taux de cholestérol sanguin et sa grande réactivité contre le venin de serpent (Welter et al., 2000).

II.1.2.6.2. Identification du stigmasterol (ISp2)

Le composé ISp2 précipite sous forme d'aiguilles blanches dans le mélange *n*-Hex/AcOEt 9:1. Il réagit positivement au test de Liebermann-Burchard en donnant une coloration bleu-vert caractéristique des phytostérols. Son spectre de masse EI (figure 86) montre le pic de l'ion moléculaire à m/z 412 qui combiné à l'analyse des spectres de RMN ^1H et ^{13}C , permet de déduire la formule $\text{C}_{29}\text{H}_{48}\text{O}$ renfermant 6 insaturations.

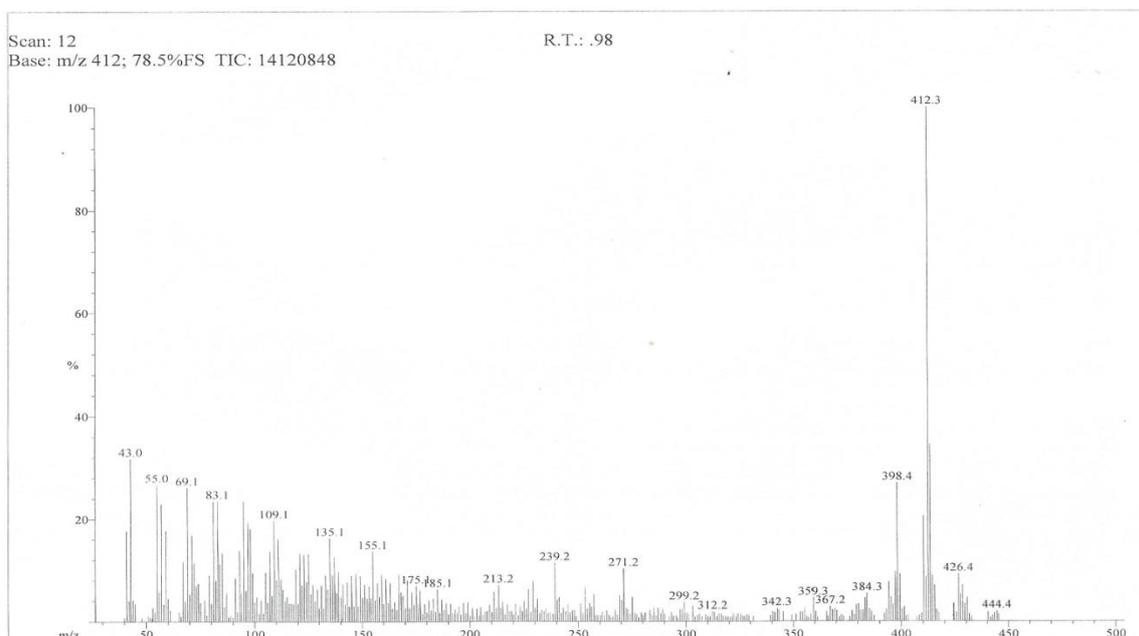


Figure 86. Spectre de masse (EI) du composé ISp2.

Le spectre de RMN ^1H (figure 87) du composé ISp2 permet de voir:

- Deux singulets intenses de trois protons chacun à δ_{H} 0,67 et 1,0 ppm attribuables respectivement aux groupes méthyles en position H-18 et H-19;
- Quatre doublets de 3 protons chacun entre δ_{H} 0,84 (3H; d; $J= 6,6$ Hz); 0,87 (3H; d; $J= 7,2$ Hz); 0,90 (3H; d; $J= 5,4$ Hz); et 1,10 (3H; d; $J= 6,0$ Hz), attribuables aux méthyles en position H-21, H-26, H-27 et H-29 des stigmastérols.
- Deux doublets dédoublés d'un proton chacun à δ_{H} 5,20 (1H, dd, $J= 8,4$ et 15,0 Hz) et 5,05 (1H, dd, $J= 8,4$ et 15,0 Hz) ppm attribuables aux protons oléfiniques respectivement aux positions H-22 et H-23 du stigmastérol;
- Un doublet d'un proton à δ_{H} 5,41 (1H, d, $J= 4,2$ Hz) correspondant au proton oléfiniques en position H-6 du stigmastérol;
- Un triplet d'un proton à δ_{H} 3,84 (1H, t, $J= 5,4$ Hz) correspondant au proton H-3 des stigmastérols.

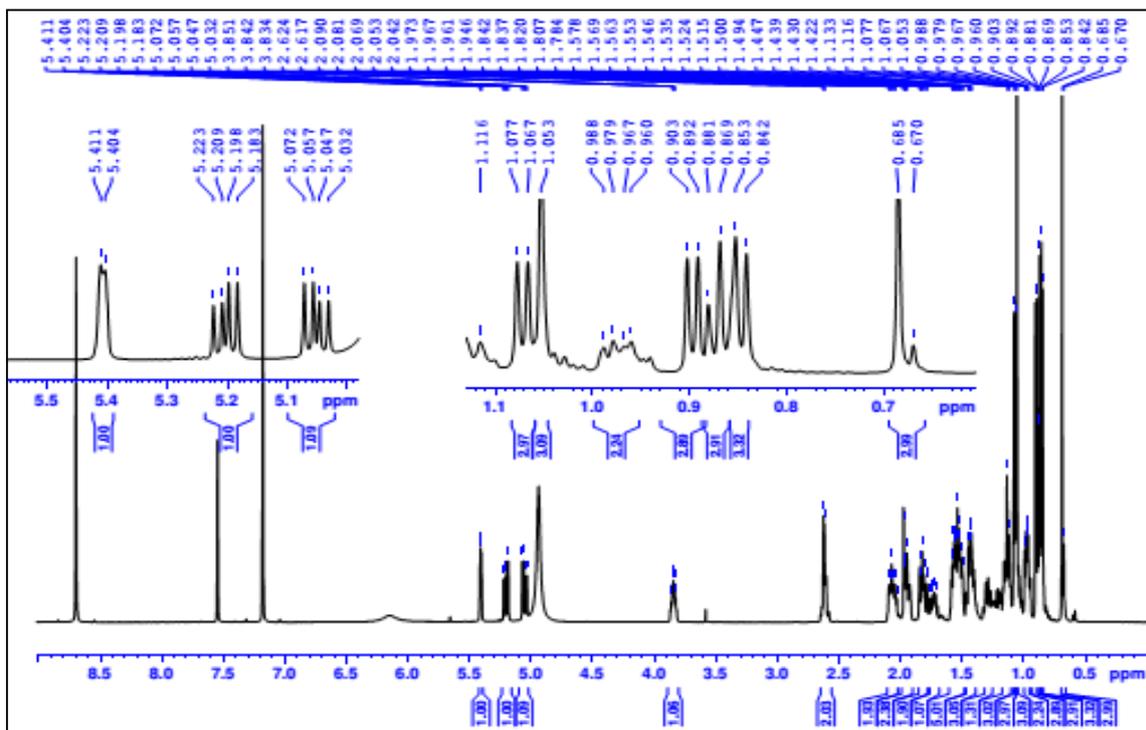


Figure 87. Spectre de RMN ^1H (600 MHz, Pyridine- d_5) du composé ISp2.

Le spectre de RMN ^{13}C (Figure 88) du composé ISp2 montre 29 signaux de carbones parmi lesquels on a:

- Six signaux à δ_{C} 11,9; 12,3; 19,0; 19,4; 21,1 et 21,3 ppm attribuables aux six méthyles des stigmastérols;
- Un signal à δ_{C} 71,1 ppm attribuable au carbone oxygéné en position (C-3) des stigmastérols;

- Quatre signaux à δ_c 121,0; 129,2; 138,6 et 141,8 ppm correspondant aux carbones des méthylènes en C-5, C-6, C-22 et C-23 des stigmastérols

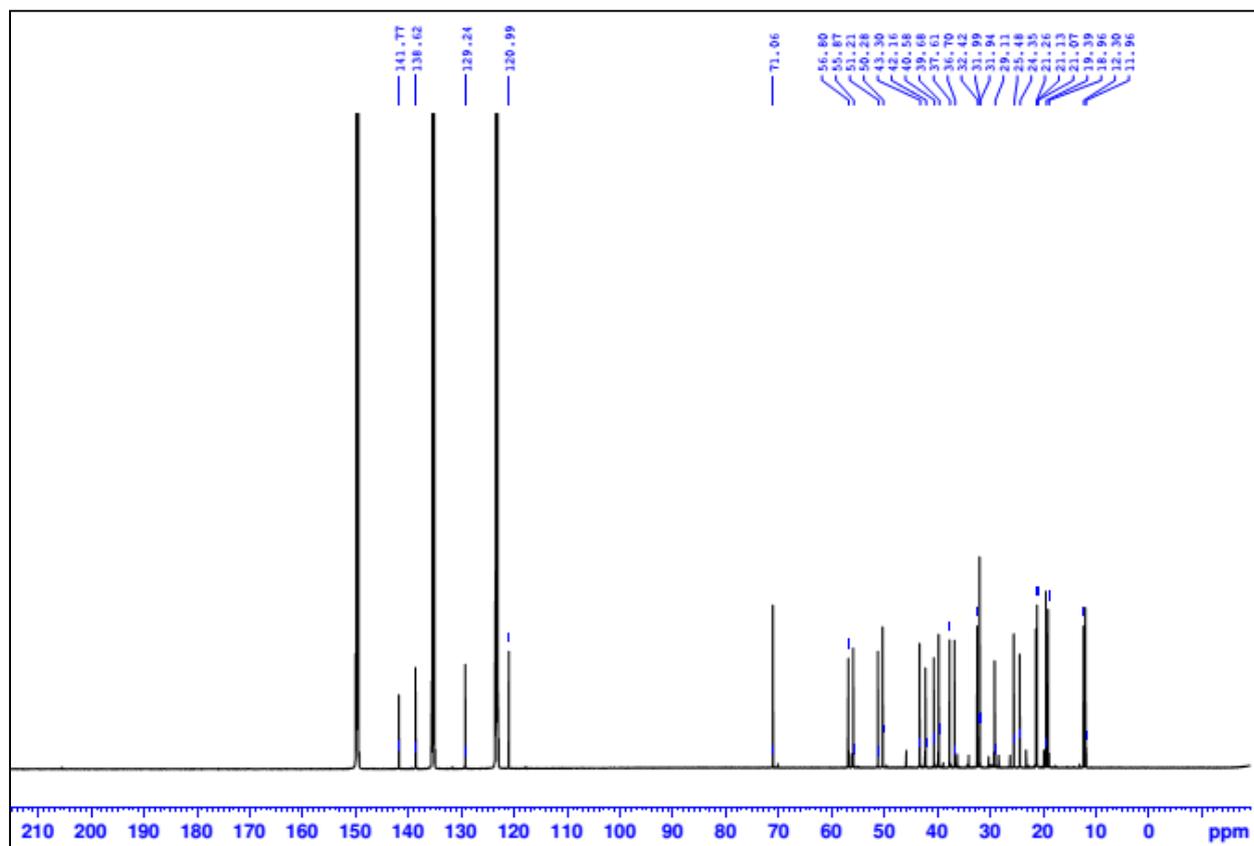
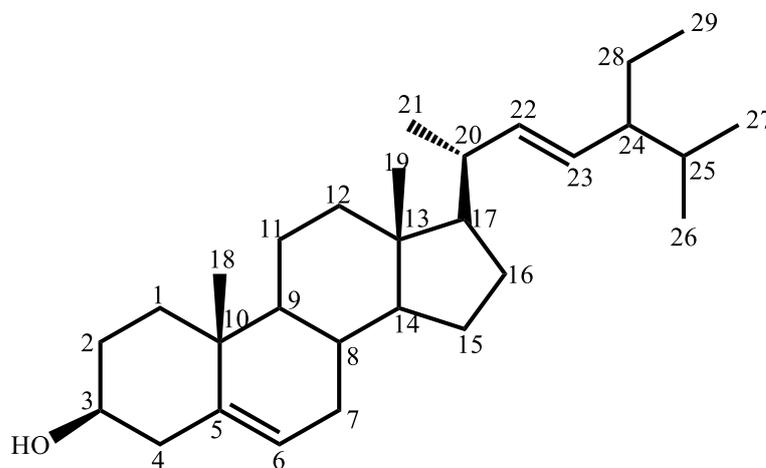


Figure 88. Spectre de RMN ^{13}C (150 MHz, Pyridine- d_5) du composé ISp2.

L'ensemble de ces données spectrales ont permis d'attribuer à **ISp2** la structure **57**, qui est celle du stigmastérol déjà décrit par [Luhata et al., \(2015\)](#). Il est utilisé comme matière première dans la production des médicaments anti-inflammatoires, contraceptifs et anabolissants ([Bruneton, 1993](#)).



57

Tableau 28. Données de RMN ^{13}C (150 MHz, Pyridine- d_5) de ISp2 comparées à celles de stigmastérol (100 MHz, CDCl_3) (Luhata et al., 2015).

N°H	ISp2	Le stigmastérol
C-1	37,61	36,72
C-2	31,98	29,71
C-3	71,05	71,97
C-4	42,16	42,35
C-5	141,77	140,94
C-6	120,99	121,32
C-7	32,42	31,71
C-8	29,10	29,24
C-9	50,28	50,03
C-10	36,70	36,16
C-11	24,34	24,32
C-12	39,68	39,82
C-13	40,58	40,45
C-14	56,80	56,90
C-15	24,34	24,32
C-16	29,10	28,90
C-17	55,87	56,03
C-18	11,9	12,06
C-19	18,96	19,06
C-20	39,68	39,82
C-21	24,34	23,12
C-22	138,61	138,40
C-23	129,24	129,34
C-24	51,21	51,26
C-25	36,70	34,01
C-26	21,07	21,12
C-27	21,30	22,82
C-28	25,48	25,32
C-29	12,3	12,06

II.1.2.6.3. Identification du 3-O-β-D-glucopyranoside de β-sitostérol (IAB11)

Le composé IAB11 précipite sous forme de poudre blanche dans le mélange *n*-Hex/AcOEt 4:6. Il répond positivement au test de Liebermann-Burchard (coloration bleu-vert) caractéristique des phytostérols et au test de Molish caractéristique des sucres. Son spectre de masse EI en mode positif (figure 89) montre l'ion pseudomoléculaire $[M+H]^+$ à m/z 577 qui correspond à la formule $C_{35}H_{60}O_6$ renfermant 6 insaturations.

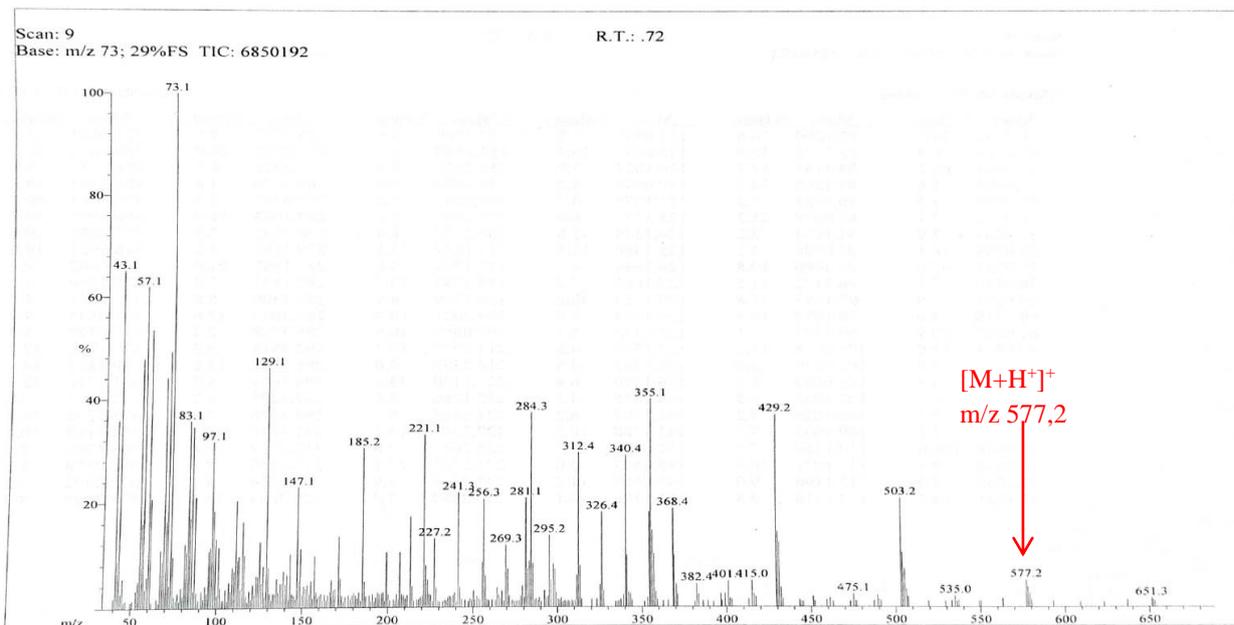


Figure 89. Spectre de masse (ESI) en mode positif du composé IAB11.

Le spectre RMN 1H (figure 90) du composé IAB11 met en évidence deux groupes de signaux:

- L'un principalement dans l'intervalle δ_H [0,6; 4,0] et à δ_H 5,34 ppm correspondant aux protons de l'aglycone qui a été identifié au β -sitostérol substitué en C-3;
- L'autre entre δ_H 3,9 et 5,1 ppm attribuable aux protons de la partie osidique qui a été identifiée au 3-O-β-D-glucopyranoside.

Parmi les signaux appartenant à la partie osidique, on distingue cinq multiplets correspondant aux méthines et aux méthylènes, et un doublet à δ_H 5,05 ppm de constante de couplage de 7,7 Hz attribuable au proton anomérique et suggérant que le sucre possède une stéréochimie β (Mizushina et al., 2006).

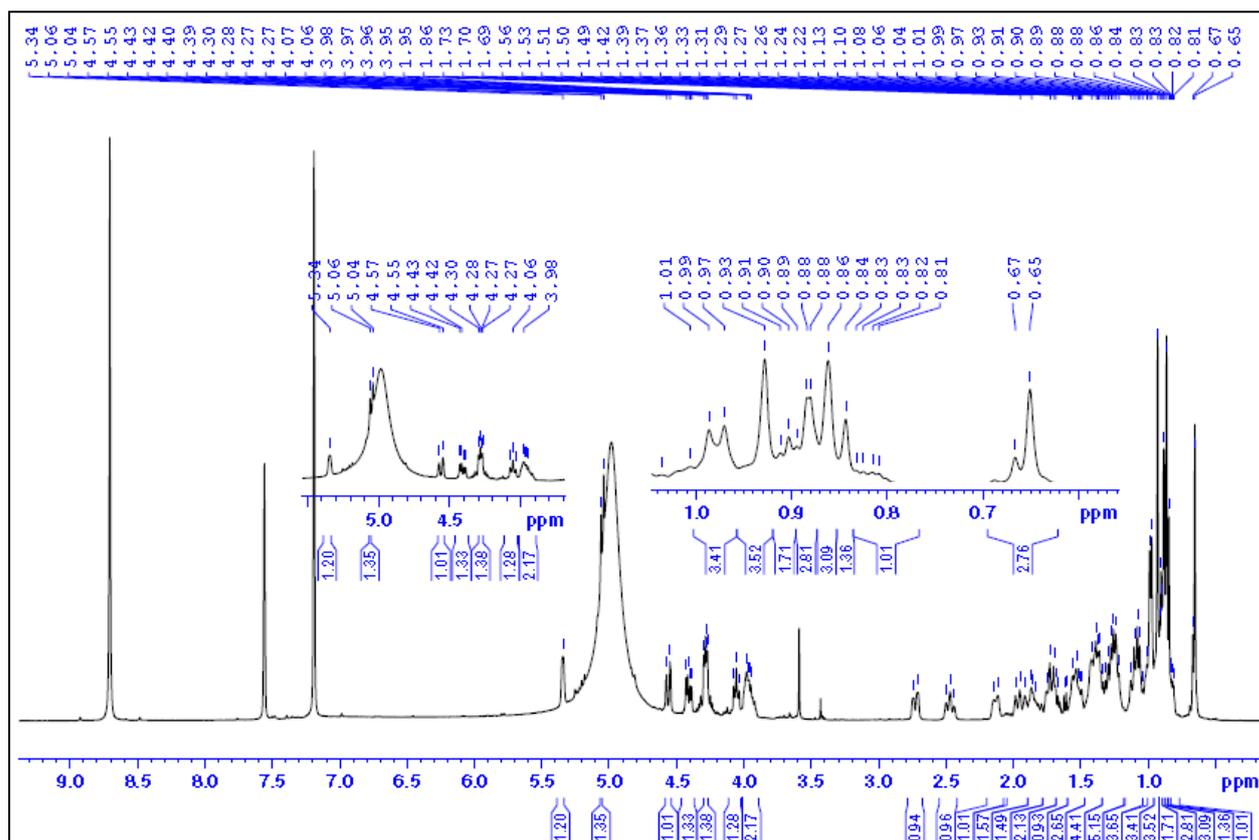


Figure 90. Spectre de RMN¹H (400 MHz, pyridine-d₅) du composé IAB11.

La comparaison de ces données spectrales à celles rencontrées dans la littérature (Mizushina et al., 2006) nous a permis d'identifier le composé IAB11 au 3-*O*-β-D-glucopyranoside de β-sitosterol (58), qui est connu pour son rôle d'inhibiteur de l'activité de certaines enzymes comme l'ADN polymérase.

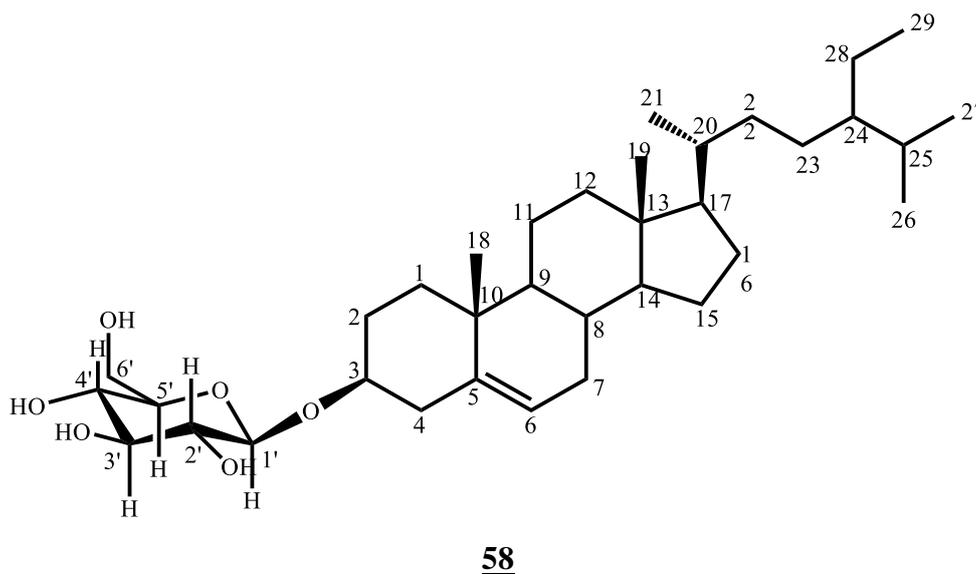


Tableau 29. Quelques données de RMN ^1H (400 MHz, Pyridine- d_5) de IAB11 comparées à celles de la 3-*O*- β -D-glucopyranoside de β -sitosterol (400 MHz, Pyridine- d_5) (Mizushina et al., 2006).

N°H	IAB11	1a3- <i>O</i> - β -D-glucopyranoside de β -sitosterol
3	3,96 (2H, <i>m</i>)	3,99 (2H, <i>m</i>)
6	5,34 (1H; <i>sl</i>)	5,36 (1H, <i>m</i>)
18	0,66 (3H, <i>s</i>)	0,67 (3H, <i>s</i>)
19	0,93 (3H; <i>s</i>)	0,95 (3H, <i>s</i>)
21	0,98 (3H, <i>d</i> , 6,4)	1,00 (3H, <i>d</i> , 6,5)
26	0,85 (3H; <i>d</i> ; 7,4)	0,92 (3H, <i>d</i> , 7,3)
27	0,88 (3H, <i>d</i> , 7,1)	0,88 (3H, <i>d</i> , 7,0)
29	1,10 (3H, <i>t</i> , 7,4)	0,89 (3H, <i>t</i> , 7,4)
1'	5,05 (1H, <i>d</i> , 7,7)	5,07 (1H; <i>d</i> ; 7,7)
2'	4,07 (1H, <i>t</i> , 8,0)	4,08 (1H, <i>tl</i> , 8,1)
3'	4,29 (2H, <i>m</i>)	4,31 (2H; <i>m</i>)
4'	4,29 (2H, <i>m</i>)	4,31 (2H, <i>m</i>)
5'	3,96 (2H, <i>m</i>)	3,99 (2H, <i>m</i>)
6'	4,56 (1H, <i>d</i> , 9,8) 4,40 (1H, <i>dd</i> , 11,8, 5,2)	4,58 (1H, <i>dd</i> , 11,7, 2,4) 4,43 (1H, <i>dd</i> , 11,7, 5,2)

II.1.2.6.4. Identification du 3-*O*- β -D-glucopyranoside de stigmasterol (IAB10)

IAB12 est sous forme de poudre blanche dans le mélange *n*-Hex/AcOEt 3,5:6,5. Il est soluble dans la pyridine et répond positivement au test de Libermann-Buchard (coloration bleu-vert) caractéristique des phytostérols et au test de Molish caractéristique des sucres. Son spectre de masse ESI en mode positif (figure 91) montre l'ion pseudomoléculaire $[\text{M}+\text{H}^+]^+$ à m/z 575 qui permet, après analyse du spectre de RMN ^1H , de confirmer la formule $\text{C}_{35}\text{H}_{58}\text{O}_6$ renfermant 7 insaturations.

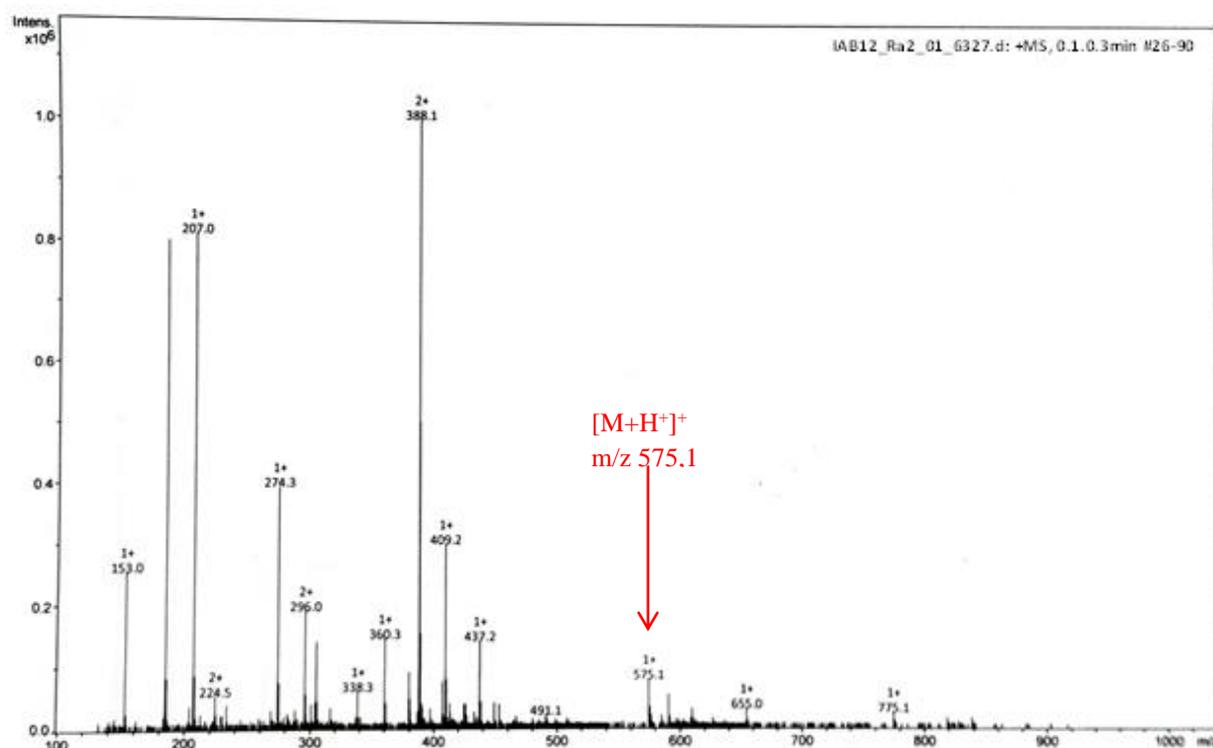


Figure 91. Spectre de masse (ESI) en mode positif du composé IAB10.

Le spectre de RMN ^1H de IAB10 (figure 92) est presque superposable à celui de IAB11 à la seule différence qu'on note la présence de deux doublets dédoublés supplémentaires d'un proton chacun à δ_{H} 5,15 (1H, *dd*, $J = 8,7$ et $15,1$ Hz) et 5,01 (1H, *dd*, $J = 8,7$ et $15,1$ Hz) ppm attribuables respectivement aux protons H-22 et H-23 du stigmasterol.

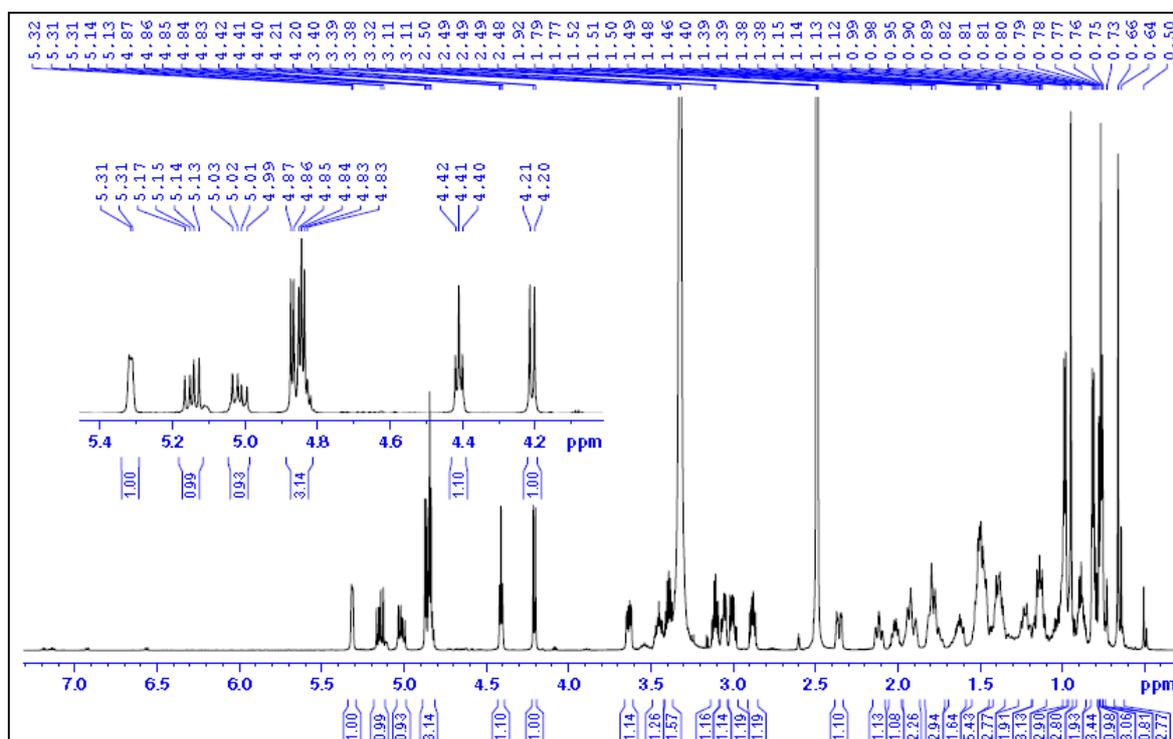
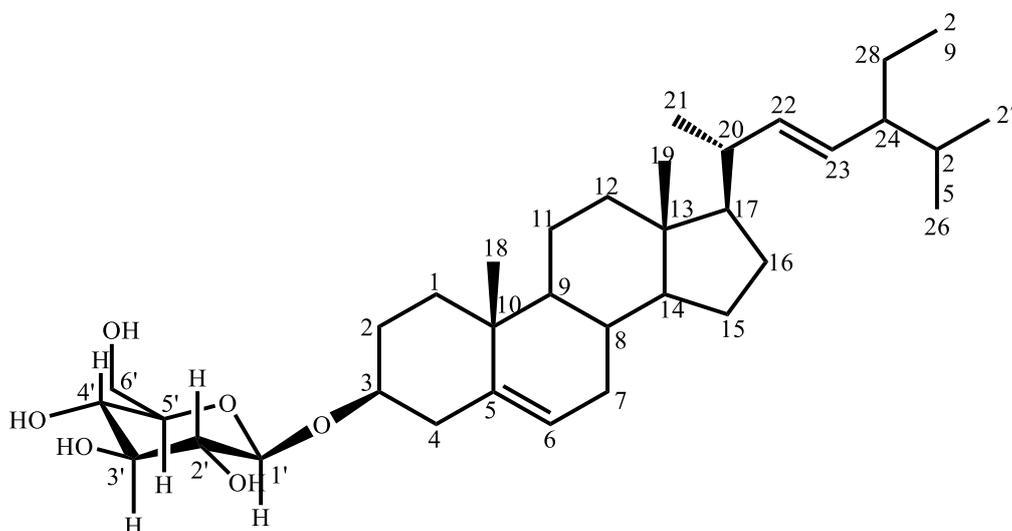


Figure 92. Spectre de RMN ^1H (600 MHz, DMSO- d_6) du composé IAB10.

Toutes ces données comparées avec celles décrites dans la littérature (Khatun et al., 2012) nous ont permis d'attribuer à IAB10 la structure (59) qui est celle du 3-O-β-D-glucopyranoside de stigmastérol.



59

Tableau 30. Données de RMN ¹H (600 MHz, DMSO-d₆) de IAB10 comparées à celles de la 3-O-β-D-glucopyranoside de β-sitosterol (600 MHz, CDCl₃) (Khatun et al., 2012).

N°H	IAB12	La 3-O-β-D-glucopyranoside de stigmasterol
3	3,64 (1H, <i>m</i>)	3,38 (1H, <i>m</i>)
6	5,31 (1H, <i>t</i> , 4,9 Hz)	5,30 (1H, <i>t</i> , 4,6 Hz)
18	0,66 (3H; <i>s</i>)	0,65 (3H, <i>s</i>)
19	0,95 (3H, <i>s</i>)	0,93 (3H, <i>s</i>)
21	0,98 (3H, <i>d</i> , 6,6 Hz)	0,91 (3H, <i>d</i> , 6,5 Hz)
22	5,15 (1H, <i>dd</i> , 15,2 et 8,7 Hz)	5,16 (1H, <i>m</i>)
23	5,01 (1H, <i>dd</i> , 15,2 et 8,8 Hz)	5,06 (1H, <i>m</i>)
26	0,81 (3H, <i>d</i> , 6,4 Hz)	0,83 (3H, <i>d</i> , 6,6 Hz)
27	0,80 (3H, <i>d</i> , 6,5 Hz)	0,81 (3H, <i>d</i> , 6,5 Hz)
29	0,77 (3H, <i>t</i> , 7,9 Hz)	0,70 (3H, <i>t</i> , 7,5 Hz)
1'	4,21 (1H, <i>d</i> , 7,8 Hz)	4,41 (1H, <i>d</i> , 7,8 Hz)

II.1.2.7. Les triterpènes pentacycliques

Dans le cadre de ce travail nous avons isolé deux triterpènes pentacycliques à savoir: le lupéol et l'acide bétulinique.

II.1.2.7.1. Identification du lupéol (ISp10)

ISP10 se présente sous forme de poudre blanche dans le mélange CH₂Cl₂/MeOH 49:1. Il est soluble dans le chloroforme et donne une coloration rouge-violette avec le réactif de Liebermann-Burchard, ce qui indique sa nature triterpenique.

Son spectre de masse EI (figure 93) montre le pic de l'ion moléculaire M⁺ à m/z 426 dont l'analyse combinée avec celles des spectres de RMN ¹H et ¹³C permet de lui attribuer la formule brute C₃₀H₅₀O renfermant 6 insaturations.

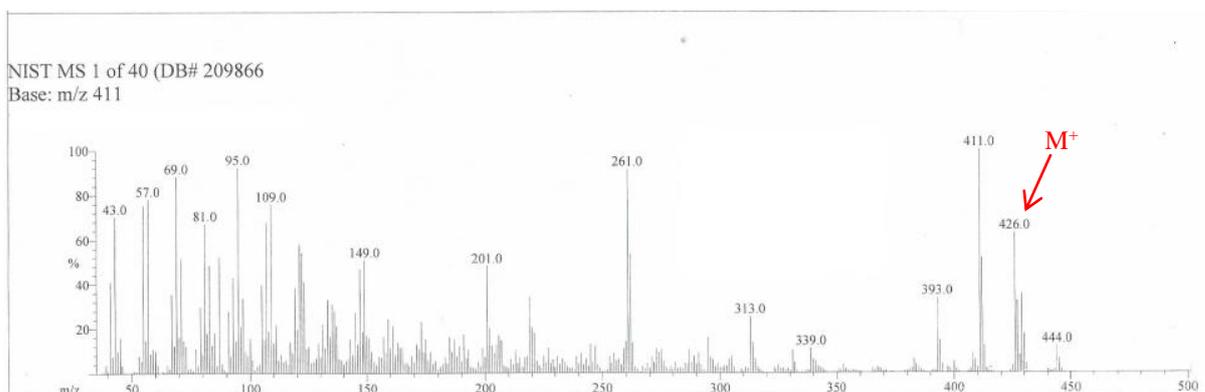


Figure 93. Spectre de masse (EI) en mode positif du composé ISp6.

Sur le spectre RMN ¹H de ISp10 (Figure 94) on observe:

- Six singulets intenses de 3 protons chacun à δ_H 0,79; 0,81; 0,85; 0,97; 0,99 et 1,06 ppm attribuables aux 6 méthyles angulaires;
- Un singulet de 3 protons à δ_H 1,70 ppm attribuable au méthyle vinylique;
- Deux doublets d'un proton chacun à δ_H 4,59 et 4,71 ppm caractéristiques des protons du méthylène terminal en position C-29 des lup-20(29)-ènes.

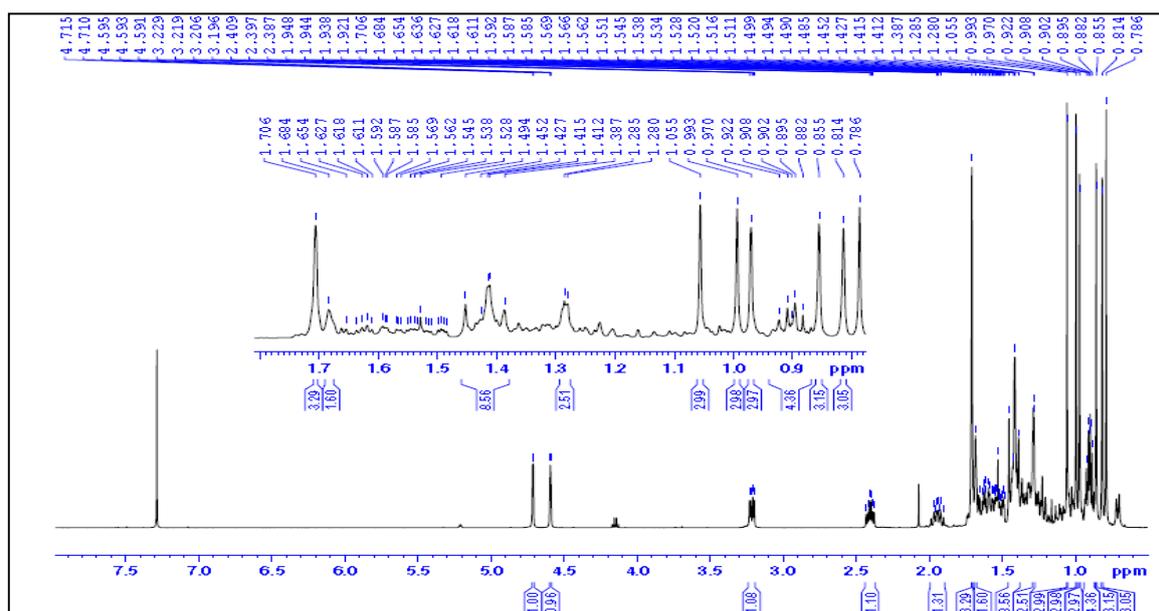


Figure 94. Spectre de RMN ¹H (400 MHz, CDCl₃) du composé ISp10.

Son spectre de RMN ^{13}C (Figure 95) nous montre:

- Un signal à δ_{C} 79,0 ppm attribuable au carbone hydroxylé C-3 des triterpènes;
- Deux signaux caractéristiques à δ_{C} 151,0 et 109,3 ppm attribuables respectivement aux carbones C-20 et C-29 des lup-20(29)-ènes confirmant ainsi le squelette des lup-20(29)-ènes (Mahato et Kundu, 1994).

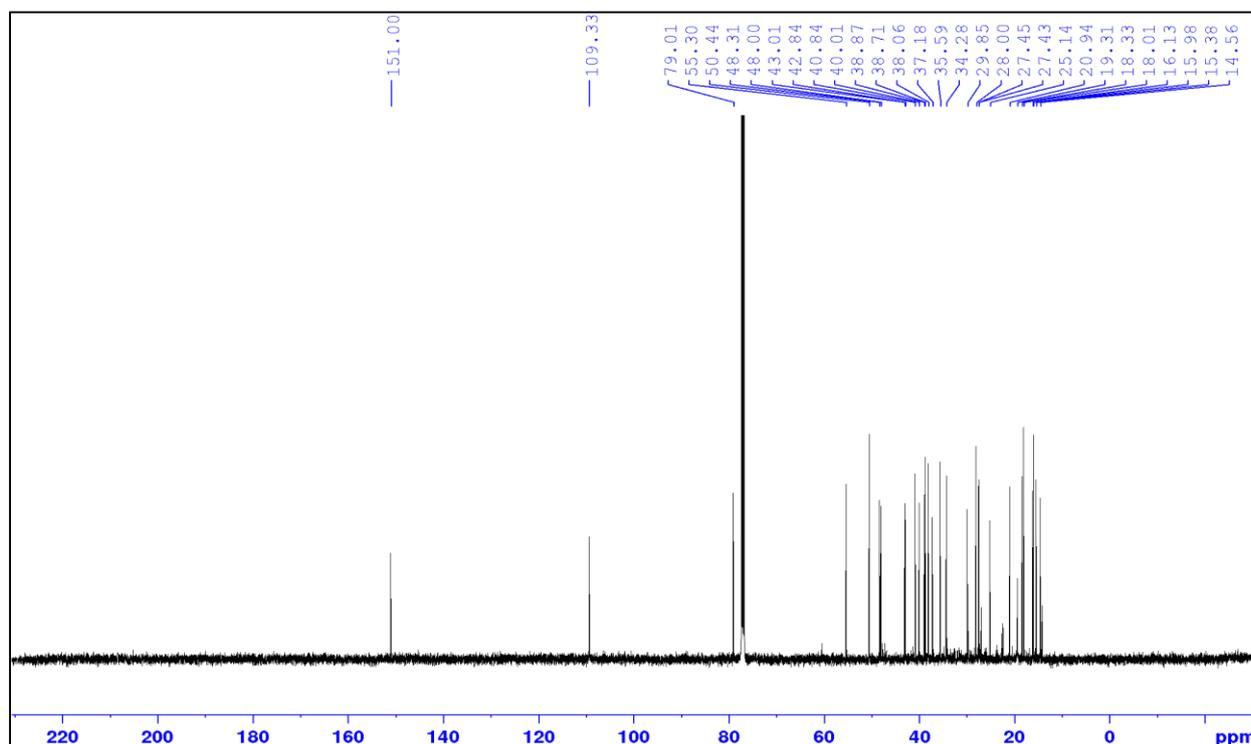


Figure 95. Spectre de RMN ^{13}C (100 MHz, CDCl_3) du composé ISp10.

L'ensemble de toutes ces données permet d'attribuer à ISp10 la structure (31) qui est celle du lupéol (Mahato et Kundu, 1994).

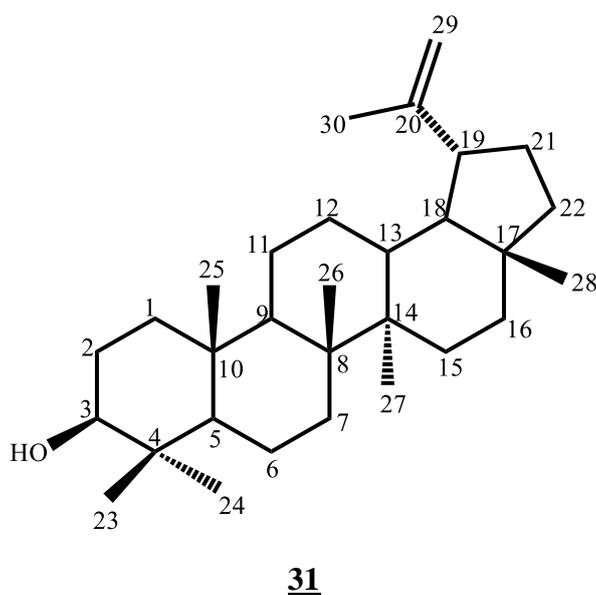


Tableau 31. Données de RMN ^{13}C (100 MHz, CDCl_3) de ISp10 et du lupéol (Mahato et Kundu, 1994).

N°C	δ_c ISp10 (CDCl_3)	δ_c lupéol
1	38,7	38,7
2	27,4	27,4
3	79,0	78,9
4	38,9	38,8
5	55,3	55,3
6	18,3	18,3
7	34,3	34,2
8	40,8	40,8
9	50,4	50,4
10	37,2	37,1
11	20,9	20,9
12	25,1	25,1
13	38,1	38,0
14	42,8	42,8
15	27,5	27,4
16	35,6	35,5
17	43,0	43,0
18	48,3	48,2
19	48,0	47,9
20	151,0	150,9
21	29,9	29,8
22	40,0	40,0
23	28,0	28,0
24	15,4	15,4
25	16,1	16,1
26	15,9	15,9
27	14,6	14,5
28	18,0	18,0
29	109,3	109,3
30	19,3	19,3

II.1.2.7.2. Identification du l'acide bétulinique (ISp6)

Le composé ISp6 est obtenu sous forme de poudre blanche dans le mélange *n*-Hex/AcOEt 6,5:3,5. Il est soluble dans le chloroforme et répond positivement au test de Liebermann-Burchard qui donne une coloration violette, ce qui nous suggère que ISp6 est un triterpène.

Son spectre de masse EI (Figure 95) montre le pic de l'ion moléculaire M^+ à m/z 456 dont l'analyse combinée avec les spectres de RMN 1H et ^{13}C permet de lui attribuer la formule brute $C_{30}H_{48}O_3$ renfermant 7 insaturations. Les pics de base à m/z 189 et 207, caractéristiques des ions fragments significatifs des composés de la série lup-20(29)-ène sont observables sur son spectre de masse (Cichewicz et Kouzi, 2004).

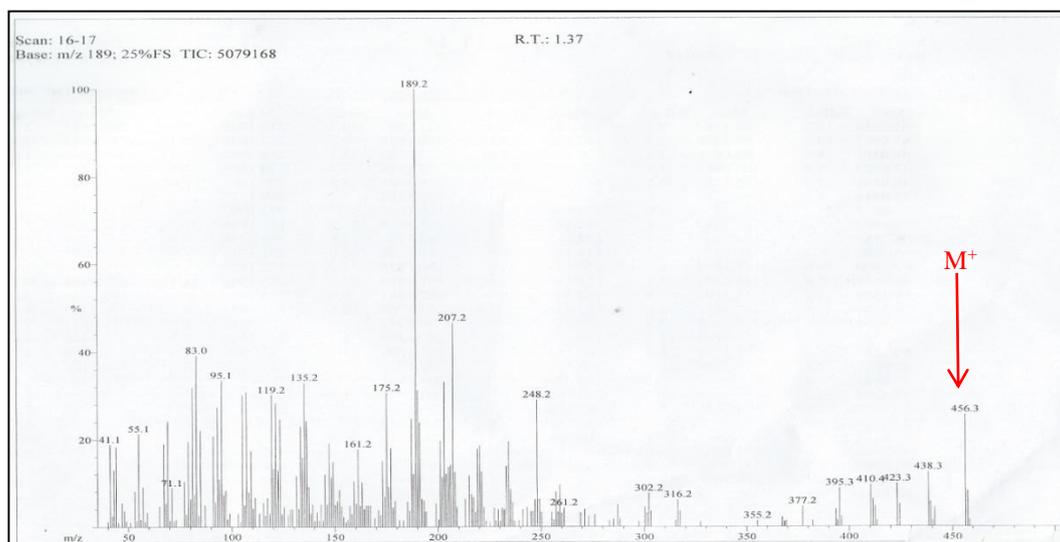


Figure 96. Spectre de masse (EI) en mode positif du composé ISp6.

Sur le spectre RMN 1H de ISp6 (Figure 97) on observe:

- Cinq singulets intenses de 3 protons chacun à δ_H 0,73; 0,80; 0,92; 0,94 et 0,95 ppm attribuables aux 5 méthyles angulaires;
- Un singulet de 3 protons à δ_H 1,67 ppm attribuable au méthyle vinylique;
- Deux singulets d'un proton chacun δ_H 4,59 et 4,72 ppm caractéristiques des protons du méthylène terminal en position C-29 des lup-20(29)-ènes.

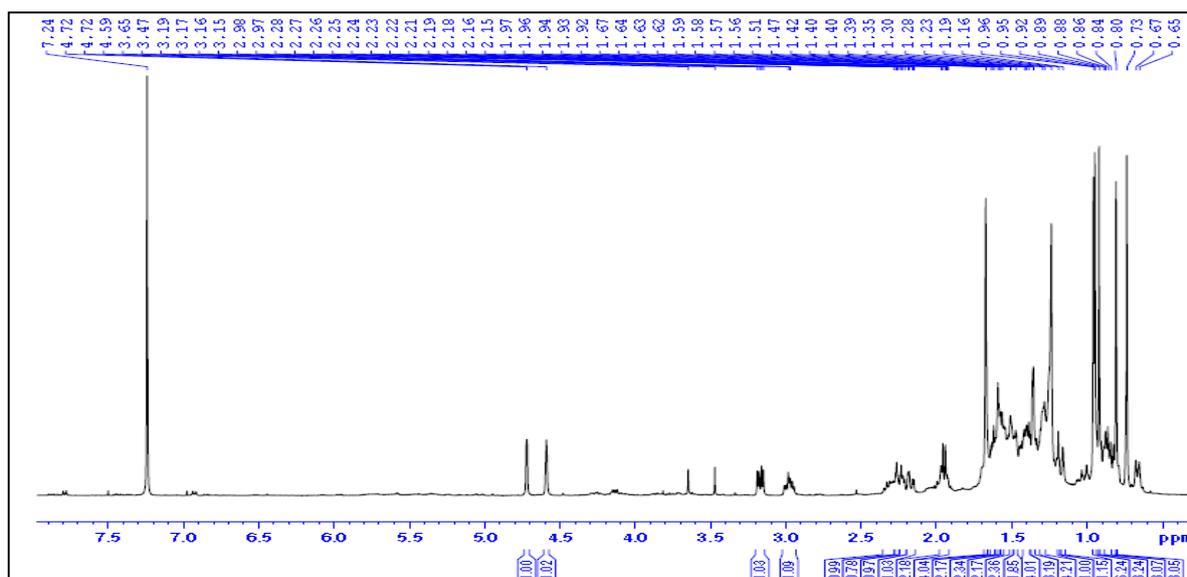


Figure 97. Spectre de RMN 1H (400 MHz, $CDCl_3$) du composé ISp6.

Son spectre de RMN ^{13}C (Figure 98) nous montre:

- Un signal à δ_{C} 79,1 ppm attribuable au carbone hydroxylé C-3 des triterpènes;
- Deux signaux caractéristiques à δ_{C} 150,4 et 109,7 ppm assignables respectivement aux carbones C-20 et C-29 des lup-20(29)-ènes confirmant ainsi le squelette des lup-20(29)-ènes (Mahato et Kundu, 1994).
- Un signal à δ_{C} 180,4 ppm correspondant au carbonyle des acides carboxyliques.

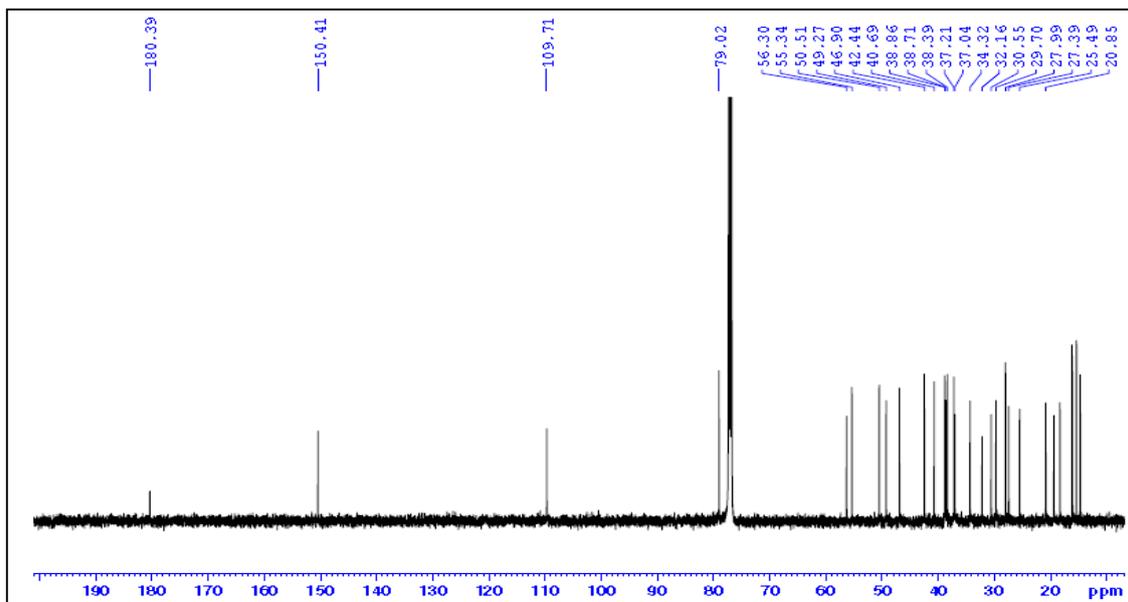


Figure 98. Spectre de RMN ^{13}C (100 MHz, CDCl_3) du composé ISp6.

Ces données physiques et spectroscopiques comparées à celles décrites dans la littérature par Cichewicz et Kouzi en 2004 nous permettent d'identifier ISp6 à l'acide bétulinique (60).

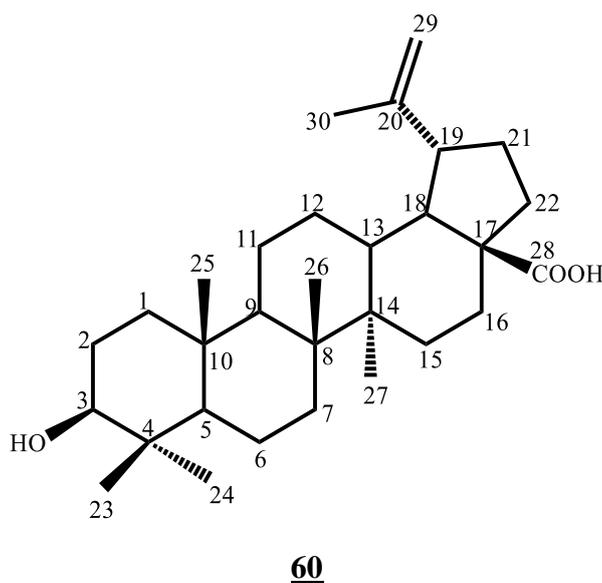


Tableau 32. Données de RMN ^{13}C (100 MHz, CDCl_3) de ISp6 et de l'acide bétulinique (Mahato et Kundu, 1994).

N°C	δ_c ISp6 (CDCl_3)	δ_c acide bétulinique
1	38,7	38,7
2	27,4	27,4
3	79,0	78,9
4	38,9	38,8
5	55,3	55,3
6	18,3	18,3
7	34,3	34,3
8	40,7	40,7
9	50,5	50,7
10	37,2	37,2
11	20,8	20,8
12	25,5	25,5
13	38,4	38,4
14	42,4	42,4
15	30,6	30,5
16	32,2	32,1
17	56,3	56,3
18	46,9	46,8
19	49,3	49,2
20	150,4	150,3
21	29,7	29,7
22	37,0	37,0
23	28,0	27,9
24	15,3	15,3
25	16,0	16,0
26	16,1	16,1
27	14,7	14,7
28	180,4	180,5
29	109,7	109,6
30	19,4	19,4

II.1.2.8. La saponine

-Identification du la soyasaponine I (ISp11).

Ce composé précipite sous forme de poudre blanche dans le mélange AcOEt/MeOH 8:2. Il est soluble dans le DMSO et répond positivement au test de Liebermann-Burchard (coloration violette) caractéristique des triterpènes et au test de Molish caractéristique des sucres. Son spectre de masse ESI haute résolution en mode positif (figure 99) montre le pic de

l'ion pseudomoléculaire $[M+H]^+$ à m/z 943,5270 (calc. pour $C_{49}H_{79}O_{18}$: 943,5261) compatible avec la formule brute $C_{49}H_{78}O_{18}$ qui renferme 11 insaturations. Sur son spectre FAB en mode négatif, on observe des pics à m/z 459, 633, 795 et 941 qui sont caractéristiques pour la molécule.

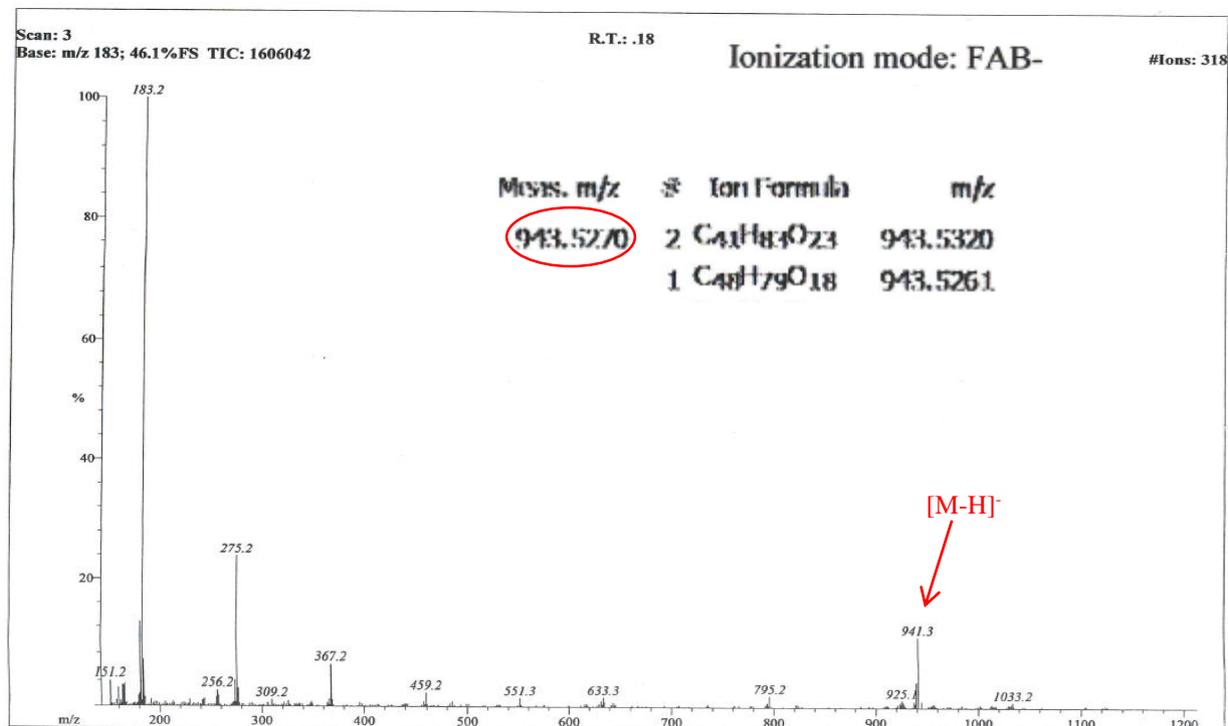


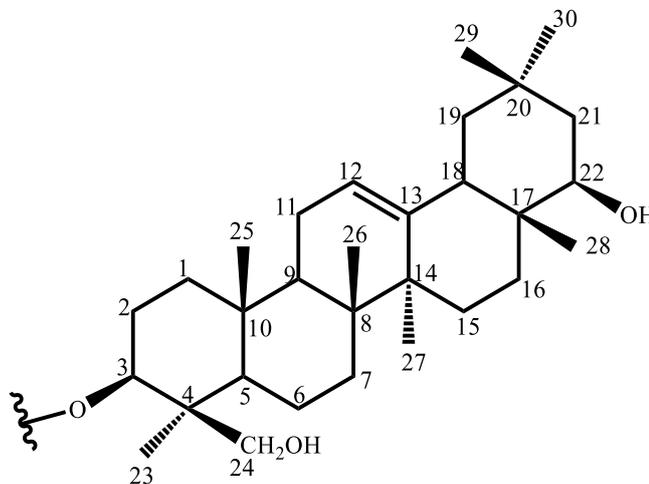
Figure 99. Spectres de masses (ESI) à haute résolution en mode positif et FAB en mode négatif de ISp11.

Les spectres de RMN 1H (Figure 100) et ^{13}C (Figure 101) de ISp11 mettent en évidence quatre groupes de signaux dont:

- un premier groupe correspondant à celui de la génine dans lequel on observe:
 - Sur le spectre de RMN 1H sept singulets de trois protons chacun à δ_H 1,13; 1,06; 0,96; 0,88; 0,84; 0,80 et 0,75 ppm correspondant à sept groupements méthyles angulaires;
 - Un singulet de deux protons à δ_H 3,50 ppm attribuable à un méthylène oxygéné et caractéristique des protons H-24 des oléan-12-ènes car lié à un méthylène à δ_C 62,4 ppm (C-24) (Mahato et Kundu, 1994). Cela est confirmé sur le DEPT-35 qui montre un pic de méthylène à δ_C 62,4 ppm (C-24).
 - Un singulet large d'un proton à δ_H 3,20 ppm qui est lié au carbone δ_C 90,0 ppm et qui est caractéristique du proton H-3 α des triterpènes glycosilés en C-3 (Rao et al., 1985).
 - Un singulet large à δ_H 5,17 ppm lié au carbone à δ_C 121,6 ppm caractéristique du proton H-12 des oléan-12-ènes (Mahato et Kundu, 1994).

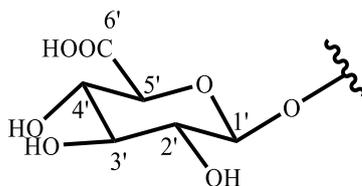
- Un large singulet à δ_H 3,23 ppm lié au carbone δ_C 74,0 ppm attribuable au proton H-22; ce qui prouve que le carbone C-22 porte un groupement hydroxyle.

Toutes ces données de RMN permettent de dire que la génine est l'oléan-12-ène-3 β ,22 β ,24-triol (**Fragment 1**)



Fragment 1

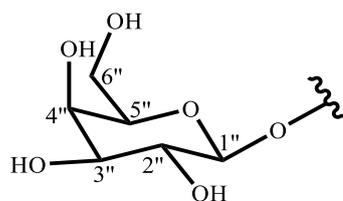
- Un deuxième groupe correspondant à l'acide glucuronique composé de:
 - Un singulet large à δ_H 4,15 ppm lié au carbone δ_C 103,9 ppm attribuable au proton anomérique de l'acide glucuronique;
 - Un carbone à δ_C 171,5 ppm correspondant au carbone acide de ce sucre;Ces données ont permis d'attribuer au deuxième groupe le **fragment 2** qui correspond à l'acide glucuronique.



Fragment 2

- Un troisième groupe attribuable au galactose dont on peut observer:
 - Un doublet d'un proton à δ_H 4,75 ppm de constante de couplage $J = 7,2$ Hz et lié au carbone à δ_C 99,9 ppm correspondant au proton anomérique d'un sucre;
 - Un singulet large d'un proton à δ_H 3,55 ppm lié au carbone à δ_C 69,3 ppm correspondant au proton 4 des galactoses (Agrawal, 1992);
 - Un doublet de deux protons à δ_H 3,55 ppm, de constante de couplage $J = 6,8$ Hz et lié au carbone δ_C 59,8 ppm correspondant au méthylène des galactoses.

Tout ceci permet d'attribuer à ce groupe le **fragment 3** qui correspond au galactose.

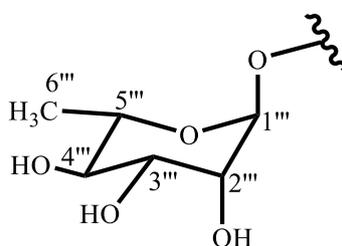


Fragment 3

➤ Un quatrième groupe attribuable au rhamnose dont on observe:

- Un doublet de trois protons à δ_H 1,08 ppm de constante de couplage $J = 6,2$ Hz attribuable au méthyle du rhamnose;
- Un singulet d'un proton à δ_H 4,93 ppm, lié à au carbone à δ_C 100,3 ppm et correspondant au proton anomérique d'un rhamnose.

Toutes ces données ont permis d'attribuer à ce groupe le **fragment 4** qui est celui du rhamnose.



Fragment 4

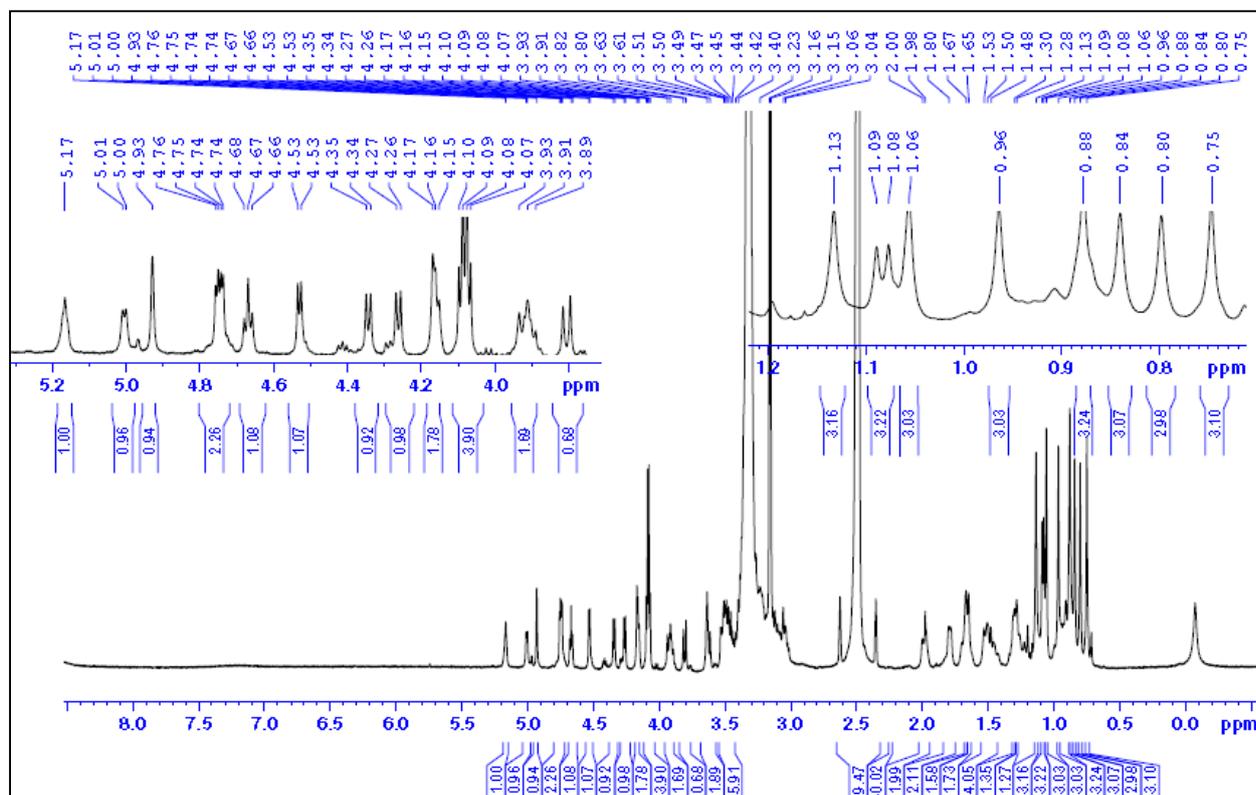


Figure 100. Spectre de RMN 1H (500 MHz, DMSO- d_6) du composé ISp11.

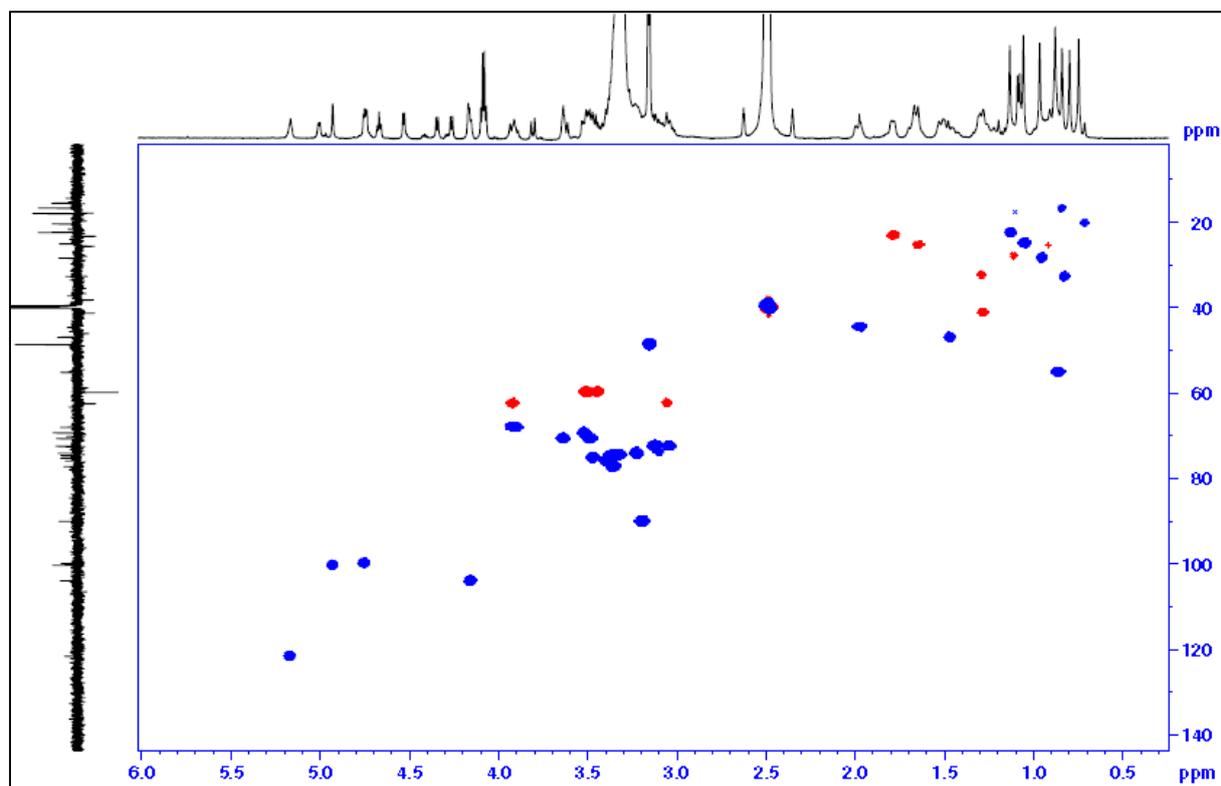


Figure 101. Spectre HSQC du composé ISP11.

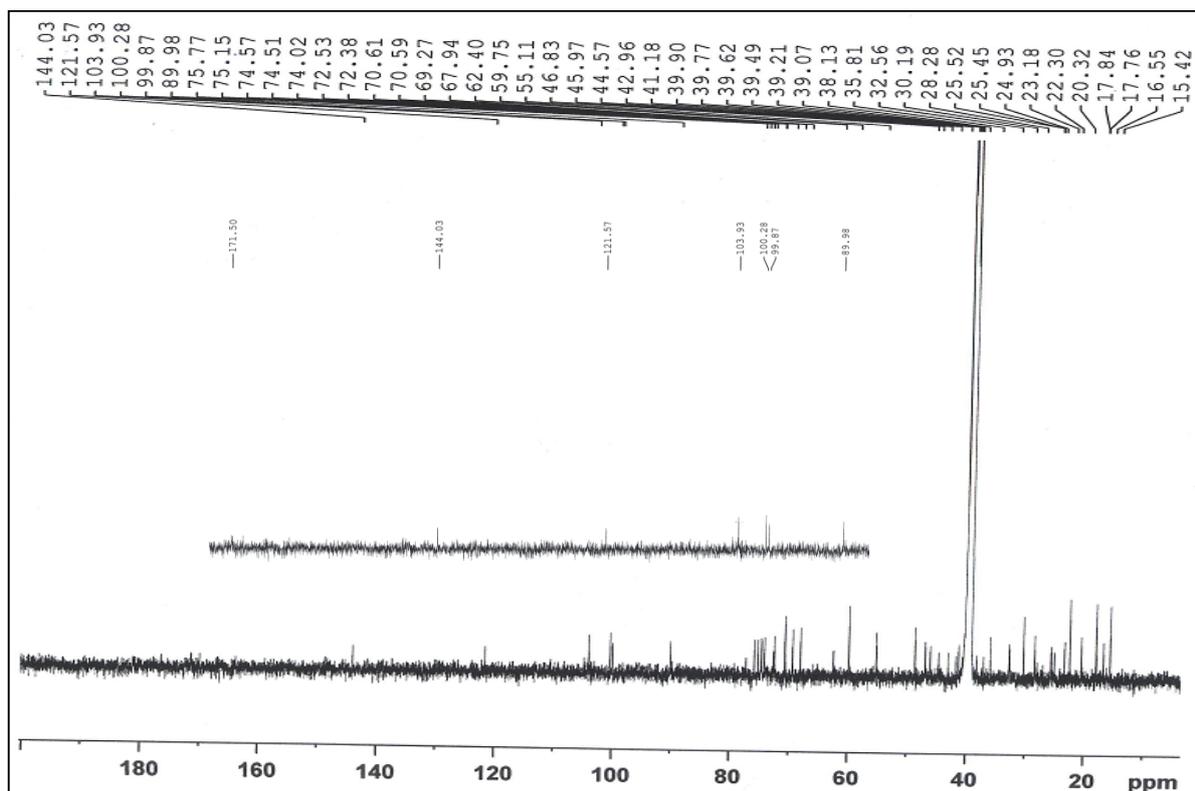


Figure 102. Spectre de RMN ^{13}C (125 MHz, DMSO- d_6) du composé ISP11.

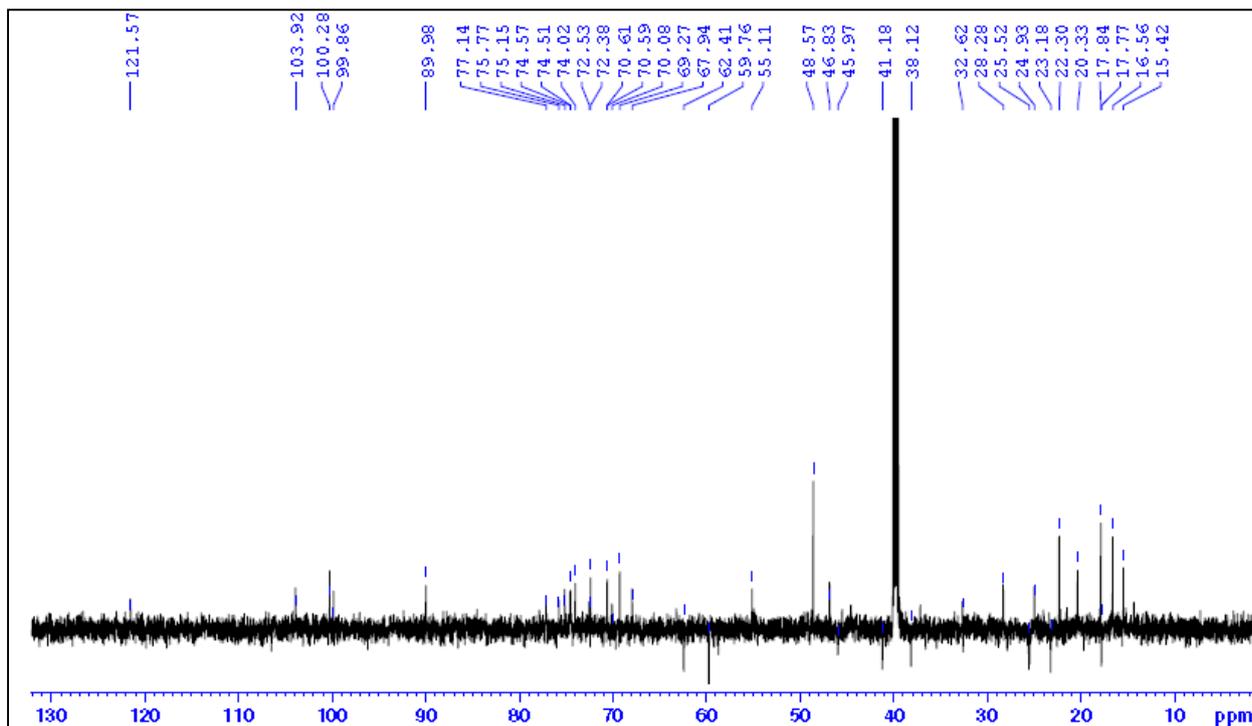


Figure 103. Spectre DEPT-135 du composé ISp11.

Les différents pics caractéristiques observés sur son spectre FAB en mode négatif à m/z 459, 633, 795 et 941 qui sont attribuables respectivement aux pics des ions pseudomoléculaires $[M-H]^-$ de la génine, de la génine liée à l'acide glucuronique, de la génine liée à la fois à l'acide glucuronique et au galactose et de la molécule qui est la génine liée à l'acide glucuronique, au galactose et au rhamnose, ont contribué à la liaison des différents fragments. Ceci en accord avec son spectre HMBC sur lequel on observe des taches de corrélations entre carbonnes et protons, dont les plus importantes (Schéma 24) sont entre:

- Le proton à δ_H 4,15 (H-1') et le carbone à δ_C 90,0 (C-3);
- Le proton à δ_H 3,48 (H-2') et les carbonnes à δ_C 99,9 (C-1'') et 103,9 (C-1');
- Le proton à δ_H 4,75 (H-1'') et le carbone à δ_C 75,1 (C-2');
- Le proton à δ_H 3,35 (H-5'') et les carbonnes à δ_C 99,9 (C-1''), 69,3 (C-4'') et 59,8 (C-6'');
- Le proton à δ_H 4,54 (H-2'') et le carbone à δ_C 100,3 (C-1''');
- Le proton à δ_H 4,93 (H-1''') et le carbone à δ_C 75,8 (C-2'');

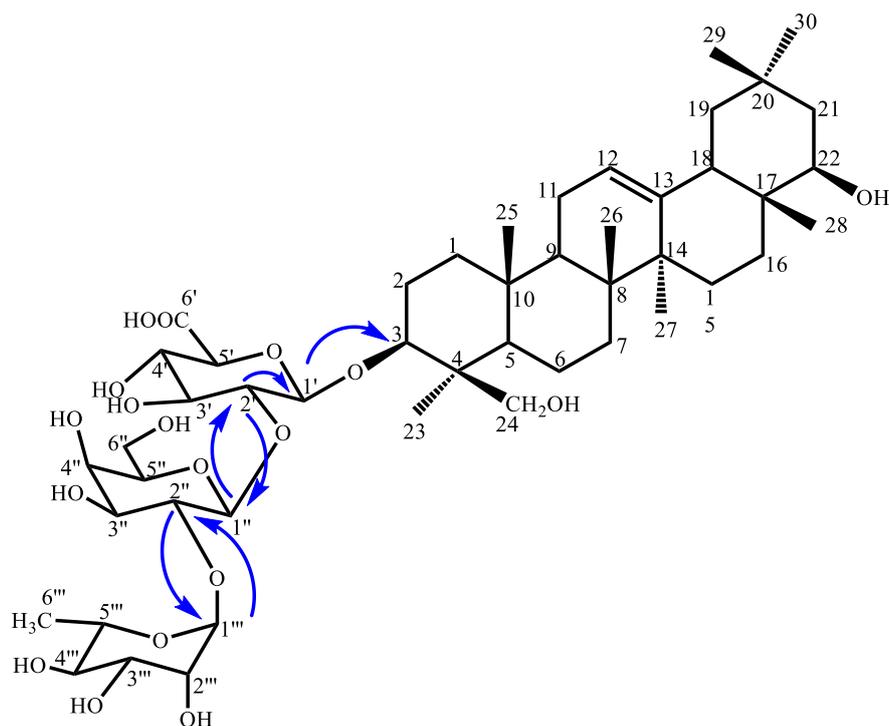


Schéma 22. Quelques corrélations HMBC du composé ISp11.

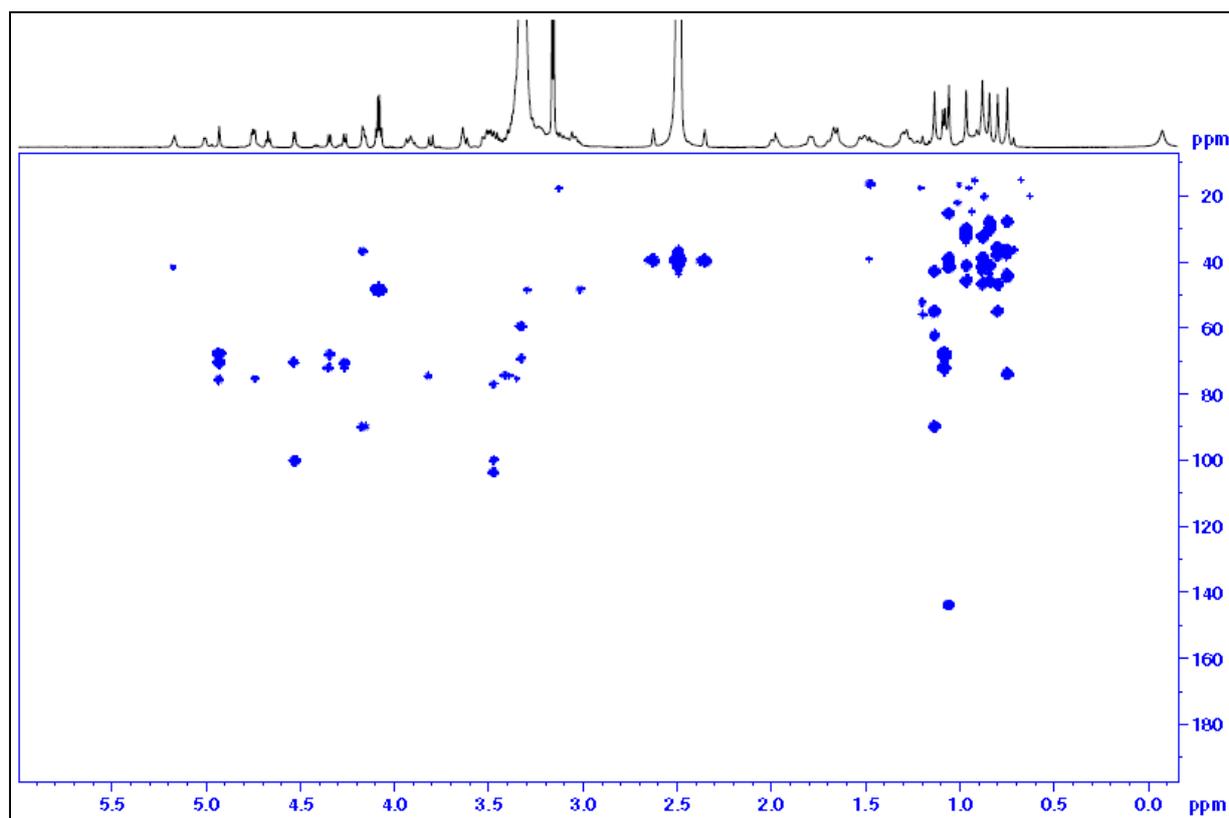
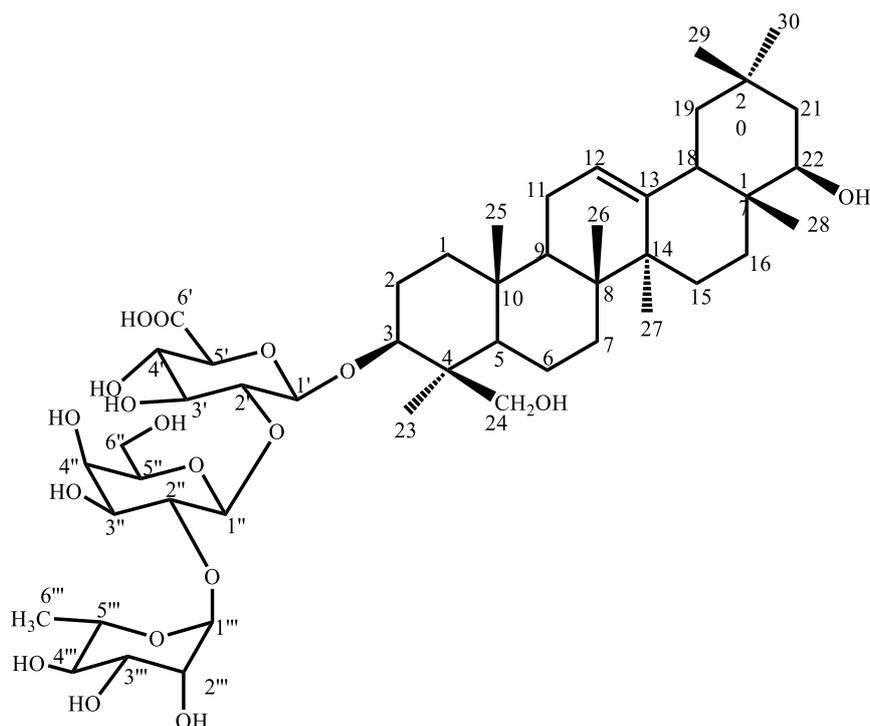


Figure 104. Spectre HMBC du composé ISp11.

L'ensemble de ces données spectrales comparées à celles rencontrées dans la littérature (Rao et al., 1985) a permis d'attribuer à ISp11 la structure (**61**) qui est celle de la Soyasaponine I.



61

Tableau 33. Comparaison des données de RMN ^{13}C (125 MHz, DMSO) de ISp11 et la Soyasaponine I (Rao et al., 1985).

N°C	Isp11	Soyasaponine I
1	38,1	38,7
2	25,5	26,7
3	90,0	91,4
4	44,6	43,9
5	55,1	56,2
6	17,7	18,6
7	32,5	33,3
8	41,6	40,0
9	48,6	47,9
10	35,8	36,5
11	23,2	24,0
12	121,6	122,7
13	144,0	145,0
14	43,0	42,4
15	25,4	26,5
16	27,9	28,7
17	37,0	38,0
18	45,9	45,4
19	46,0	46,8
20	30,2	30,9
21	41,2	42,4

22	74,0	75,7
23	22,3	23,0
24	62,4	63,7
25	15,4	15,9
26	16,6	17,0
27	24,9	25,7
28	28,3	28,7
29	32,6	33,3
30	20,3	21,1
1'	103,9	105,5
2'	75,1	77,8
3'	77,2	78,6
4'	72,6	73,9
5'	74,1	77,7
6'	171,5	172,6
1''	99,9	102,5
2''	75,8	76,7
3''	74,5	76,5
4''	69,3	71,3
5''	74,6	76,9
6''	59,8	61,9
1'''	100,3	101,9
2'''	70,5	72,4
3'''	70,6	72,9
4'''	72,4	74,4
5'''	68,0	69,5
6'''	17,8	18,9

II-1.2.9. Les acides gras

Dans le cadre de ce travail deux acides gras ont été isolés à savoir: l'acide behénique et l'eicosanoate de *n*-butyle.

II.1.2.9.1. Identification de l'acide behénique (ISp3)

Le composé ISp3 est obtenu sous forme de poudre blanche dans le mélange *n*-Hex/AcOEt 9,5:0,5 et est soluble dans le chloroforme. Sa formule brute $C_{22}H_{44}O_2$ a été déduite des analyses de ses spectres de RMN combinées à celle de son spectre de masse EI (Figure 105) qui montre le pic de l'ion moléculaire à m/z 340, ce qui correspond à un degré d'insaturation.

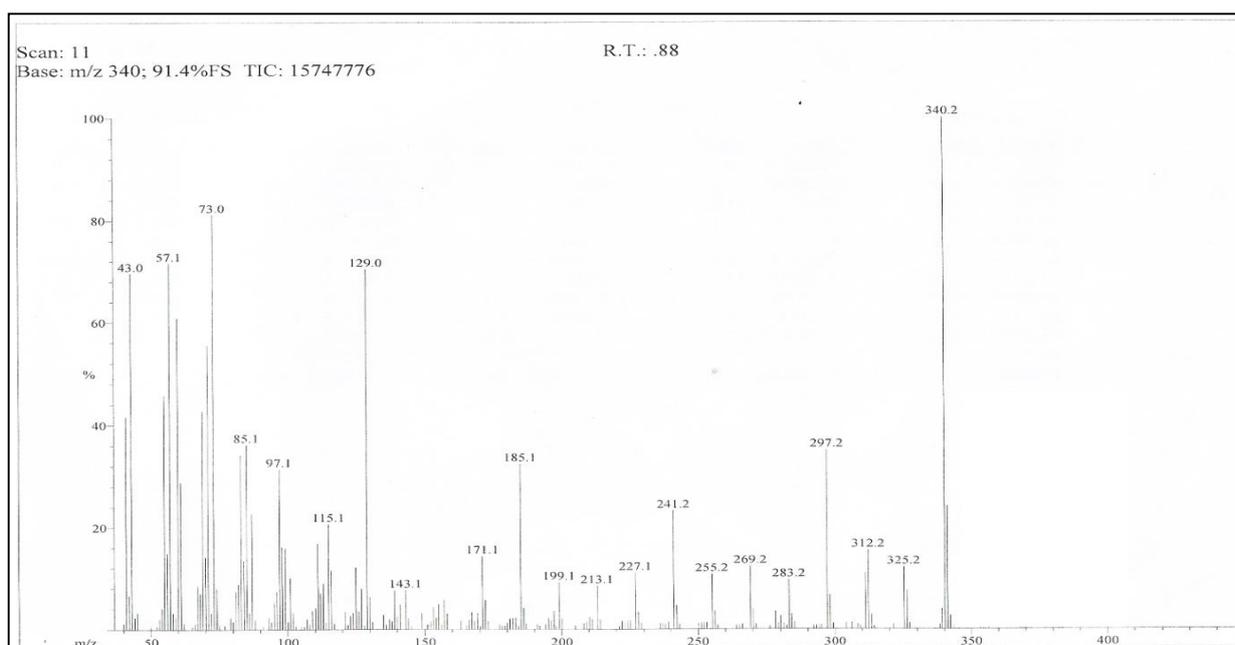


Figure 105. Spectre de masse (EI) du composé ISp3.

Le spectre de RMN ^1H de ISp3 (Figure 106) montre des signaux caractéristiques d'un méthyle terminal à δ_{H} 0,86 (3H, *t*, 7,0 Hz) et d'une longue chaîne de protons méthyléniques entre δ_{H} 1,26–1,31; ce qui a permis de suggérer qu'il s'agit d'un dérivé d'acide carboxylique.

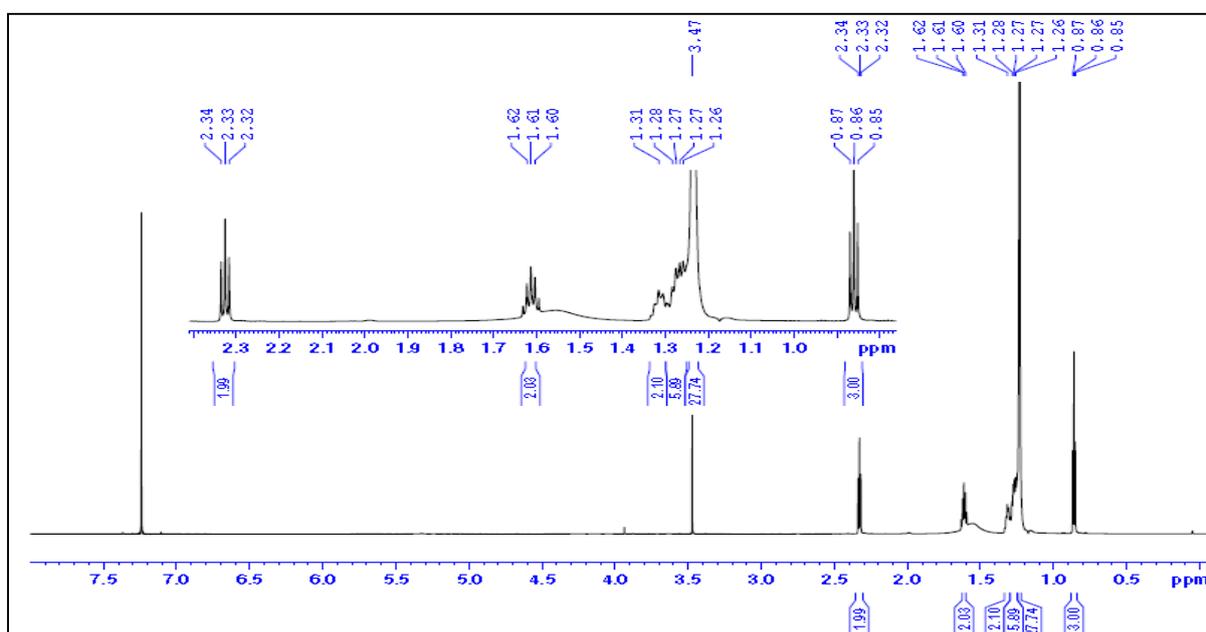


Figure 106. Spectre de RMN ^1H (800 MHz, CDCl_3) de ISp3.

La nature d'acide carboxylique est confirmée par les spectres de RMN ^{13}C (Figure 107) et DEPT-135 (Figure 108) de ISp3 qui montrent 22 signaux de carbones, repartis en:

- Un méthyle terminal à δ_{C} 14,1 ppm;
- Un amas de 20 méthylènes entre δ_{C} 22,7 et 33,7 ppm;
- Un carbonyle d'acide à δ_{C} 178,0 ppm.

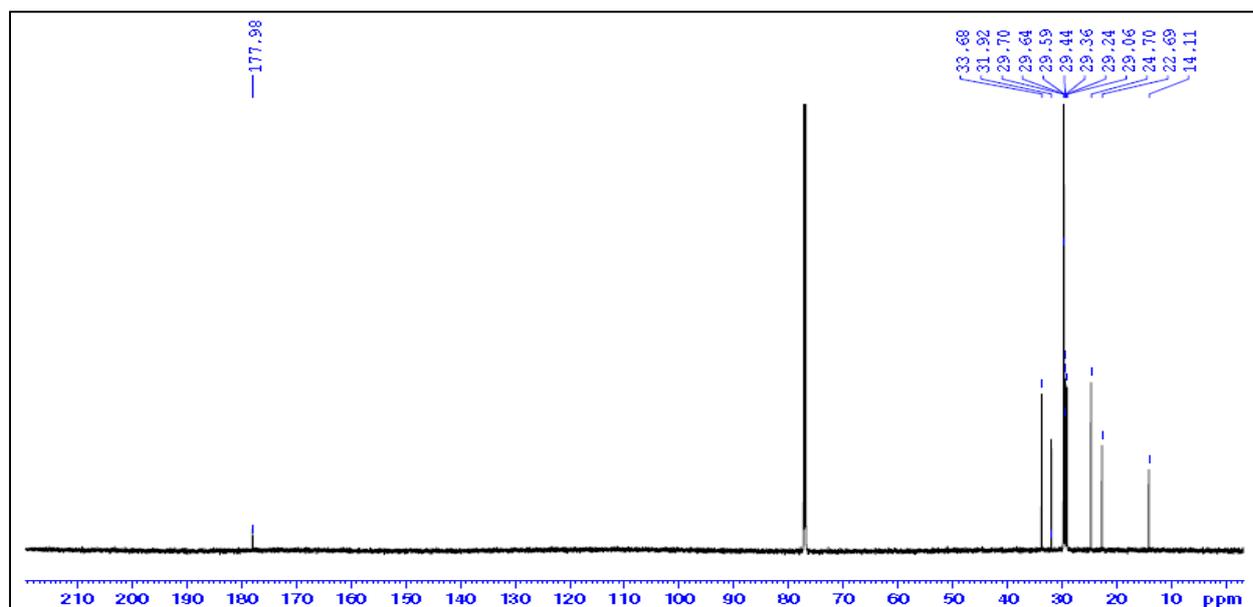


Figure 107. Spectre de RMN ^{13}C (200 MHz, CDCl_3) de ISp3.

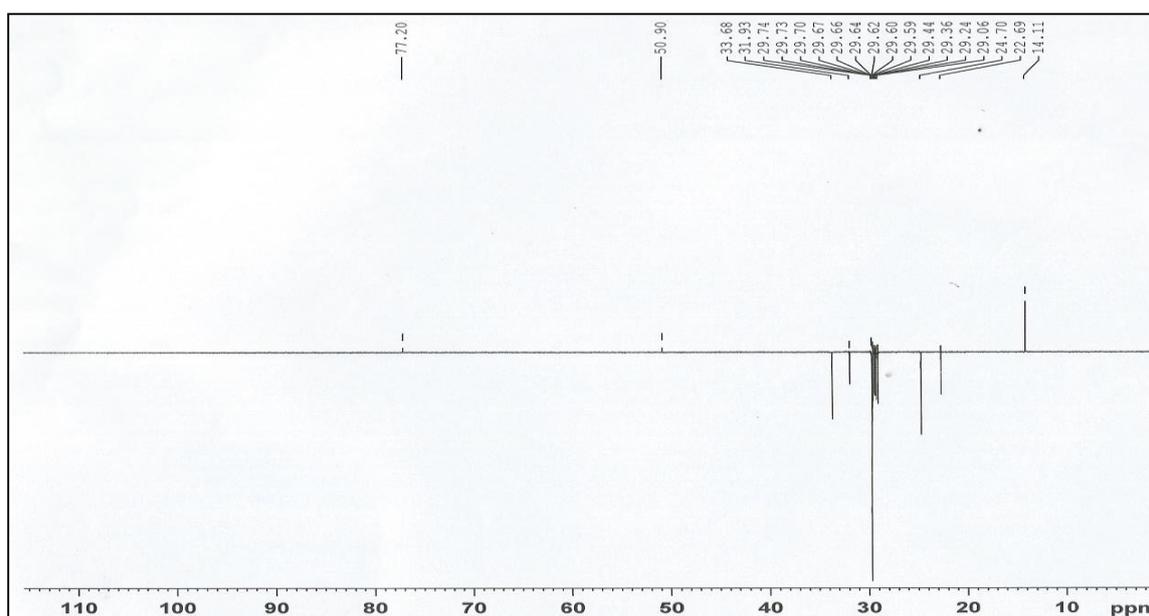


Figure 108. Spectre DEPT-135 de ISp3.

Toutes ces données spectrales comparées avec celles décrites dans la littérature ont permis d'assigner à ISp3 la structure (**62**) qui est celle de l'acide behénique (Kang *et al.*, 1996).

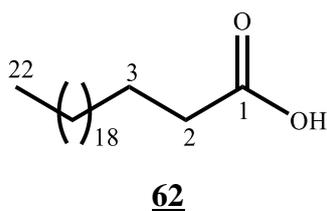


Tableau 34. Données de RMN ^1H (800 MHz, CDCl_3) et de RMN ^{13}C (200 MHz, CDCl_3) de ISp3.

N°	δ_{H} (mult.; J/Hz) en ppm	δ_{C} en ppm
1	–	178,0
2	2,33 (<i>m</i>)	33,7
3	1,61 (<i>m</i>)	31,9
4–21	1,26–1,31 (<i>sl</i>)	22,7–29,7
22	0,86 (<i>t</i> ; 7,0)	14,1

II.1.2.9.2. Identification de L'Eicosanoate de *n*-butyle (ISp4)

Le composé ISp4 est obtenu sous forme de poudre blanche dans le mélange *n*-Hex/AcOEt 8,5:1,5. Il est soluble dans le chloroforme et sa formule brute $\text{C}_{24}\text{H}_{48}\text{O}_2$ a été déduite des analyses des spectres de RMN combinées à celle de son spectre de masse EI qui montre le pic de l'ion moléculaire à m/z 368, ce qui correspond à un degré d'insaturation. On observe également sur le spectre de masse des pics caractéristiques à m/z 312, correspondant à une longue chaîne d'acide carboxylique à 20 carbones, et à m/z 73 correspondant au butanolate.

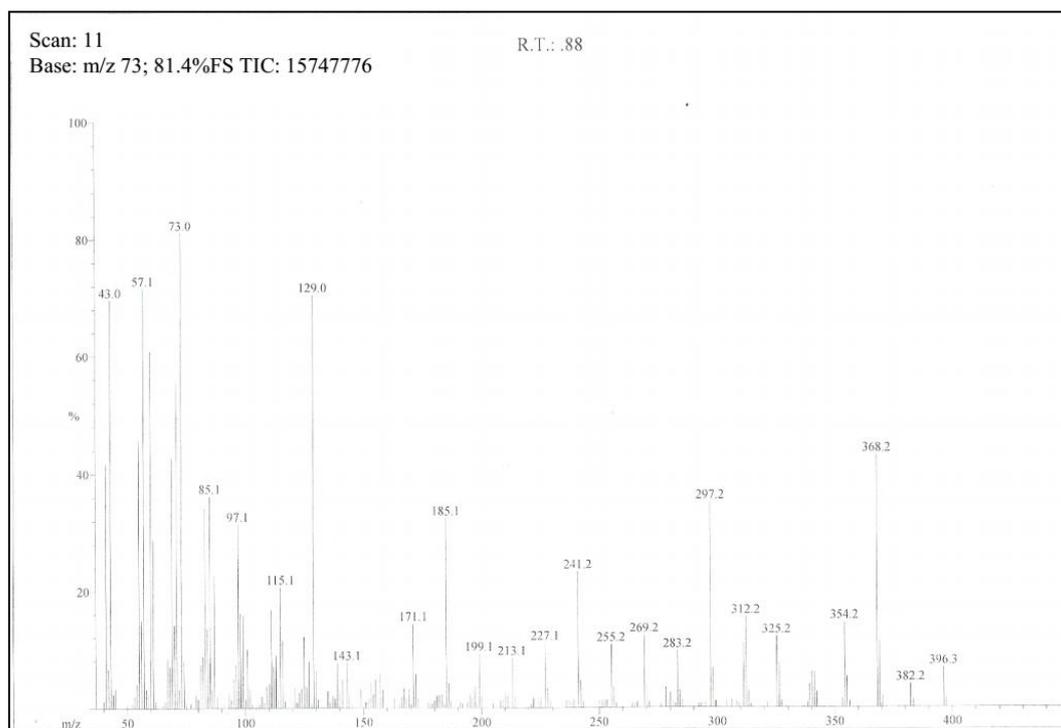


Figure 109. Spectre de masse (EI) du composé ISp4.

Sur le spectre de RMN ^1H de ISp4 (Figure 110) on observe:

- Un triplet de six protons à δ_{H} 0,86 ppm et de constante de couplage $J = 6,8$ Hz caractéristiques de deux méthyles terminaux;

- Une longue chaîne de protons méthyléniques entre δ_H 1,23 et 1,62 ppm;
- Un triplet de deux protons à δ_H 2,33 ppm et de constante de couplage $J = 7,5$ Hz, attribuable à un groupe méthylénique lié à un carbonyle;
- Un triplet de deux protons à δ_H 3,62 ppm et de constante de couplage $J = 6,6$ Hz attribuable à un méthylène lié à un oxygène.

Toutes ces données ont permis de suggérer qu'il s'agit ici d'un ester contenant une longue chaîne carbonée.

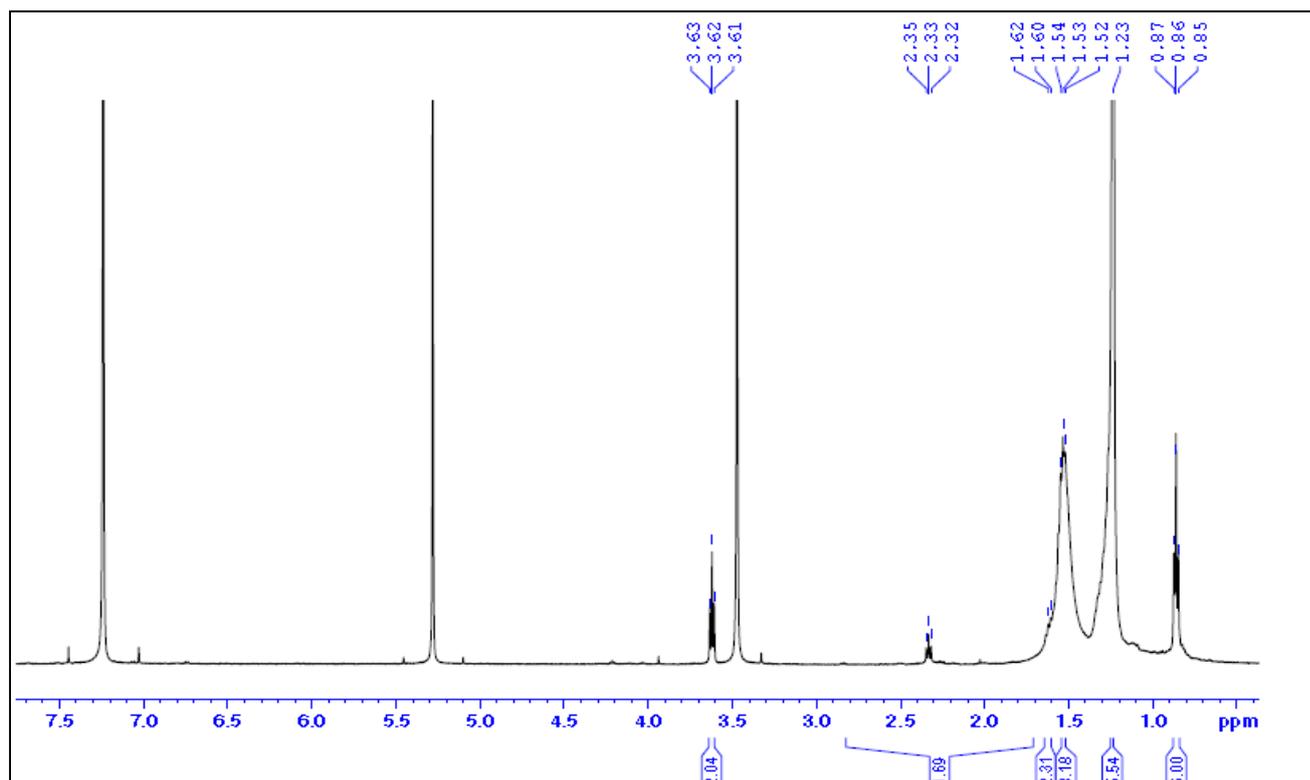


Figure 110. Spectre de RMN 1H (500 MHz, $CDCl_3$) de ISp4.

L'analyse du spectre de RMN ^{13}C (Figure 111) de ISp4 en combinaison avec son spectre DEPT-135 (Figure 112) a permis de ressortir deux méthyles terminaux à δ_C 14,0 ppm; 21 méthylènes parmi lesquels un oxyméthylène à δ_C 63,1 et un carbone quaternaire à δ_C 174,7 ppm, qui est celui du carbonyle caractéristique de l'ester.

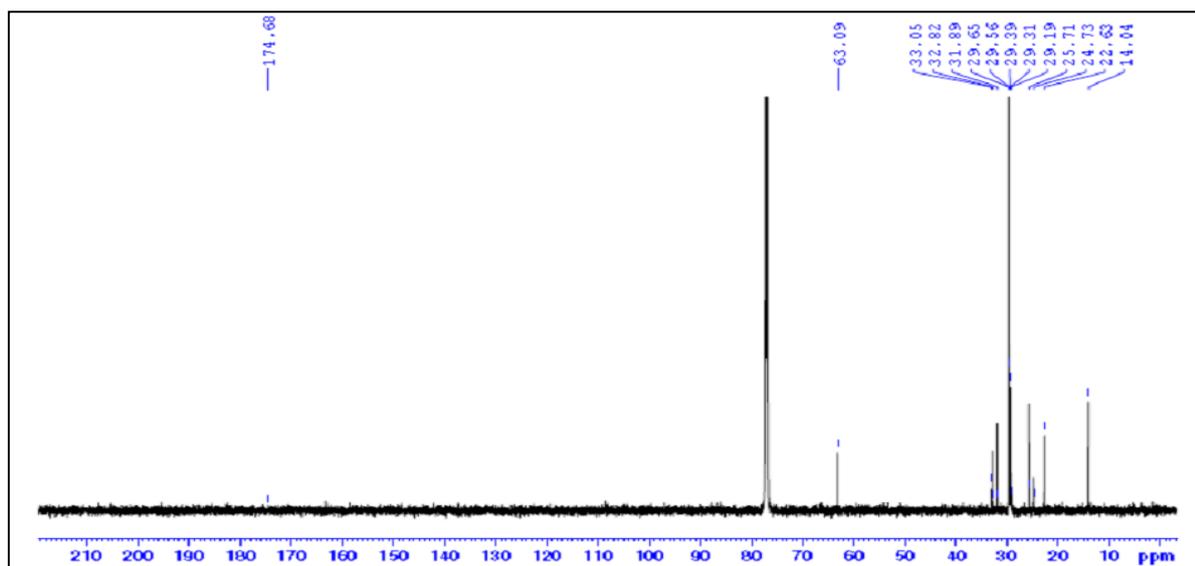


Figure 111. Spectre de RMN ^{13}C (125 MHz, CDCl_3) de ISp4.

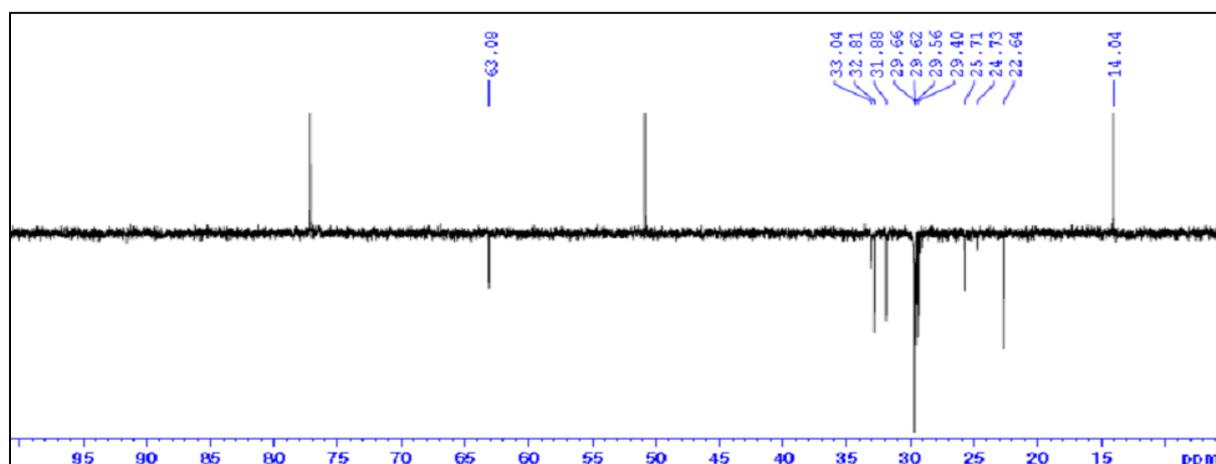


Figure 112. Spectre DEPT-135 de ISp4.

Le composé ISp4 a été complètement assigné en analysant son spectre HSQC (Figure 113) en combinaison avec son spectre HMBC (Figure 114) qui présente des tâches de corrélation (Schéma 25) entre le proton à $\delta_{\text{H/C}}$ 2,33/33,2 (H-2) avec le carbonyle de l'ester δ_{C} 174,7 et le carbone δ_{C} 24,4 (C-3). On observe également des tâches de corrélation entre le proton à $\delta_{\text{H/C}}$ 3,62/63,1 (H-1') avec les carbones des méthylènes à δ_{C} 32,8 (C-2') et 25,8 (C-3'). De plus, le signal du méthyle terminal à $\delta_{\text{H/C}}$ 0,86 ppm (H-20 et H-4') présente des tâches de corrélation HMBC avec les carbones à δ_{C} 32,8 (C-2') et 22,6 (C-19).

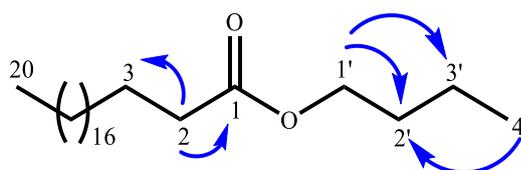


Schéma 23. Corrélations HMBC du composé ISp4.

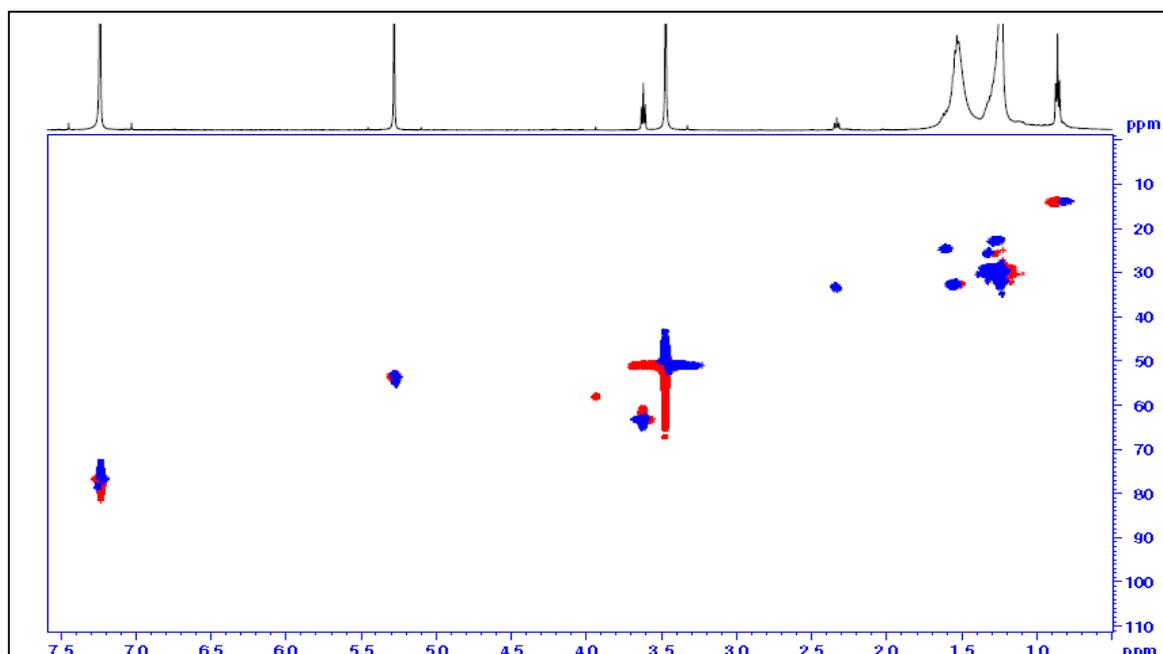


Figure 113. Spectre HMBC du composé ISp4.

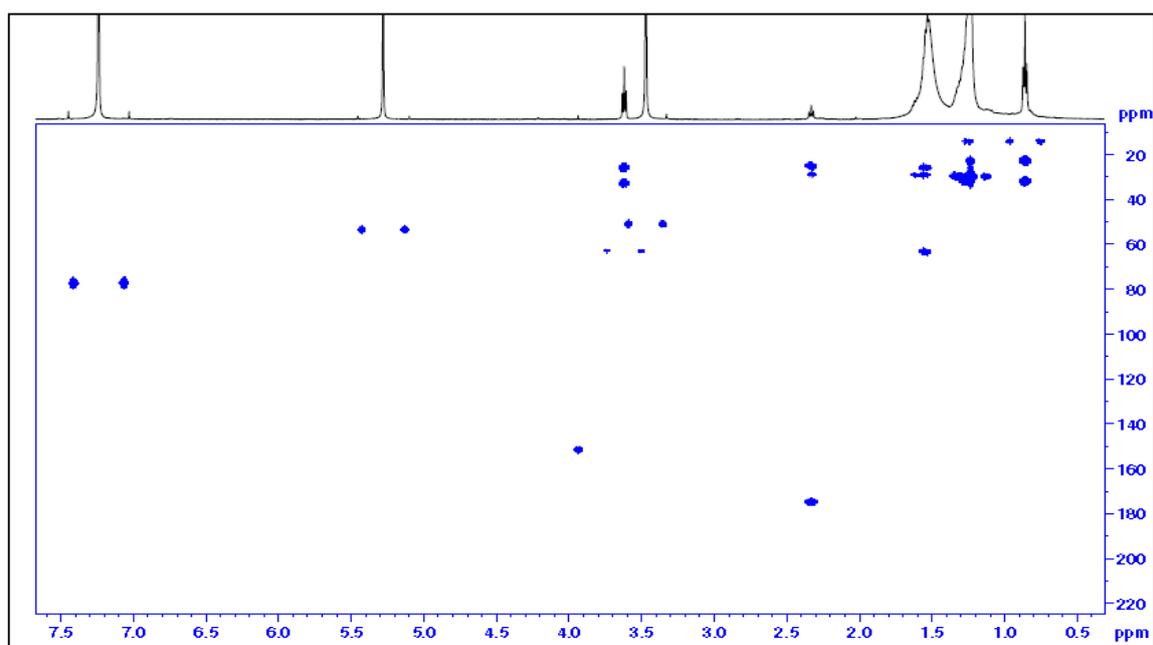


Figure 114. Spectre HMBC du composé ISp4.

L'ensemble des données spectrales de masse et de RMN, comparées avec celles décrites dans la littérature ont permis d'assigner à ISp4 la structure (**63**) qui est celle de l'Eicosanoate de *n*-butyle (Batta et al., 2002; Van os et al., 1981).

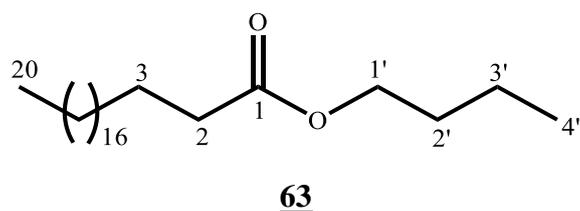


Tableau 35. Données de RMN ^1H (500 MHz, CDCl_3) et de RMN ^{13}C (125 MHz, CDCl_3) de ISp4.

N°	δ_{H} (mult.; J/Hz) en ppm	δ_{C} en ppm
1	–	174,7
2	2,33 (<i>t</i> ; 7,5)	33,0
3	1,61 (<i>m</i>)	24,7
4–19	1,23–1,62	22,6–29,7
20	0,86 (<i>t</i> ; 6,8)	14,0
1'	3,62 (<i>t</i> ; 6,6)	63,1
2'	1,53 (<i>m</i>)	32,8
3'	1,33 (<i>m</i>)	22,6
4'	0,86 (<i>t</i> ; 6,8)	14,0

II.1.3.2. Lien biogénétique entre les composés isolés de *Indigofera spicata*

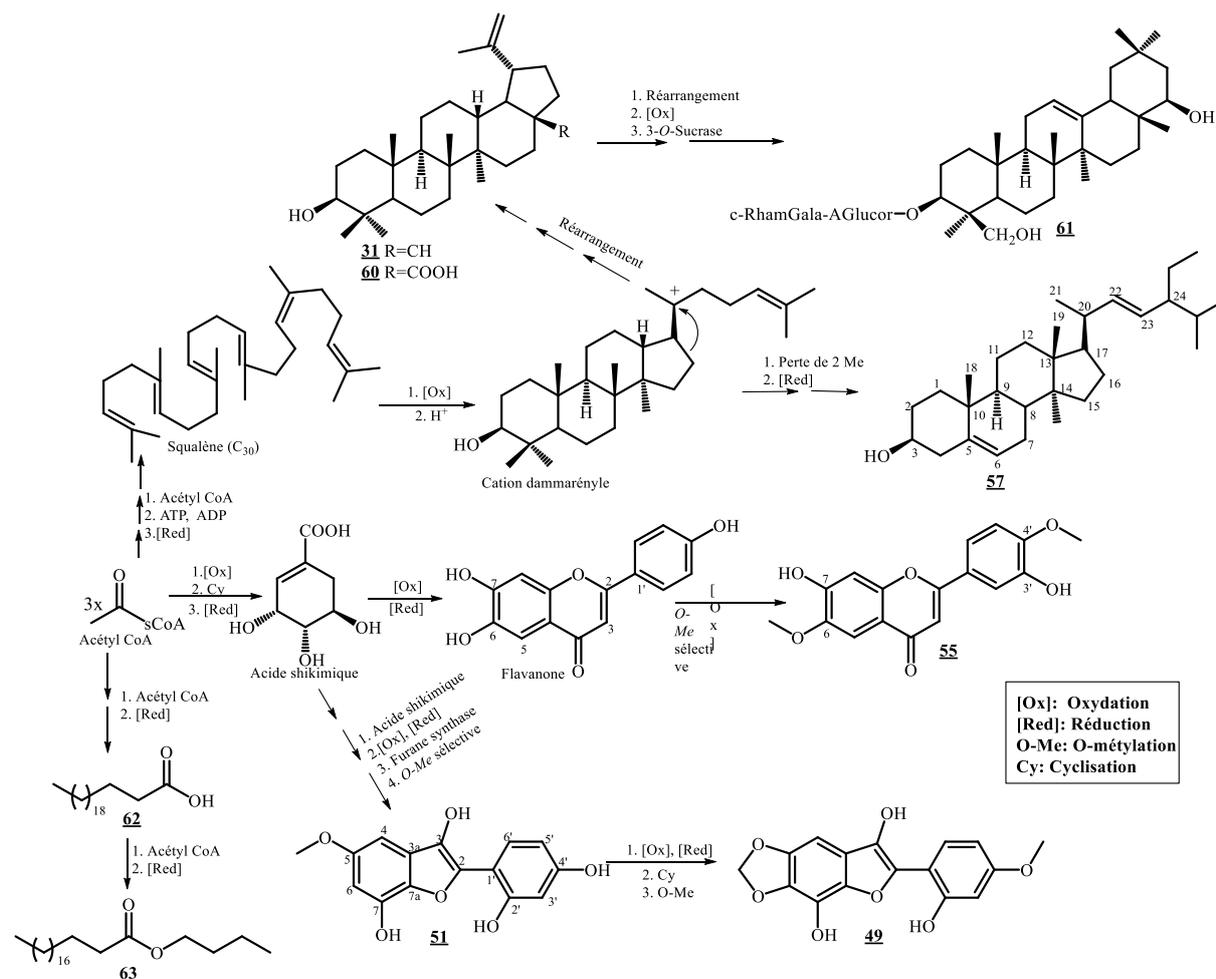


Schéma 25. Voie biosynthétique possible pour la formation des composés isolés de *Indigofera spicata*.

II.2. ETUDE BIOLOGIQUE DE QUELQUES COMPOSES ISOLES

Dans notre étude, nous avons évalué les activités antimicrobiennes et inhibitrices de l'enzyme uréase de quelques composés isolés.

II.2.1. Activités antimicrobiennes

Dix des composés isolés ont été évalués *in vitro* pour leurs activités antimicrobiennes sur les bactéries à Gram-négatif (*Pseudomonas aeruginosa*, *Escherichia coli*, *Salmonella typhi* et *Klebsiella pneumonia*) et à Gram-positif (*Streptococcus faecalis* et *Micrococcus sp*). La streptomycine a été utilisée comme contrôle positif. Les résultats obtenus sur la base de la mesure des diamètres des zones d'inhibition (DZI) autour du disque renfermant une substance active, sont consignés dans le [tableau 36](#).

Tableau 36. Diamètre des zones d'inhibition de quelques composés isolés.

Composés	Zones d'Inhibition (mm)*					
	Gram Négatif				Gram Positif	
	<i>Pa</i>	<i>Ec</i>	<i>St</i>	<i>Kp</i>	<i>Sf</i>	<i>Micrococcus</i> sp.
P-hydroxybenzaldéhyde	Nd	7 ± 0.18	nd	Nd	nd	nd
Atricephenol A	–	–	9 ± 0.11	–	–	11 ± 0.23
Maackiain	3 ± 0.36	–	13 ± 0.18	–	–	–
Génistéine	–	–	8 ± 0.24	–	–	10 ± 0.64
Stigmasterol-3-O-β-D-glucopyranoside	2 ± 0.66	nd	5 ± 0.47	Nd	12 ± 0.26	7 ± 0.65
Sitosterol-3-O-β-D-glucopyranoside	9 ± 0.29	–	9 ± 0.11	–	–	–
Bornesitol	8 ± 0.11	–	15 ± 0.27	–	–	7 ± 0.38
Spibenzofurane	7 ± 0.21	–	8 ± 0.88	–	2 ± 0.31	3 ± 0.17
7,3'-dihydroxy-6,4'-diméthoxyflavone	–	–	–	–	–	–
Soyasaponine I	12 ± 0.25	–	13 ± 0.16	–	14 ± 0.37	16 ± 0.25
Streptomycine	20 ± 0.34	22 ± 0.18	23 ± 0.12	21 ± 0.36	31 ± 0.29	25 ± 0.21

*ZI: Zone d'inhibition (incluant le diamètre du papier filtre du disque); *Pa*: *Pseudomonas aeruginosa*; *Ec*: *Escherichia coli*; *St*: *Salmonella typhi*; *Kp*: *Klebsiella pneumonia*; *Sf*: *Streptococcus faecalis*; (–): inactif; nd: non déterminé; ■ = Activité modérée; ■ = Activité significative; ■ = molécule de référence.

Il ressort de ce tableau que de tous les composés testés, seul la **soyasaponine I** a présenté une activité significative sur trois souches bactériennes : *Salmonella typhi* (ZI=13 mm), *Streptococcus faecalis* (ZI=14 mm) et *Micrococcus* sp. (ZI=16 mm). D'autres composés tels que le **maackiain** et le **bornesitol** ont également présenté une activité significative contre *Salmonella typhi* (ZI=13 et 15 mm respectivement).

La majorité des composés ont présenté des activités modérées sur cinq souches de bactéries avec les zones d'inhibition allant de 7 à 12 mm. Aucun composé n'a été actif sur la souche *Klebsiella pneumonia*.

Les résultats ainsi obtenus montrent d'une part que la saponine (Soyasaponine I) et le cyclohexanol (Bornesitol) ont présenté les plus grandes activités antibactériennes avec les diamètres d'inhibition de 16 mm et 15 mm respectivement. Ces classes des composés sont donc parmi celles qui sont responsables de l'activité antibactérienne des plantes étudiées. Leur activité pourrait être due à la présence de plusieurs groupements hydroxydes sur les cycles saturés des molécules, capables de former des complexes avec la paroi cellulaire des bactéries (Cowan, 1997).

D'autre part, l'activité significative qu'ont présentée certains des composés testés à l'égard des souches bactériennes *Salmonella typhi* et *Streptococcus faecalis* responsables des

maladies hydriques, valide partiellement les usages traditionnels des deux plantes dans le traitement de la dhiarrée. Et, l'activité significative de la Soyasaponine I contre la bactérie *Micrococcus* sp. valide aussi partiellement l'usage de *Indigofera spicata* dans le traitement de la méningite.

II.2.2. Activités d'inhibition de l'uréase

Huit des composés isolés ont été évalués in vitro pour leur propriété inhibitrice contre l'uréase (Tableau 37).

Tableau 37. Activité inhibitrice de l'uréase de quelques composés isolés.

Composés	Activité de l'inhibition de l'uréase valeurs $CI_{50} \pm SEM$ ($\mu\text{g/mL}$)
Maackiain	39.6 \pm 0.44
Sitosterol-3-O- β -D-glucopyranoside	38.6 \pm 0.93
7,3'-dihydroxy-6,4'-dimethoxyflavone	37.3 \pm 0.18
Atricephénol A	45.6 \pm 0.33
β -sitostérol	18.6 \pm 0.22
Bornesitol	19.3 \pm 0.11
Génistéine	28.9 \pm 0.25
Soyasaponine I	23.6 \pm 0.63
Thiourea	21.5 \pm 0.47

* CI_{50} = concentration du composé exerçant 50% d'inhibition, SEM = Standard Error of the Mean; = ■ Excellente Activité; ■ = bonne Activité; □ = activité modérée; ■ = molécule de référence.

Il ressort de ce tableau que tous les composés testés pour leur activité inhibitrice contre l'uréase, ont montré des activités meilleures, bonnes et modérées avec les valeurs de CI_{50} comprises entre 45,6 et 18,6 $\mu\text{g/mL}$ comparés à l'activité de la thiourée dont la valeur de CI_{50} est 21,5 $\mu\text{g/mL}$. Il s'agit plus précisément :

- Du **β -sitostérol** et du **bornesitol** qui présentent une activité inhibitrice meilleure que celle la thiourée avec les valeurs de CI_{50} de 18,6 et 19,3 $\mu\text{g/mL}$ respectivement;
- De la **génistéine** et de la **Soyasaponine I** qui ont une bonne activité inhibitrice avec les valeurs de CI_{50} à 28,9 et 23,6 $\mu\text{g/mL}$ respectivement;

Ce pendant, l'**Atricephénol A**, le **maackiain**, le **3-O- β -D-glucopyranoside de β -sitostérol** et la **7,3'-dihydroxy-6,4'-dimethoxyflavone** ont montré une activité inhibitrice modérée avec les valeurs de CI_{50} de 45,6; 39,6; 38,6 et 37,3 $\mu\text{g/mL}$ respectivement.

Les différentes données obtenues au cours de cette analyse montrent que les composés hydroxylés sont en majorité responsables de l'activité d'inhibition de l'uréase. Ceci pourrait être dû à la liaison monodentate via l'atome d'oxygène de la molécule sur les atomes de nickel de l'uréase (Manunza et al., 1999 ; Stemmler et al., 1995).

De nos jours les infections causées par les bactéries constituent un problème de santé publique important dans le monde et particulièrement en Afrique à cause d'une part de la forte prévalence et d'autre part à cause de la résistance croissante aux antibiotiques existants. Les résultats de ces études sont très encourageants dans l'optique de la découverte de nouveaux principes actifs antibactériens et inhibiteurs de l'uréase d'origine végétale. Cependant l'évaluation de la cytotoxicité des composés actifs constitue notre prochain objectif afin d'évaluer leur efficacité.

CONCLUSION ET PERSPECTIVES

Ce travail avait pour but, l'étude chimique et l'évaluation des activités antimicrobienne et inhibitrice de l'enzyme uréase, des constituants de deux plantes médicinales camerounaises, *Indigofera atriceps* et *Indigofera spicata* (Fabaceae), utilisées dans le traitement des infections microbiennes.

L'objectif visé étant l'obtention à partir des extraits de ces plantes, des molécules bioactives pouvant être utilisées ou servir de point de départ pour l'élaboration de nouveaux médicaments.

L'étude phytochimique des extraits de ces deux plantes a conduit à l'isolement de 22 composés dont les structures ont été élucidées à l'aide des techniques spectroscopiques usuelles (UV, IR, spectrométrie de masse, RMN 1D et RMN 2D). et repartis en onze familles différentes. Il s'agit de:

- Deux benzaldéhydes: le parahydroxybenzaldéhyde (**46**) et l'atricephenol A (**44**) qui est un dérivé décrit pour la première fois;
- Un stilbénol: l'atricephenol B (**48a**) qui est un dérivé nouveau;
- Deux benzofuranes: la spibenzofurane (**51**) qui est un dérivé décrit pour la première fois et la 2-(2'-hydroxy-4'-methoxyphenyl)-5,6-methylenedioxybenzofurane (**49**) isolé pour la première fois de la famille des Fabaceae;
- Trois pterocarpanes: le maackiain (**54**) et les melilotocarpanes A et D (**53**, **52**) isolés pour la première fois du genre *Indigofera*;
- Deux flavonoïdes: la genisteine (**17**) et la 7,3'-dihydroxy-6,4'-diméthoxyflavone (**55**) qui est isolée pour la première fois de la famille des Fabaceae;
- Quatre stéroïdes: le β -sitostérol (**32**), le stigmastérol (**57**), 3-O- β -D-glucopyranoside de β -sitostérol (**58**) et 3-O- β -D-glucopyranoside de stigmastérol (**59**);
- Un cyclohexanol: le bornesitol (**56**) isolé pour la première fois du genre *Indigofera*;
- Deux triterpènes pentacycliques: le lupéol (**31**) et l'acide bétulinique (**60**);
- Une saponine: la soyasaponine I (**61**) qui est isolé pour la première fois du genre *Indigofera*;
- Deux acides gras: l'acide behénique (**62**) et l'Eicosanoate de n-butyle (**63**) isolés pour la première fois du genre *Indigofera*;
- Un phtalate: le dipentyl phtalate (**45**) isolé pour la première fois du genre *Indigofera*.

Les composés isolés des deux plantes ont été évalués pour leurs propriétés antimicrobiennes à l'égard de six souches bactériennes (*Pseudomonas aeruginosa*; *Escherichia coli*; *Salmonella typhi*; *Klebsiella pneumonia*; *Streptococcus faecalis*; et *Micrococcus* sp) et pour leurs propriétés inhibitrices de l'uréase.

Il ressort de ces tests que de tous les composés testés pour leurs propriétés antimicrobiennes, seule la Soyasaponine I (**61**) a présenté une activité significative sur trois souches bactériennes: *Salmonella typhi* (ZI=13 mm), *Streptococcus faecalis* (ZI=14 mm) et *Micrococcus* sp. (ZI=16 mm). D'autres composés tels que la maackiain (**54**) et le bornesitol (**56**) ont également présenté une activité significative contre *Salmonella typhi* (ZI=13 et 15 mm respectivement).

En ce qui concerne les propriétés inhibitrices de l'uréase, il ressort que le β -sitostérol (**32**) et le bornesitol (**56**) présentent une activité inhibitrice meilleure que celle de la référence (la thiourée de CI_{50} 21.5 $\mu\text{g/mL}$) avec les valeurs de CI_{50} de 18,6 et 19,3 $\mu\text{g/mL}$ respectivement. Par contre la génistéine (**17**) et la Soyasaponine I (**61**) ont une bonne activité inhibitrice avec les valeurs de CI_{50} à 28,9 et 23,6 $\mu\text{g/mL}$ respectivement.

Les résultats obtenus au cours de ces travaux mettent en exergue la diversité structurale des constituants de *Indigofera atriceps* et *Indigofera spicata* (Fabaceae), ainsi que les activités antimicrobiennes et inhibitrices de l'uréase de certains de leurs métabolites secondaires. Ils valident partiellement les usages traditionnels des plantes étudiées et contribuent à la valorisation de la biodiversité Camerounaise.

Dans le but de rechercher de nouvelles activités ou de potentialiser celles déjà existantes, nous nous proposons en perspective:

- De soumettre certains composés isolés à d'autres tests biologiques;
- D'optimiser l'isolement de certains composés afin d'effectuer des modifications structurales et d'autres tests biologiques;
- D'étudier la cytotoxicité des composés bioactifs afin d'évaluer leur efficacité.

CHAPITRE III : PARTIE EXPERIMENTALE

III.1 APPAREILLAGE ET MATERIEL VEGETAL

III.1.1 Appareillage

Les spectres IR ont été enregistrés sur un spectrophotomètre de type Shimadzu FT-IR-8900 (Kyoto, Japon).

Les données spectrales UV ont été obtenues sur un spectromètre à balayage de type UV-vis Thermo Scientific Evolution 300.

Les pouvoirs rotatoires ont été enregistrés sur un polarimètre numérique de type JASCO P-2000.

Les spectres CD ont été obtenus sur un spectropolarimètre de type JASCO J-810.

Les spectres de Mass en Impact Electronique (EI-MS) ont été enregistrés sur un spectromètre de Masse de type JOEL JMS-600. Les spectres de masse à haute résolution en Impact Electronique (HREI-MS) ont été enregistrés sur un spectromètre de Masse de type Finnigan MAT-95 (Thermo Finnigan MAT GmbH ; Brème, Allemagne) en utilisant une énergie d'ionisation de 70 eV.

Les spectres de masse en ElectroSpray Ionisation (ESI) ont été enregistrés sur un spectromètre à piège d'ions de type AMAZON Speed (Bruker Daltonics), en utilisant l'azote gazeux à 4500 Volts. Les spectres de masse à haute résolution ESI (HRESI-MS) quant à eux ont été enregistrés sur un spectromètre de type AMAZON Speed Q-Tof, en utilisant l'azote gazeux à 4500 Volts.

Les spectres de RMN ^1H et ^{13}C ont été enregistrés à l'aide des spectromètres de type Bruker Advance à 400, 500 et 600 MHz. Les déplacements chimiques sont exprimés en parties par million (ppm) à partir du tétraméthylsilane (TMS) comme standard (référence) interne.

Les spectres HMBC, HMQC, NOESY et COSY ont été enregistrés avec les séquences d'impulsions usuelles.

Les constantes de couplage J sont exprimées en hertz.

Les chromatographies sur colonnes ont été réalisées avec du gel de silice de type 60 F₂₅₄ et 100 (Merck, Darmstadt, Allemagne).

Les chromatographies sur couche mince préparative ont été réalisées sur les plaques en verre (Uniplate; 20 x 20 cm; Analtech, Inc., Newark, DE, USA) d'épaisseur 1500 μm et recouverte de gel silice de type G et les chromatographies sur couche mince analytique ont été réalisées sur des plaques d'aluminium préfabriquées recouvertes de gel de silice de type 60 F₂₅₄ (Merck, Darmstadt, Allemagne). Les taches (spots) ont été détectées avec la lampe UV

(254 et 366 nm) et révélées par pulvérisation de l'acide sulfurique dilué à 50%. Les plaques sont pulvérisées sous la hotte et calcinées à l'étuve à une température d'environ 100 °C.

III.1.2. Matériel végétal

Les plantes entières de *I. atriceps* et de *I. spicata* ont été récoltées à Koutaba (Région de l'Ouest Cameroun) en Mars 2018 et ont été identifiées par M. Victor NANA, botaniste à l'Herbier National du Cameroun où les échantillons de ces plantes ont été enregistrés et conservés sous les numéros 41126/HNC pour *I. atriceps* et 35294/HNC pour *I. spicata*.

III.2. EXTRACTION ET ISOLEMENT DES COMPOSES

III.2.1. Extraction et isolement des composés de *I. atriceps*

La plante entière de *I. atriceps*, séchée et broyée en poudre (3,8 kg), a été extraite par macération avec le mélange CH₂Cl₂/MeOH (1:1) trois fois toutes les 24 heures. Le filtrat obtenu a été concentré à l'aide d'un évaporateur rotatif et a donné 360,7 g d'extrait brut.

III.2.1.1. Chromatographie de l'extrait brut

Une partie de l'extrait brut (350 g) a été soumise à une chromatographie liquide sous vide (VLC) et sur gel de silice et éluée tour à tour avec le *n*-hexane (*n*-Hex), Chlorure de méthylène (CH₂Cl₂), l'acétate d'éthyle (AcOEt), *n*-butanol et l'eau. La partition au Chlorure de méthylène (182,4 g), choisie sur la base de la CCM, a été soumise à une chromatographie sur Colonne (CC) sur gel de silice et éluée avec des mélanges de *n*-Hex/AcOEt de polarité croissante (0-100%) pour donner un total de 66 fractions d'environ 500 mL chacune. Ces fractions ont été regroupées en sept fractions principales sur la base de l'analyse CCM: A (8,6 g, *n*-hex 100%) B (13,6 g, *n*-hex/AcOEt 9:1), C (38,5 g *n*-Hex/AcOEt 8:2), D (16,8 g *n*-hex/AcOEt 7,5:2,5–7:3), E (28,9 g, *n*-hex/AcOEt 6:4–1:1), F (14,9 g *n*-Hex/AcOEt 3:7–2:8) et G (25,3 g, AcOEt pure). Toutes ces fractions, en dehors des fractions A et G qui sont des mélanges très complexes, ont été traitées. Le [tableau 38](#) suivant présente le chromatogramme du fractionnement de la partition au CH₂Cl₂.

Tableau 38. Chromatogramme de la partition au CH₂Cl₂ de *I. atriceps*.

N° flacons	Éluant	Séries	Remarques
1–6	<i>n</i> -hex 100%	A (8,6 g)	Mélange d'huile complexe
1–10	<i>n</i> -hex/AcOEt (9:1)	B (13,6 g)	deux tâches majeures (Orange et Violette)
11–25	<i>n</i> -hex/AcOEt (8:2)	C (38,5 g)	Mélange d'au moins 5 composés
26–35	<i>n</i> -hex/AcOEt (7,5:2,5–7:3)	D (16,8 g)	deux tâches majeures (Orange et jaune)
36–45	<i>n</i> -hex/AcOEt (6:4–1:1)	E (28,9 g)	Mélange d'au moins 3 composés
46–55	<i>n</i> -hex/AcOEt (3:7–2:8)	F (14,9 g)	Mélange d'au moins 2 composés
56–60	AcOEt (100%)	G (25,3 g)	Mélange complexe

III.2.1.2. Traitement de la Série B

La série B (13,6 g, *n*-hex/AcOEt 9:1), dissoute dans le CH₂Cl₂ puis fixée sur 15 g de silice, a été traitée par Chromatographie sur colonne avec gel de silice. L'élution s'est faite de façon isocratique avec un mélange de *n*-Hex/AcOEt 9:1 et des fractions de 50 mL sont recueillies et regroupées sur la base de la CCM. Les résultats sont présentés sur le chromatogramme du [tableau 39](#) suivant.

Tableau 39. Chromatogramme du traitement de la Série B.

Fractions	CCM + observations
1–10	Mélange de produits de Rf très proches
11–25	Mélange de 3 produits contenant IAB1 qui précipite
26–40	Mélange de produits contenant IAB2 qui précipite
41–50	Trainée sur la plaque contenant quelques traces de IAB2
51–70	Trainée sur la plaque

Après filtration des fractions contenant des précipités, nous avons obtenus les produits IAB1 (3,0 mg) et IAB2 (3,2 mg).

III.2.1.3. Traitement de la Série C

La fraction C (38,5 g, *n*-Hex/AcOEt 8:2) est dissoute dans du méthanol puis fixée dans 45 g de silice et traitée dans une colonne chromatographique contenant de la silice. L'élution s'est faite avec le mélange CH₂Cl₂/MeOH de polarité croissante (De 1:0 à 8:2) et 120 fractions de 150 mL chacune ont été recueillies et regroupées sur la base la CCM. Les résultats sont consignés dans le [tableau 40](#) suivant.

Tableau 40. Chromatogramme du traitement de la Série C.

Eluant	fractions	CCM + observations
CH ₂ Cl ₂ 100%	1–20 (C _I)	Mélange de produits dont IAB3 majoritaire
CH ₂ Cl ₂ /MeOH 39:1	21–45 (C _{II})	Mélange de 3 produits dont IAB4, tâche majeure
CH ₂ Cl ₂ /MeOH 38:2	46–70 (C _{III})	Mélange présentant plusieurs tâches de Rf très proches
CH ₂ Cl ₂ /MeOH 37:3	71–90 (C _{IV})	Mélange d'au moins 4 produits dont IAB5 et IAB6
CH ₂ Cl ₂ /MeOH 9:1	91–105 (C _V)	Mélange d'au moins 3 produits dont IAB7
CH ₂ Cl ₂ /MeOH 34:6	106–115 (C _{VI})	Trainée sur la plaque
CH ₂ Cl ₂ /MeOH 8:2	116–1120 (C _{VII})	Trainée sur la plaque

Le traitement de la sous-fraction C_I (3,2 g) dans une petite colonne silice, élue isocratiquement avec le CH₂Cl₂ pur, a permis d'obtenir le composé IAB3 (2,3 mg).

Après traitement de la sous-fraction C_{II} (8,2 g) au Sephadex LH-20, éluée au MeOH pur, nous avons obtenu le composé IAB4 (7.2 mg).

La sous fraction C_{IV} (12,5 g) traitée dans une petite colonne de silice, éluée au mélange CH₂Cl₂/MeOH de polarité croissante, a permis d'obtenir après purification les composés IAB5 (6.0 mg) et IAB6 (3,4 mg).

Traitée sur Sephadex LH-20 (éluée au MeOH pur), la sous-fraction C_V (9,3 g) nous permet d'obtenir le composé IAB7 (2,4 mg).

III.2.1.4. Traitement de la Série D

La fraction D (16,8 g, *n*-Hex/AcOEt 7,5:2,5–7:3) dissoute dans le Méthanol et fixée sur 20 g de silice, a été traitée dans une colonne de silice. L'éluion s'est faite avec un mélange de CH₂Cl₂/MeOH de polarité croissante. Un total de 80 fractions de 150 mL chacune a été collecté et regroupé sur la base d'une CCM en quatre séries D_{I-IV}, comme le montre le chromatogramme du [tableau 41](#) suivant.

Tableau 41. Chromatogramme du traitement de la Série D.

Eluant	fractions	CCM + observations
CH ₂ Cl ₂ 100%	1–25 (D _I)	Mélange de 3 produits dont IAB8 majoritaire
CH ₂ Cl ₂ /MeOH 49:1	26–45 (D _{II})	Mélange de produits dont IAB9, tâche majeure
CH ₂ Cl ₂ /MeOH 48:2	46–60 (D _{III})	Mélange présentant plusieurs tâches de R _f très proches
CH ₂ Cl ₂ /MeOH 47:3–9:1	61–80 (D _{IV})	Trainée sur la plaque

La série D_I (900 mg), après traitement sur une plaque en verre de CCM préparative, permet d'obtenir le composé IAB8 (5,0 mg).

Après chromatographie sur colonne de gel de silice de la série D_{II} (6,4 g), éluée isocraquement au CH₂Cl₂ pur, on obtient le produit IAB9 (3,2 mg).

III.2.1.5. Traitement de la Série E

La Fraction E (28,9, *n*-Hex/AcOEt 6:4–1:1) a été traitée sur colonne de silice en éluant avec le mélange *n*-Hex/AcOEt de polarité croissante (4:1–0:1). Ceci a permis d'obtenir des cristaux aux polarités 7:13 et 4:6 qui, après lavage et purification on a obtenu respectivement les composés IAB10 (10 mg) et IAB11 (9,8 mg).

III.2.1.6. Traitement de la Série F

Après traitement de la Fraction F (14,9 g, *n*-Hex/AcOEt 3:7–2:8) sur colonne de silice, éluée au mélange AcOEt /MeOH de polarité croissante (1:0–4:1), on a obtenu à la polarité 37:3, un depot de cristaux blancs qui après lavage au méthanol et filtrage, nous a permis d'obtenir le composé IAB12 (20,4 mg).

III.2.2. Extraction et isolement des composés de *I. spicata*

La plante entière de *I. spicata*, séchée et broyée en poudre (2,5 kg), a été extraite par macération avec le mélange CH₂Cl₂/MeOH (1:1) trois fois toutes les 48 heures. Le filtrat obtenu a été concentré à l'aide d'un évaporateur rotatif et a donné 175 g d'extrait brut.

III.2.2.1. Chromatographie de l'extrait brut

Une partie de l'extrait brut (170 g) a été soumise à une chromatographie flash sur gel de silice et éluée avec des mélanges de *n*-Hex/AcOEt de polarité croissante (0-100%) pour donner un total de 110 fractions d'environ 150 mL chacune. Ces fractions ont été regroupées sur la base de l'analyse CCM en cinq séries principales: **I** (20 g, *n*-hex pure), **II** (22,6 g, *n*-Hex/AcOEt 9:1–8:2), **III** (30 g, *n*-Hex/AcOEt 7:3–6:4), **IV** (31 g, *n*-Hex/AcOEt 1:1) et **V** (48 g, AcOEt 100%). Toutes ces séries, en dehors de la série I qui est un mélange d'huile complexe, ont été traitées. Le [tableau 42](#) suivant présente le chromatogramme du dégrossissement de l'extrait brut.

Tableau 42. Chromatogramme de l'extrait brut de *I. spicata*.

Fractions	Éluant	Séries	Observations
1–15	<i>n</i> -Hex 100%	I (10 g)	Mélange d'huile complexe
16–40	<i>n</i> -Hex/AcOEt (9:1–8:2)	II (12,6 g)	Mélange d'au moins 4 composés
41–60	<i>n</i> -Hex/AcOEt (7:3–6:4)	III (15 g)	Mélange d'au moins 3 composés
61–100	<i>n</i> -Hex/AcOEt (1:1)	IV (21 g)	Mélange d'au moins 4 composés
101–110	AcOEt (100%)	V (8 g)	Tâche jaune majeure

III.2.2.2 Traitement de la série II

La série **II** (12,6 g, *n*-Hex/AcOEt 9:1–4:1), dissoute dans le méthanol puis fixée sur 15 g de silice, a été traitée par Chromatographie sur colonne avec gel de silice. L'éluion s'est faite avec le mélange de *n*-Hex/AcOEt de polarité croissante (de *n*-Hex 100% à *n*-Hex/AcOEt 1:1) et des fractions de 150 mL sont recueillies et regroupées sur la base de la CCM. Les résultats sont présentés sur le chromatogramme du [tableau 43](#) suivant.

Tableau 43. Chromatogramme du traitement de la série II.

Éluant	Fractions	Observations
<i>n</i> -Hex 100%	1–10	Mélange d'huile complexe
<i>n</i> -Hex/AcOEt (9,5:0,5–9:1)	11–40	deux tâches majeures dont ISp1 et ISp2 qui précipitent
<i>n</i> -Hex/AcOEt (8,5:1,5–8:2)	41–55	Mélange de composés dont ISp3 et ISp4 qui précipitent
<i>n</i> -Hex/AcOEt (7,5:2,5–7:3)	56–75	Mélange de produits de Rf très proche
<i>n</i> -Hex/AcOEt (6:4–1:1)	76–90	Trainée sur la plaque

Après filtration et lavage des différentes fractions contenant des précipités, nous avons obtenu les produits ISp1 (5,6 mg), ISp2 (3,0 mg), ISp3 (3,4 mg) et ISp4 (3,0 mg).

III.2.2.3 Traitement de la série III

La série III (15 g, *n*-Hex/AcOEt 7:3–6:4), dissoute dans le méthanol puis fixée sur 20 g de silice, a été traitée par Chromatographie sur colonne avec gel de silice. L'élution s'est faite isochratiquement en utilisant le chlorure de méthylène (CH₂Cl₂) pure comme éluant. Des fractions de 100 mL sont recueillies et regroupées sur la base de la CCM. Cela nous a permis d'obtenir des précipités qui, après filtration nous donnent les composés ISp5 (3,4 mg), ISp6 (2,5 mg) et ISp7 (4,3 mg).

III.2.2.4 Traitement de la série IV

La série IV (21 g, *n*-Hex/AcOEt 1:1), dissoute dans le méthanol puis fixée sur 25 g de silice, a été traitée par Chromatographie sur colonne avec gel de silice. L'élution s'est faite avec le mélange de CH₂Cl₂/MeOH de polarité croissante (De 1:0 à 8:2) et des fractions de 100 mL sont recueillies et regroupées sur la base de la CCM. Les résultats sont présentés sur le chromatogramme du [tableau 44](#) suivant.

Tableau 44. Chromatogramme du traitement de la série IV.

Éluant	Fractions	CCM + observations
CH ₂ Cl ₂ 100%	1–40	Mélange de 4 produits dont ISp8 qui précipite
CH ₂ Cl ₂ /MeOH 49:1	41–60	Mélange de produits dont ISp9 et ISp10 qui précipitent
CH ₂ Cl ₂ /MeOH 48:2	61–75	Mélange présentant plusieurs tâches de Rf très proches
CH ₂ Cl ₂ /MeOH 47:3–8:2	76–95	Traces sur la plaque

Après lavage et filtration des fractions contenant des précipités, nous avons obtenu les composés ISp8 (3,8 mg), ISp9 (2,4 mg) et ISp10 (3,0 mg).

III.2.2.4 Traitement de la série V

La série V (8 g, AcOEt 100%), dissoute dans le méthanol puis fixée sur 10 g de silice, a été traitée sur colonne de silice, éluée au mélange AcOEt/MeOH de polarité croissante (1:0–1:1). Des fractions de 150 mL sont recueillies et regroupées sur la base de la CCM. Les résultats sont présentés sur le chromatogramme du [tableau 45](#) suivant.

Tableau 45. Chromatogramme du traitement de la série V.

Eluant	Fractions	CCM + Observations
AcOEt 100%	1–15	Mélange présentant plusieurs tâches de Rf très proches
AcOEt/MeOH 9.5:0.5–9:1	16–35	Mélange d'au moins 5 produits
AcOEt/MeOH 8:2	36–45	Deux tâches majeures dont ISp11 qui précipite
AcOEt/MeOH 7:3	46–55	Mélange complexe
AcOEt/MeOH 6:4–1:1	56–70	Trainée sur la plaque

Après le traitement de la fraction contenant le précipité, nous avons obtenu le composé ISp11 (15,4 mg).

III.3. QUELQUES TESTS CARACTERISTIQUES UTILISES DANS L'IDENTIFICATION DES METABOLITES SECONDAIRES

III.3.1. Test au chlorure ferrique

Ce test a pour but l'identification des composés phénoliques. Le réactif utilisé est le chlorure ferrique (III) (FeCl₃).

Mode opératoire: Dans 5 mL d'éthanol contenu dans un tube à essai, on dissout 1 mg du composé. Puis on ajoute à la solution obtenue quelques gouttes de chlorure ferrique.

Résultats et interprétation: Peu à peu, le milieu réactionnel prend une coloration bleue verdâtre ou violette (transitoire ou permanente) due à la formation d'un complexe de type [Fe(OAr)₆]³⁻, ce qui indique la présence des groupes hydroxyles phénoliques libres. La formation de ce complexe se fait suivant l'équation bilan suivante:



III.3.2. Test de Shinoda

Ce test a pour but l'identification des flavonoïdes. Les réactifs utilisés dans ce cas sont l'acide chlorhydrique et des copeaux de magnésium.

Mode opératoire: Dans 5 mL de méthanol, contenu dans un tube à essai, dissoudre 1 mg du composé. A la solution obtenue, ajouter quelques gouttes d'acide chlorhydrique concentré et quelques copeaux de magnésium.

Résultats et interprétation: la présence des flavonoïdes se manifeste par l'apparition d'une couleur pourpre.

III.3.3. Test de Liebermann-Burchard

Ce test a pour but l'identification des triterpènes et des stéroïdes. Les réactifs utilisés sont le chloroforme (CHCl_3), l'anhydride acétique et l'acide sulfurique concentré.

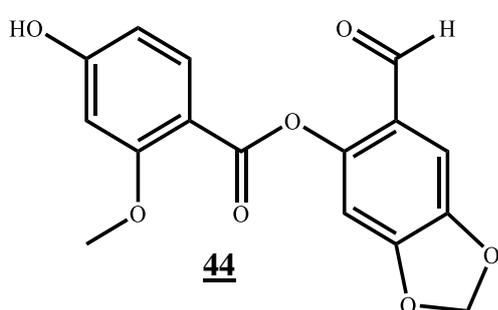
Mode opératoire: Dissoudre le résidu sec dans 3 mL de chloroforme, après avoir agité l'ensemble, filtrer puis distribuer le filtrat dans deux tubes à essai dont le premier sert de témoin. Ajouter deux gouttes d'anhydride acétique dans le second tube et après agitation légère, y ajouter quelques gouttes de H_2SO_4 36 N.

Résultats et interprétation: L'évolution de la coloration est observée pendant 1 heure. La coloration verdâtre dénote la présence d'un stéroïde, tandis que l'apparition d'un anneau rouge ou violet indique la présence d'un triterpène.

III.4. CARACTERISTIQUES PHYSICO-CHIMIQUE DES COMPOSES ISOLES

III.4.1. Les acides benzoïques

➤ Atricephenol A



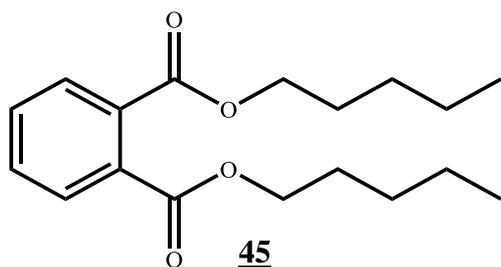
Formule Brute: $\text{C}_{16}\text{H}_{12}\text{O}_7$
ESI-HR : $[\text{M}-\text{H}]^-$ m/z 315,0506
Aspect physique : poudre amorphe beige
Test positif : test au chlorure ferrique
RMN ^1H (600 MHz) et ^{13}C (150 MHz): Tableau 16

➤ *p*-hydroxybenzaldéhyde



Formule Brute: $\text{C}_7\text{H}_6\text{O}_2$
EIMS : $[\text{M}]^+$ m/z 122
Aspect physique : poudre blanche
Test positif : Chlorure ferrique
RMN ^1H (800 MHz) et ^{13}C (200 MHz): Tableau 18

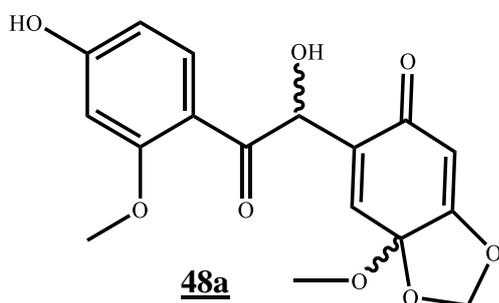
➤ **Dipentyl phtalate**



Formule Brute: $C_{18}H_{26}O_4$
 EIMS : $[M]^+$ m/z 307
 Aspect physique: poudre belge
 RMN 1H (500 MHz) et ^{13}C (125 MHz): Tableau 17

III.4.2. La stilbénoloïde

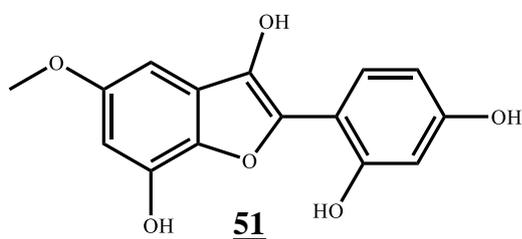
➤ **Atricephenol B**



Formule Brute: $C_{17}H_{16}O_8$
 ESI-HR : $[M-H]^-$ m/z 347,0775
 Aspect physique : poudre amorphe blanche
 Test positif : test au chlorure ferrique
 RMN 1H (600 MHz) et ^{13}C (150 MHz): Tableau 19

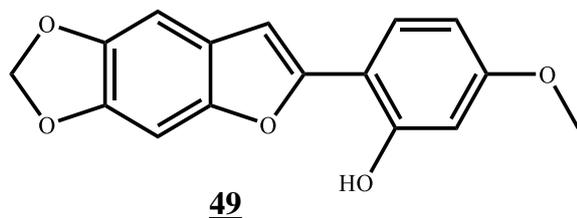
III.4.3. Les benzofuranes

➤ **Spibenzofurane**



Formule Brute: $C_{15}H_{12}O_6$
 ESI-HR : $[M-H]^-$ m/z 287,0563
 Aspect physique : poudre amorphe jaune
 Test positif : test au chlorure ferrique
 RMN 1H (400 MHz) et ^{13}C (100 MHz): Tableau 21

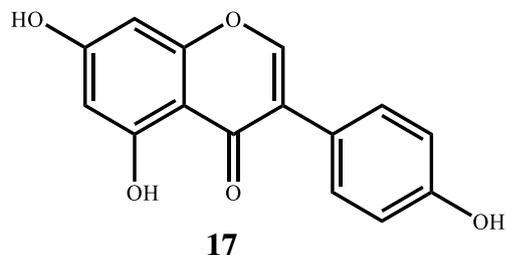
➤ **2-(2'-hydroxy-4'-methoxyphenyl)-5,6-methylenedioxybenzofuran**



Formule Brute: $C_{16}H_{12}O_5$
 ESIMS : $[M-H]^-$ m/z 283
 Aspect physique : poudre blanche
 Test positif : Chlorure ferrique
 RMN 1H (400 MHz) et ^{13}C (100 MHz): Tableau 20

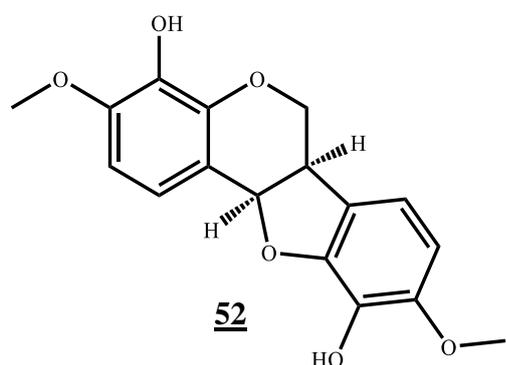
III.4.4. Les flavonoïdes

➤ IAB9 : Génistéine



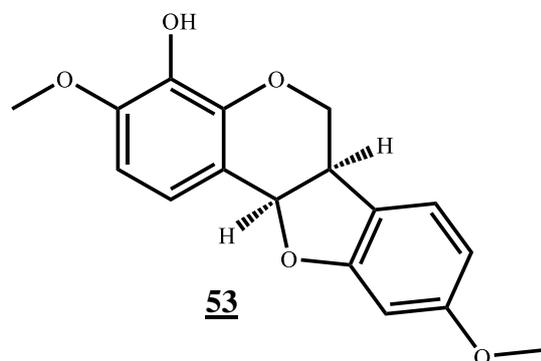
Formule Brute: $C_{15}H_{10}O_5$
 ESIMS : $[M+H]^+$ m/z 271
 Aspect physique : poudre belge
 Test positif: Shinoda
 RMN 1H (500 MHz) et ^{13}C (125 MHz): Tableau 22

➤ (-)-melilotocarpan D



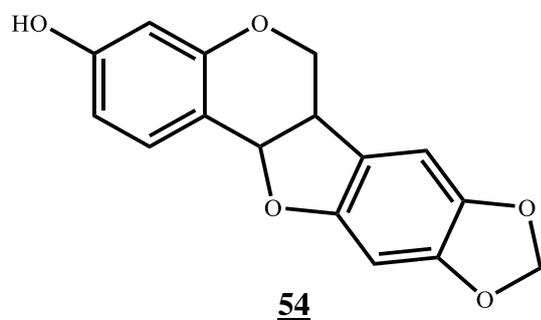
Formule Brute: $C_{17}H_{16}O_6$
 EI-HR : $[M]^+$ m/z 316,0957
 Aspect physique : poudre amorphe jaune
 Test positif : Shinoda
 RMN 1H (400 MHz) et ^{13}C (100 MHz,): Tableau 23

➤ (-)-melilotocarpan A



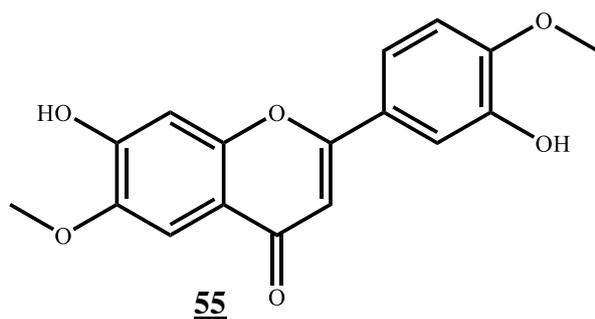
Formule Brute: $C_{17}H_{16}O_5$
 EI-HR : $[M]^+$ m/z 300,0979
 Aspect physique : poudre amorphe jaune
 Test positif : Shinoda
 RMN 1H (400 MHz) et ^{13}C (100 MHz): Tableau 24

➤ Maackiain



Formule Brute: $C_{16}H_{12}O_5$
 ESIMS: $[M-H_2O]^-$ m/z 248
 Aspect physique : poudre blanche
 Test positif : Shinoda
 RMN 1H (600 MHz) et ^{13}C (150 MHz): Tableau 25

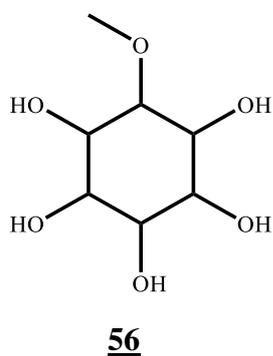
➤ 7,3'-dihydroxy-6,4'-diméthoxyflavone



Formule Brute: $C_{17}H_{14}O_6$
ESIMS : $[M+H]^+$ m/z 315
Aspect physique: poudre blanche
Test positif: Shinoda
RMN 1H (400 MHz) et ^{13}C (100 MHz): Tableau 26

III.4.5. Le cyclohexanol

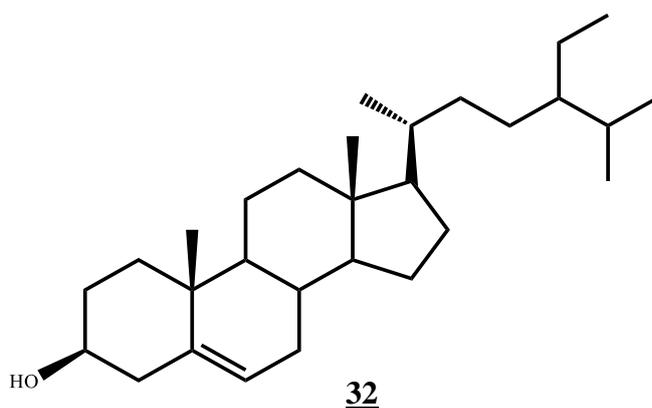
➤ Bornesitol



Formule Brute: $C_7H_{14}O_6$
ESIMS : $[M+H]^+$ m/z 195
Aspect physique : poudre blanche
RMN 1H (400 MHz) et ^{13}C (100 MHz): Tableau 27

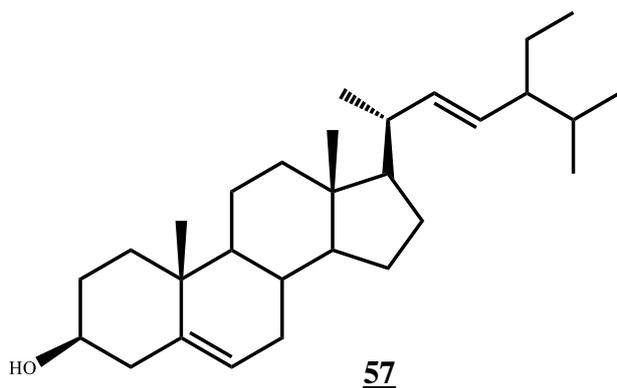
III.4.6. Les stéroïdes

➤ B-sitostérol



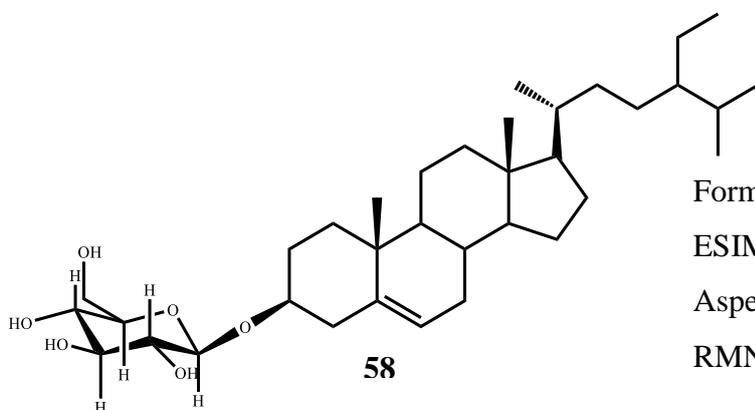
Formule Brute: $C_{29}H_{50}O$
EIMS: M^+ m/z 414
Aspect physique : aiguille blanche

➤ **Stigma-sitostérol**



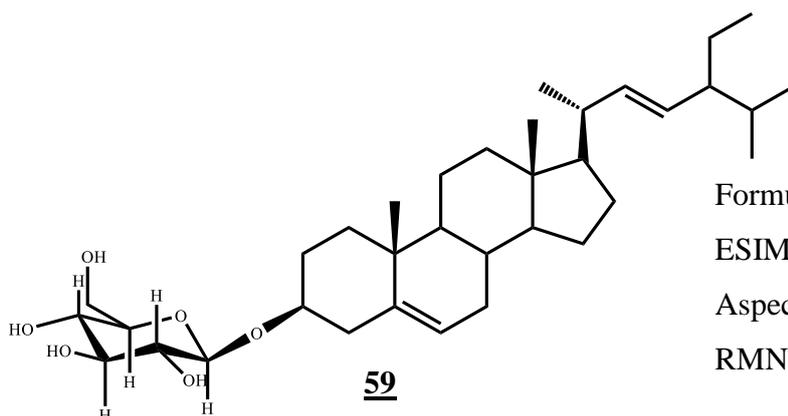
Formule Brute: $C_{29}H_{48}O$
EIMS: M^+ m/z 412
Aspect physique : aiguille blanche
RMN 1H (400 MHz) et ^{13}C (100 MHz): Tableau 28

➤ **3-O- β -D-glucopyranoside de β -sitostérol**



Formule Brute: $C_{35}H_{60}O_6$
ESIMS : $[M+H]^+$ m/z 577
Aspect physique : poudre blanche
RMN 1H (400 MHz): Tableau 29

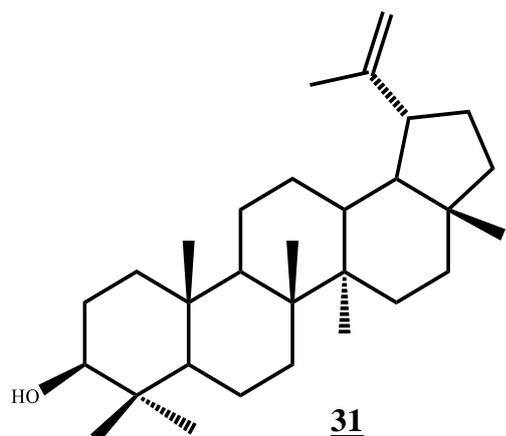
➤ **3-O- β -D-glucopyranoside de stigmasterol**



Formule Brute: $C_{35}H_{58}O_6$
ESIMS : $[M+H]^+$ m/z 575
Aspect physique : poudre blanche
RMN 1H (600 MHz): Tableau 30

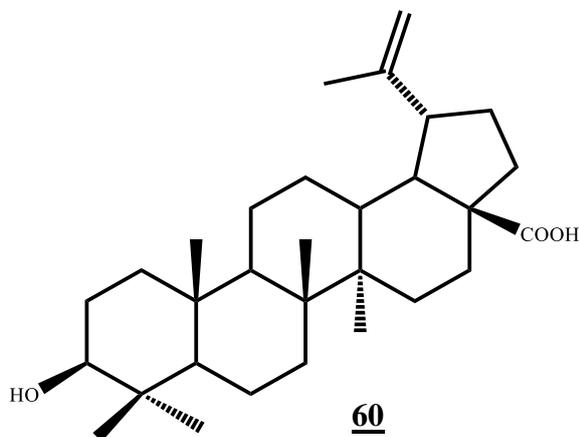
III.4.7. Les Triterpènes

➤ Le lupéol



Formule Brute: $C_{30}H_{50}O$
EIMS : M^+ m/z 426
Aspect physique : poudre blanche
RMN 1H (400 MHz) et ^{13}C (100 MHz): Tableau 31

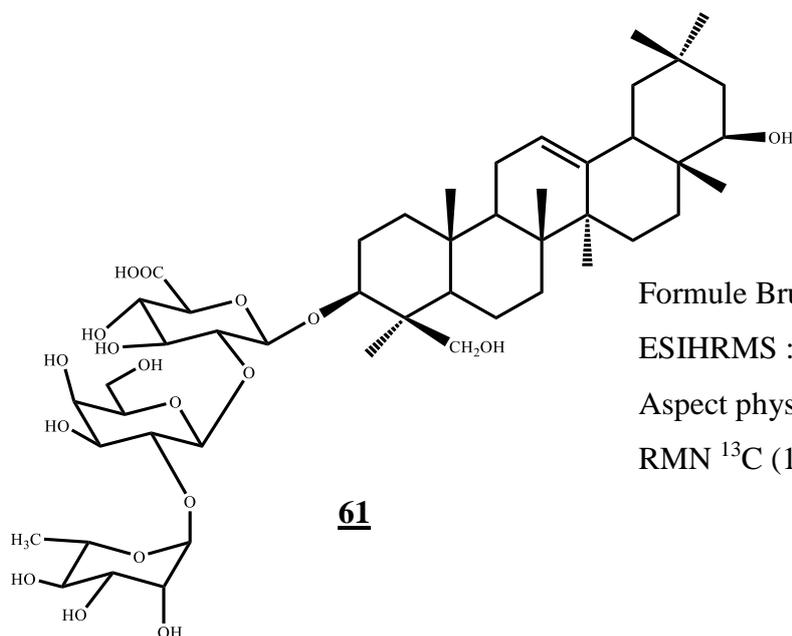
➤ Acide bétulinique



Formule Brute: $C_{30}H_{48}O_3$
EIMS : M^+ m/z 456
Aspect physique : poudre blanche
RMN ^{13}C (100 MHz): Tableau 32

III.4.8. La saponine

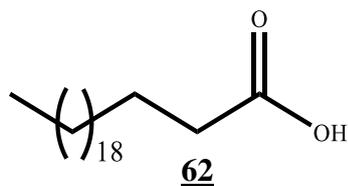
➤ Soyasaponine I



Formule Brute: $C_{49}H_{79}O_{18}$
ESIHRMS : $[M+H]^+$ m/z 943,5270
Aspect physique : poudre blanche
RMN ^{13}C (125 MHz): Tableau 33

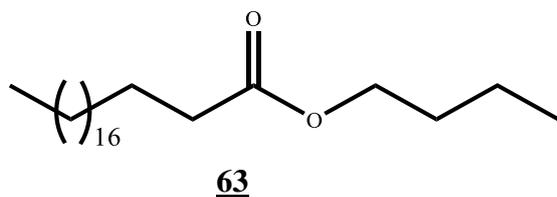
III.4.9. Les acides gras

➤ Acide behénique



Formule Brute:	C ₂₂ H ₄₄ O ₂
EIMS : M ⁺	m/z 340
Aspect physique :	poudre blanche
RMN ¹ H (800 MHz) et ¹³ C (200 MHz):	Tableau 34

➤ Eicosanoate de n-butyle



Formule Brute:	C ₂₄ H ₄₈ O ₂
EIMS : M ⁺	m/z 368
Aspect physique :	poudre blanche
RMN ¹ H (500 MHz) et ¹³ C (125 MHz):	Tableau 35

III.5. EVALUATION DES ACTIVITES BIOLOGIQUES

III.5.1. Activités antimicrobiennes

L'activité antimicrobienne a été évaluée en mesurant le diamètre des zones d'inhibition (ZI) autour du disque renfermant une substance active.

Les diamètres des zones d'inhibition des échantillons ont été déterminées par la technique de diffusion en milieu gélosé telle que décrite par [Berghe et Vlietinck \(1991\)](#) en utilisant une suspension de cellules d'environ 1,5 x 10⁶ UFC/mL d'après l'échelle 0,5 de Mc Farland. La suspension a été normalisée en ajustant la densité optique de 0,1 à 600 nm (spectrophotomètre de type Shimadzu UV-120-01) ([Tereschuk et al., 1997](#)). Elle a été utilisée pour ensemercer par inondation les microorganismes à la surface du milieu MHA. L'excès de liquide a été prélevé à l'aide d'une micropipette et les disques séchés imprégnés ont été ensuite appliqués à des points équidistants au-dessus du milieu ensemercé et séché. Les boîtes ont été incubées à 37 °C pendant 24 heures. Le diamètre des zones d'inhibition (DZI) autour du disque renfermant une substance active a été donc mesuré. Le test a été répété trois fois et les résultats enregistrés sont la moyenne ± Ecart type des trois expériences ([Tableau 36](#)).

La streptomycine a été utilisée comme contrôle positif. Six espèces de microorganismes, réparties en bactéries à Gram-négatif et à Gram-positif, ont été utilisées pour cette étude. Il s'agit de *Pseudomonas aeruginosa*, *Escherichia coli*, *Salmonella typhi* et

Klebsiella pneumonia pour les bactéries à Gram-négatifs et de *Streptococcus faecalis* et *Micrococcus* sp pour les bactéries à Gram-positifs.

III.5.2. Activités d'inhibition de l'enzyme uréase

Les mélanges réactionnels avec 25 µL de solution enzymatique (Uréase de Jack Beade chez sigma) et 55 µL des substances tampons contenant 100 mM d'urée ont été incubés avec 5 µL des composés testés (1 mM) à 30 °C pendant 15 min dans 96 godets. L'activité de l'uréase a été déterminée par mesure de la production de l'ammoniac en utilisant la méthode de l'indophenol comme décrit par [Weatherburn en 1967](#).

Brièvement, 45 µL de chaque réactif phénolique (1% w/v de phénol et 0,005% w/v de nitroprussiate de sodium) et 70 µL de réactif alcalin (0,5% w/v de NaOH et 0,1% de chlorure actif NaOCl) sont ajoutés à chaque godet. L'augmentation de l'absorbance à 630 nm a été mesurée après 50 min, en utilisant le lecteur de microplaque (Molecular device, USA). Toutes les réactions ont été exécutées en triple dans un volume final de 200 µL. Les résultats (changement de l'absorbance par minute) ont été exécutés en utilisant Soft Max Pro software. Toutes les expériences ont été exécutées à pH 8,2 et les pourcentages d'inhibitions ont été calculés suivant la formule $100 - (\text{OD}_{\text{testwell}} / \text{OD}_{\text{control}}) \times 100$. La thiourée a été utilisée comme inhibiteur de référence de l'uréase.

Références

- Aardt, V.T.G., Rensburg, V.H., Ferreira, D., **2001**. Synthesis of isoflavonoids. Enantiopure *cis*- and *trans*-6a-Hydroxypterocarpan and a racemic *trans*-pterocarpan. *Tetrahedron Lett.* **57**, 7113–7126.
- Aasen, A.J., Chakraborty, D.P., Enzell, C.R., Gross, D., Jacob, J., Overton, K.H., Picken, D.J., Pinder, A.R., Voelter, W., Wahlberg, I., Herz, W., Grisebach, H., Kirby, G.W., **1977**. Progress in the Chemistry of Organic Natural Products. *Springer-Verlag* **34**, 2003–2013.
- Adamu, M.H., Abayeh, J.O., Agho, O.M., Abdullahi, L.A., Uba, A., Dukku, U.H., Wufem, M.B., **2005**. An ethnobotanical survey of bauchi state herbal plants and their antimicrobial activity. *J. Ethnopharmacol.* **99**, 1–4.
- Amala, B.E., Ganga, N., Arivudainambi, R., Santhanam, G., **1982**. Anti-inflammatory activity of *Indigofera aspalathoides* Vahl. *Indian J. Med. Res.* **76**, 115–118.
- Ambrogelly, A., Palioura, S., Söll, D., **2007**. Natural expansion of genetic code. *Nat. Chem. Biol.* **3**, pp. 29–35.
- Andersen, R.J., Wolfe, M.S., Faulkner, D.J., **1974**. Autotoxic antibiotic production by a marine *chromobacterium*. *Marine Biol.* **27**, 281–285.
- Andreotti, A., Bonaduce, I., Colombini, M.P., Ribechini, E., **2004**. Characterisation of natural indigo and shellfish purple by mass spectrometric techniques. *Rapid Commun. Mass Spectrom.* **18**, 1213–1220.
- Anna, S.S., Evangelista, E.A., Alves, R.B., Raslan, D.S., **2005**. Synthesis of (\pm) Pterocarpan by Heck Oxylation. *Chem. Nat. Comp.* **41**, 4–10.
- Antus, S., Kurtan, T., Juhasz, L., Kiss, L., Hollosi, M., Majer, S.Z., **2001**. Chiroptical Properties of 2,3-Dihydrobenzo[b]furan and Chromane Chromophores in Naturally Occuring *O*-Heterocycles. *Chirality* **13**, 493–506.
- Arfan, M., Ali, M., Ahmad, H., Anis, I., Khan, A., Choudhary, M.I., Shah, M.R., **2010**. Urease inhibitors from *Hypericum oblongifolium* Wall. *J. Enzyme Inhib. Med. Chem.* **25**, 296–299.
- Arraki, K., Richard, T., Badoc, A., Pédrot, E., Bisson, J., Waffo-Téguo, P., Mahjoub, A., Mérillon, J.M., Decendit, A., **2013**. Isolation, Characterization and Quantification of Stilbenes from Some *Carex* Species. *Rec. Nat. Prod.* **7**, 281–291.
- Aziz-Ur-Rehan, Malik, A., Riaz, N., Ahmad, H., Ahmad, N., Choudhary M.I., **2005**. Lipoxigenase inhibiting constituents from *Indigofera hetrantha*. *Chem. Pharm. bull.* **53**, 263–266.

- Balkis, M.M., Leidich, S.D., Mukherjee, P.K., Ghannoum, M.A., **2002**. Mechanisms of Fungal Resistance. *Drugs* **62**, 1025 – 1040.
- Bass, W.J., **1985**. Natural occurring seco-ring A-triterpenoids and their possible biological significance. *Phytochemistry* **24**, 1875–1889.
- Batta, A.K., Salen, G., Batta, P., Tint, G.S., Alberts, D.S., Earnest, D.L., **2002**. Simultaneous quantitation of fatty acids, sterols and bile acids in human stool by capillary gas-liquid chromatography. *J. Chromatogr.* **775**, 153–161.
- Berghe, V.A., Vlietinck, A.J., **1995**. Screening methods for antibacterial and antiviral agents from higher plants. *Meth. Plant Biochem.* **6**, 47–68.
- Berhaut, J., **1974**. Flore illustrée du Sénégal: Ministère du developpement rural. Directions des eaux et forêts-Dakar. *Dicotylédones* **5**, 658.
- Berhaut, J., **1976**. Flore illustrée du Sénégal: Légumineuses Papilionacées. *Dicotylédones* **5**, 283–325.
- Bernard, V., **1979**. A Manual of New Guinea Legumes. Kristen Press Inc., Madang, Papau, New Guinea, 350-357.
- Birru, E.M., Asrie, A.B., Adinew, G.M., Tsegaw, A., **2016**. Antidiarrheal activity of crude methanolic root extract of *Indigofera spicata* Forssk. (Fabaceae). *BMC Complement. Altern. Med.* **16**, 1–7.
- Bravo, L., **1998**. Polyphenols: chemistry, dietary sources, metabolism, and nutritional significance. *Nut. Rev.* **56**, 317–333.
- Bruneton, J., **1993**. Pharmacognosie, phytochimie et plantes médicinales. 2^e édition, Tec & Doc Lavoisier, 816 – 822.
- Bruneton, J., **1999**. Pharmacognosie, Phytochimie, Plantes médicinales, 3^{ème} édition, Revue et Augmentée, Tec & Doc Lavoisier.
- Bruneton, J., **1999**. Pharmacognosie, phytochimie, plantes médicinales. 3eme édition, éditeur Technique et Documentation, Paris.
- Bueno, P.L., Li, J., Lantvit, D.D., Pan, L., Ninh, T.N., Chai, H.B., Soejarto, D.D., Swanson, S.M., Lucas, D.M., Kinghorn, A.D., **2013**. Bioactive constituents of *Indigofera spicata*. *J. Nat. Prod.* **76**, 1498–1504.
- Burkill, H.M., **1995**. The Useful Plants of West Tropical Africa. *Royal Botanical Gardens, Kew, England* **2**, 654–670.
- Campos, J.K.L., Araujo, T.F.S., Brito, T.G.S., Da Silva, A.P.S., Cunha, R.X., Martins, M.B., Da Silva, N.H., Santos, B.S.D., Silva, C.A., Lima, V.L.M., **2018**. *Indigofera*

- suffruticosa* Mill. (Anil): Plant Profile, Phytochemistry and Pharmacology Review. *Adv. Pharmacol. Sci. Open Access*, 1–7.
- Carter, C.L., Mc Chesney, W.J., **1949**. Hiptagenic acid identified as β -nitropropionic acid. *Nature* **166**, 575–576.
- Chong, J., Poutaraud, A., Hugueney, P., **2009**. Metabolism and roles of stilbenes in plants. *Plant Sci.* **177**, 143–155.
- Christina, A.J.M., Jose, M.A., Robert, S.J.H., Kothai, R., Chidambaranathan, N., and Muthuman, P., **2003**. Effet of *Indigofera aspalathoides* against Dalton's ascitic lymphoma. *Fitoterapia* **74**, 280–283.
- Cichewicz, R.H., Kouzi, S.A., **2004**. Chemistry, biological activity, and chemotherapeutic potential of betulinic acid for the prevention and treatment of cancer and HIV infection. *Med. Res. Rev.* **24**, 90–114.
- Cowan, M.M., **1997**. Plants products as antimicrobial agents. *Clin. Microbiol. Rev.* **12**, 564–582.
- Cuvelier, C., Cabaraux, J.F., Dufrasne, I., Hornick, J.L., Istasse, L., **2004**. Acides gras : nomenclature et sources alimentaires. *Ann. Méd. Vét.* **148**, 133–140.
- Dahot, M.U., **1999**. Antibacterial and antifungal activity of small protein of *Indigofera oblongifolia* leaves. *J. Ethnopharmacol.* **64**, 277–282.
- Dawood, K.M., **2019**. An update on benzofurane inhibitors: a patent review. *Expert Opin. Ther. Pat.* **28**, 841–870.
- Dalziel, J.M., **1937**. The Useful Plants of west Tropical Africa. In: Crown Agents for the Colonies, Appendix, F.W.T.A., (Ed.). Crown Agents for the Colonies, London, 612.
- Dewick, P.M., **2002**. Medecinal natural products: a biosynthetic approach, John Wiley & sons Ltd.
- Dixon, R.A., Steele, C.L., **1999**. Flavonoids and isoflavonoids – a gold mine for metabolic engineering. *Trends Plant Sci.* **4**, 394–400.
- Editorial, **2005**. Le blocage simultané des cyclo-oxygénases et de la 5-lipoxygénase: une nouvelle voie pour traiter l'inflammation? *Rev. du Rhum.* **72**, 379–382.
- Esimone, C.O., Adikwu, M.U., Muko, K.N., **1999**. Antimicrobial properties of *Indigofera dendroides* leaves. *Fitoterapia* **70**, 517–520.
- Finnegan, R.A., Mueller, W.H., **1965**. Chemical examination of a toxic extract of *Indigofera endecaphylla*. *J. Pharm. Sci.* **5**, 1136–1144.

- Fiorentino, A., D'Abrosca, B., Pacifico, S., Natale, A., et Monaco, P., **2006**. Structure of bioactive carexanes from the roots of *Carex distachya* Desf. *Phytochemistry* **67**, 971–977.
- Follmer, C., **2010**. Urease as a target for the treatment of gastric and urinary infections. *J. Clin. Pathol.* **63**, 424–430.
- Gaston, A., Fotius, G., **1971**. Lexique de noms vernaculaires de plantes du Tchad. Noms scientifiques – Noms vernaculaires. *Section botanique du centre Fort-Lamy (Tchad)* **1**, 106–107.
- Gray, E.J., Furr, K., Tatum-Gibbs, C., Lambright, H., Sampson, B., Hannas, V., Wilson, A., Hotchkiss, Foster. P., **2016**. Establishing the Biological Relevance of Dipentyl Phthalate Reductions in Fetal Rat Testosterone Production and Plasma and Testis Testosterone Levels. *Toxicol. Sci.* **149**, 178–191.
- Goel, A., Kumar, A., Hemberger, Y., Raghuvanshi, A., Jeet, R., Tiwari, G., Knauer, M., Kureel, J., Singh, A.K., Gautam, A., Trivedi, R., Singh, D., Bringmann, G., **2012**. Synthesis, optical resolution, absolute configuration, and osteogenic activity of *cis*-pterocarpanes. *Org. Biomol. Chem.* **10**, 9509–9752.
- Graham, D.Y., Fischbach, L., **2010**. *Helicobacter pylori* treatment in the era of increasing antibiotic resistance. *Gut* **59**, 43–53.
- Granner, D.K., Mayes, P.A., Murray, R.K., Rodwell, V.W., **1989**. Précis de Biochimie 7^{ème} édition, Québec/Paris.
- Gyamfi, M.A., Yonamine, M., Aniya, Y., **1999**. Free-radical scavenging action of medicinal herbs from Ghana: *Thanningia sanguinea* on experimentally-induced liver injuries. *Gen. Pharmacol.* **32**, 661–667.
- Halabalaki, M., Sekeris, C., Aligiannis, N., Papoutsis, Z., Skaltsounis, A.-L., Mitakou, S., Moutsatsou, P. **2000**. Three new arylobenzofurans from *Onobrychis ebenoides* and evaluation of their binding affinity for the estrogen receptor. *J. Nat. Prod.* **63**, 1672–1674.
- Hamza, S.S., Gebreyohannes B.T., **2018**. Synthesis, Characterization, and Antioxidant Activities of Genistein, Biochanin A, and Their Analogues. *J. Chem.* **40**, 1–6.
- Han, R., **1994**. Highlight on the studies of anticancer drugs derived from plants in China. *Stem Cells* **12**, 53–63.
- Harborne, J.B., **1995**. Plant polyphenols and their role in plant defence mechanisms. *In Polyphenols* **94**, 19–26.

- Hart, J.H., **1981**. Role of phytostilbenes in decay and disease resistance. *Ann. Rev. Phytopathol.* **19**, 437–458.
- Hassen, A., Rethman, N.F.G., Van Niekerk, W.A., Tjelele, T.J., **2007**. Influence of season/year and species on chemical composition and *in vitro* digestibility of five *Indigofera* accessions. *Anim. Feed Sci. Tech.* **136**, 312–322.
- Heywood, V.H., **1996**. Flowering Plants of the World. 3th edition, Oxford University Press, Oxford, 141 – 145, 149–152.
- Horaguchi, T., Hosokawa, N., **2002**. Photocyclization reactions. Part 8 [1]. Synthesis of 2-quinolone, quinoline and coumarin derivatives using *trans-cis* isomerization by photoreaction. *J. Heterocyclic. Chem.*, **39**, 61–67.
- Hostettmann, K., **2001**. Tout savoir sur les plantes médicinales des montagnes S A, *Ed. Fabre. Lausanne, Suisse*, **121**, 189 – 194.
- Ichimura, K., Kohata, K., Mukasa, Y., Yamaguchi, R.G., Suto, K., **1999**. Identification of L-bornesitol and changes in its content during flower bud development in sweet pea (*Lathyrus odoratus* L.). *Biosci. Biotechnol. Biochem.* **63**, 189–191.
- Iwashina, T., **2000**. The structure and distribution of the flavonoids in plants. *J. Plant Res.* **113**, 287–299.
- Jeandet, P., Douillet-Breuil, A.C., Bessis, R., Debord, S., Sbaghi, M., Adrian, M., **2002**. Phytoalexins from the Vitaceae: biosynthesis, phytoalexin gene expression in transgenic plants, antifungal activity, and metabolism. *J. Agric. Food Chem.* **50**, 2731–2741.
- Jensen, R., Cardon, D., **2005**. *Indigofera Tinctoria* In: Plant Resources of Tropical Africa, Dyes and Tannins. *Backhuys Publishers, PROTA Foundation, Netherlands*, 94-99.
- Judd, W.S., Campbell, C.S., Kellogg, E.A., Stevens, P., **2002**. Botanique Systématique: une perspective. 1ère édition, DeBoeck Université, Paris, 283–288, 292–299.
- Kamal, R., Mangla, M., **1993**. *In vivo* and *in vitro* investigation on rotenoids from *Indigofera tinctoria* and their bioefficacy against the larvae of *Anopheles stephensi* and adults of *collosobruchus chinensis*. *J. Bioscience* **18**, 93–101.
- Kang, H., Jensen, P.R., Fenical, W., **1996**. Isolation of microbial antibiotics from a marine Ascidian of the genus *Didemnum*. *J. Org. Chem.* **61**, 1543–1546.
- Khatana, K., Gupta, A., **2020**. An update on natural occurrence and biological activity of benzofurans. *Acta Scient. Med. Sci.* **4**, 2582–2593.

- Komatsu, M., Yokoe I., Shirataki, Y., **1978**. Studies of the constituents of *Sophora* species XII. Constituents of the aerial parts of *Sophora tomentosa* L. *Chem. Pharm. Bull.* **26**, 1274–1278.
- Kong, L.D., Cai, Y., Huang, W.W., Cheng, C.H.K., Tan, R.X., **2000**. Inhibition of xanthine oxidase by some Chinese medicinal plants used to treat gout. *J. Ethnopharmacol.* **73**, 199–207.
- Korpayev, S., Heydari, H., Koc, A., Gozcelioglu, B., Konuklugil, B., **2020**. Additional screening of bioactivities in the Turkish gorgonian *Paramuricea clavata* (Risso, 1826) with isolation of secondary metabolites. *Cah. Biol. Mar.* **61**, 25–32.
- Kot, M., Karcz, W., Zaborska, W., **2010**. 5-Hydroxy-1,4-naphthoquinone (Juglone) and 2-Hydroxy-1,4-naphthoquinone (lawsone) influence on jack bean urease activity: Elucidation of the difference in inhibition activity. *Bioorg. Chem.* **38**, 132–137.
- Kumar, S., **2006**. Organic Chemistry: Spectroscopy of Organic Compounds. *Dept. of Chemistry Guru Nanak Dev University Amritsar 143005*, 13.
- Kurihara, H., Kawabata, J., Ischikawa, S., Mishima, M., Mizutani, J., **1991**. Oligostilbenes from *Carex kobomugi*. *Phytochemistry* **30**, 649–653.
- Kusari, S., Zühlke, S., Spiteller, M., **2009**. An endophytic fungus from *Camptotheca acuminata* that produces camptothecin and analogues. *J. Nat. Prod.* **72**, 2–7.
- Kusari, S., Pandey, S.P., Spiteller, M., **2013**. Untapped mutualistic paradigms linking host plant and endophytic fungal production of similar bioactive secondary metabolites. *Phytochemistry* **91**, 8–87.
- Langcake, P., Pryce, R., **1976**. The production of resveratrol by *Vitis vinifera* and other members of the Vitaceae as response to infection or injury. *Physiol. Plant Pathol.* **9**, 77–86.
- Leite, S.P., Vieira, J.R.C., De Medeiros, P.Y.S., Leite, R.M.P., Lima, V.L.M., Xavier H.S., Lima E.O., **2006**. Antimicrobial activity of *Indigofera suffruticosa* Evid. *BMC Complement. Alternat. Med.* **3**, 1–5.
- Li, H., Yang, J., Porter, N.A., **2005**. Preparation and photochemistry of O-aminocinnamates. *J. Phytochem. Photobiol.* **3**, 289–297.
- Li, R.W., Lin, G.D., Myers, S.P., Leach, D.N., **2003**. Anti-inflammatory activity of Chinese medicinal vine plants. *J. Ethnopharmacol.* **85**, 61–67.
- Li, X.C., Joshi, A.S., Tan, B., ElSohly, H.N., Walker, L.A., Zjawiony, J.K., Ferreira, D., **2002**. Absolute configuration, conformation, chiral properties of flavanone-(3→8'')-flavone biflavonoids from *Rheedia acuminata*. *Tetrahedron lett.* **58**, 8709–8717.

- Khatun, M., Billah, M., Quader, M.A., **2012**. Sterols and sterol glucoside from *Phyllanthus* species. *Dhaka Univ. J. Sci.*, **60**, 5–10.
- Komatsu, M., Yokoe I., Shirataki, Y., **1978**. Studies of the constituents of *Sophora* species XII. Constituents of the aerial parts of *Sophora tomentosa* L. *Chem. Pharm. Bull.* **26**, 1274–1278.
- Lopez, S., Batisda, J., Viladomat, F., Codina, C., **2002**. Acetylcholine inhibitory activity of some Amarayllidaceae alkaloids and anrcissus extracts. *Life Sci.* **71**, 251–259.
- Lotti, C., Fernandez, M.C., Piccinelli, A.L., Cuesta-Rubio, O., Hernandez, I.M., Rastrelli, L., **2010**. Chemical constituents of Red Mexican Propolis. *Agric. Food Chem.* **58**, 2209–2213.
- Luhata, L.P., Munkombwe, N.M., **2015**. Isolation and characterisation of Stigamsterol and β -Sitosterol from *Odontonema strictum* (Acanthaceae). *J. Innov. Pharm. Biol. Sci.* **2**, 88–96.
- Mabry, T.J., Markhan, K.R., Thomas, M.B., **1970**. The systematic identification of flavonoids. Ed. *Springer-Verlag*, **23**, 41–64.
- Mahato, S.B., Kundu, A.P., **1994**. ^{13}C NMR of pentacyclic triterpenoid: A compilation and some salient features. *Phytochemistry* **37**, 1515–1517.
- Manunza, B., Deiana, S., Pintore, M., Gessa, C., **1999**. The binding mechanism of urea, hydroxamic acid and N-(N-butyl)-phosphoric triamide to the urease active site. A comparative molecular dynamics study. *Soil Biol. Biochem.* **31**, 789–796.
- Mathabe, M.C., Nikolova, R.V., Lall, N., Nyazema, N.Z., **2006**. Antibacterial activities of medicinal plants used for treatment of diarrhea in Limpopo Province, South Africa. *J. Ethnopharmacol.* **105**, 286–293.
- Mayo, F.R., **1968**. Dimerisation of styrene. *J. Am. Chem.* **90**, 1289.
- Mérillon, J.M., Fauconneau, B., Waffo, T.P., Barrier, L., Vercauteren, J., Huguet, F., **1997**. Antioxydant activity of the stilbene Astringin, Newly Extracted from *Vitis vinifera* cell Cultures. *Clin. Chem.* **43**, 1092–1093.
- Miao, Y.H., Hu, Y.H., Yang, J., Liu, T., Sun, J., Wang, X.J., **2019**. Natural source, bioactivity and synthesis of benzofuran derivatives. *RSC Adv.* **9**, 27510.
- Miyase, T., Sano, M., Yoshino, K., Nonaka, K., **1999**. Antioxydants from *Lespedeza homoloba* (II). *Phytochemistry* **52**, 311–319.
- Mizushina, Y., Nakanishi, R., Kuriyama, I., Kamiya, K., Satake, T., Shimazaki, N., Koiwai, O., Uchiyama, Y., Yonezawa, Y., Takemura, M., Sakaguchi, K., Yoshida, H., **2006**. β -sitosterol-3-O- β -D-glucopyranoside: A eukaryotic DNA polymerase λ inhibitor. *J. Steroid Biochem.* **99**, 100–107.

- Musa, A., Haruna, A.K., Ilyas, M., Ahmadu, A., Gibbons, S., Rahman, M.M., **2008**. Dihydrostilbenes from *Indigofera pulchra*. *Nat. Prod. Com.*, **3**, 805–808.
- Nacoulma, O.G., **1996**. Plantes médicinales et Pratiques médicinales Traditionnelles au Burkina Faso: cas du plateau central T1&T2. Thèse Doct. d'Etat ès Sciences Nat. Université de Ouagadougou, 242–285.
- Naik, R., Harmalkar, D.S., Xu, X., Jang, K., Lee, K., **2015**. Bioactive benzofuran derivatives: Moracins A-Z in medicinal chemistry. *Eur. J. Med. Chem.*, **90**, 379–393.
- Nevagi, R.J., Santosh, D.N., Dighe, S.N., **2015**. Biochemical and medicinal significance of benzofuran. *Eur. J. Med. Chem.*, **97**, 561–581.
- Organisation Mondiale de la Santé (OMS), **2018**. Médecine traditionnelle.
- Pachler, K., Underwood, W., **1967**. A proton magnetic resonance study of some pterocarpan derivatives. The conformation of the 6a,11a-dihydro-6H-benzofuro[3,2-c][1]benzopyran ring system. *Tetrahedron Lett.* **23**, 1817–1826.
- Paris, R.R., Moyse, H., **1965**. Précis de matière médicale. Tome 1, Mason, ed., Paris IV, 89–110.
- Perumal, S.R., Ignacimutha, S., Sen, A., **1998**. Screening of 34 indian medicinal plants for antibacterial properties. *J. Ethnopharmacol.* **62**, 173–182.
- Piccinelli, A.L., Fernandez, M.C., Cuesta-Rubio, O., Hernández, I.M., De Simone F., Rastrelli L., **2005**. Isoflavonoids isolated from *Cuban Propolis*. *J. Agric. Food Chem.* **53**, 9010–9016.
- Poubelle, P.E., Borgeat, P., **2000**. Perspectives thérapeutiques. *Med. Sci.* **16**, 917–923.
- Poutaraud, A., Latouche, G., Martins, S., Meyer, S., Merdinoglu, D., Cerovic Z.G., **2007**. Fast and local assessment of stilbene content in grapevine leaf by *in vivo* fluorometry. *J. Agric. Food Chem.* **55**, 4913–4920.
- Rahman, A.U., Haroone, M.S., Tareen, R.B., Mesaik, M.A., Jan, S., Abbaskhan, A., Asif, M., Gulzar, T., Al-Majid, M.A., Yousuf, S., Choudhary, M.I., **2012**. Secondary metabolites of *Sophora mollis* subsp. *Griffithii* (Stocks) Ali. *Phytoch. Lett.* **5**, 613–616.
- Rahman, T.U., Uddin, G., Khattak, K.F., Liaqat, W., Mohammad G., Choudhary M.I., Wadood, A., Ahmad, A., **2014**. Isolation and characterization of a novel ester from seeds of *Indigofera heterantha* Wall. *J. Nat. Prod.* **7**, 104–112.
- Rahman, T.U., Zeb, M.A., Liaqat, W., Sajid, M., Hussain, S., Choudhary, M.I., **2018**. Phytochemistry and Pharmacology of Genus *Indigofera* : A Review. *Rec. Nat. Prod.* **12**, 1–13.

- Raj Kapoor, B., Jayakar, B., Muruges, N., **2004**. Antitumor activity of *Indigofera aspalathoides* on Ehrlich ascites carcinoma in mice. *Indian J. Pharmacol.* **36**, 38–40.
- Ramanathan, L., Gray, W.G., **2003**. Identification and characterization of a phytoestrogen-specific gene from the MCF-7 human breast cancer cell. *Toxicol. Appl. Pharmacol.* **191**, 107 – 117.
- Rao, V.G., Rao P.S., **1985**. Soyasaponine I from *Rothia trifoliata*. *J. Nat. Prod.*, **48**, 135–138.
- Rego, Y.F., Quciroz, M.P., Brito, T.O., Priscila, G.C., De Quciroz, V.T., De Fatima, A., Macedo, F., **2018**. A Review on the Development of Urease Inhibitors as Antimicrobial Agents against Pathogenic Bacteria. *J. Adv. Res.* **607**, 1–100.
- Rivière, C., Pawlus, A.D., Méridon, J.M., **2012**. Natural stilbenoids: distribution in the plant kingdom and chemotaxonomie interest in Vitaceae. *Nat. Prod. Rep.* **29**, 1317–1333.
- Rodriguez-Mateos, A., Vauzour, D., Krueger, C.G., Shanmuganayagam, D., Reed, J., Calani, L., Mena, P., Del Rio, D., Crozier, A., **2014**. Bioavailability, bioactivity and impact on health of dietary flavonoids and related compounds: an update. *Arch. Toxicol.* **88**, 1803–1853.
- Rosenthal, G.A., **1991**. The biochemical basis for the deleterious effects of L-canavanine. *Phytochemistry* **30**, 1055–1058.
- Sachs, G., Weeks, D.L., Wen, Y., Marcus, E.A., Scott, D.R., **2005**. Acid acclimation by *Helicobacter pylori*. *Physiology* **20**, 429–438.
- Sandhyavali, M.S., Sivakamisundary, P., Sharma, P., Murugan, V., **2014**. Phytochemical studies on the arial parts of *Indigofera linnaei*. *Pharmacophore* **5**, 94–97.
- Santelli, M., **2012**. Chimie bioorganique. *Medecine sciences publications*, **1^{ère} édition**, Lavoisier, 117.
- Saraswathy, A., Mathuram, V., Allirani, T., **2013**. Chemical constituents of *Indigofera Aspalathoides* Vahl. Ex. DC. *J. Pharmacol. Phytoch.* **2**, 74–80.
- Schöppner, A., Kindl, H., **1984**. Purification and properties of a stilbene synthase from induced cell suspension cultures of peanut. *J. Biol. Chem.* **259**, 6806–6811.
- Sharif, A., Ahmed, E., Malik, A., Riaz, N., Afza N., Nawaz, S.A., Arshad, M., Raza, S., Choudhary, M.I., **2005**. Lipoxygenase inhibitory constituents from *Indigofera oblongifolia*. *Arch. Pharm. Res.* **28**, 761–764.
- Shaikh, A.K., Varvounis, G., **2015**. One-pot cascade synthesis of 2,3-disubstituted 2,3-dihydrobenzofurans via ortho-quinone methide intermediates generated *in situ*. *RSC Adv.*, **5**, 14892–14896.

- Silva, E.F., Cola, M., Calvo, T.R., Barbastefano, V., Ferreira, A.L., Michelatto, D.P., Almeida, D.A., Lima, A.C.H., Vilegas, C.A., Brito, W.S., **2007**. Antioxidant activity of indigo and its preventive effect against ethanol-induced DNA damage in rat gastric mucosa. *Planta Med.* **73**, 1241–1243.
- Soladoye, M.O., Sonibare, M.A., Chukwuma, E.C., **2010**. Morphometric Study of the Genus *Indigofera* Linn. (Leguminosae-Papilionoideae) in South-Western Nigeria. *Int. J. Bot.* **6**, 343–350.
- Souza, M.A.M., Bieber, L.W., Chiappeta, A.A., Maciel, G.M., Mello, J.F., Monache, F.D., Messana, I., **1988**. Arylbenzofurans from *Indigofera Microcarpa*. *Phytochem.*, **27**, 1817–1819.
- Spinchiger, R.E., Savolanien, V.V., Figeat, M., Jeanmonod, D., **2004**. Botanique systématique des plantes à fleurs: Une approche phylogénétique nouvelle des Angiospermes des régions tempérées et tropicales. 3^{ème} édition, Presses polytechniques et universitaires romandes, Lausanne, 202–211.
- Sreepriya, M., Devaki, T., Nayeem, M., **2001**. Protective effects of *Indigofera tinctoria* L. against D-galactosamine and carbon tetrachloride challenge on “*in situ*” perfused rat liver. *Indian J. Physiol. Pharmacol.* **45**, 428–434.
- Stemmler, J.A., Kampf, J.W., Kirk, M.L., Pecoraro, V.L., **1995**. A model for the inhibition of urease by hydroxamates. *J. Am. Chem. Soc.* **117**, 6368–6369.
- Stierle, A., Strobel, G., Stierle, D., **1993**. Taxol and taxane production by *Taxomyces andreanae*, an endophytic fungus of Pacific yew. *Sci.* **260**, 215–216.
- Subramanian, S., Ayarivan, P., **2014**. Cytokine mediated immunomodulatory properties of kaempferol 5-O- β -D-glucopyranoside from methanol extract of aerial parts of *Indigofera aspalathoides* Vahl ex DC. *Int. J. Res. Pharm. Sci.* **5**, 1–6.
- Swarnalatha, S., Umamaheswari, A., Puratchikody A., **2015**. Immunomodulatory activity of kaempferol 5-O- β -D-glucopyranoside from *Indigofera aspalathoides* Vahl ex DC. (Papilionaceae). *Med. Chem. Res.* **24**, 2889–2897.
- Talla, E., Njamen, D., Mbafor, J.T., Fomum, Z.T., Kamanyi, A., Mbanya, J.C., Giner, R.M., Recio, R.M., Manez, S., Rios, J.L., **2003**. Warangalone, the isoflavonoid anti-inflammatory principle of *Erythrina addisoniae* stem bark. *J. Nat. Prod.* **29**, 2005–2007.
- Tereschuk, M.L., Riera, M.V.Q., Castro, G.R., Abdala, L.R., **1997**. Antibacterial activity of flavonoid from leaves of *Tagetes minuta*. *J. Ethnopharm.*, **56**, 227–232.

- Tökés, A.L., Litkei, G., Gulasci, K., Antus, S., Baitz-Gacs, E., Szantay, C., Darko, L.L., **1999**. Absolute Configuration and Total Synthesis of (-)-Carbenegrin A-I. *Tetrahedron Lett.* **55**, 9283–9296.
- Tropf, S., Lanz, T., Rensing, S.A., **1994**. Evidence that stilbene synthases have developed from chalcone synthases several times in the course of evolution. *J. Mol. Evol.* **38**, 610–618.
- Van os, C.P.A.V., Rijke-Schilder, G.P.M., Halbeek, H.V., Verhagen, J., Vliegthart, J.F.G., **1981**. Double dioxygenation of Arachidonic acid by soybean lipoxygenase-1, kinetics and region-stereo specificities of the reaction steps. *Biochim. Biophys. Acta*, **663**, 177–193.
- Veitch, N.C., **2006**. Isoflavonoids of the Leguminosae. *Nat. Prod. Rep.* **24**, 417–464.
- Velazquez, E., Tournier, H.A., Mordujovichole, B.P., Saavedra, G., Scinella, G.R., **2003**. Antioxydant activity of Paraguayan palnt extracts. *Fitoterapia* **74**, 91–97.
- Wagner, I., Musso, H., **1983**. New Naturally Occuring Amino Acids. *Angew. Chem. Inter.* **22**, 816–828.
- Wang, H., Mei, W.L., Zeng, Y.B., Zuo, W.J., Guo, Z.K., Chen, L.L., C., Zhong, H.-M., Dai, H.-F., **2014**. Phenolic Compounds from *Dalbergia odorifera*. *Phytochem. Lett.* **9**, 168–173.
- Warjeet, S., Laitonjam, S.D., Wangkheir, A., **2011**. Comparative study of the major components of the indigo dye obtained from *Strobilanthes flaccidifolius* and *indigofera tinctoria* Linn. *Int. J. Plant Physiol. Biochem.* **3**, 108–116.
- Weatherburn, M.W., **1967**. Phenol-hypochlorite reaction for determination of ammonia. *Anal. Chem.* **39**, 971–974.
- Welter, W., Bertina, M., Nuno, A.P., **2000**. Natural plant products active against snakebite, the molecular approach. *Phytochem.* **55**, 463–482.
- Wikler, M.A., **2006**. Performance Standards for Antimicrobial Disk Susceptibility Tests; Approved Standard. *CLSI* **32**, 217–220.
- Wu, E., Komolpis, K., Wang, H.Y., **1999**. Chemical extraction of indigo from *Indigofera tinctoria* while attaining biological integrity. *Biotechnol. Tech.* **13**, 567–569.
- Xiu, S., Ma, H., Wang, X., Shi, J., Zhuang, Y., **1982**. Study on active constituents of the roots of *Xiao Xuan Cao* (*Hermerocallis minor* Moll.). *Chem. Abstract* **97**, 107026–107027.
- Yadava, R.N., Belwanshi, P., **2009**. New antifungal constituent from the *Tricholepsis glaberrina* DC. *Asian J. Chem.* **21**, 6683–6688.

- Yasuda, T., Mizunuma, S., Kano, Y., Saito, K.I., Ohsawa, K., **1996**. Urinary and biliary metabolites of genistein in rats. *Biol. Pharm. Bull.* **19**, 413–417.
- Zhang, L., Mulrooney, S.B., Leung, A.F.K., Zeng, Y., Ko B.B.C., Hausinger R.P., **2006**. Inhibition of urease by bismuth (III): Implications for the mechanism of action of bismuth drugs. *BioMetals* **19**, 503–511.
- Zeng, X., Zhao, W., Zhang, T., Wang, L., Yang, G., Chen, Y.K., Hu, Q., Miao, M., **2013**. A New Flavonoid from the Roots of *Cassia fistula* and its Antitobacco Mosaic Virus Activity. *Asian J. Chem.* **25**, 6622–6624.

Liste des Publications

1. **Mouafon, L.I.**, Tiani, G.L.M., Mountessou, B.Y.G., Lateef, M., Ali, M.S., Green I.R., Ngadjui, B.T., Kouam, S.F., 2021. Chemical constituents of the medicinal plant *Indigofera spicata* Forsk (Fabaceae) and their chemophenetic significance. *Biochem. Syst. Ecol.*, **95**, <https://doi.org/10.1016/j.bse.2021.104230>.
2. **Mouafon, L.I.**, Mountessou, B.Y.G., Lateef, M., Tchamgoue, J., Ali, M.S., Tchouankeu, J.C., Green I.R., Ngadjui, B.T., Kouam, S.F., 2021. Atricephenols A and B, two phenolic compounds from *Indigofera atriceps* Hook.f. (Fabaceae). *En cours...*