

REPUBLIQUE DU CAMEROUN

Paix – Travail – Patrie

UNIVERSITE DE YAOUNDE I

FACULTE DES SCIENCES

DEPARTEMENT DE CHIMIE

ORGANIQUE

CENTRE DE RECHERCHE ET DE

FORMATION DOCTORALE EN

SCIENCES, TECHNOLOGIE ET

GEOSCIENCES



REPUBLIC OF CAMEROUN

Peace – Work – Fatherland

UNIVERSITY OF YAOUNDE I

FACULTY OF SCIENCE

DEPARTMENT OF ORGANIC

CHEMISTRY

POSTGRADUATE SCHOOL OF

SCIENCE, TECHNOLOGY AND

GEOSCIENCES

Isolement et caractérisation des constituants chimiques de deux plantes médicinales camerounaises *Lippia rugosa* A. Chev (Verbenaceae) et *Plectranthus glandulosus* Hook (Lamiaceae) et évaluation de leurs activités insecticide et antioxydante

Thèse présentée et soutenue publiquement en vue de l'obtention du
diplôme de DOCTORAT/ Ph.D en
Chimie

Par : TSOPMEJIO Jean Paul

Master en Chimie Organique

Sous la direction de

MOMENI Jean

Chargé de Cours

Université de Ngaoundéré

NKENGFACK Augustin Ephrem

Professeur

Université de Yaoundé I

Année Académique : 2019





DEPARTEMENT DE CHIMIE ORGANIQUE
DEPARTMENT OF ORGANIC CHEMISTRY

ATTESTATION DE CORRECTION DE MEMOIRE DE THESE DE DOCTORAT/Ph.D DE
MONSIEUR TSOPMEJIO Jean Paul

Titre de thèse : ISOLEMENT ET CARACTERISATION DES CONSTITUANTS CHIMIQUES
DE DEUX PLANTES MEDICINALES CAMEROUNAISES (*Lippia rugosa* A Chev
(Verbenaceae) et *Plectranthus glandulosus* Hook (Lamiaceae)) ET EVALUATION DE LEURS
ACTIVITES INSECTICIDE ET ANTIOXYDANTE

Nous soussignés, enseignants ci-dessous nommés, membres du jury de soutenance de thèse
de Doctorat/Ph.D de Monsieur TSOPMEJIO Jean Paul, 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 16 Juillet 2020.

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

Fait à Yaoundé, le 17 JUIL 2020

Président :

NGUELA Silvère Augustin
(Professeur)

Membres :

MBAZOA DJAMA Céline
(Maître de Conférences)

Rapporteurs

NKENGFACK Augustin Ephrem
(Professeur)

NGUEFA HAPPI Emmanuel
(Maître de Conférences)

MOMENI Jean
(Chargé de Cours)

NGUEFACK Julienne
(Maître de Conférences)

LISTE PROTOCOLAIRE

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 2019/2020

(Par Département et par Grade)

DATE D'ACTUALISATION 19 Février 2020

ADMINISTRATION

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

VICE-DOYEN / DPSAA : DONGO Etienne, *Professeur*

VICE-DOYEN / DSSE : AJEAGAH Gideon AGHAINDUM, *Professeur*

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

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

Chef Division des Affaires Académiques, de la Scolarité et de la Recherche DAASR :

MBAZE MEVA'A Luc Léonard, *Professeur*

1- DÉPARTEMENT DE BIOCHIMIE (BC) (38)			
N°	NOMS ET PRÉNOMS	GRADE	OBSERVATIONS
1	BIGOGA DIAGA Jude	Professeur	En poste
2	FEKAM BOYOM Fabrice	Professeur	En poste
3	FOKOU Elie	Professeur	En poste
4	KANSCI Germain	Professeur	En poste
5	MBACHAM FON Wilfried	Professeur	En poste
6	MOUNDIPA FEWOU Paul	Professeur	Chef de Département
7	NINTCHOM PENLAP V. épouse 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 M. C. F.	Maître de Conférences	Chef DAF / FS
13	BOUDJEKO Thaddée	Maître de Conférences	En poste
14	DJUIDJE NGOUNOUE Marcelline	Maître de Conférences	En poste
15	EFFA NNOMO Pierre	Maître de Conférences	En poste
16	NANA Louise épouse WAKAM	Maître de Conférences	En poste

17	NGONDI Judith Laure	Maître de Conférences	En poste
18	NGUEFACK Julienne	Maître de Conférences	En poste
19	NJAYOU Frédéric Nico	Maître de Conférences	En poste
20	MOFOR née TEUGWA Clotilde	Maître de Conférences	Inspecteur de Service MINESUP
21	TCHANA KOUATCHOUA Angèle	Maître de Conférences	En poste
22	AKINDEH MBUH NJI	Chargée de Cours	En poste
23	BEBOY EDZENGUELE Sara Nathalie	Chargée de Cours	En poste
24	DAKOLE DABOY Charles	Chargée de Cours	En poste
25	DJUIKWO NKONGA Ruth Viviane	Chargée de Cours	En poste
26	DONGMO LEKAGNE Joseph Blaise	Chargé de Cours	En poste
27	EWANE Cécile Anne	Chargée de Cours	En poste
28	FONKOUA Martin	Chargé de Cours	En poste
29	BEBEE Fadimatou	Chargée de Cours	En poste
30	KOTUE KAPTUE Charles	Chargé de Cours	En poste
31	LUNGA Paul KEILAH	Chargé de Cours	En poste
32	MANANGA Marlyse Joséphine	Chargée de Cours	En poste
33	MBONG ANGIE M. Mary Anne	Chargée de Cours	En poste
34	PECHANGOU NSANGOU Sylvain	Chargé de Cours	En poste
35	Palmer MASUMBE NETONGO	Chargé de Cours	En poste
36	MBOUCHE FANMOE Marceline Joëlle	Assistante	En poste
37	OWONA AYISSI Vincent Brice	Assistant	En poste
38	WILFRIED ANGIE Abia	Assistante	En poste

2- DÉPARTEMENT DE BIOLOGIE ET PHYSIOLOGIE ANIMALES (BPA) (48)			
1	AJEAGAH Gideon AGHAINDUM	Professeur	<i>VICE-DOYEN / DSSE</i>
2	BILONG BILONG Charles-Félix	Professeur	Chef de Département
3	DIMO Théophile	Professeur	En Poste
4	DJIETO LORDON Champlain	Professeur	En Poste
5	ESSOMBA née NTSAMA MBALA	Professeur	<i>Vice Doyen/FMSB/UIYI</i>
6	FOMENA Abraham	Professeur	En Poste
7	KAMTCHOING Pierre	Professeur	En poste
8	NJAMEN Dieudonné	Professeur	En poste
9	NJIOKOU Flobert	Professeur	En Poste
10	NOLA Moïse	Professeur	En poste
11	TAN Paul VERNYUY	Professeur	En poste
12	TCHUEM TCHUENTE Louis Albert	Professeur	<i>Inspecteur de service Coord.Progr./MINSANTE</i>
13	ZEBAZE TOGOUET Serge Hubert	Professeur	<i>En poste</i>
14	BILANDA Danielle Claude	Maître de Conférences	En poste
15	DJIOGUE Séfirin	Maître de Conférences	En poste
16	DZEUFIET DJOMENI Paul Désiré	Maître de Conférences	En poste
17	JATSA BOUKENG Hermine épse MEGAPTCHE	Maître de Conférences	En Poste

18	KEKEUNOU Sévilor	Maître de Conférences	En poste
19	MEGNEKOU Rosette	Maître de Conférences	En poste
20	MONY Ruth épouse NTONE	Maître de Conférences	En Poste
21	NGUEGUIM TSOFAK Florence	Maître de Conférences	En poste
22	TOMBI Jeannette	Maître de Conférences	En poste
23	ALENE Désirée Chantal	Chargée de Cours	En poste
26	ATSAMO Albert Donatien	Chargé de Cours	En poste
27	BELLET EDIMO Oscar Roger	Chargé de Cours	En poste
28	DONFACK Mireille	Chargée de Cours	En poste
29	ETEME ENAMA Serge	Chargé de Cours	En poste
30	GOUNOUE KAMKUMO Raceline	Chargée de Cours	En poste
31	KANDEDA KAVAYE Antoine	Chargé de Cours	En poste
32	LEKEUFACK FOLEFACK Guy B.	Chargé de Cours	En poste
33	MAHOB Raymond Joseph	Chargé de Cours	En poste
34	MBENOUN MASSE Paul Serge	Chargé de Cours	En poste
35	MOUNGANG LucianeMarlyse	Chargée de Cours	En poste
36	MVEYO NDANKEU Yves Patrick	Chargé de Cours	En poste
37	NGOULATEU KENFACK Omer Bébé	Chargé de Cours	En poste
38	NGUEMBOK	Chargé de Cours	En poste
39	NJUA Clarisse Yafi	Chargée de Cours	Chef Div. UBA
40	NOAH EWOTI Olive Vivien	Chargée de Cours	En poste
41	TADU Zephyrin	Chargé de Cours	En poste
42	TAMSA ARFAO Antoine	Chargé de Cours	En poste
43	YEDE	Chargé de Cours	En poste
44	BASSOCK BAYIHA Etienne Didier	Assistant	En poste
45	ESSAMA MBIDA Désirée Sandrine	Assistante	En poste
46	KOGA MANG DOBARA	Assistant	En poste
47	LEME BANOCK Lucie	Assistante	En poste
48	YOUNOUSSA LAME	Assistant	En poste

3- DÉPARTEMENT DE BIOLOGIE ET PHYSIOLOGIE VÉGÉTALES (BPV) (32)			
1	AMBANG Zachée	Professeur	Chef Division/UYII
2	BELL Joseph Martin	Professeur	En poste
3	DJOCGOUE Pierre François	Professeur	En poste
4	MOSSEBO Dominique Claude	Professeur	En poste
5	YOUMBI Emmanuel	Professeur	Chef de Département
6	ZAPFACK Louis	Professeur	En poste
7	ANGONI Hyacinthe	Maître de Conférences	En poste
8	BIYE Elvire Hortense	Maître de Conférences	En poste
9	KENGNE NOUMSI Ives Magloire	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	MBOLO Marie	Maître de Conférences	En poste

13	NDONGO BEKOLO	Maître de Conférences	CE / MINRESI
14	NGONKEU MAGAPTCHE Eddy L.	Maître de Conférences	En poste
15	TSOATA Esaïe	Maître de Conférences	En poste
16	TONFACK Libert Brice	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	NGOUO Lucas Vincent	Chargé de Cours	En poste
23	NNANGA MEBENGA Ruth Laure	Chargé de Cours	En poste
24	NOUKEU KOUAKAM Armelle	Chargé de Cours	En poste
25	ONANA JEAN MICHEL	Chargé de Cours	En poste
26	GODSWILL NTSOMBAH NTSEFONG	Assistant	En poste
27	KABELONG BANAHOU Louis-Paul- Roger	Assistant	En poste
28	KONO Léon Dieudonné	Assistant	En poste
29	LIBALAH Moses BAKONCK	Assistant	En poste
30	LIKENG-LI-NGUE Benoit C	Assistant	En poste
31	TAEDOUNG Evariste Hermann	Assistant	En poste
32	TEMEGNE NONO Carine	Assistant	En poste

4- DÉPARTEMENT DE CHIMIE INORGANIQUE (CI) (35)			
1	AGWARA ONDOH Moïse	Professeur	<i>Vice Recteur Univ ,Bamenda</i>
2	ELIMBI Antoine	Professeur	En poste
3	Florence UFI CHINJE épouse MELO	Professeur	<i>Recteur Univ.Ngaoundere</i>
4	GHOGOMU Paul MINGO	Professeur	<i>Ministre Chargé deMiss.PR</i>
5	NANSEU Njiki Charles Péguy	Professeur	En poste
6	NDIFON Peter TEKE	Professeur	<i>CT MINRESI/Chef de Département</i>
7	NGOMO Horace MANGA	Professeur	<i>Vice Chancelor/UB</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 UD_s</i>
10	BABALE née DJAM DOUDOU	Maître de Conférences	<i>Chargée Mission P.R.</i>
11	DJOUFAC WOUMFO Emmanuel	Maître de Conférences	En poste
12	KAMGANG YOUNBI Georges	Maître de Conférences	En poste
13	KEMMEGNE MBOUGUEM Jean C.	Maître de Conférences	En poste
14	KONG SAKEO	Maître de Conférences	En poste
15	NDI NSAMI Julius	Maître de Conférences	En poste

17	NJIOMOU C. épouse DJANGANG	Maître de Conférences	En poste
18	NJOYA Dayirou	Maître de Conférences	En poste
19	YOUNANG Elie	Maître de Conférences	En poste
20	ACAYANKA Elie	Chargé de Cours	En poste
21	BELIBI BELIBI Placide Désiré	Chargé de Cours	CS/ ENS Bertoua
22	CHEUMANI YONA Arnaud M.	Chargé de Cours	En poste
23	EMADACK Alphonse	Chargé de Cours	En poste
24	KENNE DEDZO GUSTAVE	Chargé de Cours	En poste
25	KOUOTOU DAOUDA	Chargé de Cours	En poste
26	MAKON Thomas Beauregard	Chargé de Cours	En poste
27	MBEY Jean Aime	Chargé de Cours	En poste
28	NCHIMI NONO KATIA	Chargé de Cours	En poste
29	NEBA nee NDOSIRI Bridget NDOYE	Chargée de Cours	CT/ MINFEM
30	NYAMEN Linda Dyorisse	Chargée de Cours	En poste
31	PABOUDAM GBAMBIE A.	Chargée de Cours	En poste
32	TCHAKOUTE KOUAMO Hervé	Chargé de Cours	En poste
33	NJANKWA NJABONG N. Eric	Assistant	En poste
34	PATOUOSSA ISSOFA	Assistant	En poste
35	SIEWE Jean Mermoz	Assistant	En Poste

5- DÉPARTEMENT DE CHIMIE ORGANIQUE (CO) (35)			
1	DONGO Etienne	Professeur	Vice-Doyen / PSAA
2	GHOGOMU TIH Robert Ralph	Professeur	Dir. IBAF/UDA
3	NGOUELA Silvère Augustin	Professeur	Chef de Département UDS
4	NKENGFAK Augustin Ephrem	Professeur	Chef de Département
5	NYASSE Barthélemy	Professeur	En poste
6	PEGNYEMB Dieudonné Emmanuel	Professeur	Directeur/ MINESUP
7	WANDJI Jean	Professeur	En poste
8	Alex de Théodore ATCHADE	Maître de Conférences	DEPE/ Rectorat/UYYI
9	EYONG Kenneth OBEN	Maître de Conférences	Chef Service Programme & Diplomes
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	KEUMOGNE 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	NOTE LOUGBOT Olivier Placide	Maître de Conférences	Chef Service/MINESUP
18	NGO MBING Joséphine	Maître de Conférences	Sous/Direct. MINERESI

19	NGONO BIKOBO Dominique Serge	Maître de Conférences	En poste
20	NOUNGOUE TCHAMO Diderot	Maître de Conférences	En poste
21	TABOPDA KUATE Turibio	Maître de Conférences	En poste
22	TCHOUANKEU Jean-Claude	Maître de Conférences	<i>Doyen /FS/ UYI</i>
23	TIH née NGO BILONG E. Anastasie	Maître de Conférences	En poste
24	YANKEP Emmanuel	Maître de Conférences	En poste
25	AMBASSA Pantaléon	Chargé de Cours	En poste
26	KAMTO Eutrophe Le Doux	Chargé de Cours	En poste
27	MVOT AKAK CARINE	Chargé de Cours	En poste
28	NGNINTEDO Dominique	Chargé de Cours	En poste
29	NGOMO Orléans	Chargée de Cours	En poste
30	OUAHOUE WACHE Blandine M.	Chargée de Cours	En poste
31	SIELINOU TEDJON Valérie	Chargé de Cours	En poste
32	TAGATSING FOTSING Maurice	Chargé de Cours	En poste
33	ZONDENDEGOUNBA Ernestine	Chargée de Cours	En poste
34	MESSI Angélique Nicolas	Assistant	En poste
35	TSEMEUGNE Joseph	Assistant	En poste

6- DÉPARTEMENT D'INFORMATIQUE (IN) (27)

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	AMINOUE Halidou	Chargé de Cours	En poste
5	DJAM Xaviera YOUH - KIMBI	Chargé de Cours	En Poste
6	EBELE Serge Alain	Chargé de Cours	En poste
7	KOUOKAM KOUOKAM E. A.	Chargé de Cours	En poste
8	MELATAGIA YONTA Paulin	Chargé de Cours	En poste
9	MOTO MPONG Serge Alain	Chargé de Cours	En poste
10	TAPAMO Hyppolite	Chargé de Cours	En poste
11	ABESSOLO ALO'O Gislain	Chargé de Cours	En poste
12	KAMGUEU Patrick Olivier	Chargé de Cours	En poste
13	MONTHE DJIADEU Valery M.	Chargé de Cours	En poste
14	OLLE OLLE Daniel Claude Delort	Chargé de Cours	C/D Enset. Ebolowa
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	DOMGA KOMGUEM Rodrigue	Assistant	En poste
20	EKODECK Stéphane Gaël Raymond	Assistant	En poste
21	HAMZA Adamou	Assistant	En poste
22	JIOMEKONG AZANZI Fidel	Assistant	En poste
23	MAKEMBE. S . Oswald	Assistant	En poste
24	MESSI NGUELE Thomas	Assistant	En poste
25	MEYEMDOU Nadège Sylvianne	Assistante	En poste

26	NKONDOCK. MI. BAHANACK.N.	Assistant	En poste
----	---------------------------	-----------	----------

7- DÉPARTEMENT DE MATHÉMATIQUES (MA) (30)			
1	EMVUDU WONO Yves S.	Professeur	CD Info/ Inspecteur MINESUP
2	AYISSI Raoult Domingo	Maître de Conférences	Chef de Département
3	NKUIMI JUGNIA Célestin	Maître de Conférences	En poste
4	NOUNDJEU Pierre	Maître de Conférences	En poste
5	MBEHOU Mohamed	Maître de Conférences	En poste
6	TCHAPNDA NJABO Sophonie B.	Maître de Conférences	Directeur/AIMS Rwanda
7	AGHOUKENG JIOFACK Jean Gérard	Chargé de Cours	Chef Cellule MINPLAMAT
8	CHENDJOU Gilbert	Chargé de Cours	En poste
9	DJIADEU NGAHA Michel	Chargé de Cours	En poste
10	DOUANLA YONTA Herman	Chargé de Cours	En poste
11	FOMEKONG Christophe	Chargé de Cours	En poste
12	KIANPI Maurice	Chargé de Cours	En poste
13	KIKI Maxime Armand	Chargé de Cours	En poste
14	MBAKOP Guy Merlin	Chargé de Cours	En poste
15	MBANG Joseph	Chargé de Cours	En poste
16	MBELE BIDIMA Martin Ledoux	Chargé de Cours	En poste
17	MENGUE MENGUE David Joe	Chargé de Cours	En poste
18	NGUEFACK Bernard	Chargé de Cours	En poste
19	NIMPA PEFOUNKEU Romain	Chargée de Cours	En poste
20	POLA DOUNDOU Emmanuel	Chargé de Cours	En poste
21	TAKAM SOH Patrice	Chargé de Cours	En poste
22	TCHANGANG Roger Duclos	Chargé de Cours	En poste
23	TCHOUNDJA Edgar Landry	Chargé de Cours	En poste
24	TETSADJIO TCHILEPECK M. E.	Chargée de Cours	En poste
25	TIAYA TSAGUE N. Anne-Marie	Chargée de Cours	En poste
26	MBIAKOP Hilaire George	Assistant	En poste
27	BITYE MVONDO Esther Claudine	Assistante	En poste
28	MBATAKOU Salomon Joseph	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	DRV/IMPM
2	BOYOMO ONANA	Maître de Conférences	En poste
3	NWAGA Dieudonné M.	Maître de Conférences	En poste
4	NYEGUE Maximilienne Ascension	Maître de Conférences	En poste
5	RIWOM Sara Honorine	Maître de Conférences	En poste

6	SADO KAMDEM Sylvain Leroy	Maître de Conférences	En poste
7	ASSAM ASSAM Jean Paul	Chargé de Cours	En poste
8	BODA Maurice	Chargé de Cours	En poste
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	Assistante	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) (42)

1	BEN- BOLIE Germain Hubert	Professeur	En poste
2	ESSIMBI ZOBO Bernard	Professeur	En poste
3	KOFANE Timoléon Crépin	Professeur	En poste
4	NANA ENGO Serge Guy	Professeur	En poste
5	NDJAKA Jean Marie Bienvenu	Professeur	Chef de Département
6	NOUAYOU Robert	Professeur	En poste
7	NJANDJOCK NOUCK Philippe	Professeur	<i>Sous Directeur/ MINRESI</i>
8	PEMHA Elkana	Professeur	En poste
9	TABOD Charles TABOD	Professeur	Doyen Univ/Bda
10	TCHAWOUA Clément	Professeur	En poste
11	WOAFO Paul	Professeur	En poste
12	BIYA MOTTO Frédéric	Maître de Conférences	DG/HYDRO Mekin
13	BODO Bertrand	Maître de Conférences	En poste
14	DJUIDJE KENMOE épouse ALOYEM	Maître de Conférences	En poste
15	EKOBENA FOUA Henri Paul	Maître de Conférences	<i>Chef Division. UN</i>
16	EYEBE FOUA Jean sire	Maître de Conférences	En poste
17	FEWO Serge Ibraïd	Maître de Conférences	En poste
18	HONA Jacques	Maître de Conférences	En poste
19	MBANE BIOUELE César	Maître de Conférences	En poste
20	NANA NBENDJO Blaise	Maître de Conférences	En poste
21	NDOP Joseph	Maître de Conférences	En poste
22	SAIDOU	Maître de Conférences	MINERESI
23	SIEWE SIEWE Martin	Maître de Conférences	En poste
24	SIMO Elie	Maître de Conférences	En poste
25	VONDOU Derbetini Appolinaire	Maître de Conférences	En poste
26	WAKATA née BEYA Annie	Maître de Conférences	<i>Sous Directeur/ MINESUP</i>

27	ZEKENG Serge Sylvain	Maître de Conférences	En poste
28	ABDOURAHIMI	Chargé de Cours	En poste
29	EDONGUE HERVAIS	Chargé de Cours	En poste
30	ENYEGUE A NYAM épouse BELINGA	Chargée de Cours	En poste
31	FOUEDJIO David	Chargé de Cours	Chef Cell. MINADER
32	MBINACK Clément	Chargé de Cours	En poste
33	MBONO SAMBA Yves Christian U.	Chargé de Cours	En poste
34	MELI'I Joelle Larissa	Chargée de Cours	En poste
35	MVOGO ALAIN	Chargé de Cours	En poste
38	OBOUNOU Marcel	Chargé de Cours	DA/Univ Inter Etat/Sangmalima
39	WOULACHE Rosalie Laure	Chargée de Cours	En poste
40	AYISSI EYEBE Guy François Valérie	Assistant	En poste
41	CHAMANI Roméo	Assistant	En poste
42	TEYOU NGOUPOU Ariel	Assistant	En poste

10- DÉPARTEMENT DE SCIENCES DE LA TERRE (ST) (43)			
1	BITOM Dieudonné	Professeur	<i>Doyen / FASA / UDs</i>
2	FOUATEU Rose épouse YONGUE	Professeur	En poste
3	KAMGANG Pierre	Professeur	En poste
4	NDJIGUI Paul Désiré	Professeur	Chef de Département
5	NDAM NGOUPAYOU Jules-Remy	Professeur	En poste
6	NGOS III Simon	Professeur	DAAC/Uma
7	NKOUMBOU Charles	Professeur	En poste
8	NZENTI Jean-Paul	Professeur	En poste
9	ABOSSOLO née ANGUE Monique	Maître de Conférences	<i>Vice-Doyen / DRC</i>
10	GHOGOMU Richard TANWI	Maître de Conférences	CD/Uma
11	MOUNDI Amidou	Maître de Conférences	<i>CT/ MINIMDT</i>
12	NGUEUTCHOUA Gabriel	Maître de Conférences	CEA/MINRESI
13	NJILAH Isaac KONFOR	Maître de Conférences	En poste
14	ONANA Vincent Laurent	Maître de Conférences	En poste
15	BISSO Dieudonné	Maître de Conférences	<i>Directeur/Projet Barrage Memvo'ele</i>
16	EKOMANE Emile	Maître de Conférences	En poste
17	GANNO Sylvestre	Maître de Conférences	En poste
18	NYECK Bruno	Maître de Conférences	En poste
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	LAMILEN 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	TCHAKOUNTE J. épouse NOUMBEM	Chargée de Cours	<i>Chef.cell / MINRESI</i>
39	TCHAPTCHET TCHATO De P.	Chargé de Cours	En poste
40	TEHNA Nathanaël	Chargé de Cours	En poste
41	TEMGA Jean Pierre	Chargé de Cours	En poste
42	FEUMBA Roger	Assistant	En poste
43	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	9 (1)	13 (09)	14 (05)	3 (2)	39 (16)
BPA	13 (1)	09 (06)	19 (05)	05 (2)	46 (13)
BPV	06 (0)	10 (02)	9 (04)	07 (01)	31 (9)
CI	10 (1)	09 (02)	13 (02)	02 (0)	35 (5)
CO	7 (0)	17 (04)	09 (03)	03 (0)	35(7)
IN	2 (0)	1 (0)	14 (01)	10 (02)	26 (3)
MAT	1 (0)	5 (0)	19 (01)	05 (01)	30 (2)
MIB	1 (0)	5 (02)	06 (01)	06 (02)	17 (5)
PHY	11 (0)	16 (01)	10 (03)	03 (0)	40 (4)
ST	8 (1)	14 (01)	19 (04)	02 (0)	43(6)
Total	68 (4)	99 (27)	132 (29)	45 (10)	344 (70)

Soit un total de **344 (70)** dont :

- Professeurs **68 (4)**
- Maîtres de Conférences **99 (27)**
- Chargés de Cours **132 (29)**
- Assistants **46 (10)**

() = Nombre de Femmes **45**

Le Doyen de la Faculté des Sciences

DEDICACE

A mes parents

A M et Mme ZEBAZE

A mes frères et sœurs

REMERCIEMENTS

Bien que la thèse soit fondamentalement un travail individuel, son accomplissement passe par des étapes dont tout seul on ne saurait être à la hauteur. Je tiens à exprimer ma profonde reconnaissance à tous ceux-là qui, de près ou de loin ont su contribué chacun à sa manière à la réalisation de ce travail, manifestant par la même occasion leur attachement pour ma modeste personne.

Je tiens à remercier particulièrement :

Le **Professeur NKENGFACK Augustin Ephrem** qui a accepté de superviser ce travail malgré ses multiples occupations. Veuillez trouver ici, Professeur, l'expression de ma profonde gratitude pour m'avoir accueilli au sein de votre équipe de recherche. Soyez assuré de mon profond respect pour m'avoir fait bénéficier de votre expérience professionnelle, vos connaissances, votre ardeur à la tâche, votre esprit critique. J'exprime ici une grande admiration pour votre sens du travail bien fait, votre gentillesse, votre rigueur, sans toutefois oublier votre soutien moral qui m'a aidé à surmonter bien des difficultés.

Le **Docteur MOMENI Jean**, Chargé de Cours au département de Chimie de la Faculté des Sciences de l'Université de Ngaoundéré, qui tout au long de ce travail, m'a accordé son soutien sans faille, sa confiance, sa disponibilité. Je vous remercie chaleureusement Docteur, pour ces moments d'écoute et de conseils que vous m'avez accordés.

Le **Docteur MKOUNGA Pierre** (Maître de Conférences); **Docteur OUAHOUB Blandine** (Chargé de Cours) et **Docteur MVOT AKAK Carine** (Chargé de Cours), qui ont su me prodiguer des conseils avisés pour que je puisse surmonter les difficultés qui se présentaient à moi

Le **Professeur IQBAL Choudhary M.** de ICCBS (International Center for Chemical and Biological Sciences), Université de Karachi au Pakistan, qui m'a accueilli dans son laboratoire dans le cadre de la bourse TWAS-ICCBS pour la réalisation partielle de mes travaux, en l'occurrence l'isolement, la synthèse chimique et l'enregistrement des spectres. C'est le lieu de lui témoigner toute ma reconnaissance.

Le **Professeur NGAMO TINKEU Léonard**, du département de Biologie de la Faculté des Sciences de l'Université de Ngaoundéré, pour m'avoir accepté dans son unité de Recherches Entomologiques pour la réalisation des tests insecticides. Professeur, veuillez trouver ici l'expression de ma plus grande considération.

Le **Professeur MAPONGMETSEM Pierre Marie**, du département de Biologie de la Faculté des Sciences de l'Université de Ngaoundéré pour son aide dans l'identification de la plante et ses multiples conseils.

Tous les enseignants du Département de Chimie Organique de l'Université de Yaoundé I et de Chimie de l'Université de Ngaoundéré pour leur encadrement et la formation qu'ils m'ont donnés.

Les Docteurs **TSAFFACK Maurice**, **SIELINOUE Tedjon Valerie**, **FODJA Edwige**, **TSAMO Armelle**, **FOUOTSA Hugues**, **MAZA Hermine**, **ABDOU Jean Pierre** et **NANGMO Pamela** qui ont tous su, chacun à sa manière, me prodiguer des conseils judicieux pour la réalisation de ce travail.

Tous mes camarades du Laboratoire 260, **MFIFEN Aristide**, **DJOMKAM Elvis**, **TYON Lydie**, **GOMPE Eric**, **CHOUNDA Gwladys**, **FEUDJOU William**, **PAGNA Julio**, **FENKAM Sandra**, **NGUEGUIM Stephanie**, **TCHAPO Emar**, **FOUAGUIM Jeff**, **TOKO Einstein**, **NOUBISSIE Christelle**, **DZEFFOUO KOUCHELE Beauvarine**, **DONFACK TEMGOUA Maïva** qui ont su faire régner au sein du Laboratoire, une atmosphère de travail empreinte de convivialité et de fraternité.

Mlle NKOUEM TSOPJIO Francine pour les échanges scientifiques et les encouragements pendant les recherches.

Mes remerciements vont également à:

Mes parents **TSOBMEDJOUO Victor** et **NGUETSE Jeannette**, qui m'ont toujours soutenu et n'ont jamais cessé de m'apporter leur soutien pour que je puisse mener à bien ce travail.

Mr et Mme ZEBAZE, je vous remercie profondément pour tous vos conseils et votre assistance inconditionnelle. Veuillez trouver en ce document, une récompense et mes vifs et sincères remerciements.

Mes frères et sœurs : **Sa'a TSAGUE Thomas**, **DOUANAYA Etienne**, **TEJIONA Cécile**, **JIOFACK Douglas**, **KENFACK Eric**, **TEJIONA Pierre Richard** et **PIEBENG Guillene** pour l'affection et la confiance que vous avez en moi. Ce travail est le vôtre en témoignage de mon affection fraternelle et de ma reconnaissance.

Une mention spéciale à **Mlle NGASSAM Claude Carine**, chérie ton affection tes encouragements pendant les moments difficiles m'ont beaucoup aidé, trouve ici l'expression de mon amour sincère.

A tous ceux-là qui n'ont pas été cités nommément et dont le soutien moral et la présence à mes côtés ont été d'un grand apport dans la réalisation de ce travail, du fond du cœur merci pour tout.

SOMMAIRE

LISTE PROTOCOLAIRE	i
DEDICACE.....	xii
REMERCIEMENTS.....	xiii
SOMMAIRE	xv
LISTE DES ABREVIATIONS	xx
LISTE DES TABLEAUX.....	xxii
LISTE DES SCHEMAS.....	xxv
LISTE DES FIGURES	xxvi
RESUME.....	xxix
ABSTRACT.....	xxxi
INTRODUCTION GENERALE.....	1
CHAPITRE 1 : REVUE DE LA LITTERATURE.....	5
I.A. LE STRESS OXYDATIF.....	6
I.A.1. Définition.....	6
I.A.2. Origine du stress.....	6
I.A.3. Les radicaux libres.....	6
I.A.3.1. Définition	6
I.A.3.2. Principaux radicaux libres.....	6
I.A.3.3. Origines des radicaux	7
I.A.4. Les conséquences du stress oxydatif	7
I.B. CONTRAINTES DE CONSERVATION POST RECOLTE DES CEREALS, DIVERSITE DES RAVAGEURS ET METHODES DE CONSERVATION DES GRAINS	8
I.B.1. Contraintes liées aux stockages des céréals	8
I.B.2. Diversité des ravageurs.....	9
I.B.3. Les méthodes de protection des grains.....	11
I.B.3.1. La lutte chimique.....	11

I.B.3.2. La lutte biologique	12
I.B.3.3. Lutte naturelle utilisant les plantes aromatiques	12
I.C. ASPECTS BOTANIQUE ET TRAVAUX ANTERIEURS DES	
VERBENACEAE ET LAMIACEAE	13
I.C.1. Aperçu botanique des Verbenaceae.....	13
I.C.1.1. Généralités sur les Verbenaceae	13
I.C.1.2. Généralités sur le genre <i>Lippia</i>	13
I.C.1.3. Aperçu botanique de <i>Lippia rugosa</i>	14
I.C.1.3.1. Classification botanique	15
I.C.1.4. Quelques utilisations des plantes du genre <i>Lippia</i>	15
I.C.1.4.1. Usages thérapeutiques	15
I.C.1.4.2. Quelques utilisations des plantes du genre <i>Lippia</i> dans la protection des denrées stockées	17
I.C.1.4.3. Usages alimentaires	17
I.C.1.5. Constituants chimiques du genre <i>Lippia</i> : travaux chimique antérieurs... 17	
I.C.2. Aperçu botanique des Lamiaceae	22
I.C.2.1. Généralités sur les Lamiaceae	22
I.C.2.2. Généralités sur le genre <i>Plectranthus</i>	22
I.C.2.3. Aperçu botanique de <i>Plectranthus glandulosus</i>	23
I.C.2.3.1. Classification botanique	24
I.C.2.4. Quelques utilisations des plantes du genre <i>Plectranthus</i>	25
I.C.2.4.1. Usages thérapeutiques des plantes du genre <i>Plectranthus</i>	25
I.C.2.4.2. Usages thérapeutiques de <i>Plectranthus glandulosus</i>	25
I.C.2.4.3. Usages domestiques des plantes du genre <i>Plectranthus</i>	26
I.C.2.4.4. Utilisation de <i>Plectranthus glandulosus</i> dans la protection des denrées stockées	27
I.C.2.5. Constituants chimiques du genre <i>Plectranthus</i> : travaux chimiques antérieurs	27
I.C.3. Les flavonoïdes	31

I.C.3.1. Généralités sur les flavonoïdes	31
I.C.3.2. Classification des flavonoïdes	31
I.C.3.3. Biosynthèse des flavonoïdes	34
I.C.3.4. Méthodes de déterminations de structure des flavonoïdes.....	36
I.C.3.6. Activités biologiques des flavonoïdes	42
CHAPITRE II : RESULTATS ET DISCUSSION.....	45
II. ETUDE CHIMIQUE DE <i>PLECTRANTHUS GLANDULOSUS</i> ET DE <i>LIPPIA</i>	
<i>RUGOSA</i>	46
II.1. Extraction, fractionnement et isolement des composés.....	46
II.1.1. Extraction, fractionnement et isolement des composés de <i>P. glandulosus</i> ...	46
II.1.2. Extraction, fractionnement et isolement des composés des tiges et feuilles de <i>L. rugosa</i>	47
II.2. Elucidation structurale des composés isolés.....	51
II.2.1. Les flavonoïdes	51
II.2.1.1. Détermination de la structure du composé ILR ₂₀	51
II.2.1.2. Identification du composé LRF ₄	61
II.2.1.3. Identification du composé PLR ₁₁	66
II.2.1.4. Identification du composé PLR ₁	70
II.2.1.5. Identification du composé PGN ₁	76
II.2.1.6. Identification du composé PGN ₂	82
II.2.1.7. Identification du composé KLR ₁	87
II.3.2. Monoterpène.....	90
II.3.2.1. Détermination de la structure du composé PGN ₆	90
II.3.3. Les triterpènes	96
II.3.3.1. Identification du composé IPT ₁	96
II.3.3.2. Identification du composé KLR ₂	100
II.3.3.3. Identification du composé ILR ₁₂	105
II.3.3.4. Identification du composé ILR ₁₄	108
II.3.3.5. Identification du composé ILR ₇	111

II.3.3.6. Identification du composé ILR ₆	114
II.3.4. Identification du composé ILR ₃	117
II.3.5. Identification du composé ILR ₈	121
II.3.6. Identification du composé KLR ₄	123
II.3.7. Identification du composé PLR ₄	126
II.3.8. Identification du composé ILR ₁₀	127
II.4. Quelques transformations chimiques	129
II.4.1. Transposition de Beckmann	129
II.4.2. Méthylation	131
II.5. Activités biologiques des extraits et des composés purs	132
II.5.1. Activités insecticides.....	132
II.5.1.1. Activité insecticides des extraits bruts des deux plantes.....	132
II.5.2. Activité antioxydante	134
II.5.2.1. Résultats de l'activité antioxydante sur les extraits des deux plantes....	134
II.5.2.2. Résultats de l'activité antioxydante sur quelques composés isolés	136
CONCLUSION GENERALE ET PERSPECTIVES.....	138
CHAPITRE III : PARTIE EXPERIMENTALE	142
III.1. Généralités	143
III.2. Matériels utilisés	144
III.2.1. Matériel végétal.....	144
III.2.2. Maïs.....	144
III.2.3. Matériel animal.....	145
III.3. Extraction, isolement et purification des composés	146
III.3.1. Extraction et Fractionnement	146
III.3.1.1. Isolement et purification des composés.....	147
III.3.1.1.1. Isolement et purification de la fraction F2+F3 de <i>P. glandulosus</i>	147
III.3.1.1.2. Isolement et purification de l'extrait brut des tiges de <i>L. rugosa</i>	149
III.3.1.1.3. Isolement et purification de l'extrait brut des feuilles de <i>L. rugosa</i>	150
III.4. Caractéristiques physico-chimiques des composés isolés	154

III.5. Transformations chimiques.....	159
III.5.1. Transposition de Beckmann	159
III.5.2. Méthylation.....	159
III.6. Matériels biologiques et méthodes.....	160
III.6.1. Evaluation de l'activité insecticide.....	160
III.6.2. Elevage des insectes.....	160
III.6.3. Méthode.....	160
III.7. Evaluation de l'activité antioxydante	161
III.7.1. Méthode utilisant la DPPH°	161
III.7.2. Méthode utilisant le FRAP	162
III.8. L'analyse des données	163
III.9. Tests qualitatifs des composés isolés	163
III.9.1. Test de Liebermann Burchard	163
III.9.2. Test au chlorure ferrique.....	163
REFERENCES.....	165
LISTE DES PUBLICATIONS ISSUES DE LA THESE.....	181

LISTE DES ABREVIATIONS

APT :	<i>Attached Proton Test</i>
CC :	Chromatographie sur Colonne
CCM :	Chromatographie sur Couche Mince
CE₅₀ :	Concentration nécessaire pour inhiber de moitié l'activité
COSY :	<i>Correlation Spectroscopy</i>
d :	Doublet
DCM :	Dichlorométhane
dd :	Doublet dédoublé
DEPT :	<i>Distortionless Enhancement by Polarisation Transfer</i>
DMSO :	Diméthylsulfoxyde
DPPH° :	1,1-diphényl-2-picrylhydrazyl
ERO :	Espèces réactives de l'oxygène
ESI-TOF :	<i>Electron Spray Ionisation - Time Of Flight</i>
FAB :	<i>Fast Atom Bombardment</i>
FRAP :	<i>Ferric reduction antioxidant power</i>
HMBC :	<i>Heteronuclear Multiple Bond Connectivity</i>
HPLC :	<i>High Pressure Liquid Chromatography</i>
HR :	<i>High Resolution</i>
HSQC :	<i>Heteronuclear Single Quantum Coherence</i>
Hz :	Hertz
IE :	Impact Electronique
IR :	Infra Rouge
J :	Constante de couplage
L :	<i>Lippia</i>
L.R :	<i>Lippia rugosa</i>
m :	Multiplet
M :	Multiplicité

MHz :	Méga Hertz
NOESY :	<i>Nuclear Overhauser Enhancement Correlation Spectroscopy</i>
P:	<i>Plectranthus</i>
P.G:	<i>Plectranthus glandulosus</i>
P. F. :	Point de Fusion
ppm :	Partie par million
RDA :	Retro Diel Alder
RMN¹³C :	Résonance Magnétique Nucléaire du carbone 13
RMN¹H :	Résonance Magnétique Nucléaire du proton
s :	Singulet
t :	Triplet
q :	Quadruplet
UV :	Ultraviolet
δ :	Echelle de déplacement chimique en ppm

LISTE DES TABLEAUX

Tableau 1 : Diversité des insectes ravageurs des grains stockés recensés au nord-Caméroun	10
Tableau 2 : Quelques plantes du genre <i>lippia</i> ainsi que leurs usages en médecine traditionnelle et moderne.....	16
Tableau 3 : Quelques glycosides isolés du genre <i>lippia</i>	18
Tableau 4 : Quelques lignanes isolés du genre <i>lippia</i>	19
Tableau 5 : Quelques terpenoïdes isolés du genre <i>lippia</i>	20
Tableau 6 : Quelques flavonoïdes isolés du genre <i>lippia</i>	21
Tableau 7: Quelques noms en langues locale de <i>plectranthus glandulosus</i> au Caméroun	24
Tableau 8 : Quelques usages thérapeutiques des plantes du genre <i>plectranthus</i>	25
Tableau 9: Quelques utilisations domestiques des plantes du genre <i>plectranthus</i>	26
Tableau 10 : Quelques triterpènes isolés du genre <i>plectranthus</i>	28
Tableau 11 : Quelques diterpènes isolés du genre <i>plectranthus</i>	29
Tableau 12 : Quelques alkylphénols à longue chaîne isolés du genre <i>plectranthus</i>	30
Tableau 13: Relation entre la couleur des spots et la structure des flavonoïdes.	37
Tableau 14: Récapitulatif des composés isolés des différentes parties de <i>lippia rugosa</i> et de <i>plectranthus glandulosus</i>	49
Tableau 15 : Données spectrales de RMN ¹ H (400 MHz, CDCl ₃) et de RMN ¹³ C (200 MHz, CDCl ₃) de ILR ₂₀	60
Tableau 16 : Données spectrales de RMN ¹ H (500 MHz, CDCl ₃), de RMN ¹³ C (100 MHz, CDCl ₃) et de la référence (100 MHz, DMSO- <i>d</i> ₆) de LRF ₄	65
Tableau 17: Données spectrales de RMN ¹ H (600 MHz, Acétone- <i>d</i> ₆), de RMN ¹³ C (125 MHz, Acétone- <i>d</i> ₆) de PLR ₁₁	69
Tableau 18: Données spectrales de RMN ¹ H (500 MHz, CDCl ₃), de RMN ¹³ C (150 MHz, CDCl ₃) de PLR ₁	75

Tableau 19 : Données spectrales de RMN ¹ H (500 MHz, Acétone- <i>d</i> ₆), de RMN ¹³ C (125 MHz, Acétone- <i>d</i> ₆) de PGN ₁	81
Tableau 20 : Données spectrales de RMN ¹ H (500 MHz, Acétone- <i>d</i> ₆), de RMN ¹³ C (150 MHz, Acétone- <i>d</i> ₆) de PGN ₂	86
Tableau 21 : Données spectrales de RMN ¹ H (400 MHz, CDCl ₃) et de littérature RMN ¹ H (400 MHz, Acétone- <i>d</i> ₆) et RMN ¹³ C (100 MHz, Acétone- <i>d</i> ₆) de KLR ₁	89
Tableau 22 : Données spectrales de RMN ¹ H (400 MHz, CDCl ₃), de RMN ¹³ C (150 MHz, CDCl ₃) de PGN ₆	95
Tableau 23 : Données spectrales de RMN ¹ H (400 MHz, CDCl ₃), de RMN ¹³ C (100 MHz, CDCl ₃) de IPT ₁	99
Tableau 24 : Données spectrales de RMN ¹ H (400 MHz, CDCl ₃), de RMN ¹³ C (125 MHz, CDCl ₃) de KLR ₂	104
Tableau 25 : Données spectrales de RMN ¹ H (400 MHz, CDCl ₃), de RMN ¹³ C (125 MHz, CDCl ₃) de ILR ₁₂	107
Tableau 26 : Données spectrales de RMN ¹ H (500 MHz, CDCl ₃), de RMN ¹³ C (125 MHz, CDCl ₃) de ILR ₁₄	110
Tableau 27 : Données spectrales de RMN ¹ H (500 MHz, CDCl ₃), de RMN ¹³ C (125 MHz, CDCl ₃) de ILR ₇	113
Tableau 28 : Données spectrales de RMN ¹ H (500MHz, CDCl ₃), de RMN ¹³ C (125MHz, CDCl ₃) de ILR ₆	116
Tableau 29 : Données spectrales de RMN ¹ H (400 MHz, DMSO- <i>d</i> ₆), de RMN ¹³ C (100 MHz, DMSO- <i>d</i> ₆) du composé ILR ₃	120
Tableau 30 : Données spectrales de RMN ¹ H (500 MHz, D ₂ O), de RMN ¹³ C (125 MHz, D ₂ O) de KLR ₄	125
Tableau 31 : Taux de mortalité de <i>sitophilus zeamais</i> à différente concentration des extraits de <i>L. rugosa</i>	132
Tableau 32 : Taux de mortalité des <i>sitophilus zeamais</i> à différente concentration des extraits de <i>P. glandulosus</i>	133

Tableau 33 : Pourcentage de réduction du DPPH° à différentes concentration des extraits de <i>L. rugosa</i>	135
Tableau 34 : Pourcentage de réduction du DPPH° à différentes concentration des extraits de <i>P. glandulosus</i>	135
Tableau 35 : Concentration à l'équivalence (CE ₅₀) des différents extraits de <i>L. rugosa</i> et <i>P. glandulosus</i>	136
Tableau 36 : Concentration à l'équivalence (CE ₅₀) de quelques composés isolés de <i>L. rugosa</i> et de <i>P. glandulosus</i>	137
Tableau 37 : Résultats d'extraction par des solvants de polarité croissante	146
Tableau 38 : Chromatogramme de la fraction issue du mélange de F1 et F2	147
Tableau 39 : Chromatogramme de l'extrait des tiges de <i>L. rugosa</i>	149
Tableau 40 : Chromatogramme de l'extrait brut des feuilles de <i>L. rugosa</i>	151

LISTE DES SCHEMAS

Schéma 1 : Position systématique de <i>Lippia rugosa</i> dans la classification botanique ..	15
Schéma 2 : Position systématique de <i>Plectranthus glandulosus</i> dans la classification botanique	24
Schéma 3 : Différentes classes de flavonoïdes	32
Schéma 4 : Différentes classes de isoflavonoïdes	33
Schéma 5 : Différentes classes de isoflavonoïdes	33
Schéma 6 : Les étapes biosynthétiques des différentes classes de flavonoïdes	35
Schéma 7 : Fragmentation d'une flavone : apigénine.....	42
Schéma 8 : Protocole d'extraction, de fractionnement et d'isolement des composés de <i>Plectranthus glandulosus</i>	47
Schéma 9 : Protocole d'extraction, de fractionnement et d'isolement des composés des tiges de <i>L. rugosa</i>	48
Schéma 10 : Protocole d'extraction, de fractionnement et d'isolement des composés	48
Schéma 11 : Quelques corrélations HMBC et NOESY de ILR ₂₀	58
Schéma 12 : Quelques corrélations HMBC du composé LRF ₄	65
Schéma 13 : Quelques corrélations HMBC de PLR ₁	73
Schéma 14 : Fragmentation du type Retro Diel Alder de PLR ₁	74
Schéma 15 : Cristallographie aux rayons x de PGN ₆	94

LISTE DES FIGURES

Figure 1 : Photo de <i>Lippia rugosa</i>	14
Figure 2 : Photo de <i>P. glandulosus</i>	23
Figure 3 Spectre de masse en impact électronique de ILR ₂₀	51
Figure 4 : Spectre de masse FAB ⁺ de ILR ₂₀	52
Figure 5 : Spectre IR de ILR ₂₀	53
Figure 6 : Spectre UV de ILR ₂₀	53
Figure 7 : Spectre de RMN ¹³ C (200 MHz, CDCl ₃) de ILR ₂₀	54
Figure 8 Spectre DEPT 135 (200 MHz, CDCl ₃) de ILR ₂₀	54
Figure 9 Spectre de RMN ¹ H (400 MHz, CDCl ₃) de ILR ₂₀	56
Figure 10 Spectre HSQC de ILR ₂₀	57
Figure 11 Spectre COSY de ILR ₂₀	58
Figure 12 : Spectre HMBC de ILR ₂₀	59
Figure 13 : Spectre NOESY de ILR ₂₀	59
Figure 14 : Spectre de masse ESI-TOF de LRF ₄	61
Figure 15 : Spectre de RMN ¹ H (500 MHz, CDCl ₃) de LRF ₄	62
Figure 16 Spectre de RMN ¹³ C découplé large bande (125 MHz, CDCl ₃) de LRF ₄	63
Figure 17 Spectre DEPT 135 (125 MHz, CDCl ₃) de LRF ₄	63
Figure 18 : Spectre HMBC de LRF ₄	64
Figure 19 : Spectre de masse en impact électronique (IE) de PLR ₁₁	66
Figure 20 : Spectre de RMN ¹ H (600 MHz, Acétone- <i>d</i> ₆) de PLR ₁₁	67
Figure 21 : Spectre de RMN ¹³ C découplé proton large bande (125 MHz, Acétone- <i>d</i> ₆) de PLR ₁₁	68
Figure 22 : Spectre DEPT 135 (125 MHz, Acétone- <i>d</i> ₆) de PLR ₁₁	68
Figure 23 : Spectre de masse en impact électronique (IE) de PLR ₁	70
Figure 24 : Spectre de RMN ¹ H (500 MHz, CDCl ₃) de PLR ₁	71
Figure 25 : Spectre de RMN ¹³ C découplé proton large bande (150 MHz, CDCl ₃) de PLR ₁	72

Figure 26 : Spectre DEPT 135 (150 MHz, CDCl ₃) de PLR ₁	72
Figure 27 : Spectre HSQC de PLR ₁	73
Figure 28 : Spectre HMBC de PLR ₁	74
Figure 29 : Spectre de masse en impact électronique (IE) de PGN ₁	76
Figure 30 : Spectre de RMN ¹ H (500 MHz, Acétone- <i>d</i> ₆) de PGN ₁	77
Figure 31 : Spectre RMN ¹³ C découple large bande (125 MHz, Acétone- <i>d</i> ₆) de PGN ₁	78
Figure 32 : Spectre DEPT (125 MHz, Acétone- <i>d</i> ₆) de PGN ₁	79
Figure 33 : Spectre HMBC de PGN ₁	79
Figure 34 : Spectre DEPT-HSQC du composé PGN ₁	80
Figure 35 : Spectre de masse en impact electronique (IE) de PGN ₂	82
Figure 36 : Spectre de RMN ¹ H (500 MHz, Acétone- <i>d</i> ₆) de PGN ₂	83
Figure 37 : Spectre de RMN ¹³ C découplé proton large bande (150 MHz, Acétone- <i>d</i> ₆) de PGN ₂	84
Figure 38 : Spectre DEPT 135 (150 MHz, Acétone- <i>d</i> ₆) de PGN ₂	85
Figure 39 : Spectre de RMN ¹ H (400 MHz, CDCl ₃) de KLR ₁	88
Figure 40 : Spectre DEPT-HSQC (500 MHz, CDCl ₃) de KLR ₁	88
Figure 41 : Spectre IR du composé PGN ₆	90
Figure 42 : Spectre de RMN ¹³ C découplé proton large bande (150 MHz, CDCl ₃) de PGN ₆	91
Figure 43 : Spectre DEPT 135 (150 MHz, CDCl ₃) de PGN ₆	91
Figure 44 : Spectre de RMN ¹ H (400 MHz, CDCl ₃) de PGN ₆	92
Figure 45 : Spectre HMBC de PGN ₆	94
Figure 46 : Spectre de RMN ¹³ C (400MHz, CDCl ₃) de IPT ₁	97
Figure 47 : Spectre DEPT 135 de IPT ₁	97
Figure 48 : Spectre de RMN ¹ H (500 MHz, CDCl ₃) de IPT ₁	98
Figure 49 : Spectre de RMN ¹³ C (500MHz, CDCl ₃) de KLR ₂	101
Figure 50 : Spectre de RMN ¹ H (400 MHz, CDCl ₃) de KLR ₂	102
Figure 51 : Spectre HSQC de KLR ₂	102
Figure 52 : Spectre de masse en impact électronique (IE) de ILR ₁₂	105

Figure 53 : Spectre de RMN ^1H (400 MHz, CDCl_3) de ILR ₁₂	106
Figure 54 : Spectre de masse en impact électronique (IE) de ILR ₁₄	108
Figure 55 : Spectre de RMN ^1H (500 MHz, CDCl_3) de ILR ₁₄	109
Figure 56 : Spectre de masse en impact électronique IE de ILR ₇	111
Figure 57 : Spectre de RMN ^1H (500MHz, CDCl_3) du composé ILR ₇	112
Figure 58 : Spectre de masse en impact électronique (IE) de ILR ₆	114
Figure 59 : Spectre de RMN ^1H (500 MHz, CDCl_3) de ILR ₆	115
Figure 60 : Spectre de masse GC-MS de ILR ₃	117
Figure 61 : Spectre de RMN ^1H (400 MHz, $\text{DMSO}-d_6$) de IRL ₃	118
Figure 62 : Spectre APT de ILR ₃	118
Figure 63 : Spectre HSQC du composé ILR ₃	119
Figure 64 : Spectre de masse en impact électronique (IE) de ILR ₈	121
figure 65 : Spectre de RMN ^1H (400 MHz, CDCl_3) de ILR ₈	122
Figure 66 : Spectre de RMN ^{13}C découplé large bande (150 MHz, D_2O) de KLR ₄	123
Figure 67 : Spectre DEPT 135 de KLR ₄	123
Figure 68 : Spectre de RMN ^1H (500 MHz, D_2O) de KLR ₄	124
Figure 69 : Spectre DEPT-HSQC de KLR ₄	125
Figure 70 : Spectre de RMN ^1H (400 MHz, $\text{C}_5\text{D}_5\text{N}$) de PLR ₄	126
Figure 71 : Spectre de RMN ^1H (400 MHz, CDCl_3) de PLR ₁₀	128
Figure 72 : Spectre de RMN ^1H (500 MHz, CDCl_3) de IPTR ₁	130
Figure 73 : Spectre de RMN ^1H (400 MHz, DMSO) du composé ILRR ₃	131
Figure 64 : Adulte de <i>Sitophilus zeamais</i> Motsch	145

RESUME

Cette thèse s'inscrit dans la thématique de recherche développée au Laboratoire de Chimie Organique Structural et Analytique de l'Université de Yaoundé I. Elle vise essentiellement la recherche des molécules naturelles d'origine végétale bioactives doués de propriétés insecticides et antioxydantes.

Lippia rugosa (Verbenaceae) et *Plectranthus glandulosus* (Lamiaceae) sont utilisées dans la protection des denrées alimentaires, en particulier, les céréales tels que le maïs, le sorgho, le blé, le riz. Elles sont également utilisées en médecine traditionnelle dans le traitement de nombreuses maladies telles que le rhumatisme, la fièvre, la toux, la jaunisse, rhume, maux de tête, le paludisme.

Les investigations phytochimiques effectuées à l'aide des méthodes chromatographiques sur colonne de gel de silice sur les extraits de *L. rugosa* et *P. glandulosus*, nous ont permis d'isoler vingt quatre composés. De ces 24 composés, 16 ont été isolés des feuilles et des tiges de *L. rugosa*, 8 isolés de la plante entière de *P. glandulosus*. Des 16 composés isolés de *L. rugosa* on dénombre 5 flavonoïdes dont un dérivé nouveau auquel nous avons donné le nom trivial de plectranmicine et 4 connus : 7-hydroxy-5,6,4'-triméthoxyflavone, 5,4'-dihydroxy-3,7-diméthoxyflavone, 5-hydroxy-6,7,4'-triméthoxyflavone et 5-hydroxy-3,7,4'-triméthoxyflavone, 6 triterpènes pentacycliques connus : lup-20(29)-èn-3 β ,28-diol, lup-20(29)-èn-3 β -ol, acide bétulinique, l'acétate de lupéol, 3 β -hydroxy-urs-12-èn-3-ol, fridelan-3-one, 1 alcaloïde : 2,4-diméthylpyridine-3,5-diol, 1 alcool gras : cosanol, 1 sucre : saccharose, deux stérols : glucoside de sigmastérol, 1 mélange de stigmastérol et β -sitostérol. Parmi les 8 composés isolés de *P. glandulosus* nous avons 3 flavonoïdes : plectranmicine, 5-hydroxy-3,7,2',4'-tétraméthoxyflavone, 5,7-dihydroxy-3,2',4'-triméthoxyflavone, 1 monoterpène nouveau auquel nous avons donné le nom trivial de plectranmicinol, 3 triterpènes pentacycliques : fridelan-3-one, lup-20(29)-èn-3 β ,28-diol, 3 β -hydroxy-urs-12-èn-3-ol, et 1 glucoside de stérol : 3-O- β -D-glucopyranosyl de sigmastérol. Les structures de ces composés ont été établies sur la base d'une

interprétation de leurs données spectrales, en particulier, la RMN ^1H et ^{13}C à une et deux dimensions en conjonction avec la spectrométrie de masse. Quelques-uns de ces composés tels que la fridelan-3-one et la 2,4-diméthylpyridine-3,5-diol ont fait l'objet de quelques transformations chimique notamment la transposition de Beckmann et la méthylation qui ont conduit respectivement à un caprolactame et à la 2,4-diméthyl-3,5-diméthoxypyridine.

Les extraits de *L. rugosa*, de *P. glandulosus* et certains composés purs isolés ont été évalués pour leurs activités insecticides et antioxydantes. S'agissant de l'activité insecticide, les résultats obtenus ont montré une bonne activité pour les deux plantes avec un taux de mortalité de $(83,75 \pm 11,25)\%$ pour l'extrait à l'acétate d'éthyle de *L. rugosa* et un taux de mortalité de plus de 90% pour les extraits de *P. glandulosus* vis à vis du *Sitophulus zeamais*, insecte ravageurs du maïs. Pour ce qui concerne l'activité antioxydante à l'égard du DPPH°, l'extrait à l'éthanol de *L. rugosa* s'est révélé le plus actif avec un pourcentage d'inhibition de $(85,668 \pm 1,233)\%$ à la concentration 100 $\mu\text{g/ml}$. Par contre tous les extraits de *P. glandulosus* ont présenté une bonne activité, et l'extrait à l'éthanol a été plus actif avec une inhibition de $(94,586 \pm 1,071)\%$. Quelques composés purs ont été testés pour leur pouvoir réducteur à l'aide du DPPH° et chélatant par la méthode FRAP. Les résultats ont montré que la flavonoïde nouvelle plectranmicine et le monoterpénol nouveau plectranmicinol ont été les plus actifs avec CE_{50} de $(0,322 \pm 0,026)$ et $(0,339 \pm 0,020)$ $\mu\text{M/ml}$ pour la méthode FRAP et $(0,208 \pm 0,029)$ et $(0,185 \pm 0,012)$ $\mu\text{M/ml}$ pour DPPH° respectivement.

MOTS CLES: Verbenaceae, Lamiaceae, *Lippia rugosa*, *Plectranthus glandulosus*, activité antioxydante, activité insecticide, DPPH° et FRAP.

ABSTRACT

This thesis is inscribed in the theme of research developed at the Structural Chemistry Laboratory, in the Department of Organic Chemistry, of the University of Yaounde I. It is focused on bioactive natural molecules of plant origin, potentially of insecticidal and antioxidant activities.

Lippia rugosa (Verbenaceae) and *Plectranthus glandulosus* (Lamiaceae) used in the protection of foodstuffs especially, cereals such as maize, sorghum, wheat and rice against pests. In addition, these plants are also used in traditional medicine due to their therapeutic properties in the treatment of many diseases including rheumatism, fever, cough, jaundice, colds, headaches, malaria.

Thus, by means of liquid chromatographic technique, twenty-four (24) compounds were isolated from the extracts of *L. rugosa* and *P. glandulosus*. Of these 24 compounds, sixteen (16) were isolated from the leaves and stems of *L. rugosa* and eight (8) from the entire plant of *P. glandulosus*. Of the 16 compounds isolated from *L. rugosa*, there are: five (5) flavonoids including a new derivative to which the trivial name plectranmicin was giving, together with 4 known compounds (7-hydroxy-5,6,4'-trimethoxyflavone, 5,4'-dihydroxy-3,7-dimethoxyflavone, 5-hydroxy-6,7,4'-trimethoxyflavone and 5-hydroxy-3,7,4'-trimethoxyflavone), six (6) known pentacyclic triterpenes (lup-20 (29) -en-3 β , 28-diol, lup-20 (29) -en-3 β -ol, betulinic acid, lupeol acetate, 3 β -hydroxy-urs-12-en-3-ol, fridelan-3-one), one (1) known alcaloid (2,4-diméthylpyridine-3,5-diol), one (1) fatty alcohol (cosanol) one (1) sugar (sucrose) two (2) sterols stigmasterol glucoside, a mixture of stigmasterol and β -sitosterol. While among the eight (8) isolated from *P. glandulosus* they were three (3) flavonoids: plectranmicin, 5-hydroxy-3,7,2',4'-tetramethoxyflavone, 5,7-dihydroxy-3,2',4'-trimethoxyflavone, 1 new monoterpene derivative to which trivial name plectranmicinol was assigned, 3 known pentacyclic triterpenes: fridelan-3-one, lup-20 (29) -en-3 β , 28-diol, 3 β -hydroxy-urs-12-en-3-ol and 1 sterol glucoside: 3-O- β -D-glucopyranosyl stigmasterol. The structures of all these compounds were established

from the analyses on the interpretation of their spectral data, in particular 1D and 2D NMR in conjunction to mass spectrometry. Some of these compounds, such as fridelan-3-one and 2,4-diméthylpyridine-3,5-diol, were submitted to a few chemical transformations, in particular Beckmann rearrangement and methylation, which led to caprolactam and 3, 4-dimethyl-3,5-dimethoxypyridine, all confirmed and characterized.

Concerning the biological aspect, extracts of *L. rugosa*, *P. glandulosus* and some isolated pure compounds were evaluated for their insecticidal and antioxidant activities. With regards to insecticidal activity, the results obtained showed a good activity for both plants with a mortality rate of 83.75 ± 11.25 % for the ethyl acetate extract of *L. rugosa* and a mortality rate of more than 90% for extracts of *P. glandulosus* against the maize destructive pest *Sitophilus zeamais*. For antioxidant activity against DPPH°, the ethanol extract of *L. rugosa* is the most active with a percentage inhibition of 85.668 ± 1.233 % at 100 µg/ml concentration. On the other hand, all the extracts of *P. glandulosus* showed good activity, but the ethanol extract is the most active with an inhibition of 94.586 ± 1.071 %. Some pure compounds have been tested for their reducing power using DPPH° and chelating by FRAP method. The results show that the new flavonoid plectranmicin and the new monoterpenol plectranmicinol are the most active with EC₅₀ of (0.322 ± 0.026) and (0.339 ± 0.020) µM / ml for the FRAP method and (0.208 ± 0.029) and (0.185 ± 0.012) µM / ml for DPPH° scavenging, respectively.

KEY WORDS: Verbenaceae, Lamiaceae, *Lippia rugosa*, *Plectranthus glandulosus*, antioxidant activity, insecticidal activity, DPPH° and FRAP.

INTRODUCTION GENERALE

La faim et la malnutrition demeurent des fléaux dans le monde qui touchent près de 800 millions de personnes dont la majorité se trouve dans les pays en voie de développement où la notion de sécurité alimentaire reste un luxe (OMS, 2017). Or l'alimentation des populations dans le monde dépend pour une part importante des céréales comme le riz, le maïs, le blé et le sorgho (Ngamo *et al.*, 2007a ; Ngamo *et al.*, 2007b). Cette nécessité de consommation des céréales a engendré une augmentation de la production grâce aux techniques modernes de l'agriculture. Le surplus de cette production est stocké pour la nutrition, pour la vente et pour assurer les campagnes agricoles à venir (Tapondjou *et al.*, 2002). Un bon stockage des denrées garantit la sécurité alimentaire (Bell, 1996). Pendant le stockage survient certaines pertes dues à l'attaque des charançons (coleoptera : curculionidae) (Gwinner *et al.*, 1998). Ces pertes sont plus importantes dans les zones à climats tropical et intertropical très favorables à leur développement (Tapondjou *et al.*, 2003). En cas d'infestation grave, 90% de grains peuvent être détruits au bout de six mois de stockage (Boura, 2006; Nukeinine *et al.*, 2010a). Pour faire face à ce grave problème, les paysans font recours aux insecticides de synthèse malgré leurs effets néfastes sur l'environnement (eutrophisation des cours d'eau entraînant l'intoxication de la faune aquatique) (Ndiaye, 2000), leurs pouvoirs rémanents entraînent un déséquilibre écologique et un développement des souches résistantes (Bell *et al.*, 1998 ; Keita *et al.*, 2000 et Ngamo *et al.*, 2001).

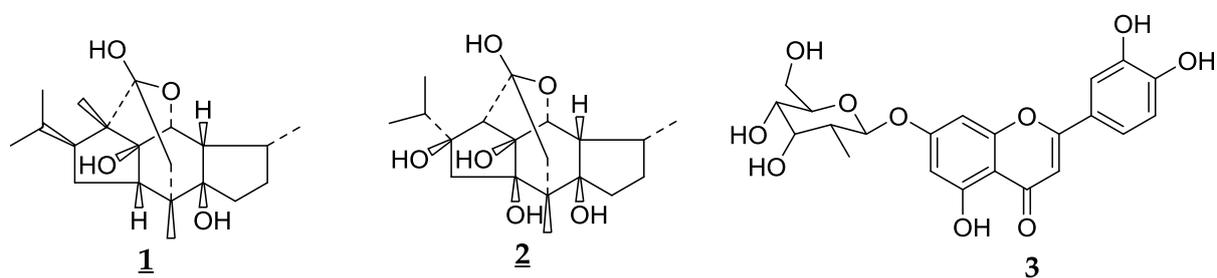
Parallèlement à la lutte contre les insectes prédateurs qui menacent la conservation des denrées stockées et dont le corolaire est la faim et la malnutrition, susceptibles d'entraîner la mort des millions de personnes, certaines maladies dégénératives comme le cancer, l'insuffisance cardiaque, l'artériosclérose, la maladie d'Alzheimer, la maladie de Parkinson, sont responsables de la morbidité et de la mortalité de plus de 25 millions de personnes à travers le monde (OMS, 2017). Ces maladies sont à l'origine de plus de 40% de mortalité dans les pays en voie de développement et de plus de 70% dans les pays industrialisés (OMS, 2017). La cause

principale de ces maladies est le stress oxydatif qui est dû à un déséquilibre résultant d'une production accrue des espèces oxygénées de l'oxygène (Halliwell et Gutteridge, 1984; Muramatsu *et al.*, 1995 ; Defraigne et Pincemail, 2007).

Face à cette situation, il est impératif de trouver, d'une part, des méthodes efficaces pour la conservation des denrées alimentaires à travers la recherche de nouveaux insecticides et d'autre part, la recherche de nouveaux agents chimiothérapeutiques susceptibles d'être utilisés pour le traitement du stress oxydatif. A cet effet, les plantes et les organismes marins constituent une solution alternative. En effet, les plantes sont réputées être une source inépuisable de molécules biologiquement actives susceptibles d'être utilisées dans la protection des denrées alimentaires stockées et le traitement des maladies dégénératives. De plus, la flore camerounaise réputée riche et variée renferme des milliers d'espèces dont un grand nombre n'ont été que peu ou pas du tout explorée pour leurs activités insecticides et pharmacologiques. C'est dans ce contexte que ce travail s'est donné pour objectif d'étudier deux plantes appartenant à deux familles botaniques : *Lippia rugosa* (*Verbenaceae*) et *Plectranthus glandulosus* (*Lamiaceae*). Il importe de noter que les métabolites secondaires isolés des plantes appartenant à ces deux familles sont réputés posséder des activités biologiques, notamment les activités insecticides, antioxydantes, antibactérienne, anti-inflammatoire, antiseptique. On peut à titre d'exemple citer l'indicol (**1**) et vignaticol (**2**) deux diterpènes doués des propriétés insecticides isolé de *Plectranthus hadiensis* (Braulio *et al.*, 1997) et la lutéolin-7-O-glycoside (**3**) un flavonoïde doué d'activité antioxydante isolé de *Lippia citriodora* (Japheth *et al.*, 2014).

Le choix porté dans le cadre de ce travail sur les plantes du genre *Lippia* et *Plectranthus* tient du fait que les plantes du genre *Lippia*, d'une part, et celle de *Plectranthus*, d'autre part, sont utilisées en médecine traditionnelle pour la protection des denrées stockées et le traitement de certaines maladies telle que la toux, l'indigestion, le cancer, la jaunisse, le diabète etc... (Hennebelle *et al.*, 2008 ; Ngassoum *et al.*, 2005 ; Ariadna *et al.*, 2008). Ce qui laisse présager que les extraits de

ces plantes contiendraient des métabolites secondaires aux activités biologiques en rapport avec les usages sus cités, qu'il serait judicieux d'investiguer.



L'objectif général de notre travail est l'étude chimique et biologique des extraits et métabolites secondaires de *Lippia rugosa* et de *Plectranthus glandulosus*, ses objectifs spécifiques sont triples :

- Isoler et purifier et caractériser les métabolites secondaires de *L. rugosa* et *P. glandulosus* ;
- Evaluer les activités biologiques aussi bien des extraits bruts que des composés purs isolés ;
- Effectuer des transformations chimiques de quelques composés isolés.

Le travail a été structuré en trois chapitres :

- ✓ Le chapitre I, porte sur la revue de littérature ;
- ✓ Le chapitre II, présente et discute les résultats des travaux suivis d'une conclusion générale et les perspectives ;
- ✓ Le chapitre III, a trait à la partie expérimentale. Dans cette partie sont présentés, les matériels et les méthodes qui ont permis d'obtenir les résultats. Ce dernier chapitre s'achève par une liste de références bibliographiques consultées.

CHAPITRE 1 : REVUE DE LA LITTERATURE

I.A. LE STRESS OXYDATIF

I.A.1. Définition

Le stress oxydatif est le déséquilibre entre la génération des espèces réactives de l'oxygène (ERO) et la capacité du corps à les neutraliser et à réparer les dommages oxydatifs (Boyd *et al.*, 2003). Il correspond à une perturbation du statut oxydatif intracellulaire (Morel et Barouki, 1999).

I.A.2. Origine du stress

Les radicaux libres sont produits par divers mécanismes physiologiques car ils sont utiles pour l'organisme à dose raisonnable. Cette production physiologique est parfaitement maîtrisée par des systèmes de défense. Dans les circonstances normales, on dit que la balance antioxydants/prooxydants est en équilibre. Si tel n'est pas le cas, que ce soit par déficit en antioxydants ou par suite d'une surproduction énorme de radicaux, l'excès de ces radicaux est appelé « stress oxydant » (Favier, 2003).

I.A.3. Les radicaux libres

I.A.3.1. Définition

Un radical libre est une espèce chimique ayant un ou plusieurs électrons non appariés, ce qui le rend extrêmement instable donc réactif (Vansant, 2004). L'ensemble des radicaux libres et de leurs précurseurs sont souvent appelés espèces réactives de l'oxygène (Favier, 2003). L'appellation espèces réactives de l'oxygène n'est pas restrictive. Elle inclut les radicaux libres de l'oxygène proprement dit, mais aussi certains dérivés oxygénés réactifs non radicalaires dont la toxicité est importante tel, le peroxyde d'hydrogène (H_2O_2), le peroxy-nitrite ($ONOO^-$) (Novelli, 1997).

I.A.3.2. Principaux radicaux libres

➤ L'anion superoxyde : la molécule d'oxygène, mise en présence d'une quantité d'énergie suffisante, peut acquérir un électron supplémentaire et former

ainsi l'anion superoxyde. Cet anion intervient comme facteur oxydant dans de nombreuses réactions.



➤ Le radical hydroxyle : OH° il est très réactif vis-à-vis des structures organiques et joue un rôle initiateur dans l'auto-oxydation lipidique.

➤ Le radical peroxyde : ROO° .

I.A.3.3. Origines des radicaux

Ils sont produits par divers mécanismes physiologiques afin de détruire des bactéries au sein des cellules phagocytaires ou pour réguler des fonctions cellulaires létales telle la mort cellulaire programmée ou apoptose (est le processus par lequel des cellules déclenchent leur autodestruction en réponse à un signal) (Favier, 2003). Les radicaux libres sont également produits par oxydoréduction dans l'organisme. Les radicaux peuvent également se former soit au cours de l'ingestion d'alcool et de certains médicaments tel que les antibiotiques, les anticancéreux. L'infection au VIH a tendance aussi à faire accroître les radicaux libres dans l'organisme (Hosein et Lytle, 2001; Favier, 2003; Hadi, 2004).

I.A.4. Les conséquences du stress oxydatif

La production excessive de radicaux libres provoque des lésions directes de molécules biologiques : oxydation de l'ADN, des protéines, des lipides et des glucides. Les radicaux libres induisent des effets mutagènes ou l'arrêt des réplifications de l'ADN. Ils agissent en provoquant des altérations de bases, des pontages ADN-protéines ou des ruptures de brins (Hadi, 2004). Ils inhibent la sécrétion d'insuline, modifient les structures primaire, secondaire et tertiaire des protéines (Krippeit-Drews *et al.*, 1994; Pincemail *et al.*, 1999).

Le stress oxydant est la principale cause initiale de plusieurs maladies telles que le cancer, la cataracte, le syndrome de détresse respiratoire aigu, l'œdème pulmonaire, le vieillissement accéléré, la maladie d'Alzheimer, les rhumatismes, les maladies cardiovasculaires, les maladies de Parkinson et les inflammations gastro-intestinale (Favier, 2003; Atawodi, 2005; Georgetti *et al.*, 2003).

I.B. CONTRAINTES DE CONSERVATION POST RECOLTE DES CEREALS, DIVERSITE DES RAVAGEURS ET METHODES DE CONSERVATION DES GRAINS

Le riz, le maïs, le blé et le sorgho sont des céréals qui constituent l'essentielle de l'alimentation des populations dans le monde (Hoogland *et al.*, 2001). Cette nécessité de consommation des céréales a engendré une augmentation de la production grâce aux techniques modernes de l'agriculture. Le surplus est stocké pour la vente et pour assurer les campagnes agricoles à venir (Tapondjou *et al.*, 2002). Un bon stockage de ces denrées garantit la sécurité alimentaire (Bell, 1996).

Les pertes causées par les insectes dans le grand Nord-Cameroun sont plus importantes, à cause des climats tropicaux et intertropicaux très favorables à leur développement (Tapondjou *et al.*, 2003). En cas d'infestation grave, 90% de grains peuvent être détruits au bout de six mois (Nukenine *et al.*, 2010 ; Boura, 2006), privant ainsi les cultivateurs de leurs ressources alimentaires et économiques, provoquant dans les cas extrêmes la pauvreté et la famine.

Les Coléoptères constituent de loin le groupe le plus important au sein des insectes ravageurs (Gwinner *et al.*, 1989). Dans les céréales stockées, les insectes les plus fréquents sont les charançons (Coleoptera : Curculionidae) (Gwinner *et al.*, 1998). En milieu tropical, ils sont essentiellement représentés par les espèces *Sitophilus. oryzae* qui attaque le riz et *Sitophilus. zeamais* qui attaque le maïs (Ngamo, 2004). Pour protéger les denrées stockées les paysans utilisent différentes méthodes de protections.

I.B.1. Contraintes liées aux stockages des céréals

Le stockage est réussi si, à son terme les céréals mis en réserve ne présentent pas de dépréciation ni de sa qualité, ni de sa quantité (Ngamo et Hance, 2007). Malheureusement, les dépréciations sont toujours observées au cours de stockage dans les régions tropicales. Ces dégâts sont en général la résultante de plusieurs facteurs tant exogènes qu'endogènes et de l'absence d'hygiène dans les lieux de stockage et de déstockage (Illiassa, 2004). Les facteurs endogènes sont ceux en

rapport avec la température, l'humidité relative qui agissent indirectement en créant les conditions favorables aux ravageurs (Walker et Farrell, 2003), la durée de stockage, la quantité stockée (Danho *et al.*, 2002), les cultivars très sensibles aux ravageurs (Ngamo et Hance, 2007). Les facteurs exogènes font références aux pestes (insectes, champignons, rongeurs) qui affectent directement les denrées stockées (Walker et Farrell, 2003). Les insectes sont les facteurs exogènes les plus importants, non seulement parce qu'ils provoquent des dommages qualitatifs et quantitatifs mais aussi créent également les conditions favorables à l'attaque et à la prolifération des microorganismes. Ces derniers sont constitués principalement des champignons qui synthétisent les mycotoxines, rendant ainsi les denrées impropres à la consommation (De Groot, 1996). Les rongeurs constituent aussi un groupe important des ravageurs, ils ne sont influencés ni par la température, ni par l'humidité de l'air. Ils souillent la denrée avec leurs excréments et sont également porteurs des maladies (Dobigny, 2000). La structure et l'hygiène du lieu de stockage sont des données très importantes pour une bonne réussite de stockage (Gwinner *et al.*, 1996). Chaque type de denrée correspond à une structure bien appropriée. L'inadéquation entre la denrée et le module de stockage prédispose à des déprédations (Walker et Farrell, 2003; Ngamo et Hance, 2007).

I.B.2. Diversité des ravageurs

Les ravageurs des céréales en stockage sont très diversifiés, ceux-ci allant des microorganismes aux rongeurs. Les rongeurs bien qu'ils ne sont pas très mentionnés constituent tout de même une menace pour les céréales stockées. Les insectes sont à l'origine de la plupart des dommages subis dans les réserves de denrées, bien que dans certains pays les rongeurs se montrent encore plus dangereux (Gwinner *et al.*, 1996)). Les insectes constituent le groupe le plus important des ravageurs des denrées stockées suivi des microorganismes. En effet, les températures et humidités élevées du climat tropical favorisent la pullulation d'insectes et de microorganismes qui, pour survivre, dévorent les produits vivriers causant d'énormes dégâts (Ngamo et Hance, 2007). Les ravageurs peuvent être répartis en trois groupes (Delobel et Tran,

1996). Ce regroupement est établi en fonction de leur intervention au cours de l'infestation des grains. Le premier groupe est celui des ravageurs primaires qui sont les insectes capables de casser l'enveloppe dure des graines saines. Certaines espèces pondent leurs œufs à l'intérieur de la graine et les larves mangent la graine de l'intérieur. C'est le cas de *S. zeamais*, *Protephanus truncatus* Horn (Coleoptera : Bostrichidae) fréquents sur le maïs en Afrique (Danho, 2003), *Callosobruchus maculatus* (Fabricius) qui peut entraîner la perte totale de la récolte (Ngamo et Hance, 2007) et de *Rhyzopertha dominica* (Coleoptera : Bostrichidae) qui est très destructeur pour le riz en stockage (Chanbang *et al.*, 2007). Le second groupe est celui des ravageurs secondaires qui sont incapables de percer l'enveloppe dure des graines saines. Ils agissent généralement après l'action des ravageurs primaires. Les ravageurs secondaires se nourrissent de graines cassées et d'enveloppes de graines cassées, c'est le cas de *Tribolium castaneum* Herbst (Coleoptera : Tenebrionidae) (Scotti, 1978), de *Tribolium confusum* Du Val (Coleoptera : Tenebrionidae) qui peuvent infester les grains sains, mais se développent préférentiellement dans la farine et les brisures (Vayias *et al.*, 2008). Le dernier groupe est celui des ravageurs tertiaires qui se nourrissent des poussières des grains et des brisures laissées par les groupes précédents, ce sont les moisissures et les champignons (Delobel et Tran, 1993). Dans le Grand Nord-Cameroun les insectes ravageurs des grains ont été recensé et identifier, et les résultats sont présentés dans le tableau ci-dessous.

Tableau 1 : Diversité des insectes ravageurs des grains stockés recensés au Nord-Cameroun (Ngamo *et al.*, 2007)

Insectes recensés	Familles	Statut	Hôtes ou proies
<i>Sitophilus zeamais</i>	Curculionidae	Pest I	Grains des céréales
<i>S. oryzae</i>	Curculionidae	Pest I	Grains des céréales
<i>Callosobruchus maculatus</i>	Bruchidae	Pest I	Grains légumineux
<i>Tribolium castaneum</i>	Tenebrionidae	Pest II	Farine des céréales/brisés

Pest I = peste primaire ; Pest II : peste secondaire ; Det : détritivore ; Para : parasitoïde ; Pred : prédateur

Tableau 1: (Suite et fin): Diversité des insectes ravageurs des grains stockés recensés au Nord-Cameroun (Ngamo *et al.*, 2007b)

Insectes recensés	Familles	Statut	Hôtes ou proies
<i>T. confusum</i>	Tenebrionidae	Pest II	Farine des céréales/brisés
<i>Oryzeaphilus surinamensis</i>	Sylvanidae	Pest II	Farine des céréales/brisés
<i>Rhyzopertha dominica</i>	Bostrychidae	Pest I	Grains des céréales
<i>Cryptolests ferrugineus</i>	Tenebrionidae	Det	Grains des céréales
<i>Ephestia kuehniella</i>	Pyralidae	Pest I	Grains des céréales/farines
<i>Plodia sp.</i>	Pyralidae	Pest I	Légume et céréale
<i>Sitotroga cerealella</i>	Gechiidae	Pest I	Grains des céréales
<i>Acanthoscelides obtectus</i>	Bruchidae	Pest I	Grains légumineux
<i>Gibbium sp.</i>	Ptinidae	Det	Céréale infestée
<i>Oligota sp.</i>	Ptinidae	Det	Céréale infestée
<i>Gnatocerus sp.</i>	Tenebrionidae	Det	Céréale infestée
<i>Anisopteromalus calandrae</i>	Pteromalidae	Para	<i>Sitophilus zeamais</i>
<i>Euphelmus sp.</i>	Ichnemonidae	Para	<i>Sitophilus sp.</i>
<i>Cerocephala sp.</i>	Pteromalidae	Para	<i>Sitophilus sp.</i>
<i>Dinarmus basili</i>	Pteromalidae	Para	<i>Callosobruchus maculatus</i>
<i>Lyctocoris sp.</i>	Pentatomidae	Pred	<i>Tribolium sp.</i> , <i>R. dominica</i>
<i>Xylocoris</i>	Pentatomidae	Pred	<i>Tribolium sp.</i> , <i>R. dominica</i>
<i>Xylocoris</i>	Pentatomidae	Pred	<i>Tribolium sp.</i> , <i>R. dominica</i>

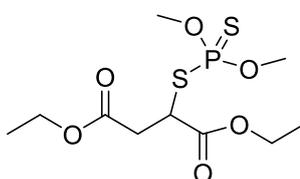
Pest I = peste primaire ; Pest II : peste secondaire ; Det : détritivore ; Para : parasitoïde ; Pred : prédateur

I.B.3. Les méthodes de protection des grains

I.B.3.1. La lutte chimique

Les insecticides de synthèse de nos jours sont de plus en plus utilisés par les paysans, malgré leurs effets néfastes sur l'environnement (Ndiaye, 2000). Or ces

produits sont toxiques pour les pathogènes, les plantes, mais aussi pour les consommateurs. Malgré les résultats qu'ils offrent, leurs pouvoirs rémanents entraînent un déséquilibre écologique, un développement des souches résistantes, et l'intoxication de l'utilisateur (Bell *et al.*, 1998 ; Keita *et al.*, 2000 et Ngamo *et al.*, 2001). Parmi ces insecticides de synthèses, nous pouvons citer le malagrain, le poudrox. Le composé actif se trouvant dans le poudrox est le malathion (4) qui est un composé organophosphoré parasymphomimétique qui se décompose en malaaxon très toxique dont sa formule est la suivante :



Malathion (4)

I.B.3.2. La lutte biologique

Le contrôle biologique a une grande importance dans la gestion des insectes nuisibles en général. Tout organisme vivant possède des ennemis naturels (Gwinner *et al.*, 1998). Cette lutte utilise les insectes comme agent de lutte biologique, ils peuvent être parasites ou prédateurs (Kumar, 1991).

I.B.3.3. Lutte naturelle utilisant les plantes aromatiques

Les plantes aromatiques peuvent être utilisées comme agents de contrôle des insectes nuisibles parce qu'elles constituent une source riche de produits chimiques bioactifs (Kin *et al.*, 2002). La majorité des plantes insecticides se retrouve dans la flore Tropicale (Keita *et al.*, 2000). Ces plantes sont riches en huiles essentielles (substances produites naturellement par les plantes et responsables des odeurs ou des goûts distinctifs des plantes et généralement volatiles (Keita *et al.*, 2000)). Parmi les plantes insecticides nous pouvons citer : *Lippia. multiflora* ; *Lippia. camara* ; *Plectranthus. glandulosus* ; *Lippia. rugosa* (Ngamo *et al.*, 2007 ; Nukenine *et al.*, 2010).

I.C. ASPECTS BOTANIQUE ET TRAVAUX ANTERIEURS DES VERBENACEAE ET LAMIACEAE

I.C.1. Aperçu botanique des Verbenaceae

I.C.1.1. Généralités sur les Verbenaceae

Les Verbenaceae sont une famille de plante regroupant 90 genres et plus de 2600 espèces constituées d'herbacées, de buissons et d'arbres. Comme pour les Lamiacées, on observe très communément un caractère aromatique dû à la présence d'huile essentielle. Les feuilles sont presque toujours opposées ou verticillées et simples ne contenant pas de stipule. On trouve parmi ces genres des arbres, des lianes, des arbustes et des plantes herbacées. Les plantes issues de la famille des *Verbenaceae* se retrouvent dans les zones équatoriales, subtropicales et tropicales (carr, 2005).

I.C.1.2. Généralités sur le genre *Lippia*

Le genre *Lippia* appartient à la sous famille des verbénoïdes (tribu Lantaneae). Il inclut environ 200 espèces d'herbes, buissons et arbustes, qui sont principalement rencontrées en Amérique du sud, en Amérique centrale et en Afrique tropicale (Terblanché, 1996). La classification la plus couramment utilisée est celle établie par Moldenke sur la base d'une comparaison des descriptions données de ce genre dans la littérature entre 1849 et 1969. Néanmoins, certains auteurs dénombrent jusqu'à deux fois plus d'espèces, ce qui peut être expliqué par l'existence de plusieurs taxons ayant des caractères en commun avec le genre *Lippia* (Arbonnier, 2000).

Le genre *Lippia* est caractérisé par un calice membraneux à deux angles longitudinaux en forme de carène comportant quatre dents divisées en deux. Le fruit se sépare à maturité en deux parties, chacune contenant une graine. Ce sont des plantes aromatiques (Arbonnier, 2000).

Les plantes du genre *Lippia* sont présentes en Amérique centrale, au Mexique et en Afrique elles sont présentes au Benin, Guinée équatoriale et en Côte d'Ivoire (Barbosa *et al.*, 2006 ; Ariadna *et al.*, 2008). Au Cameroun, les plantes du genre *Lippia*

se retrouvent dans la région de l'Adamaoua précisément dans les localités de Dang et de Mbé où nous avons pu recenser: *L. multiflora*, *L. chevalerie* et *L. rugosa* (Ngassoum *et al.*, 2005).

I.C.1.3. Aperçu botanique de *Lippia rugosa*

L. rugosa, (localement appelé « Gossolhi » en fulfuldé) est un arbuste, plante pérenne aromatique fortement distribuée en Afrique subtropicale dans les régions de savane et terre consumée (Coffi *et al.*, 1999). Arbuste de 1 à 3m de long (Ngassoum *et al.*, 2005), à souche vivace, à tiges ramifiées aux inflorescences brun clair, plus ou moins lisse, à hanche fibreuse jaune verdâtre. Les rameaux angulaires et pubescents à glabre sont verts, pourpres ou jaunâtres ; structure linéaire à sommet aigu (Arbonnier, 2000). Les feuilles sont verticillées oblongues, ou étroitement elliptiques à surface supérieure rugueuse au touché (Goudoum, 2004). La différence entre *L. rugosa* et *L. multiflora* se situe au niveau des feuilles ; car chez *L. rugosa*, elles sont larges, pointues et rugueuses alors que les feuilles de *L. multiflora* sont larges, pointue mais lisses (Kanto *et al.*, 1999).



Figure 1 : Photo de *Lippia rugosa*

I.C.1.3.1. Classification botanique

Classe : Magnoliopsida

Sous classe : Lamiidae

Ordre : Lamiales

Famille : Verbenaceae

Genre : *Lippia*

Espèces : *rugosa* A. Chev

Nom botanique : *Lippia rugosa* A. Chev.

Schéma 1 : Position systématique de *Lippia rugosa* dans la classification botanique

I.C.1.4. Quelques utilisations des plantes du genre *Lippia*

Les usages des plantes du genre *Lippia* par les populations sont multiples. Nous pouvons citer par exemple l'usage thérapeutique, l'usage alimentaire et la protection des denrées stockées.

I.C.1.4.1. Usages thérapeutiques

Dans le tableau 2, nous présentons l'usage des plantes du genre *Lippia* dans la médecine moderne et traditionnelle.

Tableau 2 : Quelques plantes du genre *Lippia* ainsi que leurs usages en médecine traditionnelle et moderne.

Plantes	Maladies soignées	Parties de la plante utilisées	Références
<i>L. laxibracteata</i>	Problème de digestion	Feuilles	Héctor et al., 2000
<i>L. triphylla</i>	Artérioscléroses	Feuilles	Masateru et al., 2008
<i>L. nodiflora</i>	Traitement de l'indigestion chez les femmes après accouchement, vermifuge, antiseptique, anti-inflammatoire, douleurs osteoarticulaires et problèmes respiratoires	Feuilles	Bina et al., 2007
<i>L. graveolens kunth</i>	Antiseptique, antipyrétique, abortif, antispasmodique, anti-inflammatoire, pour le traitement du désordre menstruel, le diabète et le cancer.	Feuilles	Ariadna et al., 2008
<i>L. alba</i>	Pour le traitement du désordre de sommeil, anti-inflammatoire, problème respiratoire, anti malarique, antiviral et activité cytostatique	Feuilles	Hennebelle et al., 2008 Gasquet et al., 1993 Abad et al., 1995 cité par Barbosa et al., 2006
<i>L. rugosa</i>	L'indigestion, rhumatisme, la fièvre, la toux, la jaunisse et le cancer	Feuilles	Ngassoum et al., 2005 Ariadna et al., 2008

I.C.1.4.2. Quelques utilisations des plantes du genre *Lippia* dans la protection des denrées stockées

Face aux problèmes de conservation des denrées alimentaires, les études faites sur *L. rugosa* ont montré que cette plante est utilisée dans la protection des grains tels que le niébé et le maïs contre les insectes et les microorganismes (Tatsadjieu *et al.*, 2009).

En outre, certaines études faites sur l'évaluation de la durée d'activité insecticide des huiles essentielles de cinq plantes aromatiques : *Annona senegalensis*, *Eucalyptus citriodora*, *E. saligna*, *L. rugosa* et *Ocimum gratissimum* ont montré une activité insecticide significative sur le *Sitophilus zeamais* au premier jour de l'application (Ngamo *et al.*, 2004).

I.C.1.4.3. Usages alimentaires

L'intérêt des plantes du genre *Lippia* à des fins alimentaires, est très réduit. Mais néanmoins certaines études ont montré que *L. triphylla* connaît un succès au Pérou où il est utilisé comme épice et thé (Masateru *et al.*, 2008).

Au Cameroun, *L. rugosa* est utilisé dans la région de l'Ouest comme condiment de poisson.

I.C.1.5. Constituants chimiques du genre *Lippia* : travaux chimique antérieurs

Très peu de travaux chimiques antérieurs sur *Lippia rugosa* sont décrits dans la littérature à notre connaissance. Néanmoins, les études chimiques entrepris sur les autres espèces du genre *Lippia* ont conduit à la caractérisation de plusieurs classes de métabolites secondaires parmi lesquelles on peut citer.

- Les glycosides (Sasaki *et al.*, 1989 ; Kanchanapoom *et al.*, 2002 ; Skrzypek *et al.*, 1999 ; Masateru *et al.*, 2008) ;
- Les lignanes (Urones *et al.*, 1987 ; Miyamura *et al.*, 1983 ; Otsuka *et al.*, 2000 ; Ohashi *et al.*, 1994) ;
- Les terpénoïdes (Ono *et al.*, 2004 ; Bina *et al.*, 2007 ; Faheem *et al.*, 2011) ;
- Les flavonoïdes (Martinez *et al.*, 1987 ; Nagao *et al.*, 2002 ; Fernandez *et al.*, 1991 ; Merfort, 1988 ; Long-Ze *et al.*, 2007).

Dans les tableaux ci-dessous, sont consignés, les représentants de quelques métabolites secondaires appartenant aux diverses classes suscités.

Tableau 3 : Quelques Glycosides isolés du genre *Lippia*

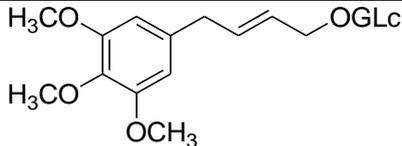
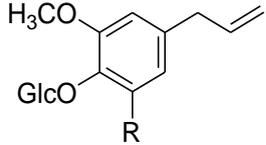
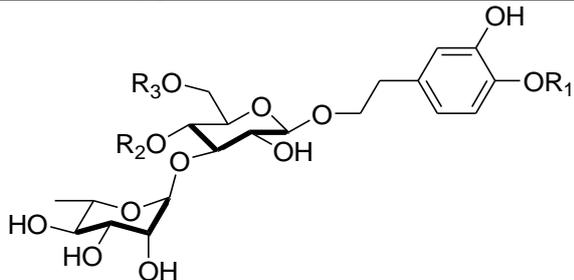
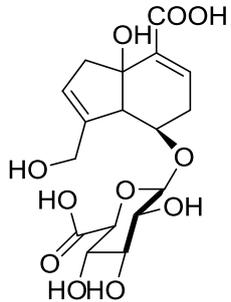
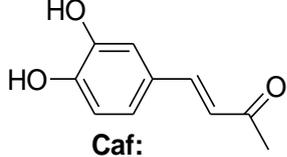
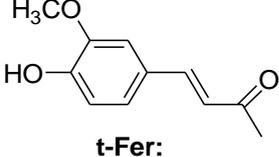
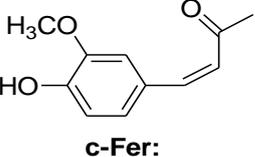
Structures et noms	Sources	Références
 <p>Icariside H₁(5)</p>	<i>Lippia triphylla</i>	Masushita <i>et al.</i> , 1991
 <p>R=H, β-glucoside (6) R=OCH₃ glucoside de 4-allyl-2,6-diméthoxyphénol (7)</p>	<i>Lippia triphylla</i>	Masateru <i>et al.</i> , 2008
 <p>Acteoside (8) R₁=R₃=H ; R₂=Caf Isoverbascoside (9) R₁=R₂=H ; R₃=Caf Leucosceptoside (10) R₁=R₃=H ; R₂=t-Fer Martynoside (11) R₁=CH₃; R₂=t-Fer; R₃=H Cis-martynoside (12) R₁=CH₃ ; R₂=c-Fer ; R₃=H</p>	<i>Lippia triphylla</i> <i>Lippia alba</i>	Sasaki <i>et al.</i> , 1989 Kanchanapoom <i>et al.</i> , 2002 Skrzypek <i>et al.</i> , 1999
 <p>Theveside (13)</p>	<i>Lippia alba</i>	Hennebelle <i>et al.</i> , 2008
 <p>Caf:</p>	 <p>t-Fer:</p>	 <p>c-Fer:</p>

Tableau 4 : Quelques Lignanes isolés du genre *Lippia*

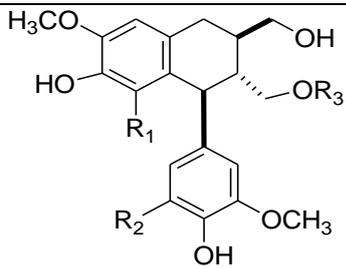
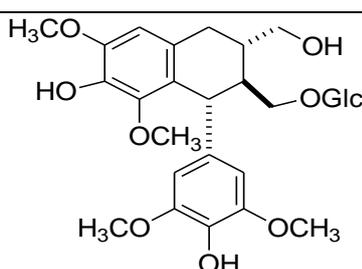
Structures et noms	Sources	Références
 <p>Isolariciresinol (14) $R_1=R_2=R_3=H$</p> <p>Lyoniresinol (15) $R_1=R_2=OCH_3, R_3=H$</p> <p>(+)-Isolariciresinol $3\alpha-O-\beta-D$-glucopyranoside (16) $R_1=R_2=H, R_3=Glc$</p> <p>(+)-Lyoniresinol $3\alpha-O-\beta-D$-glucopyranoside (17) $R_1=R_2=OCH_3, R_3=Glc$</p>	<p><i>Lippia triphylla</i></p> <p><i>Lippia alba</i></p>	<p>Urones <i>et al.</i>, 1987</p> <p>Miyamura <i>et al.</i>, 1983</p> <p>Otsuka <i>et al.</i>, 2000</p> <p>Ohashi <i>et al.</i>, 1994</p>
 <p>(-)-Lyoniresinol $3\alpha-O-\beta-D$-glucopyranoside (18)</p>	<p><i>Lippia triphylla</i></p> <p><i>Lippia alba</i></p>	<p>Ohashi <i>et al.</i>, 1994</p>

Tableau 5 : Quelques terpénoïdes isolés du genre *Lippia*

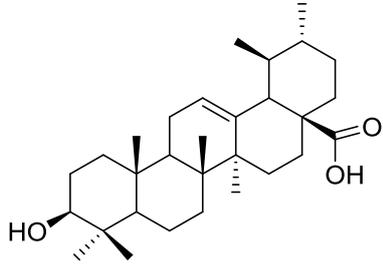
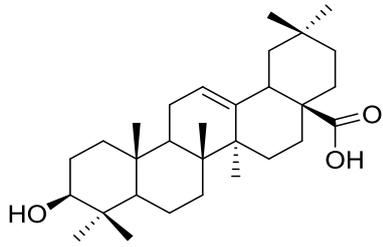
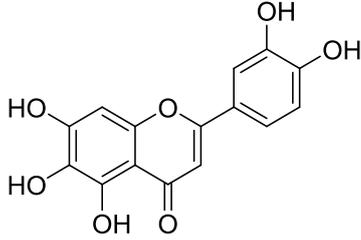
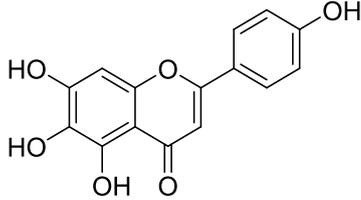
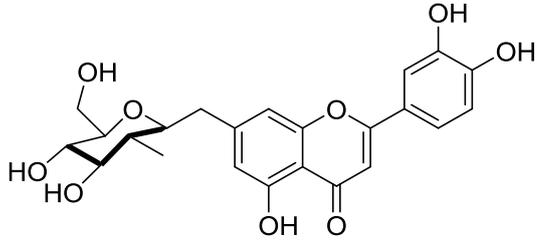
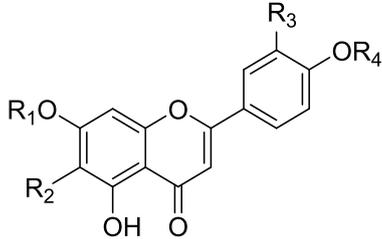
Structures et noms	Sources	Références
 <p>Acide Ursolique (19)</p>	<i>Lippia triphylla</i>	Ono <i>et al.</i> , 2004 Abdel-Mogib <i>et al.</i> , 2002
 <p>Acide Oléanolique (20)</p>	<i>Lippia triphylla</i>	Mahato et Kundu 1994 Abdel-Mogib <i>et al.</i> , 2002

Tableau 6 : Quelques flavonoïdes isolés du genre *Lippia*

Composés	Sources	Références
<i>L. nodiflora</i>	 6-hydroxylutéoline (21)	Zare <i>et al.</i> , 2012 Japheth <i>et al.</i> , 2014
	 Hispiduline (22)	
<i>L. citriodora</i>	 Lutéolin-7-O-glycoside (23)	El-Hawary <i>et al.</i> , 2012 Japheth <i>et al.</i> , 2014
<i>L. javanica</i>	 R ₁ =R ₂ =R ₃ =R ₄ =H Apigenine (24)	
	R ₁ =R ₃ =R ₄ =H, R ₂ =OH Cirsimaritine (25)	Japheth <i>et al.</i> , 2014
	R ₁ =H, R ₂ =OMe, R ₃ =OH, R ₄ =Me 6-méthoxylutéoline 4'-méthyl ether (26)	
	R ₁ =R ₄ =Me, R ₂ =R ₃ =OMe 6-méthoxylutéoline 3',4',7-triméthyl ether (27)	

I.C.2. Aperçu botanique des Lamiaceae

I.C.2.1. Généralités sur les Lamiaceae

La famille des Lamiaceae ou des labiées est une famille de plantes herbacées à buissonnantes rarement arbustives comme les Hyptis. Elle compte plus de 250 genres et près de 7000 espèces qui se répartissent sur tout le globe, mais principalement dans le bassin méditerranéen à l'Asie centrale (Mabberlev, 1990). Cette famille est connue depuis longtemps pour les propriétés insecticides, médicinales, aromatiques ou culinaires des plantes qu'elle renferme comme : menthes ; basiliques, origan, sauges, thym mais aussi patchouli, lavandes. Riche en plantes aromatiques, les Lamiaceae ne comportent que peu de légumes. Par contre, beaucoup d'espèces sont ornementales comme monades, ajuda, lamium, coleus. Les caractères communs aux Lamiaceae sont bien définis: les fleurs ne sont jamais isolées mais groupées à l'aisselle des feuilles ou en épis. Les jeunes tiges ont une section généralement carrée. Sur les nœuds apparents, les feuilles sont opposées, parfois verticillées, souvent décussées, et quasiment toujours entières. Elles ne possèdent jamais de stipules et sont souvent odorantes due à des huiles essentielles contenues dans leurs feuilles et les autres parties de la plantes et couvertes de poils sécréteurs monocellulaires (Heidi, 2007). Les Lamiaceae représentent une grande famille de plantes ayant des espèces qui contiennent les molécules biologiquement actives (Harley, et Reynolds, 1992). Cette famille contient plusieurs genres tels que : *Aeollanthus*, *Basilicum*, *Ocimum* et *Plectranthus*.

I.C.2.2. Généralités sur le genre *Plectranthus*

Le genre *Plectranthus* est constitué d'environ 350 espèces, repartis à travers, l'Asie, l'Australie et l'Afrique, un aperçu d'information ethnobotanique par des secteurs géographiques prouve que 14 espèces sont utilisées en Asie (Morton, 1992), 10 espèces en Amérique (Prudente *et al.*, 1995; Ruiz *et al.*, 1996), 5 espèces en Australie (Morton., 1992), une espèce dans le Pacific (Mayenda, 1991), et 45 espèces dans le continent africain (Githinji et Kokwaro, 1993), pour leurs activités biologiques.

I.C.2.3. Aperçu botanique de *Plectranthus glandulosus*

Plectranthus glandulosus Hook a pour synonymes : *Plectranthus urticoides* Baker, *Plectranthus almanú*, *Coleus loxiflorus*, (Catherine *et al.*, 2005). C'est l'une des 18 espèces du genre *Plectranthus* que l'on a dénombrées dans le monde (Abdel-Mogib *et al.*, 2002), et l'une des quatorze qu'on retrouve dans la flore de l'Afrique de l'ouest (Hutchison et Daziel, 1958 ; Ngassoum *et al.*, 2001) et dans la flore camerounaise (Amvam *et al.*, 1998 ; Ngassoum *et al.*, 2001 ; Tatsadjieu *et al.*, 2008). Elle présente des glandes épidermiques aromatiques et des fleurs violettes à deux lèvres (Hutchison et Daziel., 1958) qui sont ordinairement hermaphrodites, groupées en cymes compactes ou dans le moindre cas solitaire en position axillaire. Cette plante présente des fleurs dont le calice est souvent persistant et pentamère avec cinq dents ou lobes, la corolle normalement pentamère est généralement bilabée et difficilement actinomorphe avec quatre lobes, le nombre d'étamines est de quatre ou parfois deux et leurs tiges est quadrangulaire (Arbonnier, 2000). *P. glandulosus* est caractérisé par un port dressé, ses ramifications se dressent horizontalement. Elle peut mesurer entre 0,5 et 1,5 mètre de hauteur avec une racine pivotante et une tige pleine. C'est une espèce annuelle qui pousse sur les sols humides, dans les bas-fonds à forte teneur en matières organiques. (Saotoing, 2005).



Figure 2 : Photo de *P. glandulosus*

I.C.2.3.1. Classification botanique

Classe : Spermaphytes

Sous-classe : Angiospermes

Ordre : Dicotylédones

Famille : Lamiaceae

Sous-famille : népétoïdeae

Tribu : Ocineae

Sous-tribu : Plectrantineae

Genre : *Plectranthus*

Espèce : *Glandulosus* Hook

Nom botanique : *Plectranthus glandulosus* Hook

Schéma 2: Position systématique de *Plectranthus glandulosus* dans la classification botanique (Abdel-Mogib *et al.*, 2002)

Plectranthus glandulosus est une plante bien connue par les Camerounais. Selon les régions et les ethnies, cette plante a plusieurs appellations. Le tableau 7 ci-dessous présente quelques noms en langues vernaculaires de *P. glandulosus*.

Tableau 7: Quelques noms en langues locale de *Plectranthus glandulosus* au Cameroun

Nom scientifique de la plante	Nom vernaculaire	Région et Ethnie	Références
	Apie	Sud-Ouest	Facho <i>et al.</i> , 2008
	Fenky	Bamunka	Facho <i>et al.</i> , 2008
	Lilui	Bamessing	Facho <i>et al.</i> , 2008
<i>Plectranthus glandulosus. Hook</i>	Esosa-maija	Bakweri	Jiofack <i>et al.</i> , 2010
	Mèwa	Gbaya	Par les autochtones
	Nyama	Dii	Par les autochtones
	Wawa	Foulbé du Nord	Nos enquêtes personnelles

I.C.2.4. Quelques utilisations des plantes du genre *Plectranthus*

Les usages des plantes du genre *Plectranthus* sont multiples. Nous pouvons citer par exemple l'usage thérapeutique, l'usage alimentaire et la protection des denrées stockées.

I.C.2.4.1. Usages thérapeutiques des plantes du genre *Plectranthus*

Les usages thérapeutiques des plantes du genre *Plectranthus* sont présentés dans le tableau 8 suivant.

Tableau 8 : Quelques usages thérapeutiques des plantes du genre *Plectranthus*

Plantes	Utilisations en médecine	Références
<i>P. ambiguus</i>	Problèmes respiratoires	Rabe et Van Staden. 1998 Neuwinger. 2000 Hutchings <i>et al.</i> , 1996
<i>P. amboinicus</i>	Problèmes respiratoires Traitement des bétails	Albuquerque. 2001 Pooley. 1998
<i>P. barbatus</i>	Inflammation Problèmes respiratoires Problèmes de digestion Traitement du poison	Lukhoba <i>et al.</i> , 2006 Albuquerque. 2001
<i>P. ecklonii</i>	Traitement de la migraine Problèmes de peau	Pooley. 1998 Nyanyiwa and Gundidza. 1999
<i>P. elegans</i>	Problème de digestion ou respiratoire	Neuwinger. 2000
<i>P. esculentus</i>	Traitement de douleur Problème de digestion	Neuwinger. 2000
<i>P. laxiflorus</i>	Problèmes de digestion Problèmes de peau Problèmes respiratoire	Rabe and Van Staden. 1998 Neuwinger. 2000 Pooley. 1998
<i>P. madagascariensis</i>	Problème de peau et respiratoire	Neuwinger. 2000 Pooley. 1998

I.C.2.4.2. Usages thérapeutiques de *Plectranthus glandulosus*

Après une investigation menée auprès des populations locales de la ville de Ngaoundéré, il ressort que les feuilles fraîches de cette plante sont utilisées comme

condiment pour assaisonner le poisson frais lors de la cuisson, la plante entière sert d'anti-moustiques, la décoction de *P. glandulosus* associée à une ou plusieurs autres plantes sert au traitement du rhume, des maux de tête et du paludisme. Une minorité de paysans de la ville de Ngaoundéré interrogée brûle cette espèce végétale dans un rôle magico-religieux pour la répulsion des mauvais esprits (Nduryang, 2006). Cette plante est aussi utilisée en pharmacopée dans le traitement des maladies telles que la toux et la grippe (Tatsadjieu *et al.*, 2008). En Afrique de l'Ouest et à l'Ouest du Cameroun *P. glandulosus* est utilisée comme légume (Tchoumboungang, 1997 ; Ngassoum *et al.*, 1999). *P. glandulosus* est une herbe annuelle, glandulaire et fortement aromatique, utilisée dans la médecine traditionnelle pour le traitement de la gorge endolorie dans la région de l'Adamaoua (Ngassoum *et al.*, 2001).

I.C.2.4.3. Usages domestiques des plantes du genre *Plectranthus*

L'intérêt des plantes du genre *Plectranthus* à des fins alimentaires et autres est très répandu en Afrique du Sud (Rice *et al.*, 2011). Le tableau 9 ci-dessous montre l'utilisation des plantes du genre *Plectranthus* au quotidien.

Tableau 9: Quelques utilisations domestiques des plantes du genre *Plectranthus*

Plantes	Utilisations	Références
<i>P. amboinicus et esculentus</i>	Culinaire	Pooley. 1998 Van Jaarsveld. 2006
<i>P. ciliatus</i>	Pour laver les vêtements	Watt and Breyer-Brandwijk. 1962
<i>P. fruticosus</i>	Odeur repoussante	Roberts. 1990 Pooley. 1998
<i>P. hadiensis</i>	Poison pour poisson	Hutchings <i>et al.</i> , 1996
<i>P. laxiflorus</i>	Légumes Chasse les moustiques	Hutchings <i>et al.</i> , 1996
<i>P. neochilus</i>	Purifie l'air	Pooley. 1998
<i>P. unguentarius</i>	Pomade	Lukhoba <i>et al.</i> , 2006

I.C.2.4.4. Utilisation de *Plectranthus glandulosus* dans la protection des denrées stockées

Des études faites sur *P. glandulosus* révèlent l'utilisation de ses feuilles dans la conservation du maïs et du haricot stockés contre l'attaque du *Sitophilus zeamais* et des champignons (Tatsadjieu *et al.*, 2008). La poudre des feuilles de cette plante cause des mortalités significatives, une réduction des dégâts, une inhibition de production de la première génération de progéniture et une suppression de la croissance de population de *Sitophilus zeamais* (Nukenine *et al.*, 2007 ; 2010a). De plus, son huile essentielle est douée des propriétés insecticides contre *S. zeamais* (Ngamo *et al.*, 2007 ; Nukenine *et al.*, 2010b) et fongicide (Tatsadjieu *et al.*, 2008).

Les travaux pharmacologiques menés sur l'huile essentielle extraite de cette plante a montré une très bonne toxicité à l'égard des adultes de *S. oryzae*, de *S. zeamais* et de *P. truncatus* (Ngamo *et al.*, 2007 ; Nukenine *et al.*, 2009).

I.C.2.5. Constituants chimiques du genre *Plectranthus* : travaux chimiques antérieurs

Les études chimiques entreprises sur les espèces du genre *Plectranthus* ont conduit à l'isolement de plusieurs types de métabolites secondaires, appartenant à diverses classes de composés :

- Les triterpènes (Abdel-Mogib *et al.*, 2002 ; Shobha *et al.*, 2011; Gaspar-Marques *et al.*, 2004 ; Rijo *et al.*, 2002)
- Les diterpènes (Maria *et al.*, 2010 ; Abdel-Mogib *et al.*, 2002 ; Shobha *et al.*, 2011 ; Antonio *et al.*, 1997 ; Olga *et al.*, 1996 ; Olga *et al.*, 1995 ; Gaspar-Marques *et al.*, 2004, Rijo *et al.*, 2002)
- Les alcools à long-chaine (Abdel-Mogib *et al.*, 2002 ; Shobha *et al.*, 2011)
- Les flavonoïdes (Abdel-Mogib *et al.*, 2002 ; Shobha *et al.*, 2011 ; Gaspar-Marques *et al.*, 2004 ; Rijo *et al.*, 2002)

Quelques métabolites secondaires isolés du genre *Plectranthus* sont présentés dans les tableaux ci-dessous.

Tableau 10 : Quelques triterpènes isolés du genre *Plectranthus*

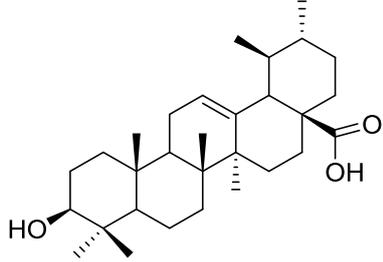
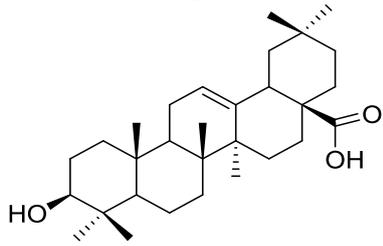
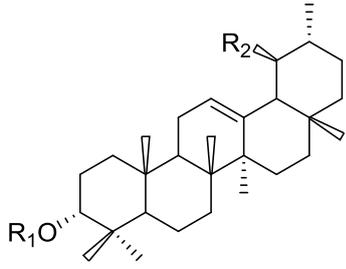
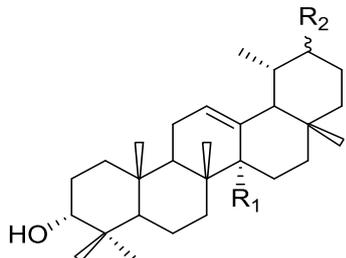
Structures et noms	Sources	Références
 <p>Acide Ursolique (28)</p>	<i>Plectranthus hereroen</i>	Ono <i>et al.</i> , 2004 Abdel-Mogib <i>et al.</i> , 2002
 <p>Acide Oléanolique (29)</p>	<i>Plectranthus hereroen</i>	Mahato et Kundu 1994 Abdel-Mogib <i>et al.</i> , 2002
 <p>R₁=H, R₂= COOH Acide plectranthoïque (30) R₁=Ac, R₂= COOH Acide acétylplectranthoïque (31) R₁=H, R₂= CH₂OH Plectranthadiol (32)</p>	<i>Plectranthus hereroen</i>	Abdel-Mogib <i>et al.</i> , 2002
 <p>R₁=CH₃, R₂= β-COOH Acide Plectranthoïque A (33) R₁=COOH, R₂= α-CH₃ B(34)</p>	<i>Plectranthus hereroen</i>	Abdel-Mogib <i>et al.</i> , 2002

Tableau 11 : Quelques diterpènes isolés du genre *Plectranthus*

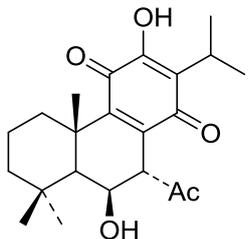
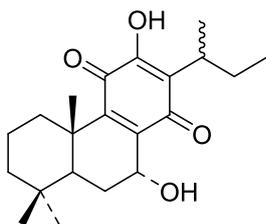
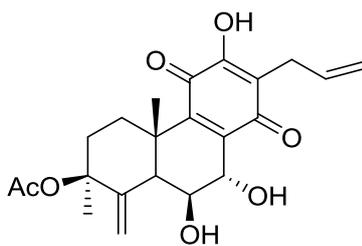
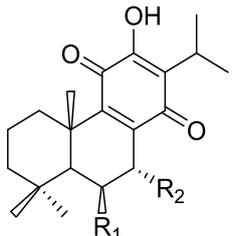
Structures et noms	Sources	Références
 <p>7α-acetoxy-6β-hydroxyleanone (35)</p>	<i>Plectranthus grandidentatus</i>	Antonio <i>et al.</i> , 1997
 <p>R=H horminone (36) R=OAc Horminone 2 (37)</p>	<i>Plectranthus hereroensis</i>	Olga <i>et al.</i> , 1996
 <p>Abietane (38)</p>	<i>Plectranthus hereroensis</i>	Olga <i>et al.</i> , 1995
 <p>Royleanones R₁=R₂=H (39) R₁=R₂=OH (40) R₁=R₂=OCHO (41) R₁=OH, R₂=OAc (42)</p>	<i>Plectranthus Abyssinian</i>	Abdel-Mogib <i>et al.</i> , 2002 Antonio <i>et al.</i> , 1997

Tableau 12 : Quelques Alkylphenols à Longue chaine isolés du genre *Plectranthus*

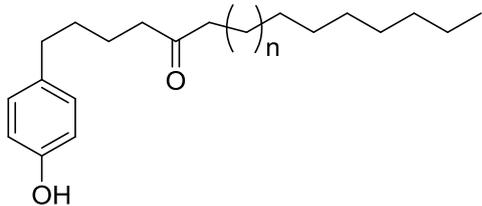
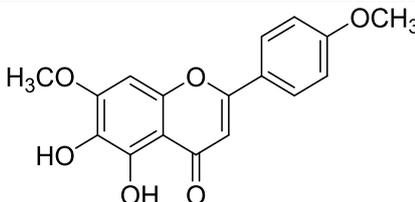
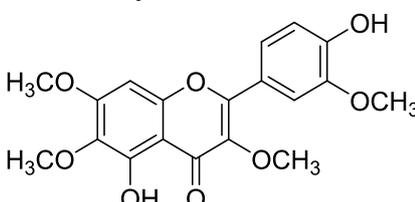
Structures et noms	Sources	Références
 <p>n=1 (43) n=3 (44) n=5 (45)</p>	<i>Plectranthus aldidus</i>	Abdel-Mogib <i>et al.</i> , 2002

Tableau 13 : Quelques flavonoïdes isolés du genre *Plectranthus*

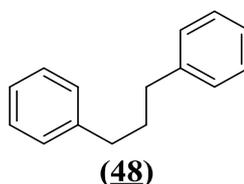
Sources	Composés	Références
<i>P. ambiguus</i>	 <p>5,6-dihydroxy-4',7-diméthoxyflavone (46)</p>	Japheth <i>et al.</i> , 2014
<i>P. marruboides</i>	 <p>5,4'-dihydroxy-5',3,6,7-tétraméthoxyflavone (47)</p>	

De tous ces différents groupes de composé caractérisés et identifiés dans *Lippia* et *Plectranthus*, les flavonoïdes apparaissent comme le plus important, à en juger à la fois par le nombre de ses représentants, que par les résultats obtenus au cours de nos propres travaux. Pour cette raison, une attention particulière sera accordée à ce groupe de métabolites secondaires.

I.C.3. Les flavonoïdes

I.C.3.1. Généralités sur les flavonoïdes

Près de 6500 flavonoïdes repartis en 12 classes sont connus (Eva *et al.*, 2006) et leur nombre ne cesse d'accroître. Par définition, ce sont les composés polyphénoliques qui sont caractérisés par un enchaînement en C₁₅ et ayant en commun la structure du 1,3-diphénylpropane C₆-C₃-C₆ (**48**); les trois carbones servant de jonction entre les deux noyaux benzéniques notés A et B forment un hétérocycle oxygéné C (Wollgast et Anklam, 2000 ; Harborne, 1989 ; Sarni-Manchado et Cheynier, 2006). L'existence des différentes classes structurales des flavonoïdes serait fonction des modifications de l'hétérocycle C.



Le terme « flavonoïde » est dû à leur couleur jaune qu'ils engendrent (Wilson, 1987). Les flavonoïdes sont présents dans différentes parties des végétaux supérieurs selon le type de l'espèce : racine, tige, feuilles, fleurs, pollen, fruit, graines, bois... Ils varient quantitativement et qualitativement selon le stade de développement du végétal (Fritch et Griesbach 1975).

I.C.3.2. Classification des flavonoïdes

Les flavonoïdes sont répartis en trois grandes sous classes du point de vue structural (Bruneton, 2009; Narayana *et al.*, 2001; W-Erdman *et al.*, 2007), à savoir :

➤ Les flavonoïdes proprement dits au sein desquels on distingue plusieurs groupes à savoir : les flavanes (**49**), les flavanones (**50**), les flavones (**51**), les flavonols (**52**), les dihydroflavonols (**53**), les flavan-3-ol (**54**), flavan-4-ol (**55**), flavan-3,4-diol (**56**), chalcones (**57**), les auronnes (**58**) et anthocyanidines (**59**) (Schémas 3) (Bruneton, 2009; Narayana *et al.*, 2001; W-Erdman *et al.*, 2007), qui présentent tous un enchaînement C₆-C₃-C₆ correspondant à un 1,3-diphénylpropane (**48**).

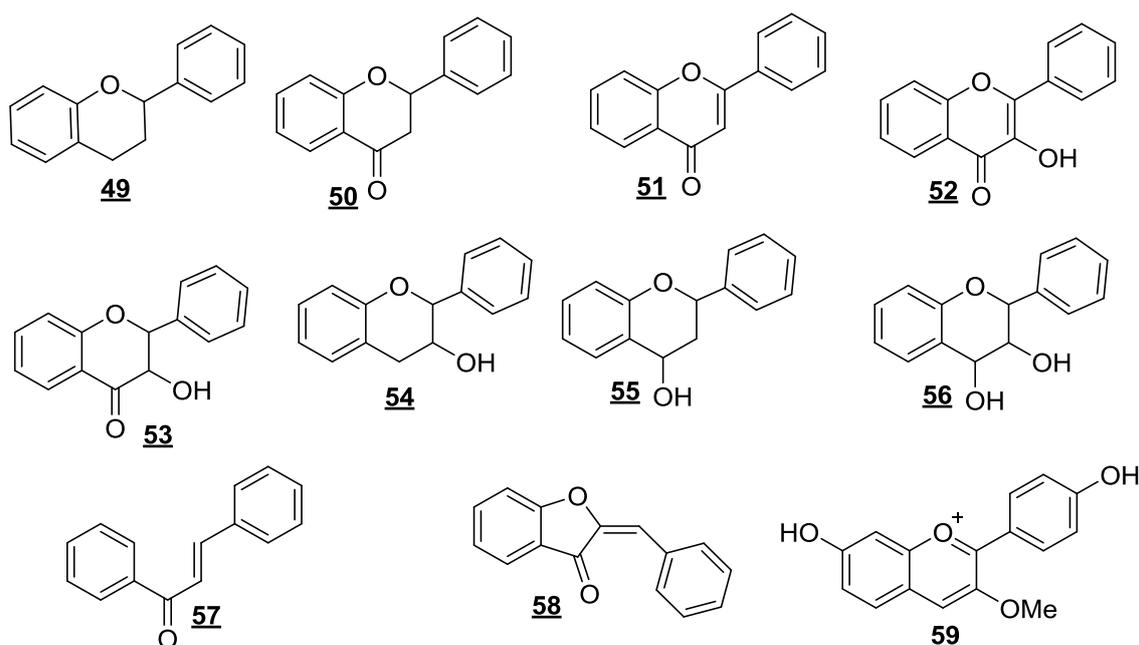


Schéma 3 : Différentes classes de flavonoïdes (Bruneton, 2009 ; Narayana *et al.*, 2001 ; W-Erdman *et al.*, 2007)

➤ Les isoflavonoïdes qui présentent également un enchaînement de type C₆-C₃-C₆, mais correspondant à un 1,2-diphénylpropane (**60**). On retrouve : les isoflavanes (**61**), les isoflavanones (**62**), les isoflavones (**63**), les isoflav-3-ènes (**64**), les isoflavanols (**65**), les roténoïdes (**66**), les coumestanes (**67**), les 3-arylcoumarines (**68**), les coumaronochromènes (**69**), les coumaronochromones (**70**) et les pterocarpanes (**71**) (schéma 4).

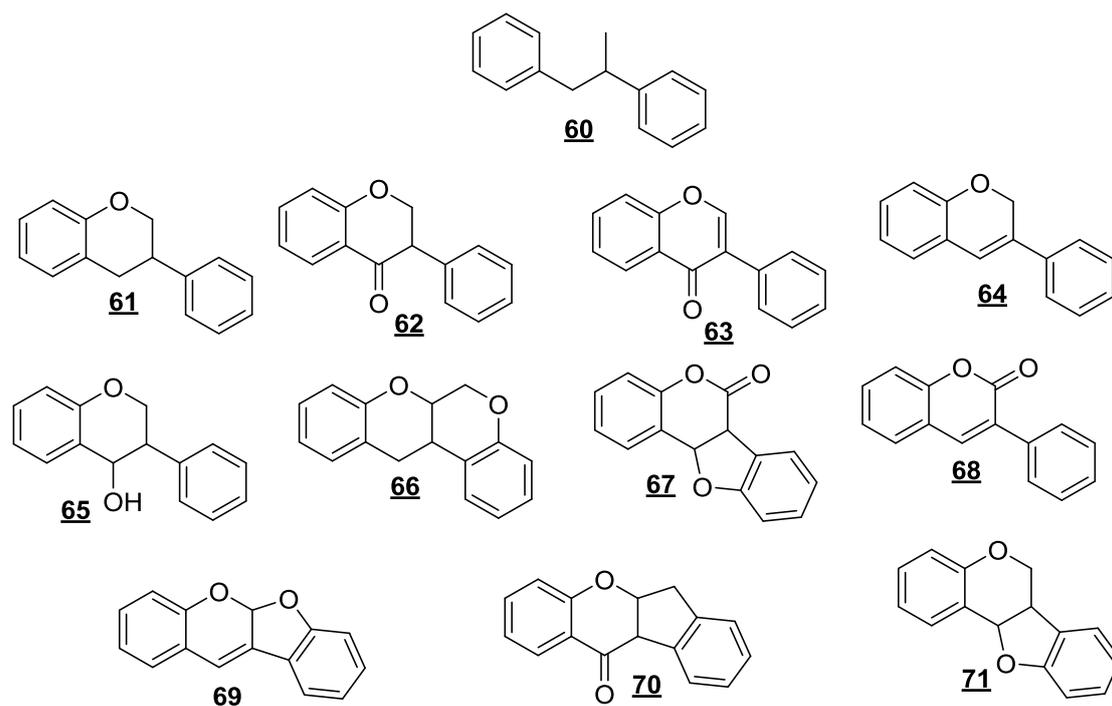


Schéma 4 : Différentes classes de isoflavonoïdes (Bruneton, 2009 ; Narayana *et al.*, 2001 ; W-Erdman *et al.*, 2007)

➤ Les néoflavonoïdes qui présentent un enchaînement C₆-C₃-C₆, mais correspondant à un 1,1-diphénylpropane (72). Les néoflavonoïdes ne présentent pas une grande diversité structurale comparés aux deux premiers. On peut citer les 4-arylcoumarines (73), les 3,4-dihydro-4-arylcoumarines (74) et les néoflavènes (75).

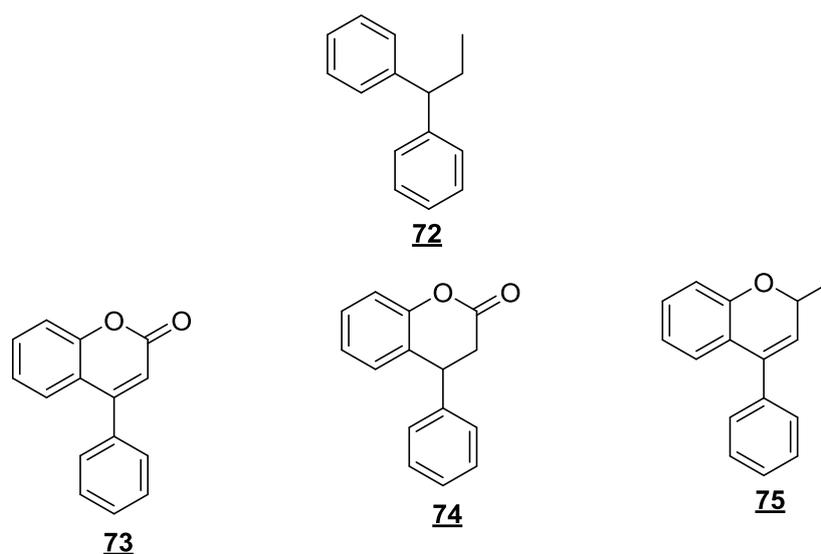


Schéma 5 : Différentes classes de isoflavonoïdes (Bruneton, 2009 ; Narayana *et al.*, 2001 ; W-Erdman *et al.*, 2007)

I.C.3.3. Biosynthèse des flavonoïdes

La biosynthèse des flavonoïdes fait intervenir des voies communes : la voie shikimique grâce à la phénylalanine ammonialyase (PAL) (Vogt, 2009), et la voie acétate grâce à la chalcone synthase (CHS) (Dixon *et al.*, 1999). La PAL permet la synthèse d'acide p-coumarique et d'acide cinnamique. L'élaboration des composés phénoliques réside dans la condensation de trois unités de malonyl-CoA avec l'acide para-coumarique, conduisant aux deux noyaux aromatiques A et B reliés par l'hétérocycle C.

Ces condensations sont catalysées par la chalcone synthase (CHS), enzyme clé dans la formation des flavonoïdes qui conduit à un précurseur, une chalcone (schéma 6). La chalcone néoformée donne une flavanone (la naringénine), une transformation catalysée par une chalcone-isomérase (CHI) (Van Tunen *et al.*, 1990 ; Fowler *et al.*, 2009).

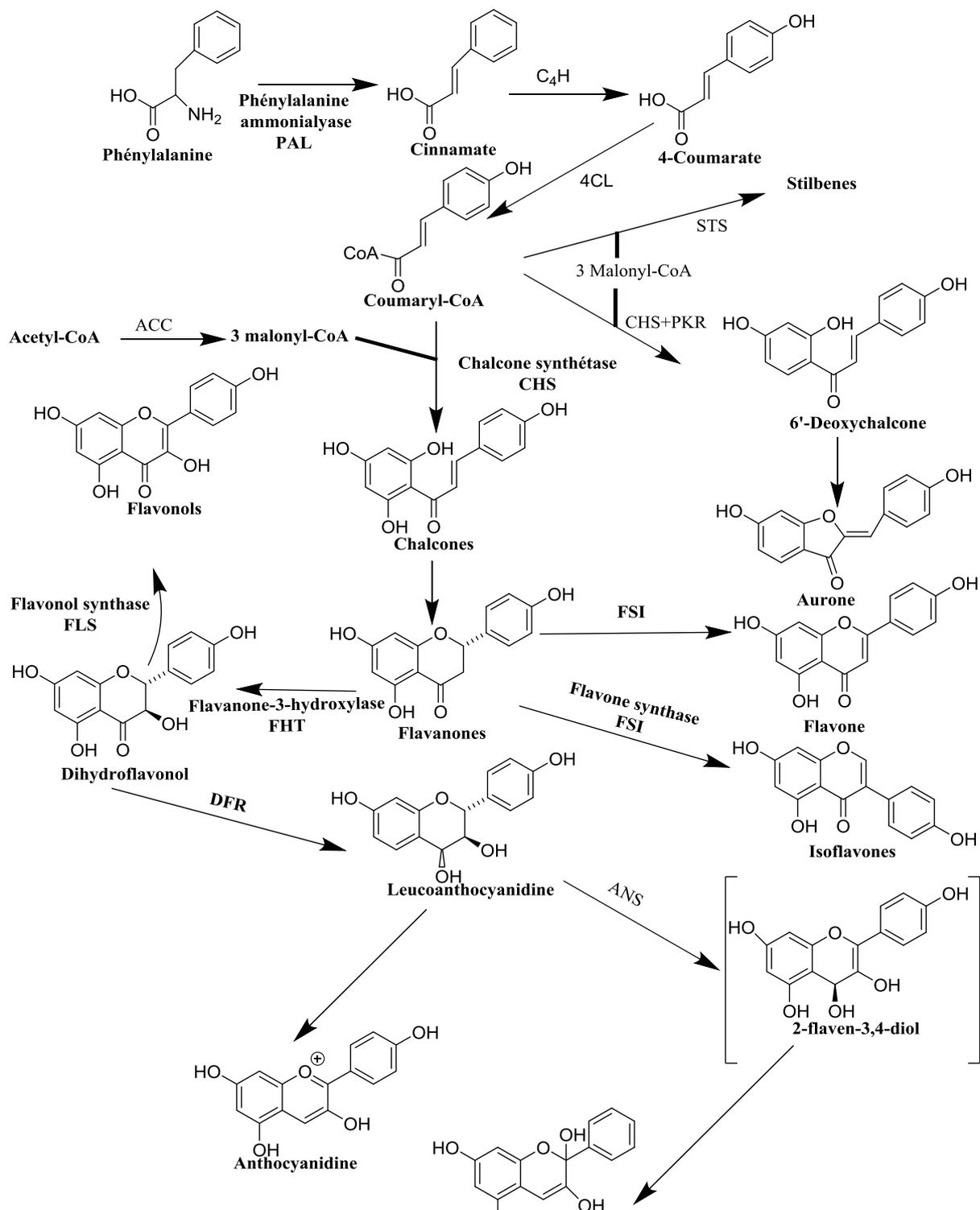


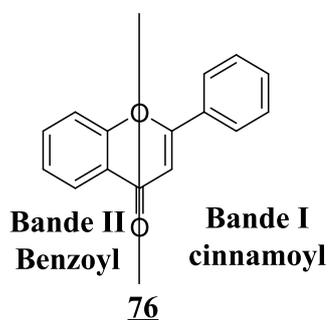
Schéma 6 : Les étapes biosynthétiques des différentes classes de flavonoïdes (Andersen et Kenneth, 2006)

I.C.3.4. Méthodes de déterminations de structure des flavonoïdes

La détermination des structures des flavonoïdes se fait au moyen des méthodes spectrométriques telles que l'UV, l'IR, la RNM à une et à deux dimensions et la spectrométrie de masse (MS).

a. La spectrométrie d'absorption UV visible

Pour l'identification structurale des flavonoïdes, la spectroscopie d'absorption UV est l'une des techniques analytiques utilisées. Le spectre UV est généralement obtenu dans le méthanol ou l'éthanol solvant standard auquel on ajoute en suite différents réactifs du types NaOMe, NaOAc, H₃BO₃, AlCl₃ et HCl qui permettent de mettre en évidence les divers substituants du squelette de base (Mabry *et al.*, 1970). Généralement, les flavones et les flavonols présentent une absorption dans les régions 320-380 nm (bande I) et 240-270 nm bande II. En termes généraux, l'absorption de la bande II peut être considérée comme provenant du système benzoyl (**76**) et la bande I à la transition cinnamoyle (Harbone, 1967).



La position réelle de la bande I, la bande II et leur intensité dépendent de la nature et de la position des substituants. Si des groupes hydroxyles ou méthoxyles sont présents dans le cycle A, la contribution de résonance de ce cycle est augmentée et un décalage bathochromique de la bande II (environ 20 nm) est observé. De même, la contribution de résonance du cycle B est augmentée en raison des groupes hydroxyles et un décalage bathochromique de la bande I est produit. Les localisations de différents groupes, en particulier les groupes hydroxyles sur le noyau flavonoïde, peuvent être facilement détectées en observant des décalages dans

le spectre UV en utilisant différents réactifs. Les hydroxyles à différentes positions s'ionisent avec ces réactifs sous différents pH, ce qui provoque des changements dans la bande I ou II ou les deux (Mabry *et al.*, 1970 ; Jurd, 1962).

❖ Flavones et flavonols	~240-270 nm et 320-380 nm
❖ Isoflavones	~255-275 nm et 310-530 nm
❖ Isoflavonones	~270 nm et 310 nm
❖ Pterocarpans	~285-310 nm et 280-287 nm
❖ Coumestans	semblables aux flavones et aux flavonols.
❖ Isoflavans	~200 nm-300 nm
❖ 3-aryl-4-hydroxycoumarine	~230 nm ~270 nm ~350 nm.

Tableau 13: Relation entre la couleur des spots et la structure des flavonoïdes (Mabry *et al.*, 1970).

Couleurs des spots des flavonoïdes		Types de Flavonoïdes
Couleur en UV	UV/NH ₃	
Violet foncé	Jaune, Jaune vert et Jaune doré	-Flavones avec 5-OH et 4'-OH ou 3-OH -Certain 5-OH flavanones et chalcones 4'-OH sans groupe hydroxyle sur le cycle B
	Peu ou pas de changement de couleur	-Flavones ou flavonols avec 5-OH mais avec le 4'-OH absent ou substitué -Isoflavones, dihydroflavonols et certain flavanones avec 5-OH -Chalcones avec 2' ou 6'-OH mais sans 2-OH et 4-OH

Tableau 13 : (Suite et fin) Relation entre la couleur des spots et la structure des flavonoïdes (Mabry *et al.*, 1970).

Couleurs des spots des flavonoïdes		Types de Flavonoïdes
Couleur en UV	UV/NH ₃	
Bleu	Jaune vert ; bleu vert	-Flavones et flavanones avec 5-OH libre -Flavonols avec 5-OH libre mais avec le 3-OH substitué.
	Peu ou pas de changement de couleur	Isoflavones sans 5-OH
	Bleu clair	Isoflavones sans 5-OH
Invisible	Bleu clair	Isoflavones sans 5-OH
Jaune ou orange	Peu ou pas de changement de couleur	Flavonols avec 3-OH libre et avec ou sans 5-OH
Jaune, Jaune vert, bleu vert ou vert	Orange ou rouge	Aurones avec 4'-OH libre et certain 2- ou 4-OH des chalcones
	Peu ou pas de changement	-Aurones sans 4'-OH et flavanones sans 5-OH -Flavonols avec 3-OH et avec ou sans 5-OH
Jaune pale	Jaune pourpre	Dihydroflavonols sans 5-OH

b. La spectroscopie IR

Les spectres IR des flavones présentent la fréquence carbonyle à 1630-1640 cm⁻¹. Les substituants tels qu'hydroxyle en position 3 ou 5 n'affectent pas de manière marquée la fréquence carbonyle (Jose *et al.*, 1974).

c. Spectre de RMN ¹H

Les pics caractéristiques des flavonoïdes sur un spectre de RMN ^1H sortent normalement entre 0 et 9 ppm. Les flavonoïdes sont facilement identifiés à partir du déplacement chimique caractéristique et de la constante de couplage des protons du cycle A. les solvants utilisés pour cette spectroscopie sont CDCl_3 , CCl_4 et D_2O et leurs mélanges, mais le $\text{DMSO-}d_6$ est le plus utile et fréquemment utilisé.

❖ **Protons du cycle A**

Les flavones naturels ont une oxygénation de type chlorogucinol dans le cycle A. dans le cas de la 5,7-dihydroxyflavone, les protons en C-6 et C-8 apparaissent séparément sous forme de doublets (d, $J= 2,5$ Hz) dans la gamme 5,7-6,9 ppm. Le doublet H-6 apparaît constamment à un champ plus élevé que le H-8 et la glucosylation du groupe 7-OH fait que les deux signaux peuvent également être distingués les uns des autres par leurs décalages induits par des paramètres paramagnétiques très différents. Les protons C-5 des 7-hydroxyle flavones sont fortement déshérités par le groupe 4-céto et apparaissent près de 8,0 ppm en doublet (d, $J= 9$ Hz) en raison du couplage ortho avec H-6 (Hillis et Horn, 1956 ; Barbera *et al.*, 1956 ; Markham, 1982).

❖ **Protons du cycle B**

Dans le cas des flavones oxygénés en 4', les protons en C-2', 3', 5' et 6' dus à la libre rotation du cycle B, apparaissent sous forme de deux doublets ortho couplés (d, $J= 8,5$ Hz) dans la gamme 6,5- 7,9 ppm. Le doublet H-3', 5' se produit toujours non doublé à partir des doublets H-2', 6' en raison de l'effet protecteur du substituant oxygène et de l'influence désinhibitrice des fonctions cycliques en H-2' et 6'. La position des doublets H-2' et 6' dépend du niveau d'oxydation du cycle C (Hillis et Horn, 1956 ; Barbera *et al.*, 1956 ; Markham, 1982).

Dans le cas des flavones 3' et 4' dioxygénés, les protons C-5' apparaissent sous la forme d'un doublet (d, $J= 8,5$ Hz) dans la région de 6,7 à 7,1 ppm. Les signaux des protons C-2 (d, $J= 2,5$ Hz) et C-6 (dd, $J=2,5$ et 8,5 Hz) dans la zone comprise entre

7,2 et 7,9 ppm. A partir des déplacements chimiques relatifs des protons C-2' et C-6', la méthylation du 3-hydroxyle peut être distinguée de celle du 4-hydroxyle (Hillis et Horn, 1956 ; Barbera *et al.*, 1956 ; Markham, 1982).

❖ **Protons du cycle C**

Les protons des flavones C-3 apparaissent habituellement comme un singulet pointu près de 6,3 ppm. En tant que tel, il peut être confondu avec les signaux des protons C-6 ou C-8 dans les flavones 5, 6, 7 et 5, 7, 8 ou 5, 6, 7-oxygénés. Chez les 8-méthoxyle flavones, le couplage à longue distance de H-6 avec des protons 8-méthoxyle provoque un léger élargissement du signal H-6 et, par conséquent, une intensité plus faible. Dans le spectre RMN ¹H de flavone inconnue ou nouvelle peut être facilement interprété et le déplacement chimique dû aux protons aromatiques dans les cycles A, B et C et le signal dû à l'hydroxyle non chélaté, aux hydroxyles chélatés et aux méthoxyles peuvent être identifiés. Cependant, dans les flavones avec un ou plusieurs groupes hydroxyle et méthoxyle par exemple, les flavones qui présentent le même proton dans le spectre de RMN ¹H, il n'est pas possible d'attribuer la position des hydroxyle/méthoxyle dans ces deux flavones du spectre de RMN ¹H seul. Des problèmes de structure dans les flavones sont résolus par d'autres techniques avancées de RMN ¹H telles que l'amélioration de la surexposition nucléaire (NOE) et les déplacements méthoxyle induits par le solvant (Hillis et Horn, 1956 ; Barbera *et al.*, 1956 ; Markham, 1982).

d. Spectre de RMN ¹³C

Les déplacements chimiques des carbones sur un spectre de RMN ¹³C apparaissent entre 40-200 ppm.

- ❖ 40-85 ppm : les carbones C-2 et C-3 des flavonones, isoflavones, flavonols et des carbones des méthoxyles.
- ❖ 90-110 ppm : Carbones C-6, C-8 et les carbones tris substitués du cycle B dans les flavones, isoflavones et C-3 des flavones

- ❖ 110-140 ppm : Carbones des mono ou disubstitués du cycle B.
- ❖ 135-200 ppm : Carbones oxygénés, oléfinique C-O (135-168 ppm) et carbones des carbonyles (168-200 ppm).

Sur le spectre de RMN ^{13}C des flavones, les carbones du cycle C résonnent sensiblement à 162 (C-2), 106 (C-3) et 176 (C-4) ppm. Les déplacements chimiques de C-2 et C-4 ne sont généralement pas affecté par la substitution, par contre le déplacement chimique C-3 dépend de la nature des substituants. Dans les flavones C-alkyle substitués, le C-3 résonne sensiblement à 116 ppm. Les carbones non oxygénés du cycle A et B résonnent sensiblement à 116 ppm et ceux oxygénés à 160 ppm (Hillis et Horn, 1956 ; Barbera *et al.*, 1956 ; Markham, 1982).

e. Spectre de masse

Le spectre de masse est l'un des techniques complémentaires, qui est utilisé avec d'autres techniques spectroscopiques pour l'élucidation de la structure des flavonoïdes. Dans le spectre de masse des flavones, le pic des ions moléculaires est intense et, dans de nombreux cas, apparaît comme le pic de base, le principal motif de fragmentation des flavones est (Goudard *et al.*, 1979 ; Mabry et Markham, 1975 ; Mabry et Ulibelan, 1980 ; Porter et Balda, 1971 ; Locksley, 1973):

- ❖ Perte de CO de l'ion moléculaire pour donner un ion phényl benzofurane avec $m/z=242$
- ❖ La fragmentation du type Rétro Diels Alder (RDA) des cycles A et B sont généralement observés $m/z= 152$ et 118 respectivement. L'ion fragment à $m/z= 152$ du cycle A, par perte de CO donne $m/z= 124$.
- ❖ Fragmentation RDA avec transfert de proton H. La RDA du cycle A apparaît généralement avec une valeur en plus en raison du transfert de proton.

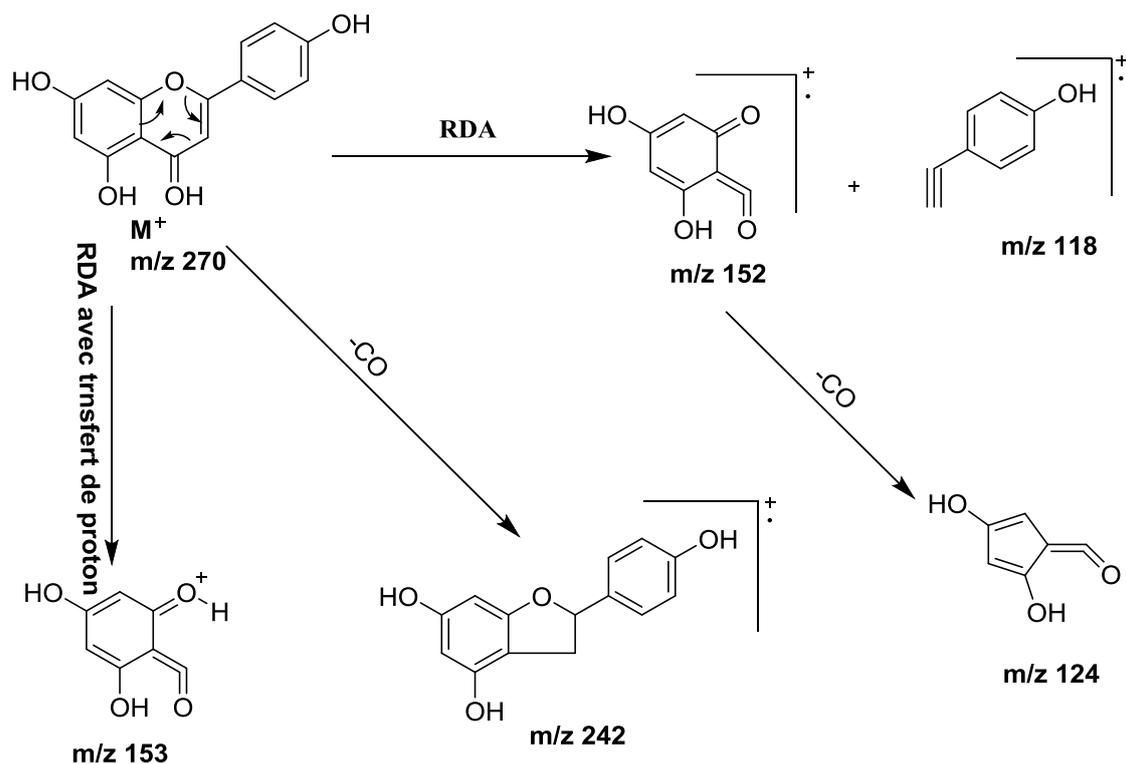
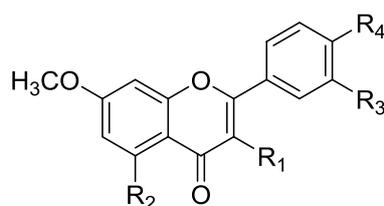


Schéma 7: Fragmentation d'une flavone: Apigénine (Porter et Balda, 1971 et Locksley, 1973)

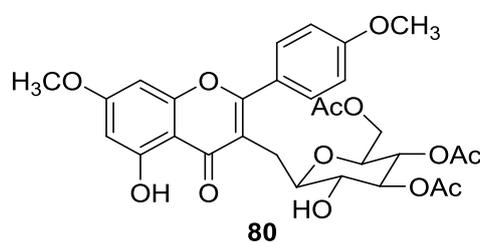
I.C.3.6. Activités biologiques des flavonoïdes

a. Propriétés antiplasmodiale, antifongique et antimycobactérie des flavonoïdes

Les études antérieures ont montré que les flavonoïdes méthoxylés possèdent une bonne activité antiplasmodiale, antifongique et antimycobactérie (Chavi et al., 2004). 5,7,4'-triméthoxyflavone (**77**) et 5,7,3',4'-tétraméthoxyflavone (**78**) isolés de *Kaempferia parviflora* (Chavi et al., 2004) et l'acéthylcaloncobaside (**80**) (Pascal et al., 2018) isolé des feuilles de *Caloncoba welwitschii* Gilg ont montrés une activité antiplasmodiale contre le *plasmodium falciparum* avec une concentration équivalente (EC₅₀) de 3,70, 4,06 µg/mL et 8,85µM respectivement. Par contre le 3,5,7,4'-tétraméthoxyflavone (**79**) et le (**77**) ont montrés respectivement une activité antifongique contre *candida albicans* avec EC₅₀ de 39,71 et 17,63 µg/mL. Les trois composés ont présentés une activité antimycobactériale douce avec les concentrations inhibitrices minimum (MIC) de 200 et 50 µg/ml.

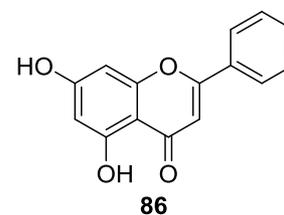
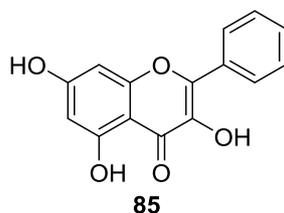
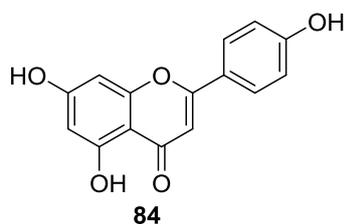
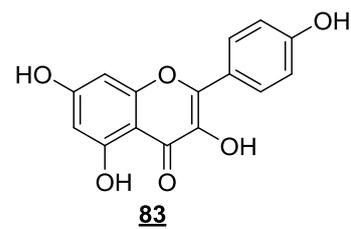
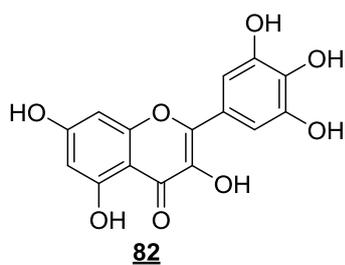
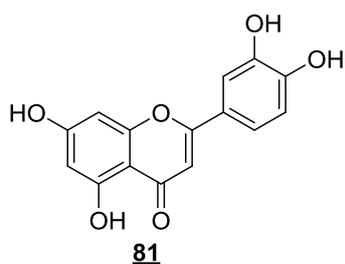


Composés	R ₁	R ₂	R ₃	R ₄
<u>77</u>	H	OCH ₃	H	OCH ₃
<u>78</u>	H	OCH ₃	OCH ₃	OCH ₃
<u>79</u>	OCH ₃	OCH ₃	H	OCH ₃



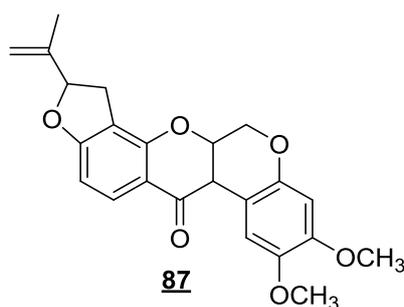
b. Propriétés antioxydante et anticancéreuse des flavonoïdes

HCT116 et MDA-MB231 sont deux lignées cellulaires de cancer du côlon et du sein respectivement utilisée dans le dépistage des nouveaux médicaments. C'est ainsi que Nenad *et al* (2018), a testé onze flavonoïdes isolés de la propolis parmi lesquels six : la lutéoline (81), la myricétine (82), le kaempférole (83), l'apigénine (84), la galangine (85) et la chrysin (86) induisent des effets cytotoxiques à l'égard de ces deux lignées cellulaires. La lutéoline (81) s'est avérée le plus actif mais particulièrement sur les cellules HCT116 avec une EC₅₀ de 66,86 µM après 72 h. Par contre la myricétine (82) a montré une inhibition sélective avec une EC₅₀ de 114,75 µM sur la croissance des cellules MDA-MB231. D'autre part les flavonoïdes choisis ont présenté un pouvoir réducteur élevé.



c. Propriété insecticide des flavonoïdes

Les insectes constituent un danger permanent pour l'agriculture dans les régions du Nord Cameroun. Les travaux réalisés (Kamal et Jain, 1980) ont montré que les roténoïdes ont une activité insecticide contre les larves d'insectes. Parmi les roténoïdes naturels, la roténone (**87**), s'avère être la plus active et la plus étudiée. Elle est très toxique et possède une activité piscicide et larvicide due à l'inhibition de l'oxydation du NADH : ubiquinone oxydoréductase impliquée dans le processus de transport d'électrons au niveau de la chaîne respiratoire de la mitochondrie (Li *et al.*, 1993).



Ces propriétés insecticides et antioxydantes des flavonoïdes, viennent raviver l'intérêt qui a été sur l'utilisation des espèces *L. rugosa* et *P. glandulosus* en vue d'isoler d'autres biomolécules aussi actives.

CHAPITRE II : RESULTATS ET DISCUSSION

II. ETUDE CHIMIQUE DE *PLECTRANTHUS GLANDULOSUS* ET DE *LIPPIA RUGOSA*

II.1. Extraction, fractionnement et isolement des composés

II.1.1. Extraction, fractionnement et isolement des composés de *P. glandulosus*

La plante entière de *P. glandulosus*, une fois récoltée, a été découpée, séchée puis broyée pour donner une poudre de 3 Kg qui a été extraite par macération à température ambiante dans le mélange dichlorométhane-méthanol (1:1) pendant 48 heures. Après filtration et évaporation sous pression réduite, 210g d'extrait brut ont été obtenus.

Une partie de cet extrait a été fractionnée par chromatographie flash sur gel de silice normale et des différentes fractions résultantes, nous avons obtenu, par chromatographie successive sur gel de silice, 8 composés purs indexés PGNi comme l'indique le schéma 8.

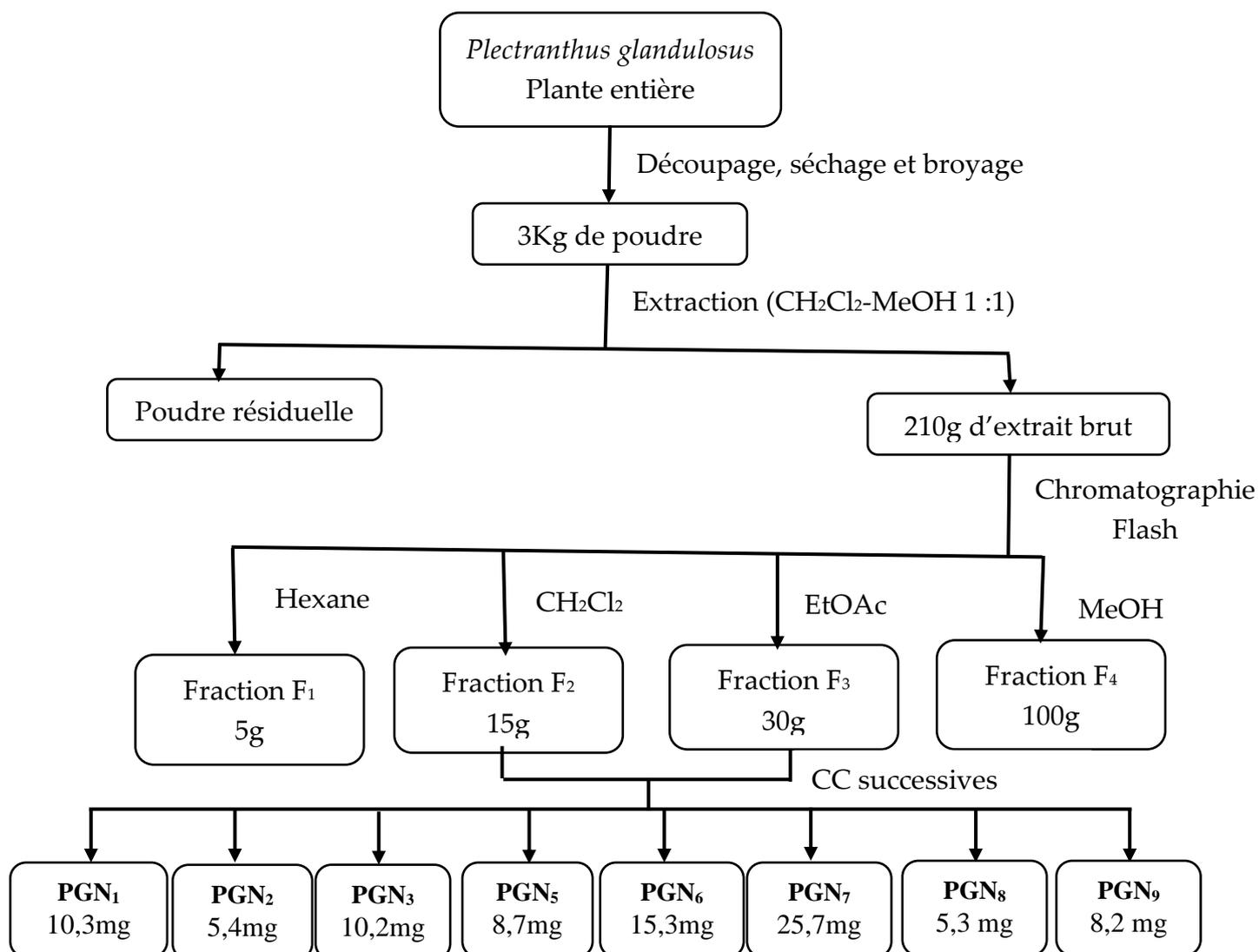


Schéma 8 : Protocole d'extraction, de fractionnement et d'isolement des composés de *Plectranthus glandulosus*

II.1.2. Extraction, fractionnement et isolement des composés des tiges et feuilles de *L. rugosa*

En ce qui concerne les tiges et les feuilles de *L. rugosa*, de l'extrait brut des tiges nous avons isolé, à la suite des chromatographies successives sur colonne de gel de silice, 3 composés purs indexés KLR₁, KLR₂ et KLR₄. Tandis que de l'extrait des feuilles 13 composés ont été obtenus. Les protocoles d'extraction, de fractionnement et d'isolement de ces composés sont illustrés par les schémas 9 et 10, respectivement.

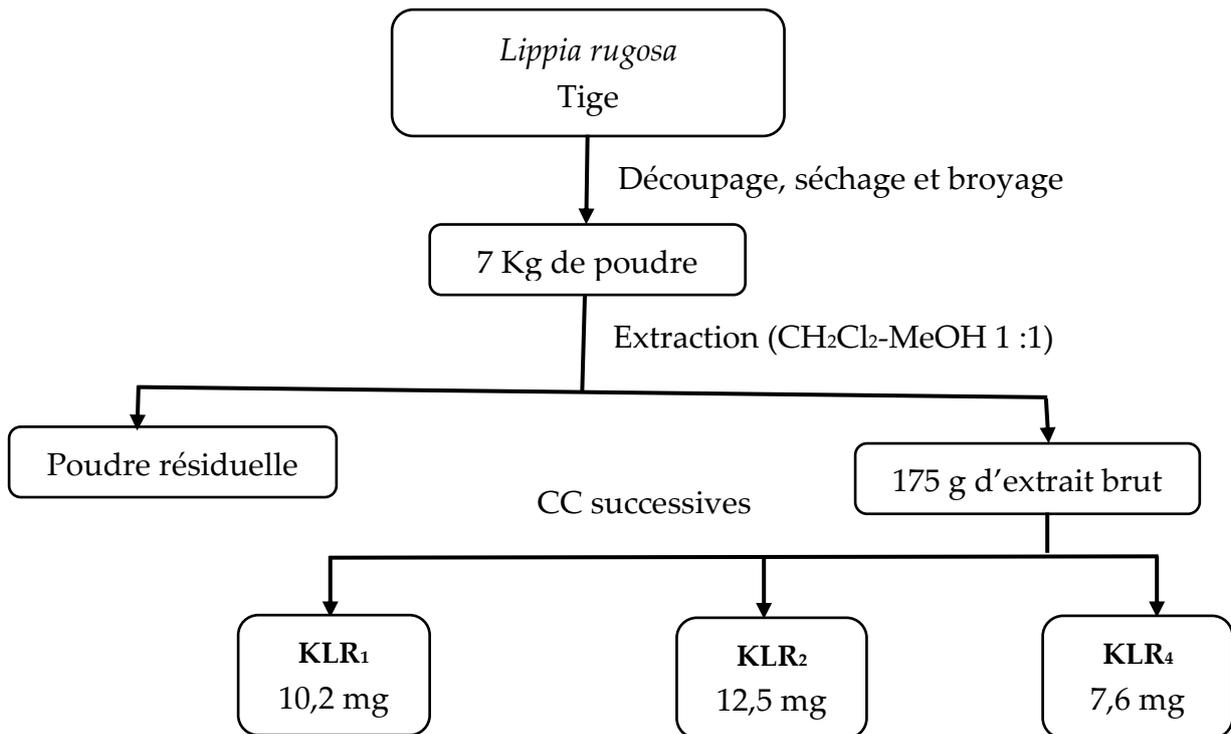


Schéma 9 : Protocole d'extraction, de fractionnement et d'isolement des composés des tiges de *L. rugosa*

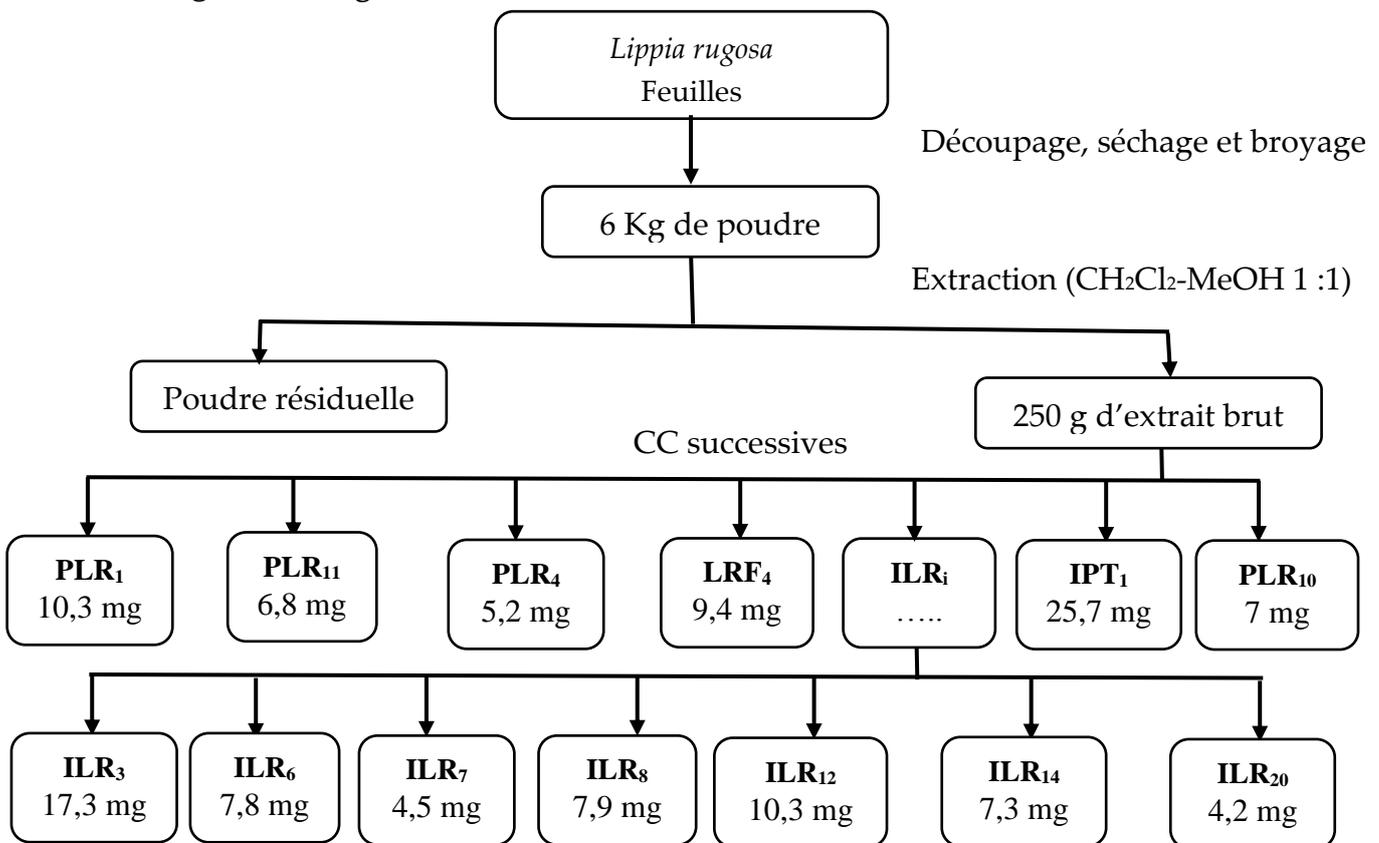


Schéma 10 : Protocole d'extraction, de fractionnement et d'isolement des composés

Au terme du processus d'extraction, de séparation et de purification, nous avons obtenu des deux plantes, vingt-quatre (24) composés que nous consignons dans le tableau 14. De ces 24 composés, il y'en a qui ont été isolés des deux plantes et qui se sont avérés identiques. C'est le cas des composés ILR₂₀, ILR₆, ILR₁₂, PLR₄, et IPT₁ isolés des feuilles de *L. rugosa* que nous avons également obtenus de la plante entière de *P. glandulosus* et indexés PGN₃, PGN₈, PGN₉, PGN₅, et PGN₂. Ce qui ramène à 19 composés, le nombre de composés distincts obtenus.

Tableau 14: Récapitulatif des composés isolés des différentes parties de *Lippia rugosa* et de *Plectranthus glandulosus*

Source	Parties	Composés isolés	Masse s (mg)	N°	Source	Composé s isolés	Masses (mg)	N°
<i>L. rugosa</i>	Feuilles	PLR ₁	10,3	<u>91</u>	<i>P. glandulosus</i>	PGN ₆	15,3	<u>98</u>
		PLR ₁₁	6,8	<u>90</u>		PGN ₁	10,3	<u>94</u>
		LRF ₄	9,4	<u>89</u>		PGN ₂	12,9	<u>95</u>
		ILR ₁₂ = PGN ₉	10,3	<u>101</u>		PGN ₃ =ILR ₂₀	10,2	<u>88</u>
		ILR ₆ = PGN ₈	7,8	<u>104</u>		PGN ₇ =IPT ₁	5,4	<u>95</u>
		ILR ₁₄	7,3	<u>102</u>		PGN ₅ =PLR ₄	8,7	<u>108</u>
		ILR ₈	7,9	<u>106</u>		PGN ₈ =ILR ₆	5,3	<u>104</u>
		ILR ₃	17,3	<u>105</u>		PGN ₉ =ILR ₁₂	8,2	<u>101</u>
		PLR ₄ =PGN ₅	5,2	<u>108</u>				
		ILR ₇	4,5	<u>103</u>				
		ILR ₂₀ =PGN ₃	4,2	<u>88</u>				
		IPT ₁ =PGN ₂	25,7	<u>99</u>				
		PLR ₁₀	7	<u>109</u>				
		Tiges	KLR ₁	10,2		<u>96</u>		
KLR ₂	12,5		<u>100</u>					
KLR ₄	7,6		<u>107</u>					

Ces composés appartiennent à plusieurs classes de substances naturelles parmi lesquelles :

- ❖ 7 Flavonoïdes ;
- ❖ 6 Triterpènes pentacycliques ;
- ❖ 1 Monoterpène ;
- ❖ 1 Alcaloïde ;
- ❖ 1 Alcool gras ;

- ❖ 1 Sucre ;
- ❖ 1 Glucoside de stérol ;
- ❖ 1 mélange de stérol.

C'est l'élucidation structurale de ses composés que nous proposons dans la suite de ce travail.

II.2. Elucidation structurale des composés isolés

II.2.1. Les flavonoïdes

II.2.1.1. Détermination de la structure du composé ILR₂₀

Le composé ILR₂₀, identique à PGN₃, a été obtenu à la fois de *Plectranthus glandulosus* (herbe) et des feuilles de *L. rugosa* sous forme d'une poudre verdâtre dans le mélange hexane acétate d'éthyle (3:1). Soluble dans le chloroforme, il donne une réaction positive à la fois au chlorure ferrique et au test de Shinoda, suggérant ainsi sa double nature phénolique et flavonoïdique.

Son spectre de masse sous ionisation FAB (Figure 4) montre en mode positif le pic de l'ion moléculaire protoné $[M+1]^+$ à m/z 359. Ce qui est corroboré par son spectre de masse en impact électronique (Figure 3) qui présente le pic de l'ion moléculaire $[M]^+$ à m/z 358, pic dont l'analyse à haute résolution $[M]^+$ à m/z 358,1053 (calc. pour C₁₉H₁₈O₇ m/z 358,1053) est compatible avec la formule brute C₁₉H₁₈O₇ renfermant 11 degrés d'insaturation. Ce haut degré d'insaturation plaide en faveur au sein de ce composé, d'une structure fortement aromatique.

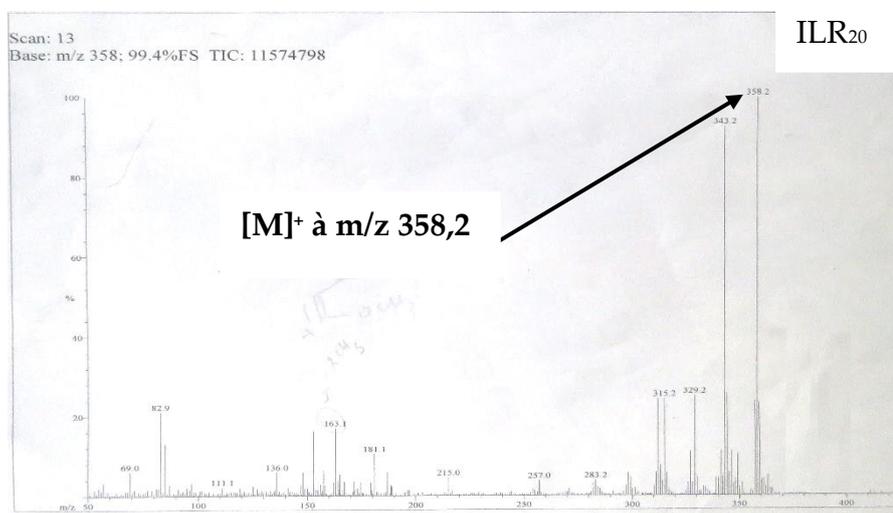


Figure 3 Spectre de masse en impact électronique de ILR₂₀

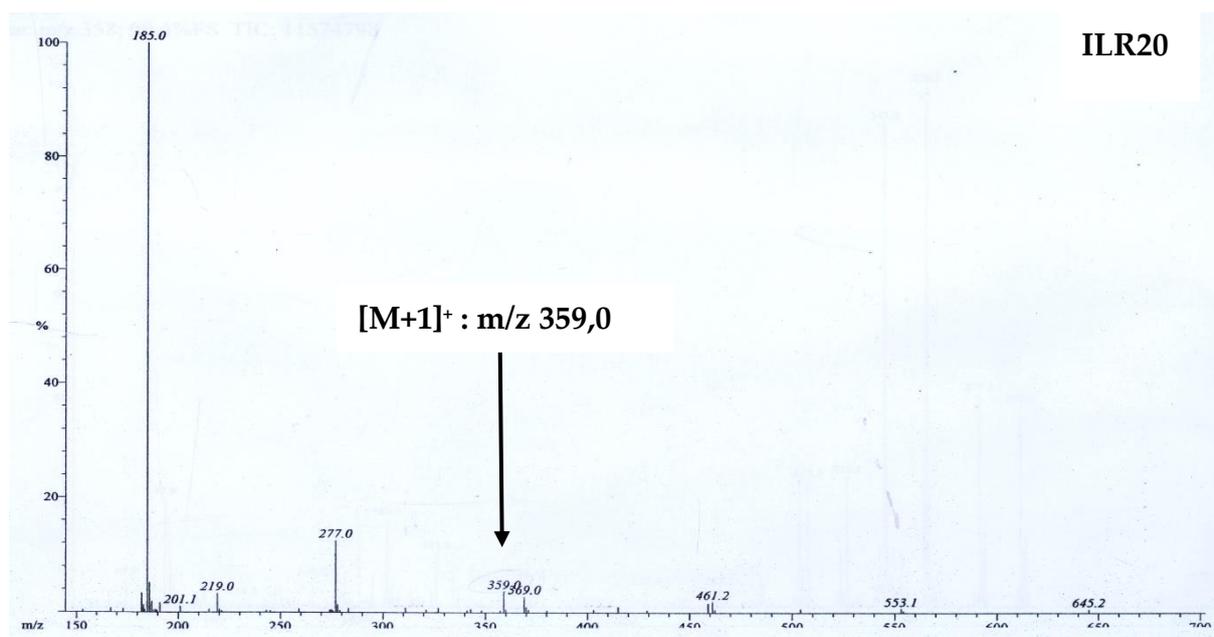
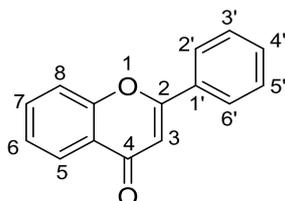


Figure 4 : Spectre de masse FAB⁺ de ILR20

Son spectre IR à transformée de Fourier (figure 5) présente les bandes de vibration intenses à ν 3628,4 cm^{-1} (OH) ; 1656,1 cm^{-1} (C=O) ; 1594 cm^{-1} 1515 cm^{-1} et 1496 cm^{-1} (C=C aromatiques). Sur son spectre UV (figure 6) dans le méthanol, on observe les bandes d'absorption à λ_{max} 277 et 339 nm, caractéristiques d'un chromophore de type flavone (Mabry *et al.*, 1970 et Guo-kai *et al.*, 2017).



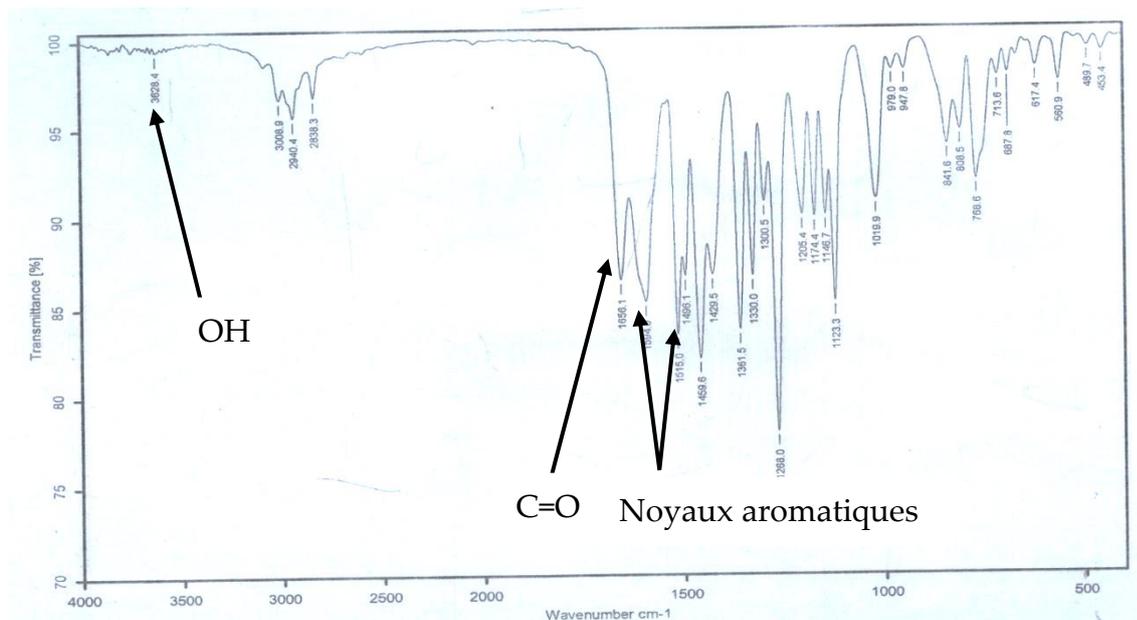


Figure 5 : Spectre IR de ILR₂₀

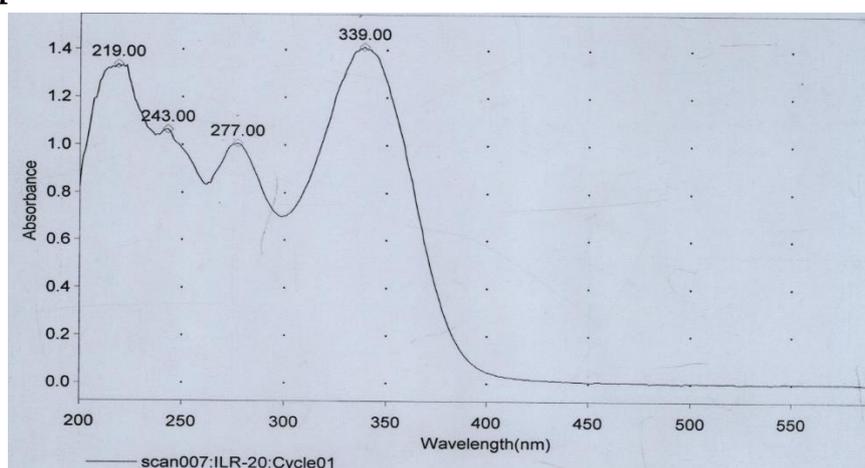


Figure 6 : Spectre UV de ILR₂₀

Cette hypothèse a été confirmée par son spectre de RMN ¹H (figure 9, tableau 15) sur lequel on observe un signal d'un proton à δ_H 6,58 qui corrèle sur le spectre HSQC (figure 10) avec un carbone à δ_C 104,5 caractéristique respectivement du proton H-3 et du carbone C-3 du cycle C d'une flavone (Mabry *et al.*, 1970).

Son spectre de RMN ¹³C complètement découplé (figure 7, tableau 15) présente 19 signaux correspondant aux 19 carbones contenus dans la formule brute.

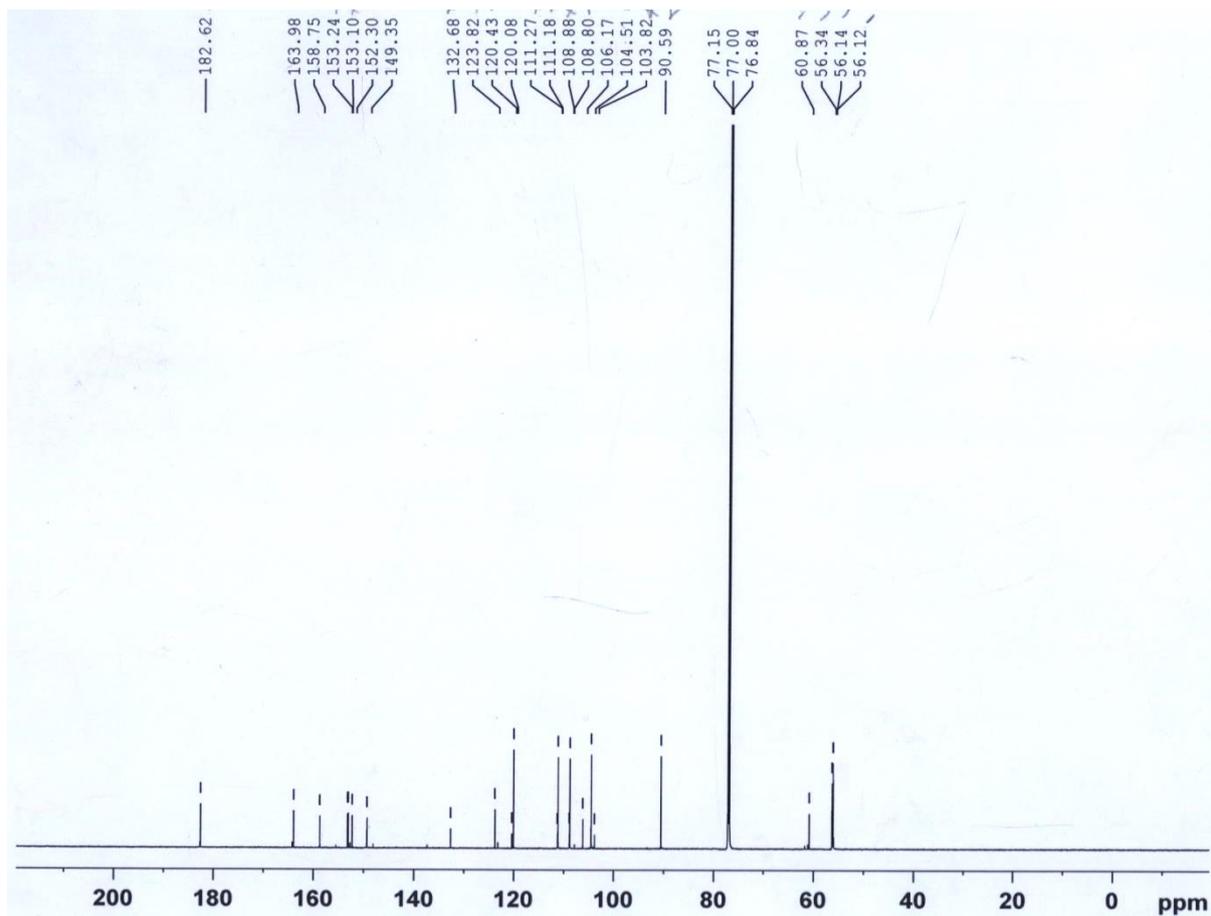


Figure 7 : Spectre de RMN ^{13}C (200 MHz, CDCl_3) de ILR₂₀

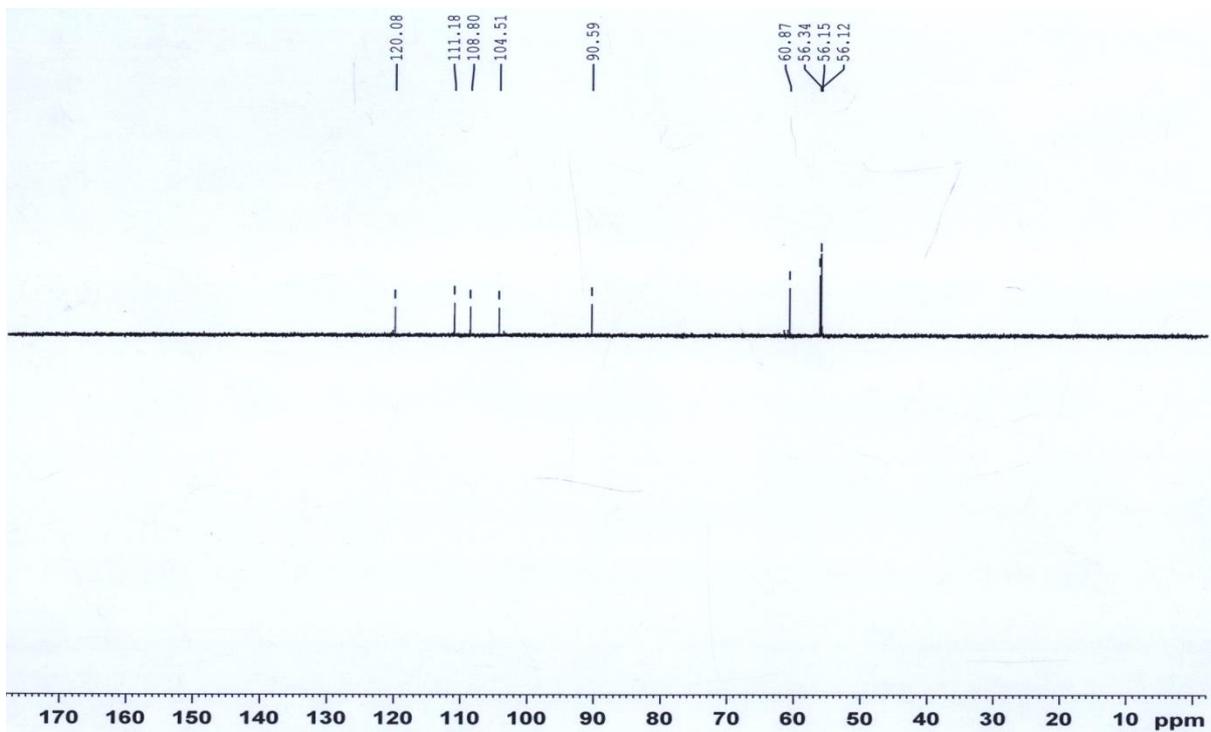


Figure 8 Spectre DEPT 135 (200 MHz, CDCl_3) de ILR₂₀

Une analyse de ces signaux par la technique DEPT (figure 8), fait ressortir :

- ❖ 5 signaux de carbone tertiaires tous hybridés sp^2 résonant à δ_c 90,6 ; δ_c 104,5 ; δ_c 108,3 ; δ_c 120,1 et δ_c 111,2.
- ❖ 4 signaux de carbone primaires à δ_c 60,8 ; δ_c 56,3 ; δ_c 56,1 et δ_c 56,1 attribuables à quatre groupements méthoxyles.

La comparaison des spectres DEPT et de RMN ^{13}C complètement découplé de ILR₂₀ nous permet de déduire la présence au sein de ce composé de 10 carbones quaternaires, parmi lesquels on distingue :

- ❖ Un carbonyle de cétone à δ_c 182,6.
- ❖ 9 carbones quaternaires tous hybridés sp^2 parmi lesquels 5 oxygénés à δ_c 158,7 ; δ_c 132,7 ; δ_c 153,2 ; δ_c 149,3 ; δ_c 152,3; et 4 non oxygénés à δ_c 106,2 ; δ_c 123,8; δ_c 153,1 et δ_c 163,9.

Sur son spectre de RMN 1H en plus du signal à δ_H 6,58 correspondant au proton H-3, on observe également:

- ❖ Un système ABX de 3 protons aromatiques à δ_H 7,32 (1H, d, 2 Hz)/ δ_c 108,8, δ_H 7,52 (1H, dd, 2-8 Hz)/ δ_c 120,1 et δ_H 6,97 (1H, d, 2 Hz)/ δ_c 111,2 qui corrélerent respectivement sur le spectre HSQC avec les carbones résonants à δ_c 108,8, δ_c 120,1 et δ_c 111,2 correspondant aux protons du cycle B.

- ❖ Un singulet d'un proton à δ_H 6,54 qui corréle avec un carbone résonant à δ_c 90,6 qu'on pourrait attribuer soit au proton H-6 soit au proton H-8 du cycle A d'une flavone.

- ❖ La présence au sein de cette molécule de 4 groupements méthoxyles est confirmée par les 4 singulets de 3 protons chacun à δ_H 3,96 (3H, s)/ δ_c 56,1; δ_H 3,91 (3H, s)/ δ_c 60,8; δ_H 3,97 (3H, s)/ δ_c 56,1 et δ_H 3,95 (3H, s)/ δ_c 56,3.

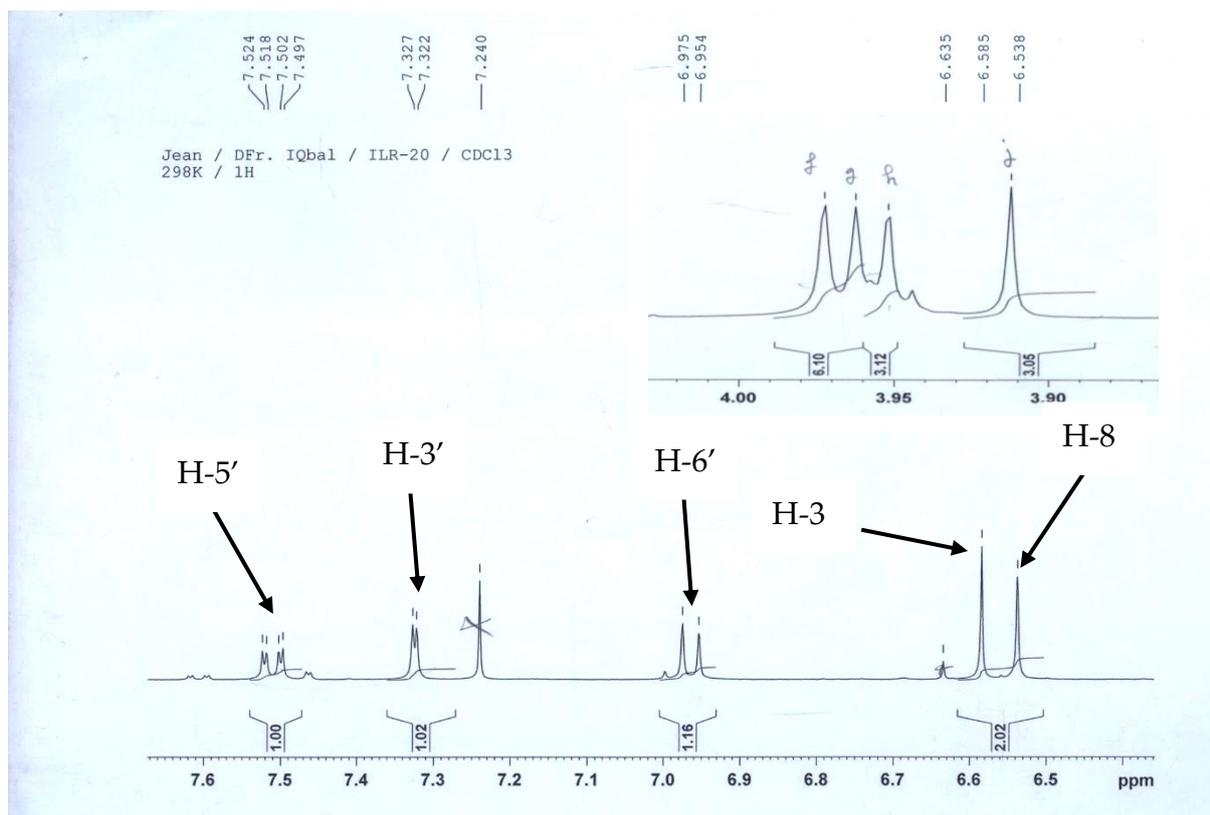


Figure 9 Spectre de RMN ^1H (400 MHz, CDCl_3) de ILR₂₀

Il nous restait à ce stade de la discussion, de déterminer les positions respectives des 4 groupements méthoxyles et de l'hydroxyle sur le squelette flavonique. L'absence sur le spectre de RMN ^1H d'un signal correspondant à un hydroxyle chelaté en C-5, suggère que l'un des 4 méthoxyles occupe la position C-5. De plus, le fait que ce méthoxyle en C-5 présente une tache de corrélation sur le spectre NOESY (figure 13) avec un des groupements méthoxyle résonant à δ_{H} 3,91 indique qu'ils sont proches à travers l'espace. Ce qui nous amène à positionner le deuxième groupe méthoxyle en position C-6. Ce faisant, le singulet résonant à δ_{H} 6,54 est attribué au proton H-8 et le carbone à δ_{C} 90,6 au carbone C-8. Le troisième groupement méthoxyle à δ_{H} 3,95 a été fixé en position C-4' sur la base des considérations d'ordre biogénétique (Harbone, 1967). Il restait le quatrième groupe méthoxyle qui a été fixé en C-2' sur la base des corrélations observées sur le spectre NOESY d'une part entre le méthoxyle à δ_{H} 3,97 et le proton H-3' à δ_{H} 7,32 et d'autre part entre le méthoxyle à δ_{H} 3,95 et le même proton H-3' Ce qui indique que le proton H-3' est entre le méthoxyle résonant à δ_{H} 3,97 et l'autre à δ_{H} 3,95. Ceci a été confirmé

par les déplacements chimiques sur le spectre de RMN ^{13}C , des carbones C-4' à δ_c 152,3 et C-2' à δ_c 149,3 dont les valeurs sont caractéristiques des carbones oxygénés en position *mé*ta (Harbone, 1967). Les quatre groupements méthoxyles étant ainsi positionnés, il ne restait qu'à positionner le groupement hydroxyle en position C-7. Position confirmée par ailleurs par des considérations d'ordre biogénétique (Harbone, 1967).

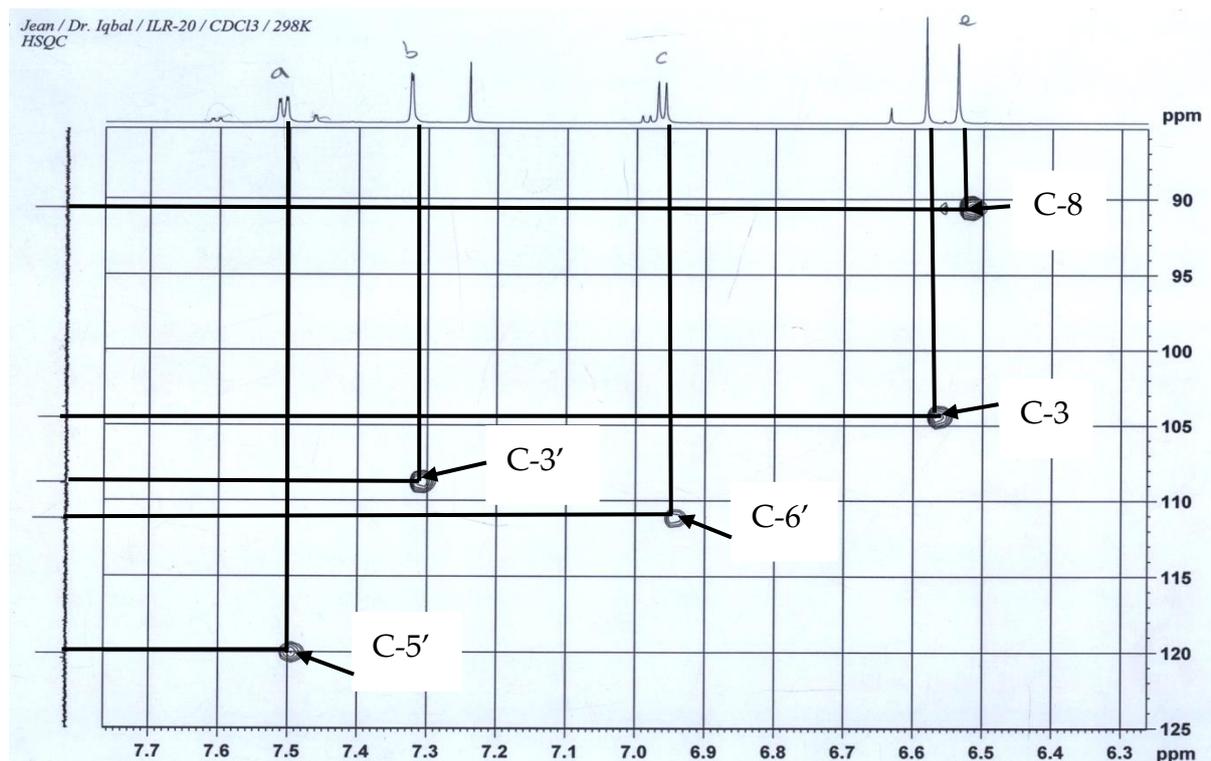


Figure 10 Spectre HSQC de ILR₂₀

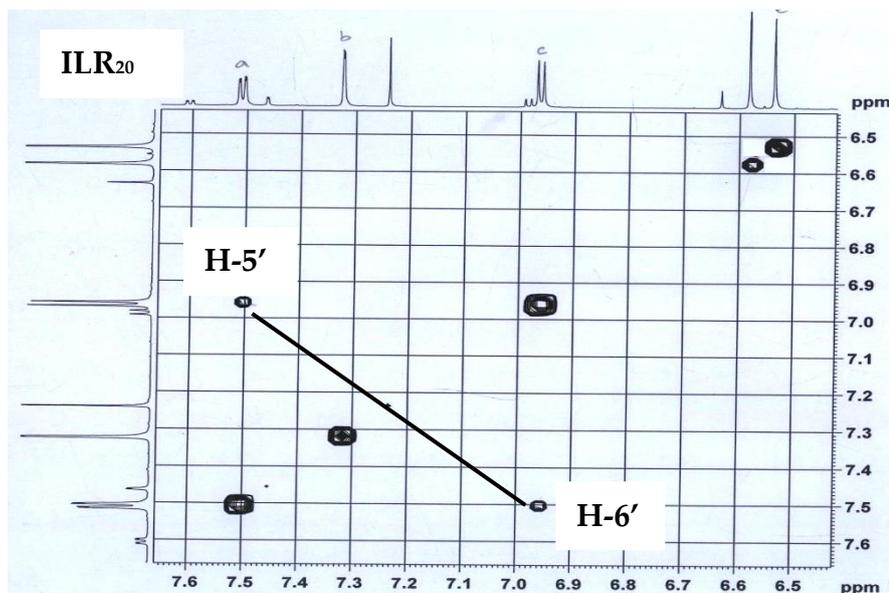


Figure 11 Spectre COSY de ILR₂₀

Sur la base de toutes ces données spectroscopiques, la structure **88** correspondant au 7-hydroxy-5,6,2',4'-tétraméthoxyflavone a été attribuée au composé ILR₂₀, qui est un dérivé nouveau auquel nous avons donné le nom trivial de plectranmicine.

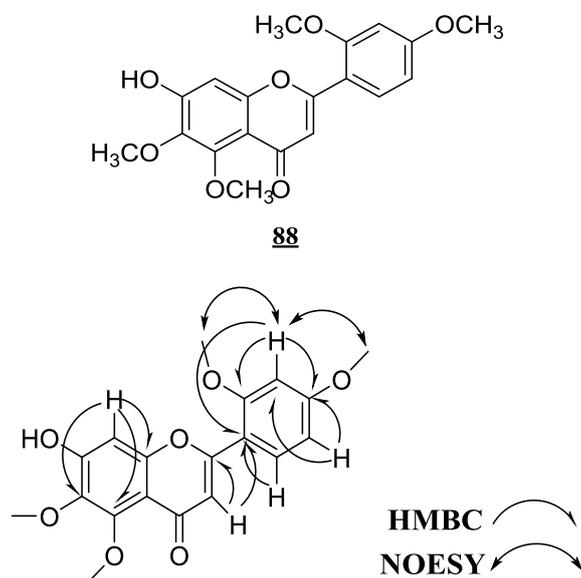


Schéma 11 : Quelques corrélations HMBC et NOESY de ILR₂₀

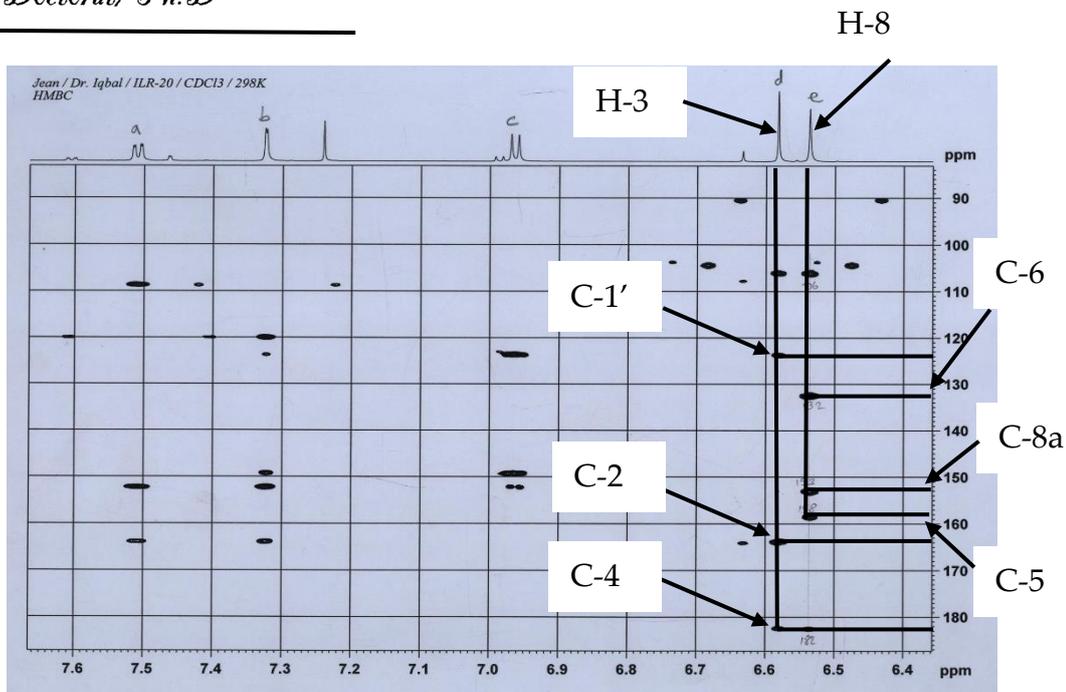


Figure 12 : Spectre HMBC de ILR₂₀

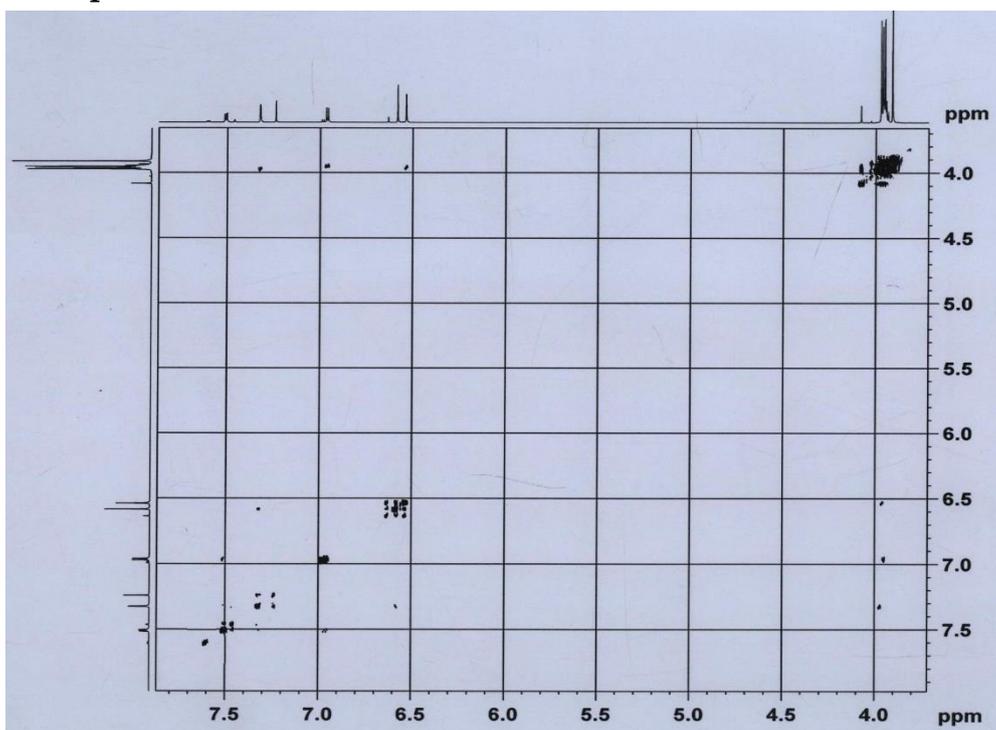


Figure 13 : Spectre NOESY de ILR₂₀

Tableau 15 : Données spectrales de RMN ¹H (400 MHz, CDCl₃) et de RMN ¹³C (200 MHz, CDCl₃) de ILR₂₀

Positions	δ _H en ppm (nH, M, J en Hz)	δ _C en ppm (M)
2	-	163,9 (s)
3	6,58 (1H, s)	104,5 (d)
4	-	182,6 (s)
4a	-	106,2 (s)
5	-	158,7 (s)
6	-	132,7(s)
7	-	153,2(s)
8	6,54 (1H, s)	90,6 (d)
8a	-	153,1 (s)
1'	-	123,8 (s)
2'	-	149,3 (s)
3'	7,32 (1H, d, 2)	108,8 (d)
4'	-	152,3 (s)
5'	7,52 (1H, dd, 2- 8)	120,1 (d)
6'	6,97 (1H, d, 8)	111,2 (d)
6-OCH ₃	3,91 (3H, s)	60,8 (q)
5-OCH ₃	3,96 (3H, s)	56,1 (q)
2'-OCH ₃	3,97 (3H, s)	56,1 (q)
4'-OCH ₃	3,95 (3H, s)	56,3 (q)
7-OH	-	-

II.2.1.2. Identification du composé LRF₄

Le composé LRF₄ a été obtenu des feuilles de *L. rugosa* sous forme de poudre verdâtre dans le mélange hexane/acétate d'éthyle (4:1). Soluble dans le chloroforme, ce composé réagit positivement à la fois au chlorure ferrique et au test de Shinoda, suggérant ainsi sa double nature phénolique et flavonoïdique. Son spectre de masse sous ionisation ESI-TOF présente en mode positif (figure 14) le pic de l'ion pseudo moléculaire [M+1]⁺ à m/z= 329 compatible avec la formule brute C₁₈H₁₆O₆ renfermant 11 degrés d'insaturation. Cette formule brute comparée à celle du composé ILR₂₀, montre qu'il présente 30 unités de masse de moins, qui correspondrait à un groupement méthoxyle de moins.

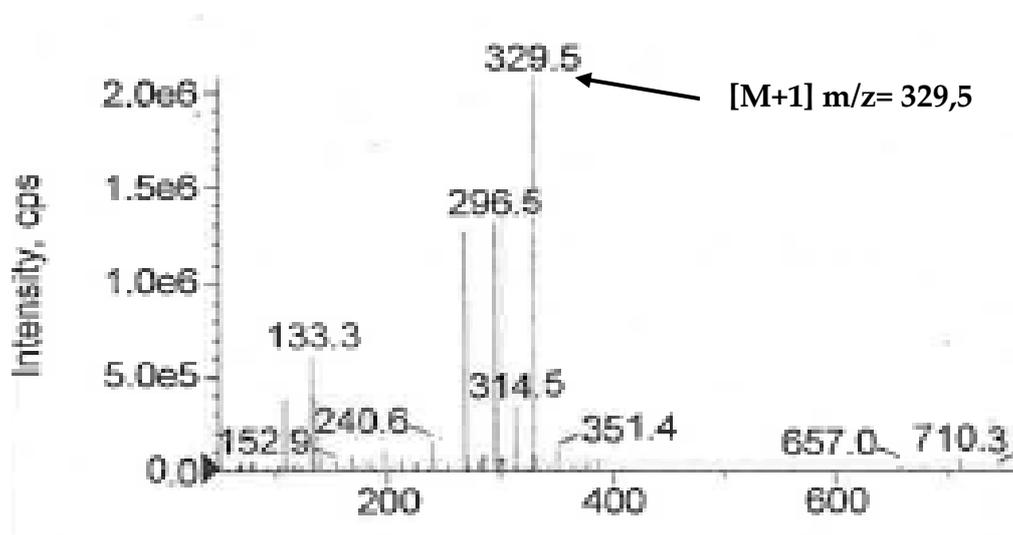


Figure 14 : Spectre de masse ESI-TOF de LRF₄

La comparaison des données spectrales de RMN ¹H et ¹³C avec celles du composé ILR₂₀, révèle de nombreuses similitudes mais également quelques différences. Comme élément de similitude, on note sur le spectre de RMN ¹H (figure 15, tableau 16), la présence :

- Du signal d'un singulet à δ_H 6,60 caractéristique du proton H-3 d'un squelette de flavone (Mabry *et al.*, 1970) ;
- Du signal d'un singulet à δ_H 6,64 attribuable au proton H-8 du cycle A d'une flavone ;

- De trois groupements méthoxyles à δ_H 4,0/ δ_C 56,3 ; δ_H 3,9/ δ_C 60,9 et δ_H 3,9/ δ_C 55,5.

La différence entre les deux composés, réside en la présence sur le spectre de ce composé d'un système AA'BB' de quatre protons aromatiques à δ_H 7,91 (1H, d, 9 Hz)/ δ_C 128,0 (H-2' et H-6') et δ_H 7,06 (1H, d, 9 Hz)/ δ_C 114,5 (H-3' et H-5'), correspondant à un noyau aromatique *para* substitué qui a remplacé le système ABX observé dans le composé précédent.



Figure 15 : Spectre de RMN 1H (500 MHz, $CDCl_3$) de LRF₄

Ceci a été confirmé par le spectre de RMN ^{13}C (figure 16, tableau 16) sur lequel on a observé trois signaux de méthoxyles résonant à δ_C 55,5 ; 56,3 et 60,9 au lieu de quatre comme dans la composé ILR₂₀. La présence d'un des groupements méthoxyles en position 4' du cycle B a été confirmée par l'ion fragment observé à 133 sur le spectre de masse qui résulte d'une fragmentation de type Retro-Diels-Alder.

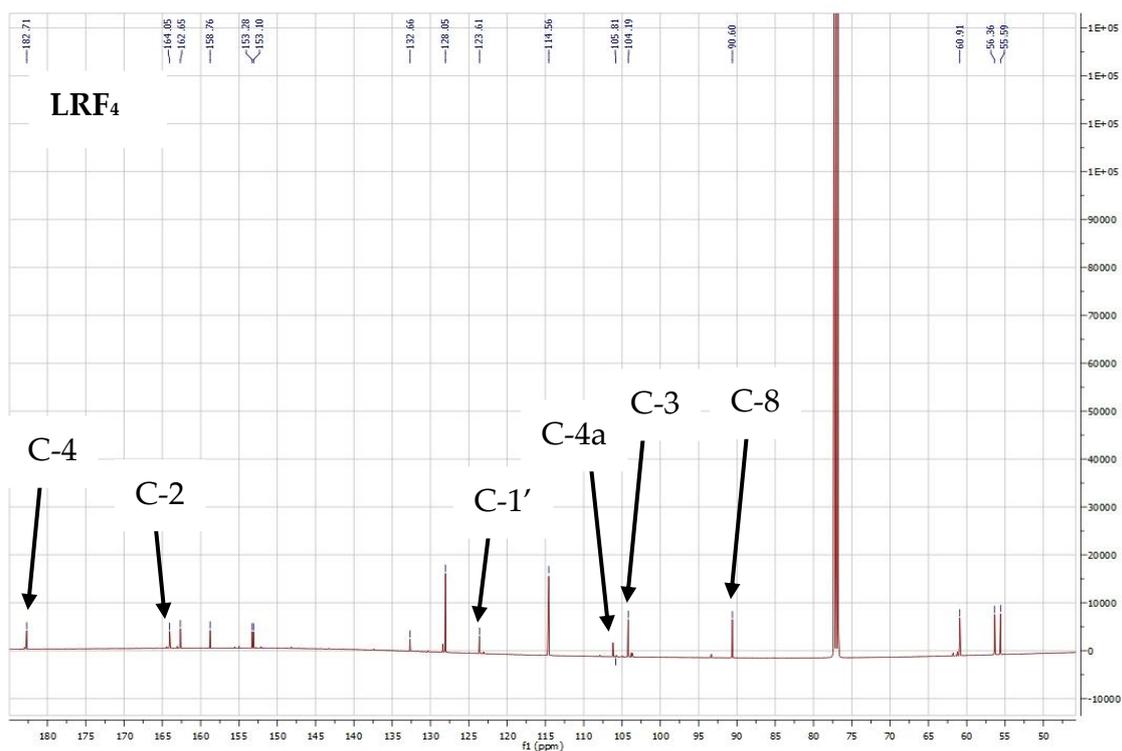


Figure 16 Spectre de RMN ^{13}C découplé large bande (125 MHz, CDCl_3) de LRF₄

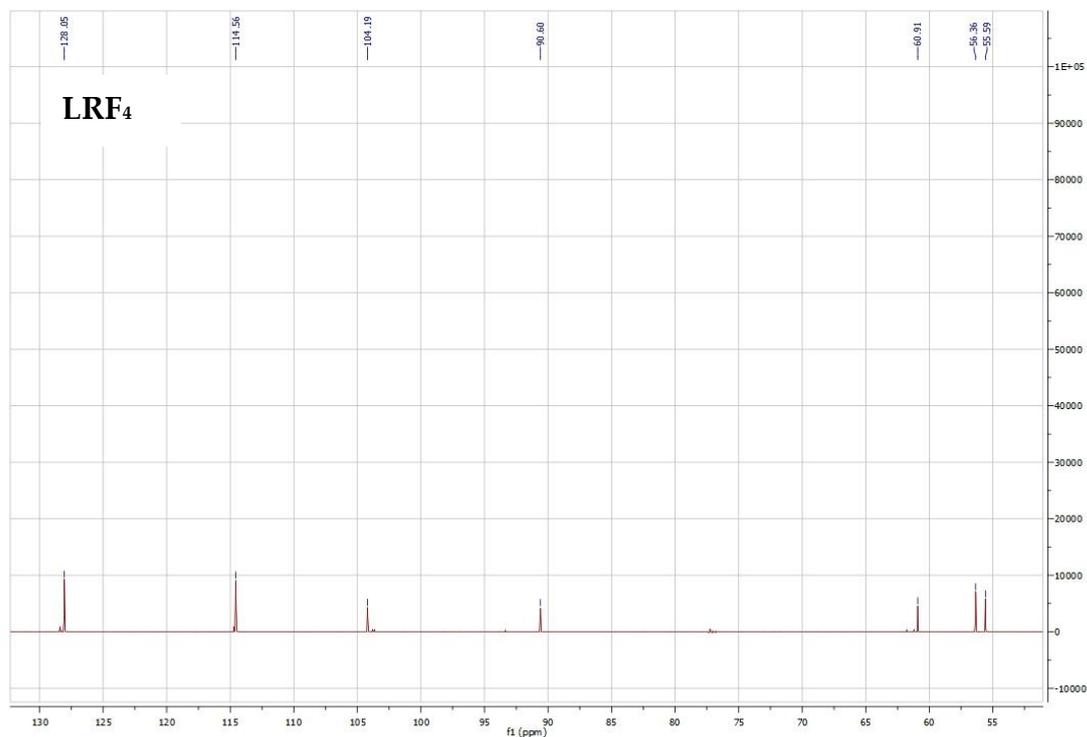


Figure 17 Spectre DEPT 135 (125 MHz, CDCl_3) de LRF₄

Sur la base de toutes ces données spectroscopiques, comparées à celles de la littérature (Deng *et al.*, 2009), la structure **89**, correspondant au 7-hydroxy-5,6,4'-triméthoxyflavone, a été attribuée au composé LRF₄. Ce un composé connu qui a déjà été isolé par Deng *et al.*, 2009 de *Eupatorium catarium*, est obtenu ici pour la première fois de la grande famille des Verbenaceae.

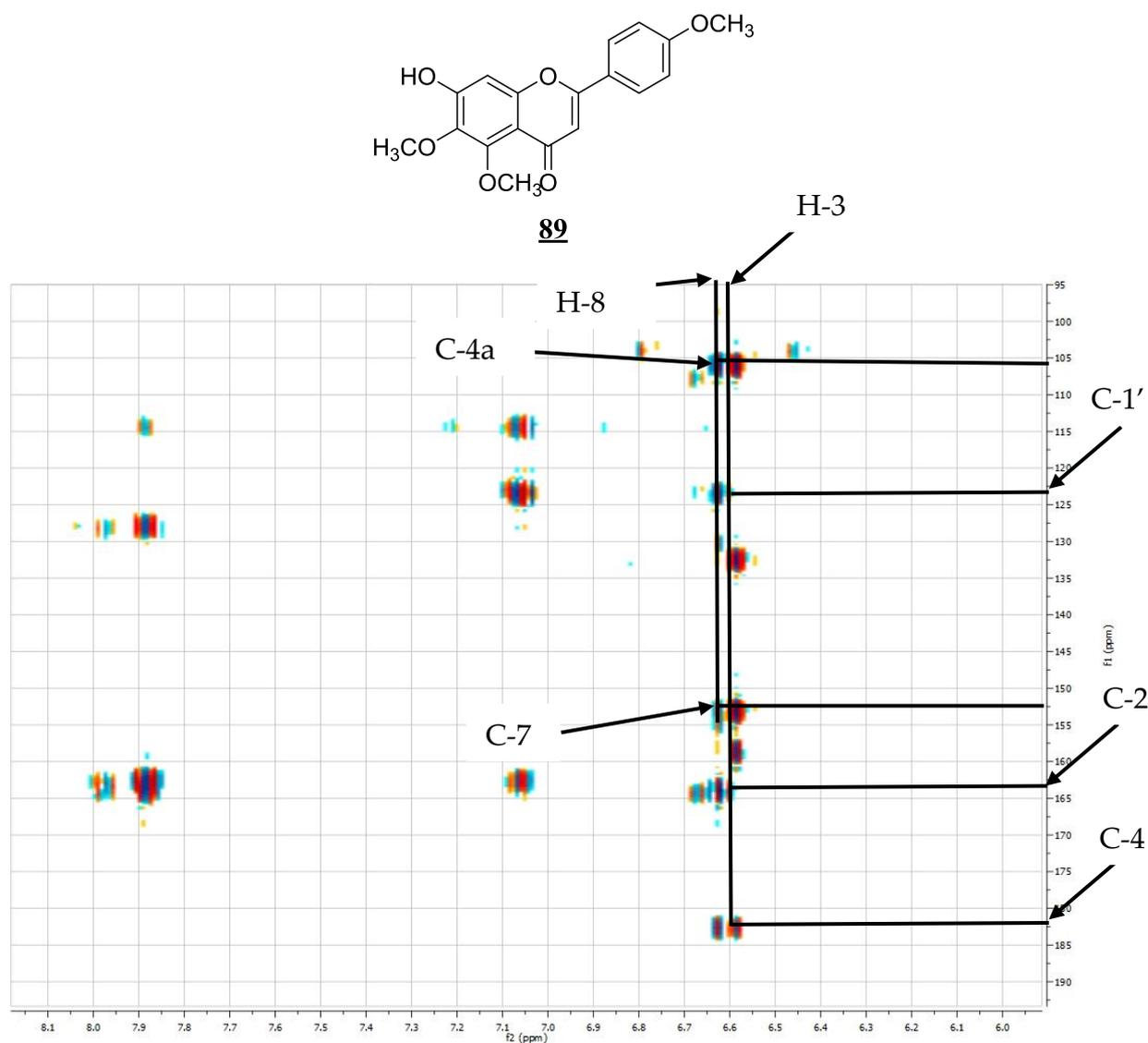
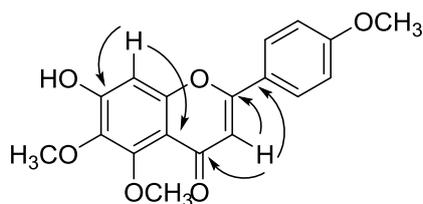


Figure 18 : Spectre HMBC de LRF₄

**Schéma 12 :** Quelques corrélations HMBC du composé LRF₄**Tableau 16 :** Données spectrales de RMN ¹H (500 MHz, CDCl₃), de RMN ¹³C (100 MHz, CDCl₃) et de la référence (100 MHz, DMSO-*d*₆) de LRF₄

Position	δ_H en ppm (nH; M; J en Hz)	δ_C en ppm (M)	δ_C en ppm (Deng <i>et al.</i> , 2009)
2	-	164,0 (s)	160,0 (s)
3	6,60 (1H ; S)	104,1 (d)	105,9 (d)
4	-	182,7 (s)	175,6 (s)
4a		106,1 (s)	111,1 (s)
5	-	153,0 (s)	153,7 (s)
6	-	132,7 (s)	139,2 (s)
7	-	153,2 (s)	156,0 (s)
8	6,64 (1H ; S)	90,6 (d)	99,8 (d)
8a	-		152,1 (s)
1'	-	123,5 (s)	123,1 (s)
2'	7,91 (1H ; d ; 9Hz)	128,0 (d)	127,7 (d)
3'	7,06 (1H ; d ; 9Hz)	114,5 (d)	114,4 (d)
4'	-	162,6 (s)	161,7 (s)
5'	7,06 (1H ; d ; 9Hz)	114,5 (d)	114,4 (d)
6'	7,91 (1H ; d ; 9Hz)	128,0 (d)	127,7 (d)
5-OCH ₃	4,0 (3H ; S)	56,3 (q)	55,4 (q)
6-OCH ₃	3,9 (3H ; S)	60,9 (q)	60,8 (q)
4'-OCH ₃	3,9 (3H ; S)	55,5 (q)	61,8 (q)
7-OH	-	-	-

II.2.1.3. Identification du composé PLR₁₁

Le composé PLR₁₁ a été obtenu des feuilles de *L. rugosa* sous forme de poudre jaunâtre dans le mélange hexane/acétate d'éthyle (8,5 :1,5). Il est soluble dans l'acétone et réagit positivement à la fois au chlorure ferrique et au test de Shinoda suggérant, ainsi sa double nature phénolique et flavonoïdique. Son spectre de masse en impact électronique (figure 19) présente le pic de l'ion moléculaire [M]⁺ à m/z 328 compatible avec la formule brute C₁₈H₁₆O₆ renfermant 11 degrés d'insaturation. Cette formule brute est identique à celle du composé LRF₄ montrant ainsi qu'ils sont des isomères.

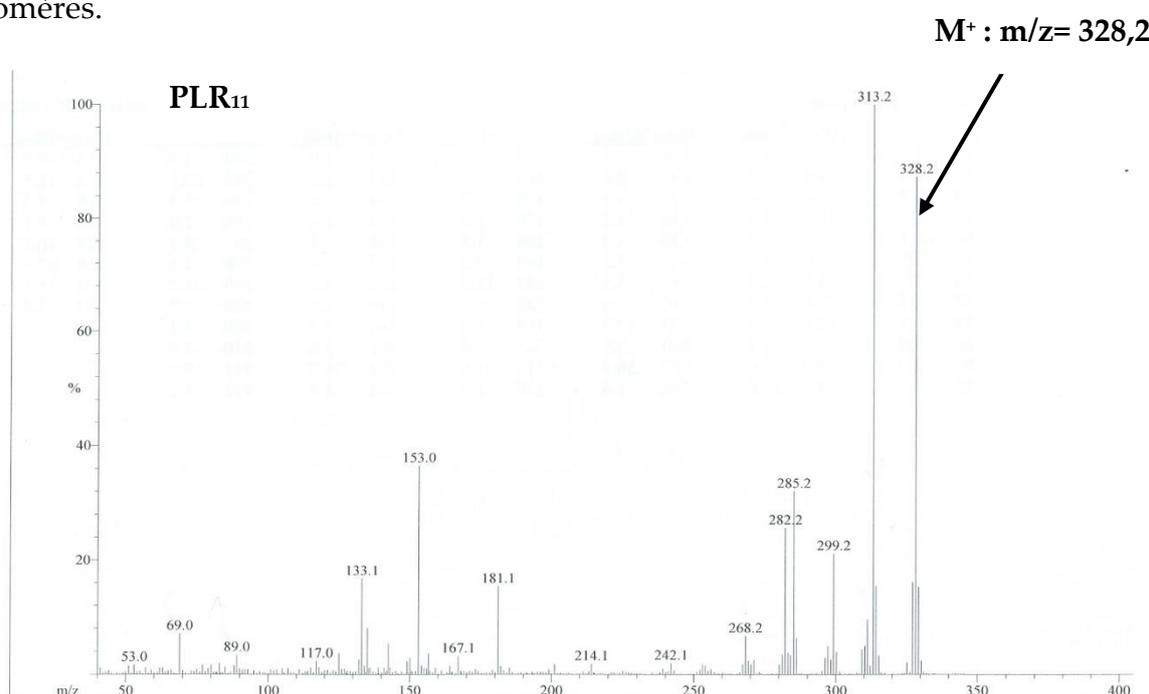


Figure 19 : Spectre de masse en impact électronique (IE) de PLR₁₁

La comparaison des données spectrales de RMN ¹H et ¹³C avec celles du composé LRF₄ montre de nombreuses similitudes avec cependant quelques différences. Comme éléments de similitude, on note sur son spectre de RMN ¹H (figure 20, tableau 17), la présence :

- D'un système AA'BB' de 4 protons aromatiques à δ_H 8,05 (1H, d, 9 Hz)/ δ_C 129,1 (H-2', H-6') et δ_H 7,13 (1H, d, 9 Hz)/ δ_C 115,4 (H-3' ; H-5'), correspondant à un noyau aromatique para substitué.

- De trois groupements méthoxyles à δ_H 3,79 (3H, s)/ δ_C 60,5 ; 3,98 (3H, s)/ δ_C 56,8 et 3,91 (3H, s)/ δ_C 55,9.

La différence entre les deux composés, réside en la présence sur le spectre de ce composé de deux doublets d'un proton chacun à δ_H 6,72 (1H, d, 2 Hz)/ δ_C 104,4 et à δ_H 6,86 (1H, d, 2 Hz)/ δ_C 91,9 attribuable respectivement aux protons H-6 et H-8 au lieu de deux singulets d'un proton chacun comme dans le cas du composé LRF₄. La présence d'un hydroxyle chelaté à δ_H 12,92 (1H, s), qui était absent sur le composé précédent.

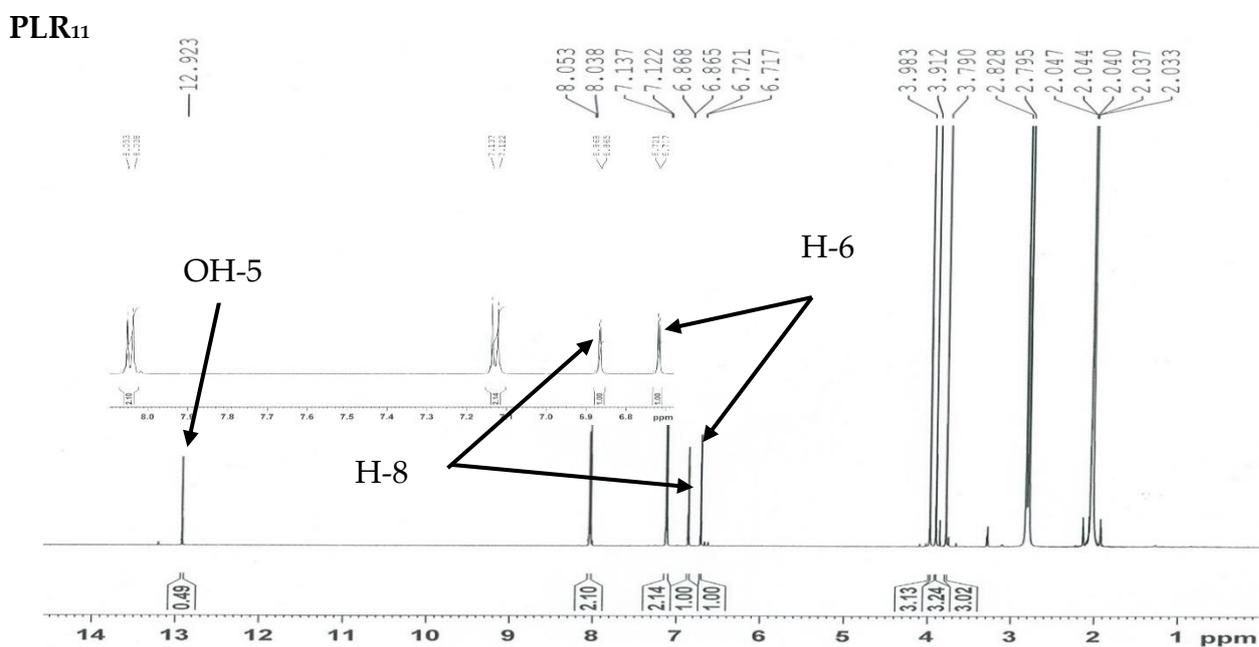


Figure 20 : Spectre de RMN 1H (600 MHz, Acétone- d_6) de PLR₁₁

Sur la base de toutes ces observations et par comparaison aux données spectrales de la littérature (Sutthanut *et al.*, 2007 ; Sirinapa *et al.*, 2017 et Supawadee *et al.*, 2017), la structure **90**, correspondant au 5-hydroxy-3,7,4'-triméthoxyflavone a été attribuée au composé PLR₁₁. Bien que connu, parce que isolé par Sirinapa *et al.*, 2017 des feuilles de *Polyalthia bullata*. C'est la première fois que nous l'isolons ici dans la grande famille des Verbenaceae.

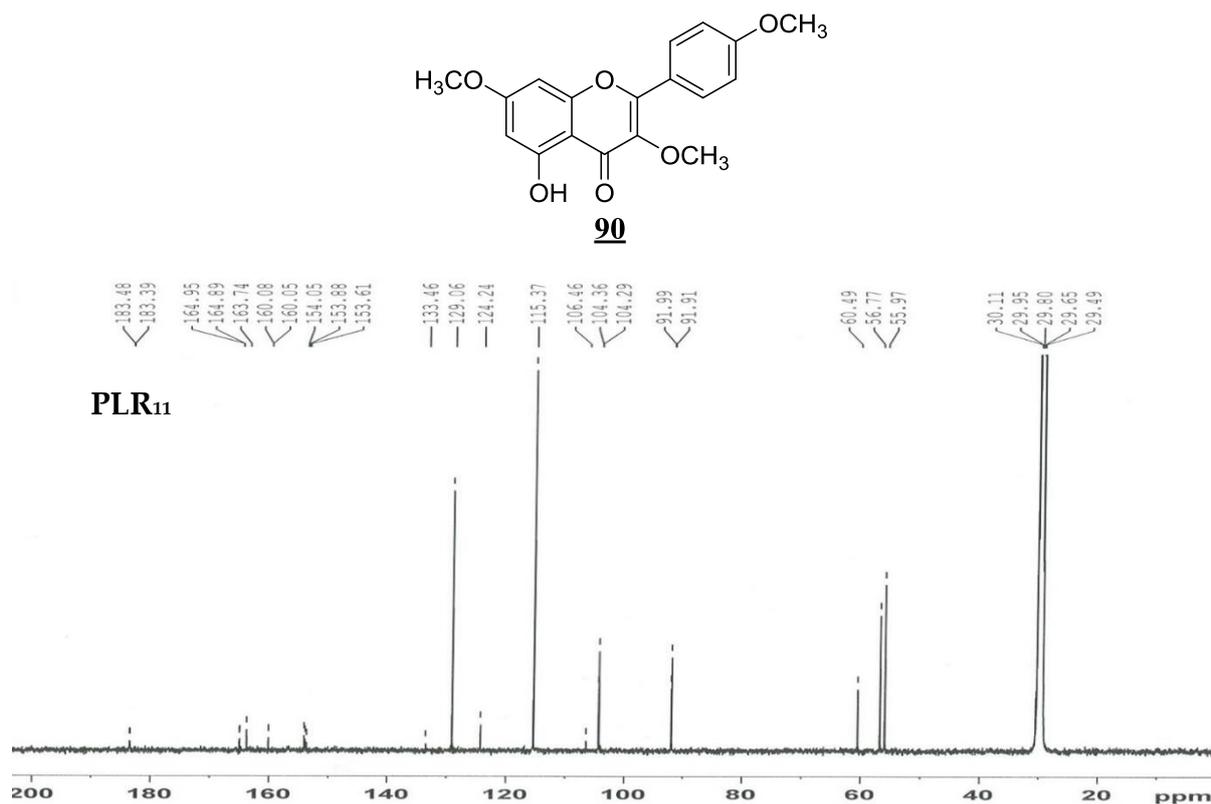


Figure 21 : Spectre de RMN ^{13}C découplé proton large bande (125 MHz, Acétone- d_6) de PLR₁₁

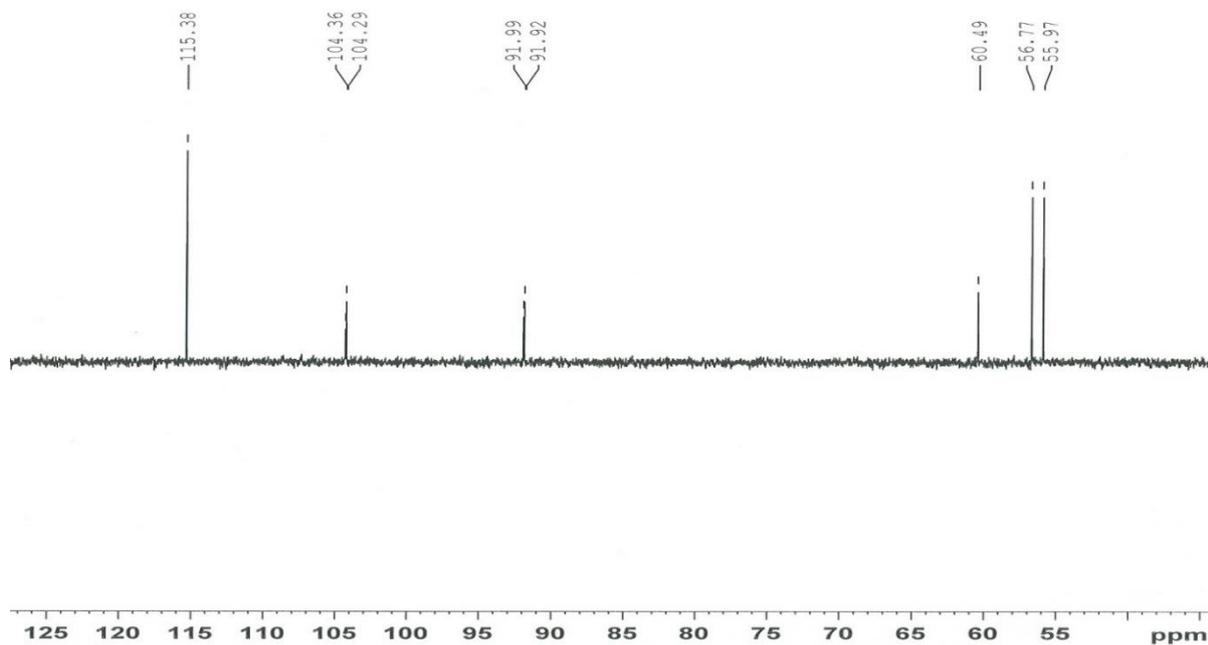


Figure 22 : Spectre DEPT 135 (125 MHz, Acétone- d_6) de PLR₁₁

Tableau 17: Données spectrales de RMN ^1H (600 MHz, Acétone- d_6), de RMN ^{13}C (125 MHz, Acétone- d_6) de PLR₁₁

Position	δ_{H} en ppm (nH; M; J en Hz)	δ_{C} en ppm (M)	δ_{H} en ppm (nH; M; J en Hz) (Sirinapa et al., 2017)	δ_{C} en ppm (Sirinapa et al., 2017)
2	-	164,9 (s)	-	155,9 (s)
3	-	133,4 (s)	-	138,8 (s)
4	-	183,5 (s)	-	178,8 (s)
4a	-	106,5 (s)	-	106,1 (s)
5	-	153,9 (s)	-	162,0 (s)
6	6,72 (1H, d, 2)	104,4 (d)	6,38 (1H, d, 2,2)	97,8 (d)
7	-	160,1 (s)	-	165,4 (s)
8	6,86 (1H, d, 2)	91,9 (d)	6,47 (1H, d, 2,2)	92,2 (d)
8a	-	154,1 (s)	-	156,7 (s)
1'	-	124,2 (s)	-	122,8 (s)
2'	8,05 (1H, d, 9)	129,1 (d)	8,10 (1H, d, 9)	130,2 (d)
3'	7,13 (1H, d, 9)	115,4 (d)	7,05 (1H, d, 9)	114,1 (d)
4'	-	163,7 (s)	-	161,7 (s)
5'	7,13 (1H, d, 9)	115,4 (d)	7,05 (1H, d, 9)	114,1 (d)
6'	8,05 (1H, d, 9)	129,1 (d)	8,10 (1H, d, 9)	130,2 (d)
3-OCH ₃	3,79 (3H, s)	60,5 (q)	3,88 (3H, s)	60,2 (q)
7-OCH ₃	3,98 (3H, s)	56,8 (q)	3,90 (3H, s)	55,8 (q)
4'-OCH ₃	3,91 (3H, s)	55,9 (q)	3,92 (3H, s)	55,4 (q)
5-OH	12,92 (1H, s)	-	12,69 (1H, s)	-

II.2.1.4. Identification du composé PLR₁

Le composé PLR₁ est obtenu des feuilles de *L. rugosa* sous forme de poudre verdâtre dans le mélange hexane/acétate d'éthyle (9 :1). Il est soluble dans le chloroforme et réagit positivement à la fois au chlorure ferrique et au test de Shinoda montrant sa double nature phénolique et flavonoïdique. Son spectre de masse en impact électronique (figure 23) présente le pic de l'ion moléculaire [M]⁺ à m/z 328 compatible avec la formule brute C₁₈H₁₆O₆ renfermant 11 degrés d'insaturation. Cette formule brute est identique à celle du composé PLR₁₁, ce qui nous permet de dire que nous avons à faire aux isomères.

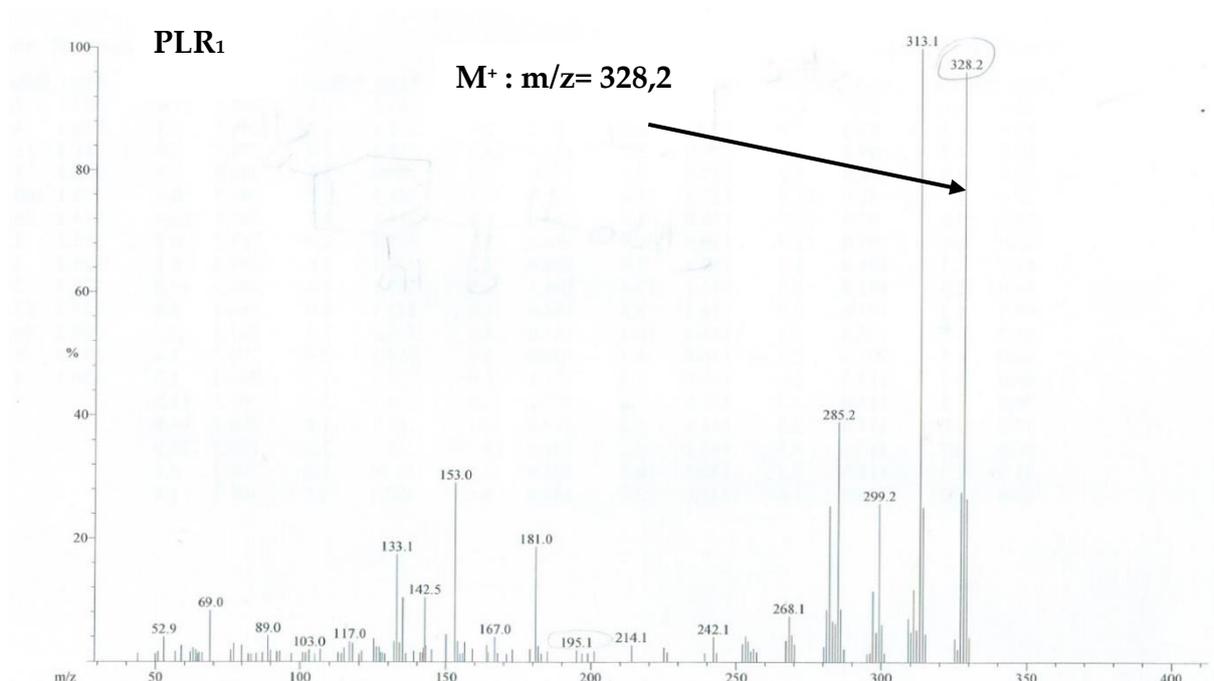


Figure 23 : Spectre de masse en impact électronique (IE) de PLR₁

La comparaison des données spectrales de RMN ¹H (figure 24, tableau 18) avec celle du composé PLR₁₁ montre de nombreuses similitudes avec toutefois quelques différences. Comme éléments de similitude, on note la présence :

- D'un système AA'BB' de 4 protons aromatiques à δ_H 7,83 (1H, d, 9 Hz)/ δ_c 127,9 (H-2', H-6') et δ_H 7,01 (1H, d, 9 Hz)/ δ_c 114,5 (H-3' ; H-5'), correspondant à un noyau aromatique para substitué.

- De trois groupements méthoxyles à δ_H 3,91 (3H, s)/ δ_C 60,9 ; 3,95 (3H, s)/ δ_C 56,3 et 3,85 (3H, s)/ δ_C 55,5.
- D'un groupement hydroxyle à δ_H 12,75 (1H, s) attribuable à l'hydroxyle en position C-5.

Par contre, on observe sur ce même spectre deux singulets de deux protons chacun à δ_H 6,57 (1H, s)/ δ_C 104,1 et δ_H 6,52 (1H, s)/ δ_C 90,5 attribuables, respectivement aux protons H-3 et H-8 d'une flavone.

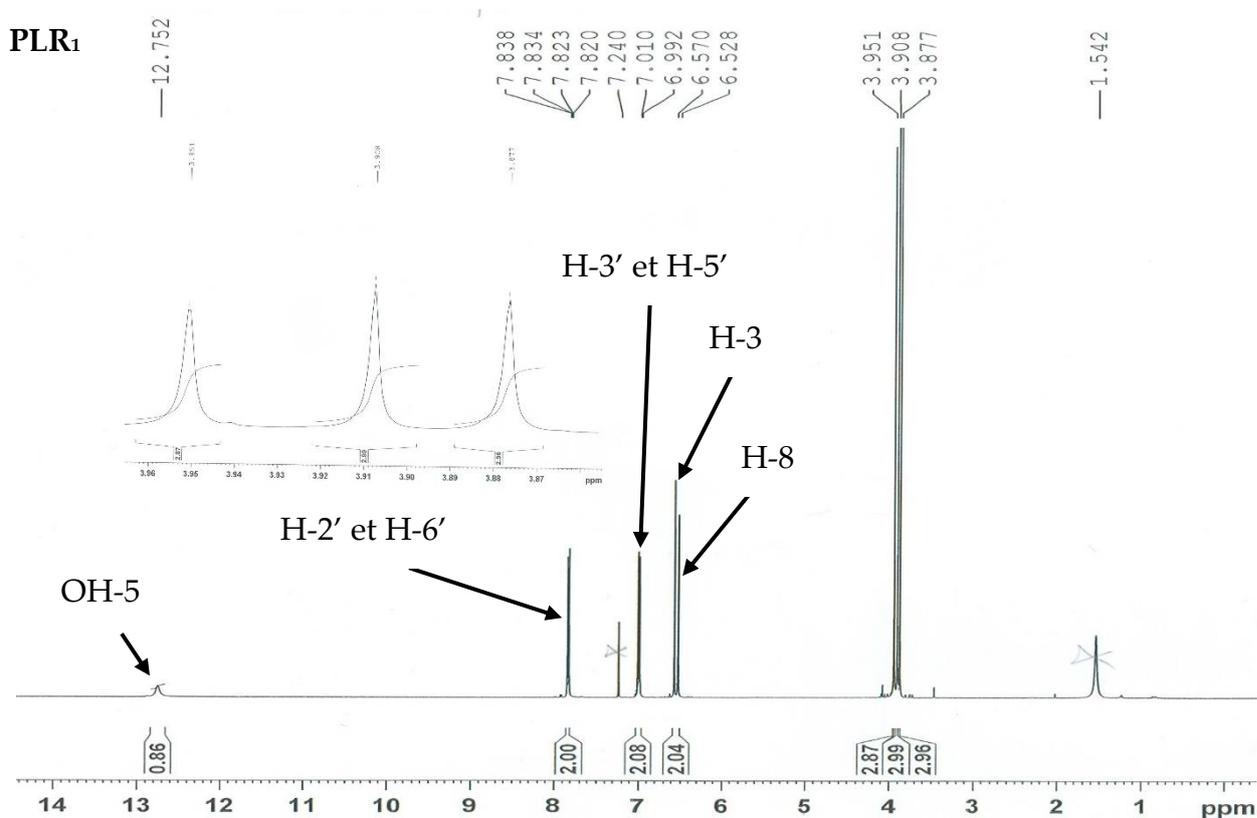


Figure 24 : Spectre de RMN 1H (500 MHz, CDCl₃) de PLR₁

Ceci a été confirmé par les ions fragments résultant d'une fragmentation de type Retro-Diel-Alder (RDA) avec transfert de proton. L'ion à m/z 153 (**85**), montre que le cycle A renferme deux groupements méthoxyles et un groupement hydroxyle. Tandis que l'ion à m/z 133 (**86**), qui renferme un groupe méthoxyle du cycle B (schéma 14).

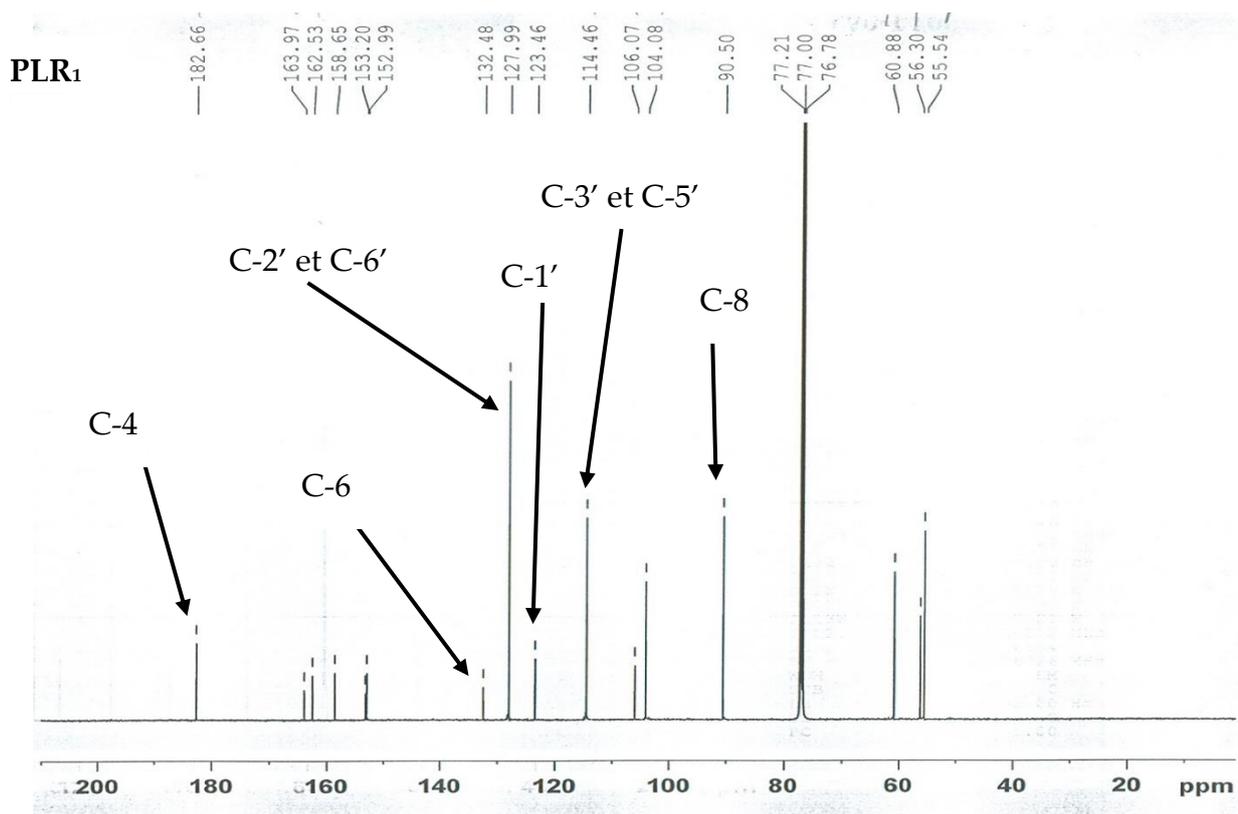


Figure 25 : Spectre de RMN ¹³C découplé proton large bande (150 MHz, CDCl₃) de PLR₁

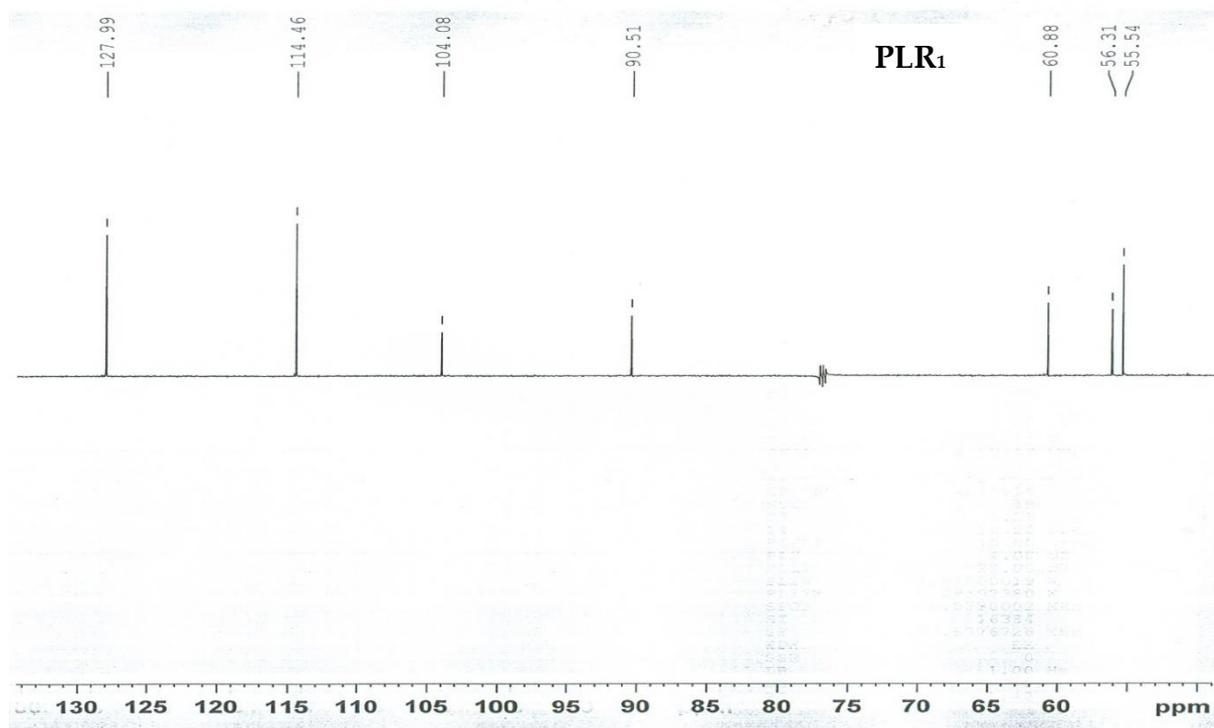


Figure 26 : Spectre DEPT 135 (150 MHz, CDCl₃) de PLR₁

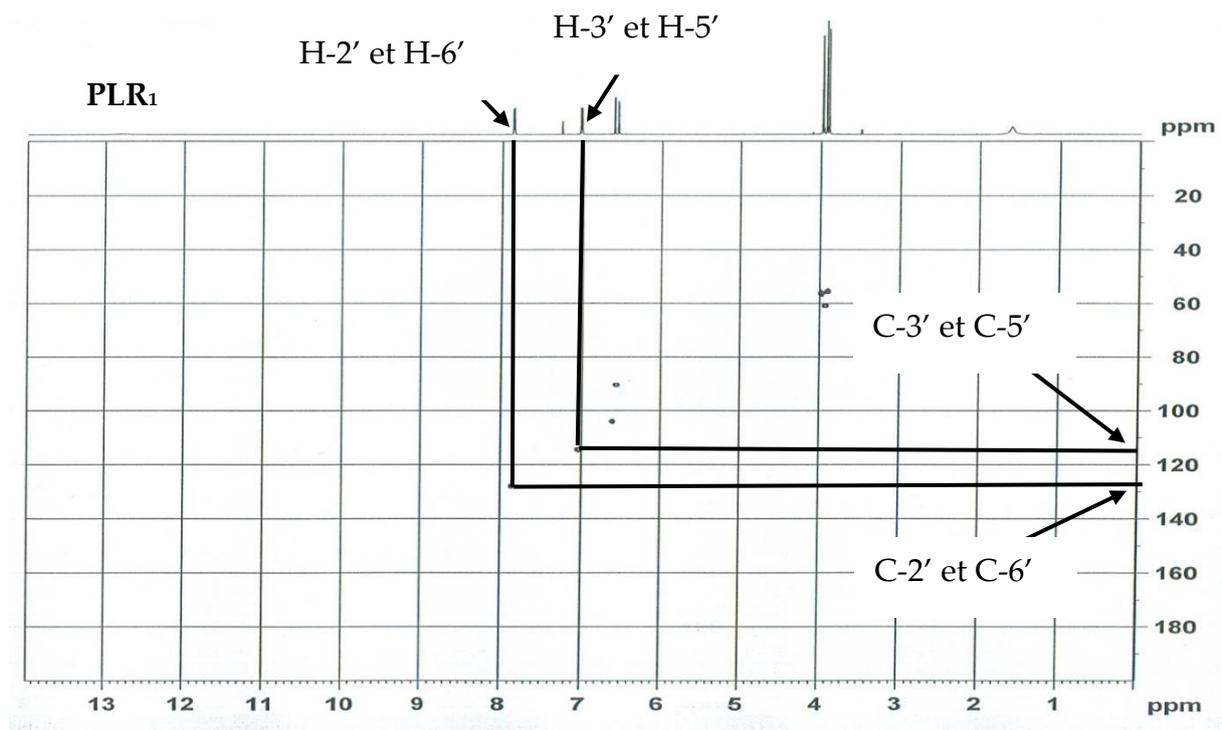
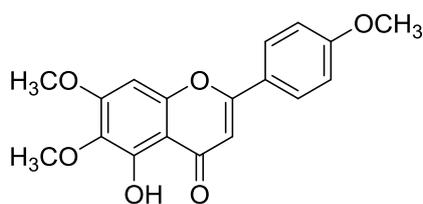


Figure 27 : Spectre HSQC de PLR₁

Sur la base de toutes ces observations et par comparaisons aux données spectrales de la littérature (Ulubelen *et al.*, 1968 ; Sahar *et al.*, 2017), la structure **91** correspondant au 5-hydroxy-6, 7, 4'-triméthoxyflavone a été attribuée au composé PLR₁. Isolé par Ulubelen et collaborateur en 1968 des feuilles de *Salvia triloba* connu sous le nom de Salvigenin. Ce composé est ici isolé pour la première fois de la grande famille des Verbenaceae.



91

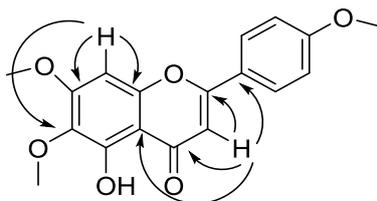


Schéma 13 : Quelques corrélations HMBC de PLR₁

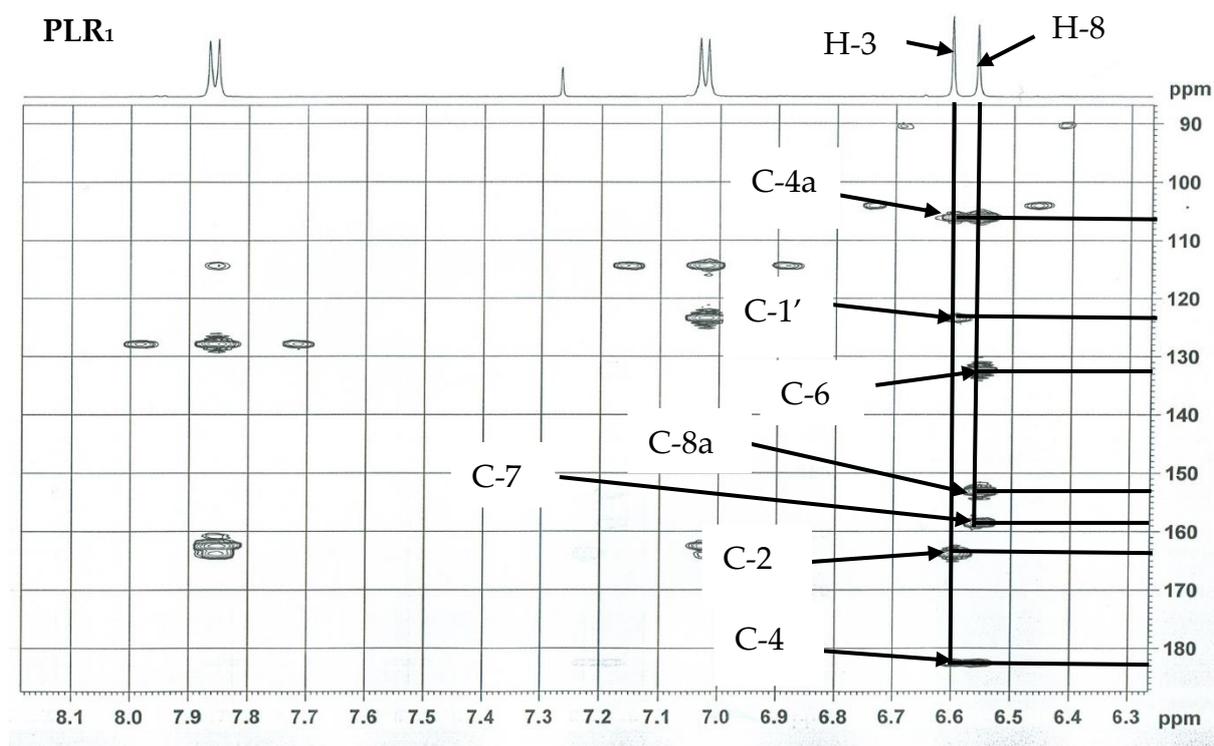


Figure 28 : Spectre HMBC de PLR₁

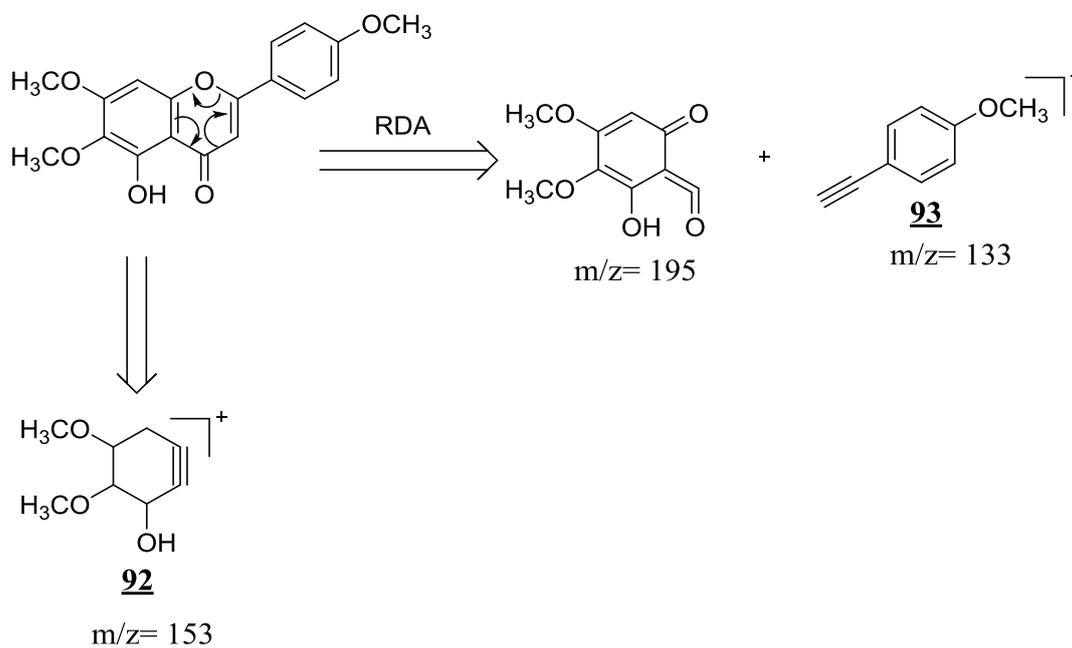


Schéma 14 : Fragmentation du type Retro Diel Alder de PLR₁

Tableau 18: Données spectrales de RMN ^1H (500 MHz, CDCl_3), de RMN ^{13}C (150 MHz, CDCl_3) de PLR₁

Position	δ_{H} en ppm (nH; M; J en Hz)	δ_{C} en ppm (M)	δ_{H} en ppm (nH; M; J en Hz) (Ulubelen <i>et al.</i> , 1968)
2	-	163,9 (s)	-
3	6,57 (1H, s)	104,1 (d)	6,60 (1H, s)
4	-	182,7 (s)	-
4a	-	106,1 (s)	-
5	-	153,2 (s)	-
6	-	132,5 (s)	-
7	-	158,6 (s)	-
8	6,52 (1H, s)	90,5 (d)	6,55 (1H, s)
8a	-	152,9 (s)	-
1'	-	123,5 (s)	-
2'	7,83 (1H, d, 9)	127,9 (d)	7,93 (1H, d, 9)
3'	7,01(1H, d, 9)	114,5 (d)	7,10 (1H, d, 9)
4'	-	162,5 (s)	-
5'	7,01 (1H, d, 9)	114,5 (d)	7,10 (1H, d, 9)
6'	7,83 (1H, d, 9)	127,9 (d)	7,93 (1H, d, 9)
CH ₃ O-6	3,91 (3H, s)	60,9 (q)	4,00 (3H, s)
CH ₃ O-7	3,95 (3H, s)	56,3 (q)	4,00 (3H, s)
CH ₃ O-4'	3,85 (3H, s)	55,5 (q)	4,00 (3H, s)
OH-5	12,75 (1H, s)	-	11,60 (1H, s)

II.2.1.5. Identification du composé PGN₁

Le composé PGN₁ est obtenu de *P. glandulosus* sous forme de poudre jaune dans le mélange hexane/acétate d'éthyle (6 :4). Il est soluble dans l'acétone, réagit positivement à la fois au chlorure ferrique (coloration bleue) et au test de Shinoda (coloration violette) suggérant sa double nature phénolique et flavonoïdique. Son spectre de masse en impact électronique (figure 29) présente le pic de l'ion moléculaire [M]⁺ à m/z 358 dont l'analyse à haute résolution [M]⁺ à m/z 358,091 est en accord avec la formule brute C₁₉H₁₈O₇ (Calc. pour C₁₉H₁₈O₇ à m/z 358,105), renfermant 11 degrés d'insaturation.

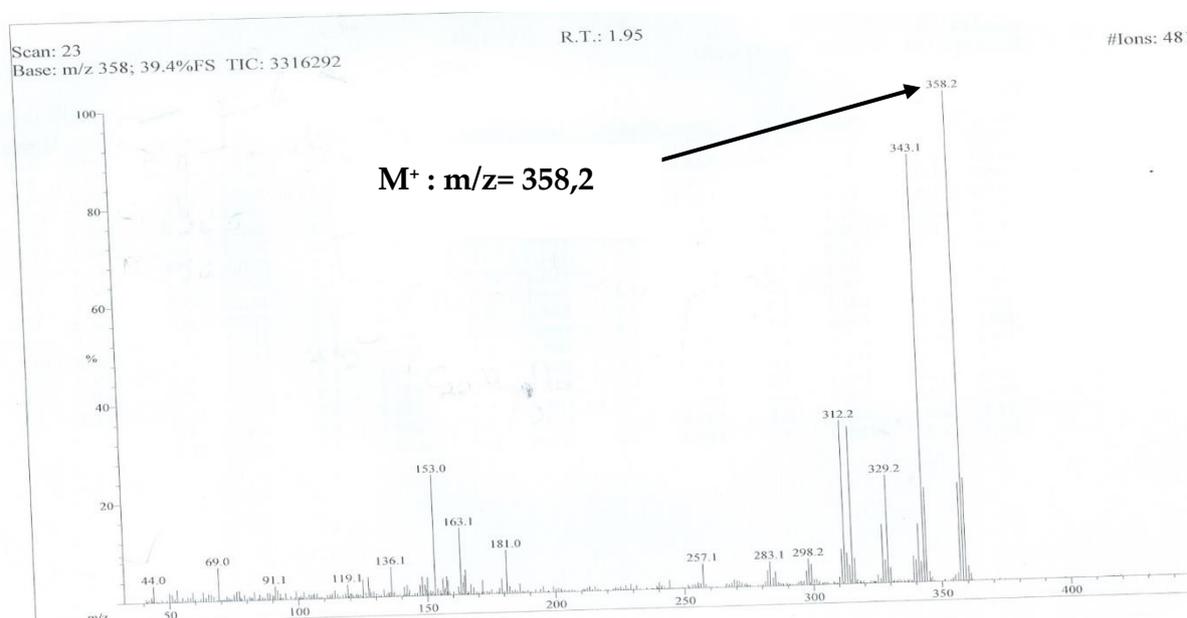


Figure 29 : Spectre de masse en impact électronique (IE) de PGN₁

Sur son spectre de RMN ¹H (figure 30, tableau 19), comparé à celui du composé ILR₂₀ on observe :

❖ Un singulet d'un proton à δ_H 12,92 correspondant au proton chelaté de l'hydroxyle en position C-5 du cycle A.

❖ Deux doublets d'un proton chacun à δ_H 6,85 (1H, d, 2 Hz) et δ_H 6,76 (1H, d, 2 Hz) correspondant respectivement aux protons H-8 et H-6 du cycle A.

❖ Un système ABX identique à celui des composés ILR₂₀ et ILR₁. Ce qui nous a permis de montrer que le cycle B du composé PGN₁ est identique au cycle B du composé ILR₂₀.

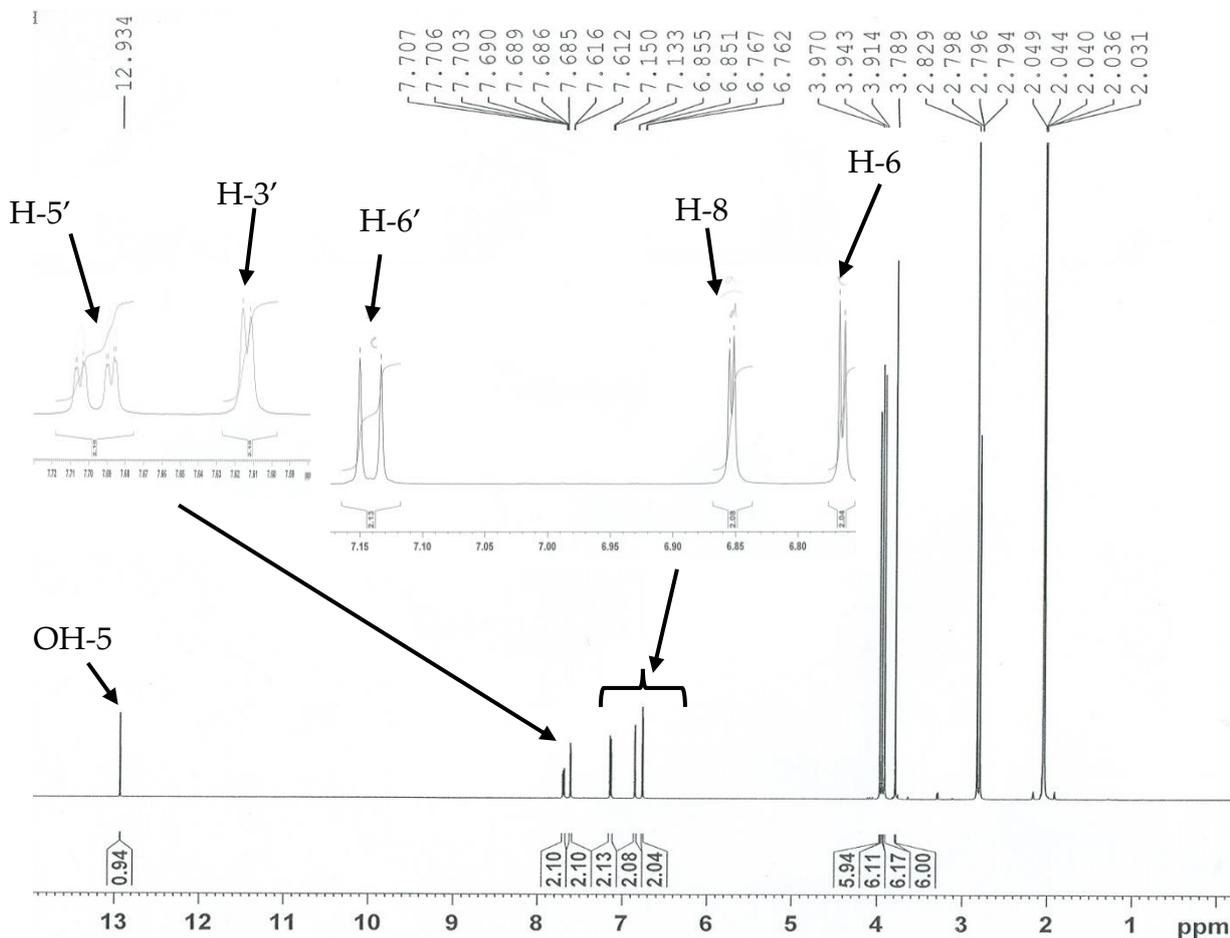


Figure 30 : Spectre de RMN ¹H (500 MHz, Acétone-*d*₆) de PGN₁

Son spectre de RMN¹³C découplé proton large bande (figure 30, tableau 19) présente 19 signaux correspondant au 19 carbones au sein du composé PGN₁.

Une analyse de ces signaux par la technique DEPT (figure 32), fait ressortir :

- ❖ 5 signaux de carbone tertiaires tous hybridés sp² résonant à δc 104,6 ; δc 92,0 ; δc 110,4 ; δc 120,9 et δc 112,5.
- ❖ 4 signaux de carbone primaires à δc 60,5 ; δc 56,2 ; δc 56,3 et δc 56,8 attribuables à quatre groupements méthoxyles.

La comparaison des spectres DEPT et de RMN ^{13}C complètement découplé de PGN_1 nous permet de déduire la présence au sein de ce composé de 10 carbones quaternaires, parmi lesquels on distingue :

- ❖ Un carbonyle de cétone à δ_c 183,5.
- ❖ 9 carbones quaternaires tous hybridés sp^2 parmi lesquels 5 oxygénés à δ_c 133 ; δ_c 154,1 ; δ_c 160 ; δ_c 150,6 ; δ_c 153,9 et 4 non oxygénés à δ_c 106 ; δ_c 124,4; δ_c 154 et δ_c 164,9.

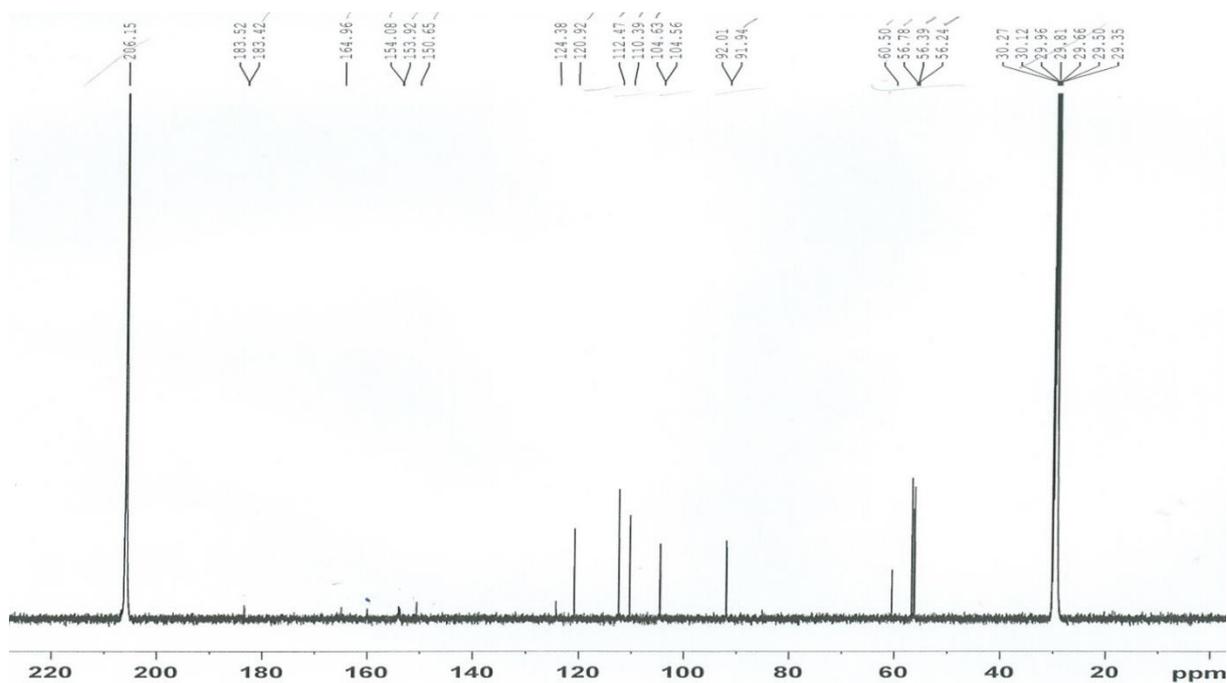


Figure 31 : Spectre RMN ^{13}C découplé large bande (125 MHz, Acétone- d_6) de PGN_1

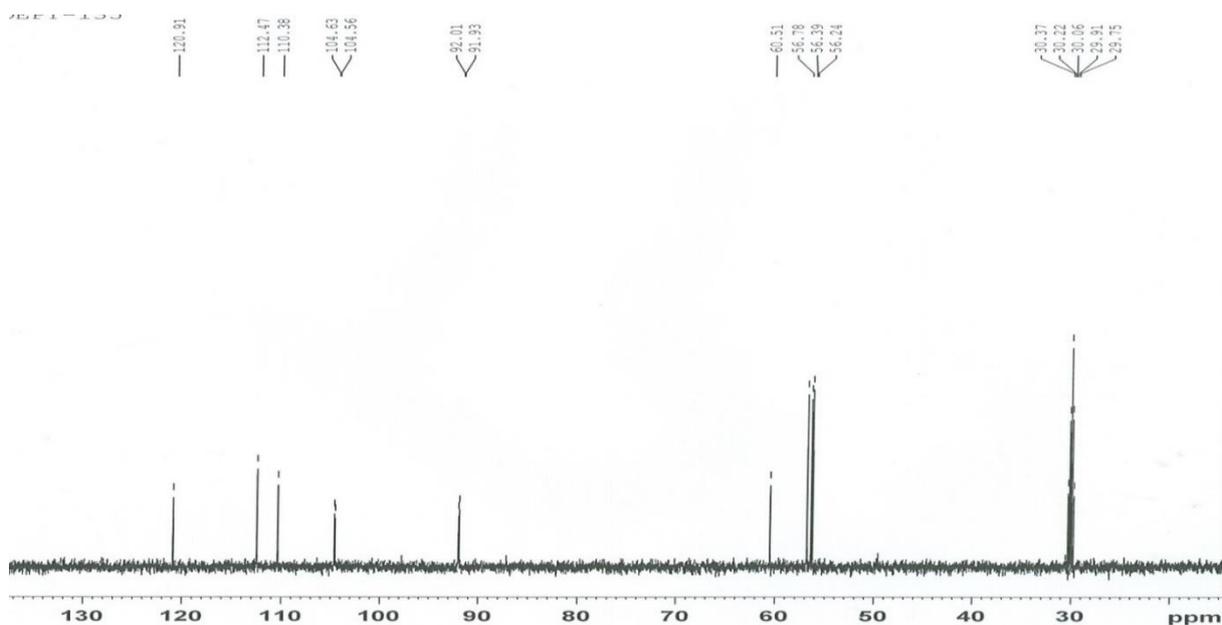


Figure 32 : Spectre DEPT (125 MHz, Acétone- d_6) de PGN₁

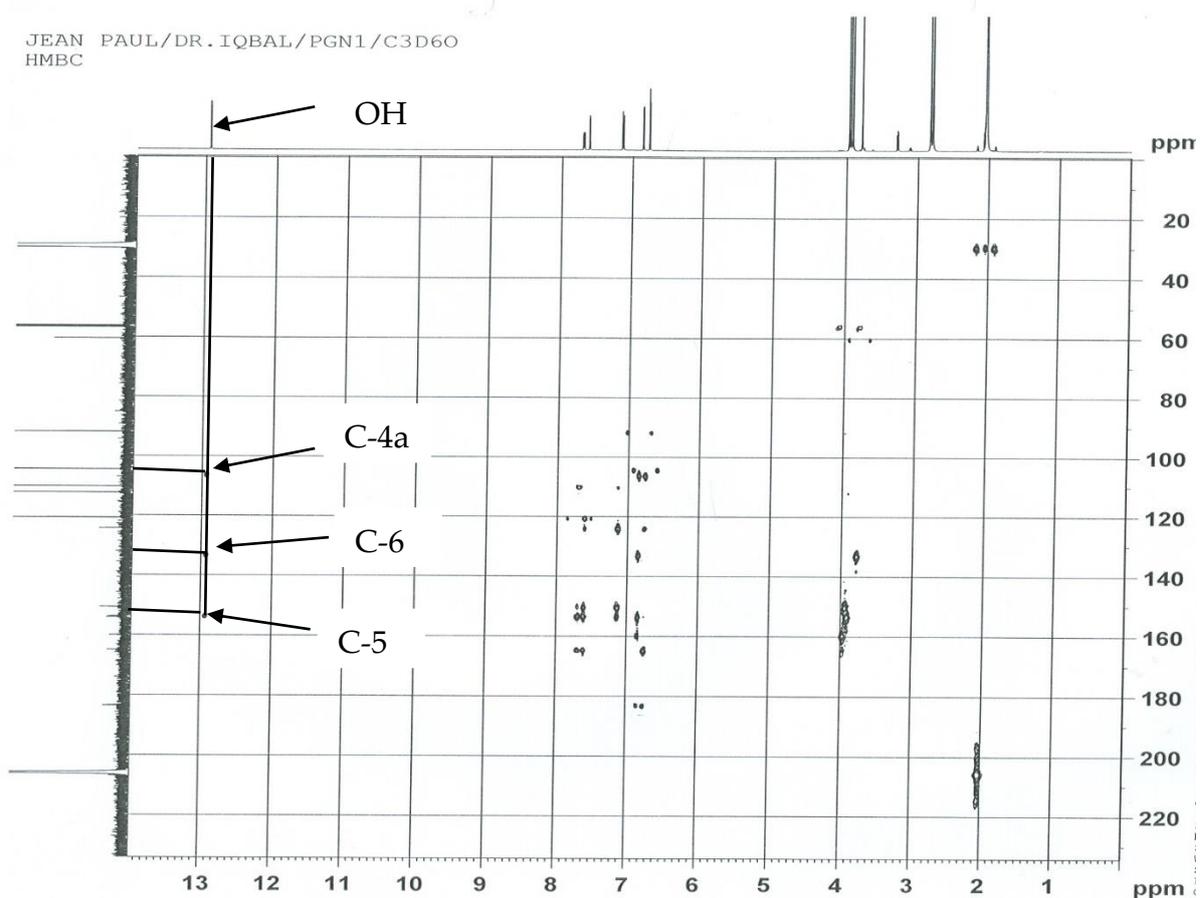


Figure 33 : Spectre HMBC de PGN₁

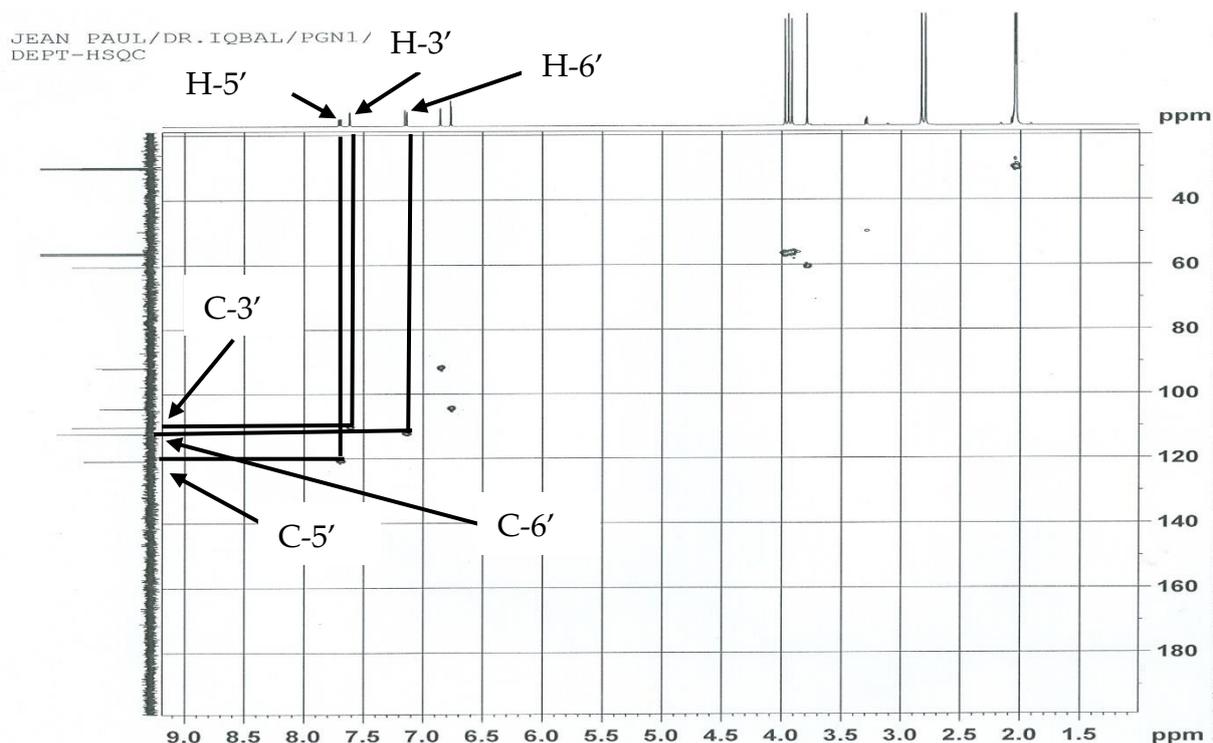


Figure 34 : Spectre DEPT-HSQC du composé PGN₁

Sur la base de toutes ces observations et par comparaison aux données spectrales de la littérature (Kapil *et al.*, 2013), la structure **94** correspondant au 5-hydroxy-3,7,2',4'-tétraméthoxyflavone a été attribuée au composé PGN₁. C'est un composé connu qui a été synthétisé par Kapil *et al.*, 2013 à partir de la morin et isolé ici pour la première fois du règne végétal.

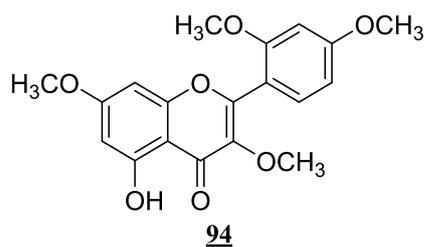


Tableau 19 : Données spectrales de RMN ^1H (500 MHz, acétone- d_6), de RMN ^{13}C (125 MHz, acétone- d_6) de PGN $_1$

Position	δ_{H} en ppm (nH, M, J en Hz)	δ_{C} en ppm (M)	δ_{C} en ppm (M) (Kapil <i>et al.</i> , 2013)
2	-	164,9 (s)	165,3 (s)
3	-	133 (s)	139,5 (s)
4	-	183,5 (s)	178,2 (s)
4a	-	106 (s)	98,8 (s)
5	-	154,1 (s)	162,8 (s)
6	6,76 (1H, d, 2)	104,6 (d)	97,9 (d)
7	-	160 (s)	161,3 (s)
8	6,85 (1H, d, 2)	92,0 (d)	92,5 (d)
8a	-	154 (s)	158,6 (s)
1'	-	124,4 (s)	131,6 (s)
2'	-	150,6 (s)	156,8 (s)
3'	7,61 (1H, d, 2)	110,4 (d)	105,5 (d)
4'	-	153,9 (s)	157,1 (s)
5'	7,70 (1H, dd, 2- 8)	120,9 (d)	111,7 (d)
6'	7,15 (1H, d, 8)	112,5 (d)	105,7 (d)
OCH $_3$ -3	3,79 (3H, s)	60,5 (q)	60,1 (q)
OCH $_3$ -7	3,97 (3H, s)	56,2 (q)	56,2 (q)
OCH $_3$ -2'	3,94 (3H, s)	56,3 (q)	55,9 (q)
OCH $_3$ -4'	3,91 (3H, s)	56,8 (q)	55,7 (q)
OH-5	12,93 (1H, s)	-	-

II.2.1.6. Identification du composé PGN₂

Le composé PGN₂ est obtenu de *P. glandulosus* sous forme de poudre jaune dans le mélange hexane/acétate d'éthyle (6 :4). Il est soluble dans l'acétone et réagit positivement à la fois au chlorure ferrique (coloration bleue) et au test de Shinoda (coloration violette) suggérant sa double nature flavonoïdique et phenolique. Son spectre de masse en impact électronique (figure 35) présente le pic de l'ion moléculaire [M]⁺ à m/z 344 en accord avec la formule brute C₁₈H₁₆O₇ renfermant 11 degrés d'insaturation. Cette formule brute, comparée à celle du composé PGN₁, montre qu'elle présente 14 unités de masse de moins qui correspondrait à un méthylène de moins.

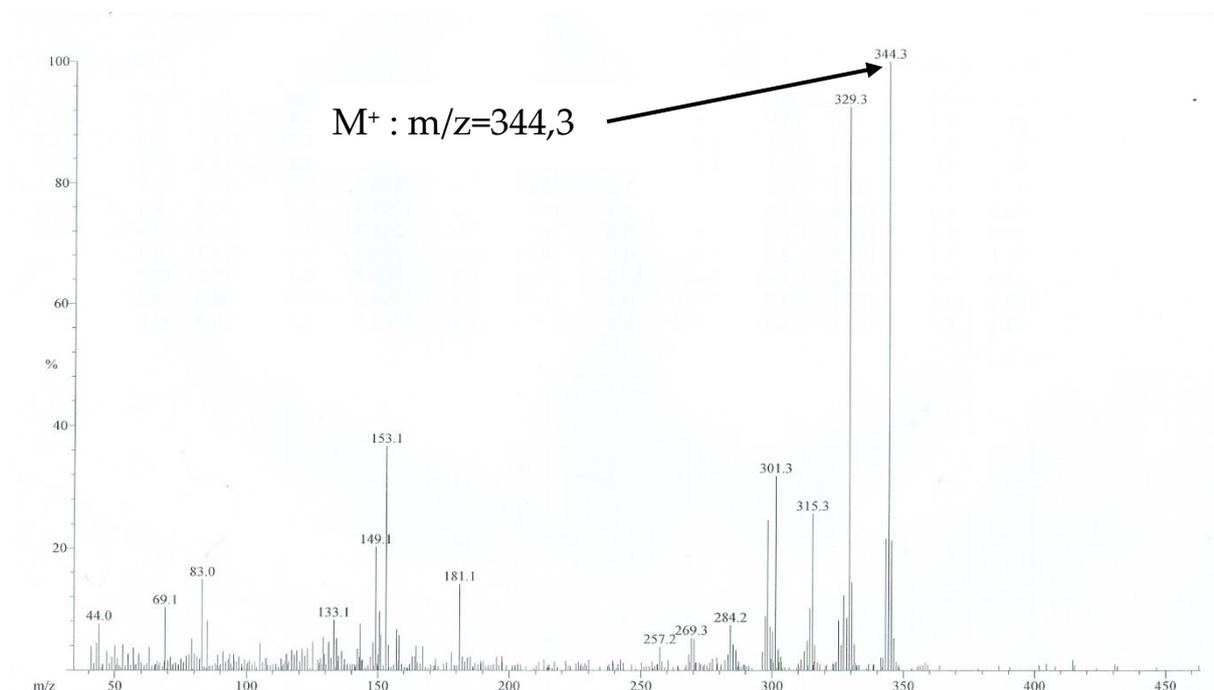


Figure 35 : Spectre de masse en impact électronique (IE) de PGN₂

La comparaison des données spectrales de RMN ¹H et ¹³C du composé PGN₂ avec celles du composé PGN₁, révèle de nombreuses similitudes mais également quelques différences. Comme élément de similitude, on note sur le spectre de RMN ¹H (figure 36, tableau 20) de PGN₂, la présence d'un système ABX de 3 protons aromatiques du cycle B à δ_H 7,61 (1H, d, 2 Hz)/ δ_C 110,7, δ_H 7,70 (1H, dd, 2-8 Hz)/ δ_C

121,7 et δ_H 7,15 (1H, d, 2 Hz)/ δ_C 116,7 qui corrélient respectivement sur le spectre HSQC avec les carbones résonants à δ_C 110,7, δ_C 121,7 et δ_C 116,7.

La différence entre les deux composés réside, d'une part, en la présence sur le spectre de RMN 1H de ce composé de trois singulets de trois protons chacun à δ_H 3,78 (1H, s)/ δ_C 60,9, δ_H 3,98 (1H, s)/ δ_C 57,0, δ_H 3,96 (1H, s)/ δ_C 56,7 attribuable aux trois groupements méthoxyles et d'autre part, par la présence de deux singulets d'un proton chacun à δ_H 12,95 et à δ_H 8,52 caractéristiques de l'hydroxyle chélaté en C-5 et de l'hydroxyle en C-7, respectivement.

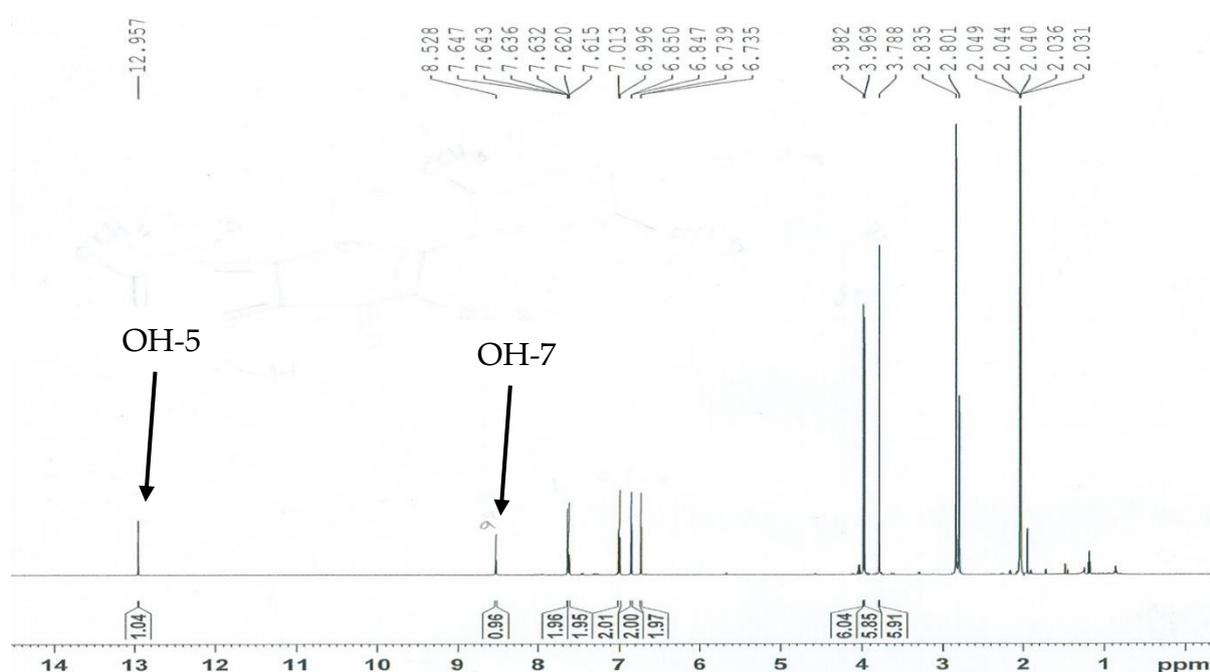


Figure 36 : Spectre de RMN 1H (500 MHz, Acétone- d_6) de PGN $_2$

Son spectre de RMN ^{13}C découplé proton large bande (figure 37, tableau 20) présente 18 signaux correspondant au 18 carbones au sein du composé PGN $_2$.

Une analyse de ces signaux par la technique DEPT (figure 38, tableau 10), fait ressortir :

- ❖ 5 signaux de carbone tertiaires tous hybridés sp^2 résonant à δ_C 104,2 ; δ_C 92,3 ; δ_C 110,7 ; δ_C 121,7 et δ_C 116,7.
- ❖ 3 signaux de carbone primaires à δ_C 60,9; δ_C 57,0 et δ_C 56,7 attribuables à trois groupements méthoxyles.

La comparaison des spectres DEPT et de RMN ^{13}C complètement découplé de PGN_2 nous permet de déduire la présence au sein de ce composé de 10 carbones quaternaires, parmi lesquels on distingue :

- ❖ Un carbonyle de cétone à δ_c 183,9.
- ❖ 9 carbones quaternaires tous hybridés sp^2 parmi lesquels 5 oxygénés à δ_c 133,6 ; δ_c 160,4 ; δ_c 154,6 ; δ_c 149,4 ; δ_c 152,1 et 4 non oxygénés à δ_c 106,6 ; δ_c 123,5 ; δ_c 153,7 et δ_c 166,0.

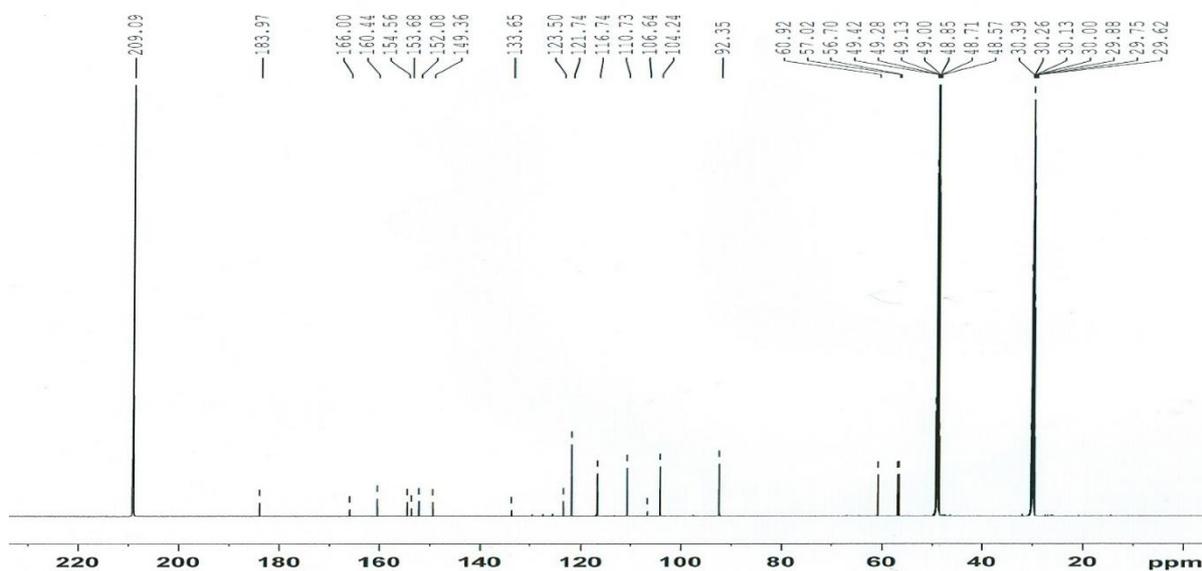


Figure 37 : Spectre de RMN ^{13}C découplé proton large bande (150 MHz, Acétone- d_6) de PGN_2

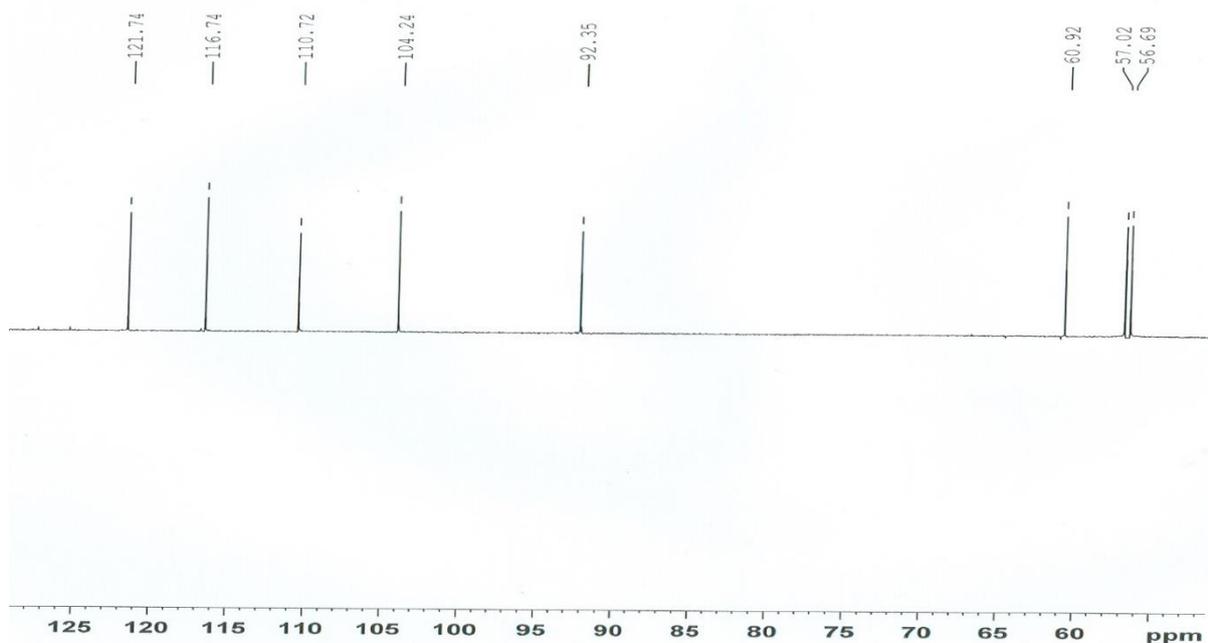


Figure 38 : Spectre DEPT 135 (150 MHz, Acétone- d_6) de PGN₂

L'ensemble de toutes ces données, comparées à celles de la littérature, nous a permis d'attribuer au composé PGN₂ la structure 95 suivante qui est celle de 5,7-dihydroxy-3,2',4'-triméthoxyflavone.

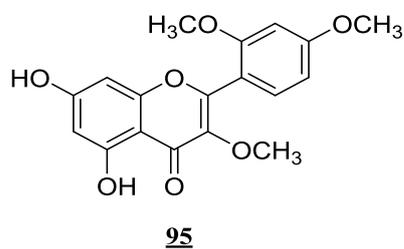


Tableau 20 : Données spectrales de RMN ^1H (500 MHz, acétone- d_6), de RMN ^{13}C (150 MHz, acétone- d_6) de PGN $_2$

Positions	δ_{H} en ppm (nH, M, J en Hz)	δ_{C} en ppm (M)
2	-	166,0 (s)
3	-	133,6 (s)
4	-	183,9 (s)
4a	-	106,6 (s)
5	-	160,4 (s)
6	6,73 (1H, d, 2)	104,2 (d)
7	-	154,6 (s)
8	6,85 (1H, d, 2)	92,3 (d)
8a	-	153,7 (s)
1'	-	123,5 (s)
2'	-	149,4 (s)
3'	7,61 (1H, d, 2)	110,7 (d)
4'	-	152,1 (s)
5'	7,70 (1H, dd, 2- 8)	121,7 (d)
6'	7,15 (1H, d, 8)	116,7 (d)
OCH $_3$ -3	3,78 (3H, s)	60,9 (q)
OCH $_3$ -2'	3,98 (3H, s)	57,0 (q)
OCH $_3$ -4'	3,96 (3H, s)	56,7 (q)
OH-5	12,95 (1H, s)	-
OH-7	8,52 (1H, s)	-

II.2.1.7. Identification du composé KLR₁

Le composé KLR₁ a été obtenu des tiges de *L. rugosa* sous forme de poudre orange dans le mélange hexane/acétate d'éthyle (9 :1). Soluble dans le chloroforme, ce composé réagit positivement au chlorure ferrique caractéristique des composés phénoliques et donne une réaction positive au test de Shinoda suggérant sa nature flavonoïdique. Son spectre de masse en impact électronique présente le pic de l'ion moléculaire [M]⁺ à m/z 314 compatible avec la formule brute C₁₇H₁₄O₆ renfermant 11 degrés d'insaturation.

L'analyse du spectre de RMN ¹H (figure 39, tableau 21) de KLR₁ complétée par le spectre HSQC (figure 38) nous permet de mettre en évidence :

- ❖ Deux doublets de deux protons chacun à δ_H 7,79/ δ_C 122 (2H, d, $J=8,5\text{Hz}$) et δ_H 7,06/ δ_C 114 (2H, d, $J=8,5\text{Hz}$) correspondant respectivement aux protons H-2', H-6' et H-3', H-5' formant un système AA'BB' du cycle (B) d'une flavone.
- ❖ Deux doublets d'un proton chacun à δ_H 7,73/ δ_C 92 (1H, d, $J=2\text{Hz}$) et δ_H 6,96/ δ_C 108 (1H, d, $J=2\text{Hz}$) correspondant respectivement au proton H-8 et H-6 du cycle (A).
- ❖ Un singulet d'un proton chacun à δ_H 12,67 attribuable au proton chélaté en C-5.
- ❖ Deux singulets de 3 protons chacun à δ_H 3,99/ δ_C 56 et δ_H 3,47/ δ_C 51 correspondant aux deux méthoxyles présents au sein de cette molécule.

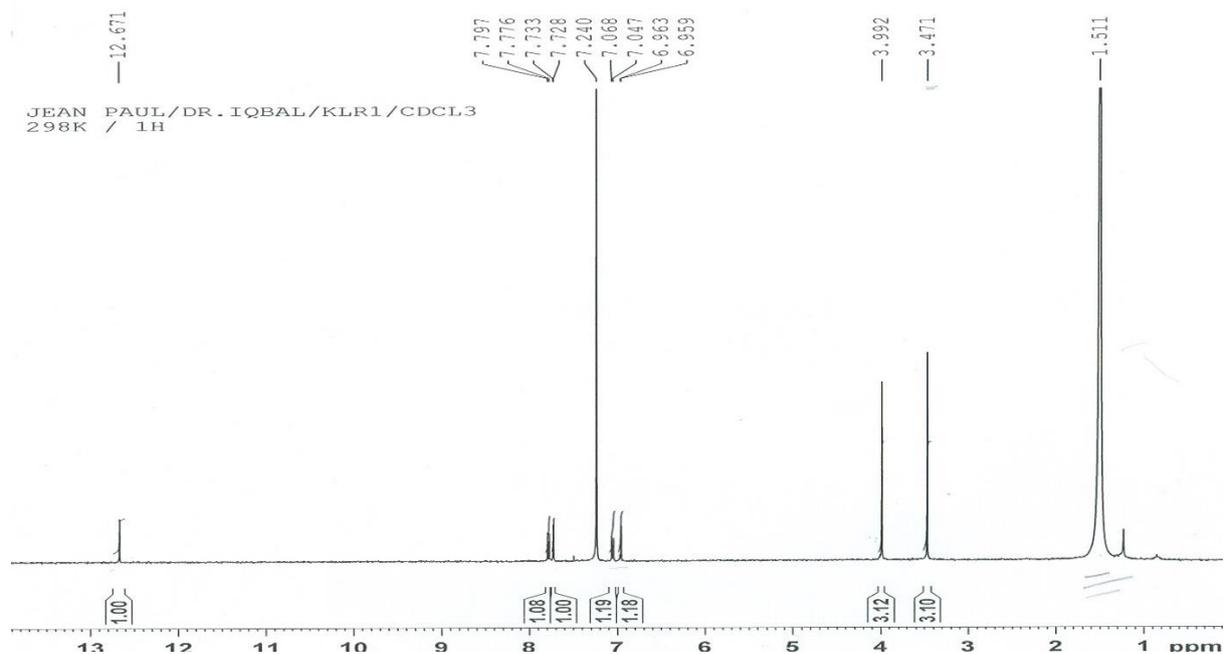


Figure 39 : Spectre de RMN ^1H (400 MHz, CDCl_3) de KLR_1

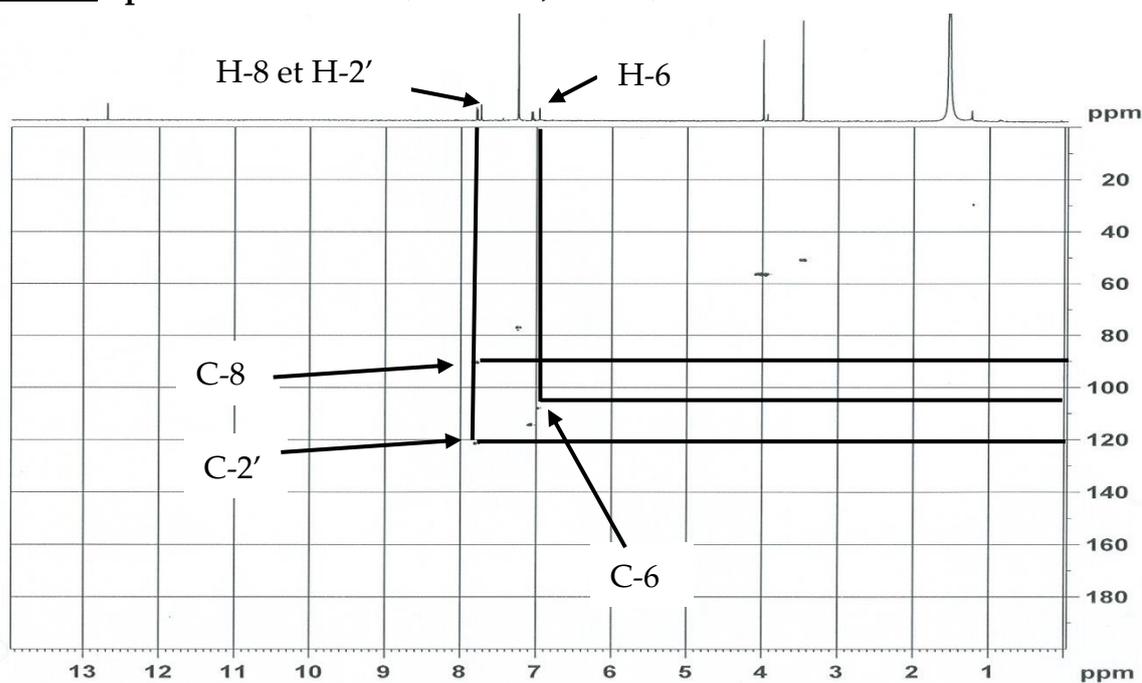


Figure 40 : Spectre DEPT-HSQC (500 MHz, CDCl_3) de KLR_1

L'ensemble de toutes ces données comparées à celle de la littérature nous a permis d'attribuer au composé KLR_1 la structure **96** suivante qui est celle de 5,4'-dihydroxyl-3,7-diméthoxylflavone composé a été déjà isolé par Sirnapa *et al* (2017).

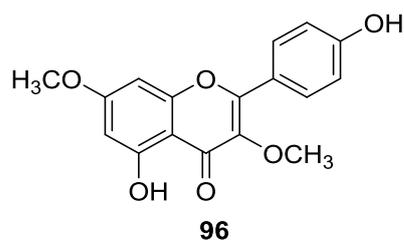


Tableau 21 : Données spectrales de RMN ^1H (400 MHz, CDCl_3) et de littérature RMN ^1H (400 MHz, acétone- d_6) et RMN ^{13}C (100 MHz, acétone- d_6) de KLR₁

Positions	δ_{H} en ppm (nH, M, J en Hz)	δ_{H} en ppm (nH, M, J en Hz) (Sirinapa <i>et al.</i> , 2017)	δ_{C} en ppm (M) (Sirinapa <i>et al.</i> , 2017)
2	-	-	156,1 (s)
3	-	-	138,8 (s)
4	-	-	178,7 (s)
4a	-	-	105,6 (s)
5	-	-	161,9 (s)
6	6,96 (1H, d, 2,5)	6,33 (1H, d, 2,2)	99,5 (d)
7	-	-	165,6 (s)
8	7,73 (1H, d, 2,5)	6,67 (1H, d, 2,2)	91,8 (d)
8a	-	-	156,8 (s)
1'	-	-	122,1 (s)
2'	7,79 (1H, d, 8,5)	7,83 (1H, d, 9)	127,9 (d)
3'	7,06 (1H, d, 8,5)	7,01 (1H, d, 9)	114,5 (d)
4'	-	-	162,5 (s)
5'	7,06 (1H, d, 8,5)	7,01 (1H, d, 9)	114,5 (d)
6'	7,79 (1H, d, 8,5)	7,83 (1H, d, 9)	127,9 (d)
OCH ₃ -3	3,47 (3H, s)	3,89 (3H, s)	51,2 (q)
OCH ₃ -7	3,99 (3H, s)	3,94 (3H, s)	55,5 (q)
OH-5	12,67 (1H, s)	12,79 (1H, s)	-

II.3.2. Monoterpène

II.3.2.1. Détermination de la structure du composé PGN₆

Le composé PGN₆ a été isolé de l'extrait au CH₂Cl₂/MeOH (1:1) de la plante entière de *P. glandulosus* sous forme de cristaux blanc dans le mélange Hex/AcOEt (6:4). Soluble dans le chloroforme, ce composé possède un pouvoir rotatoire $[\alpha]_D^{25} = -3,27$ (c 0,4 ; MeOH), et fond entre 116-118°C. Son spectre de masse sous ionisation FAB présente en mode positif le pic de l'ion pseudo moléculaire $[M+1]^+$ à m/z 189, pic dont l'analyse à haute résolution $[M+1]^+$ à m/z 189,1485 est compatible avec la formule brute C₁₀H₂₀O₃ (calc. pour C₁₀H₂₀O₃ à m/z 188,1485) renfermant un degré d'insaturation.

Son spectre IR (figure 41) à transformée de Fourier exhibe, entre autres, des bandes de vibration de valence caractéristiques des groupements hydroxyles à ν 3316,0 cm⁻¹, des liaisons C-H entre 2976,8, 2935,3 et 2870,6 cm⁻¹.

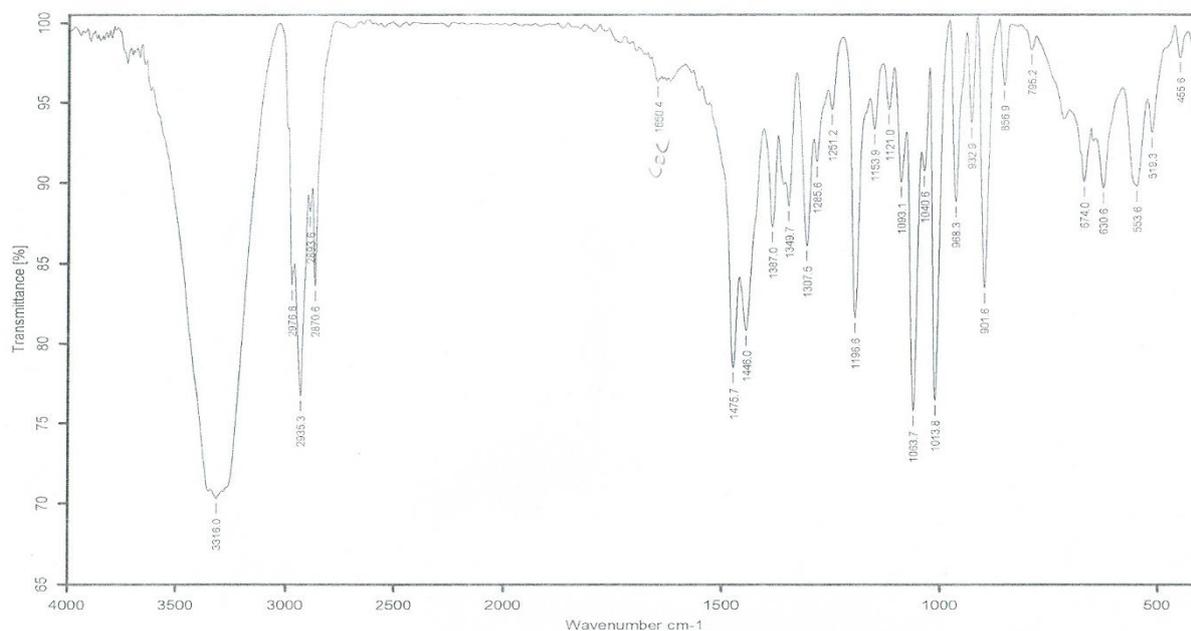


Figure 41 : Spectre IR du composé PGN₆

Son spectre de RMN¹³C découplé proton large bande (Figure 42, Tableau 22) présente 9 signaux au lieu de 10 suggérant la présence au sein de ce composé, de deux carbones isochrones.

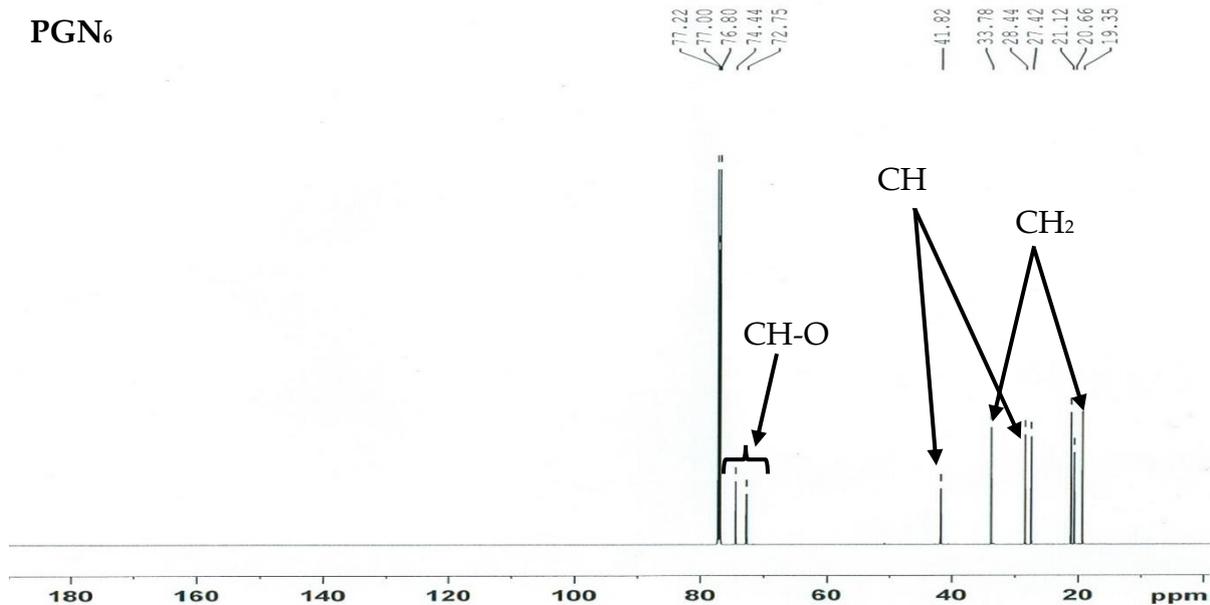


Figure 42 : Spectre de RMN¹³C découplé proton large bande (150 MHz, CDCl₃) de PGN₆

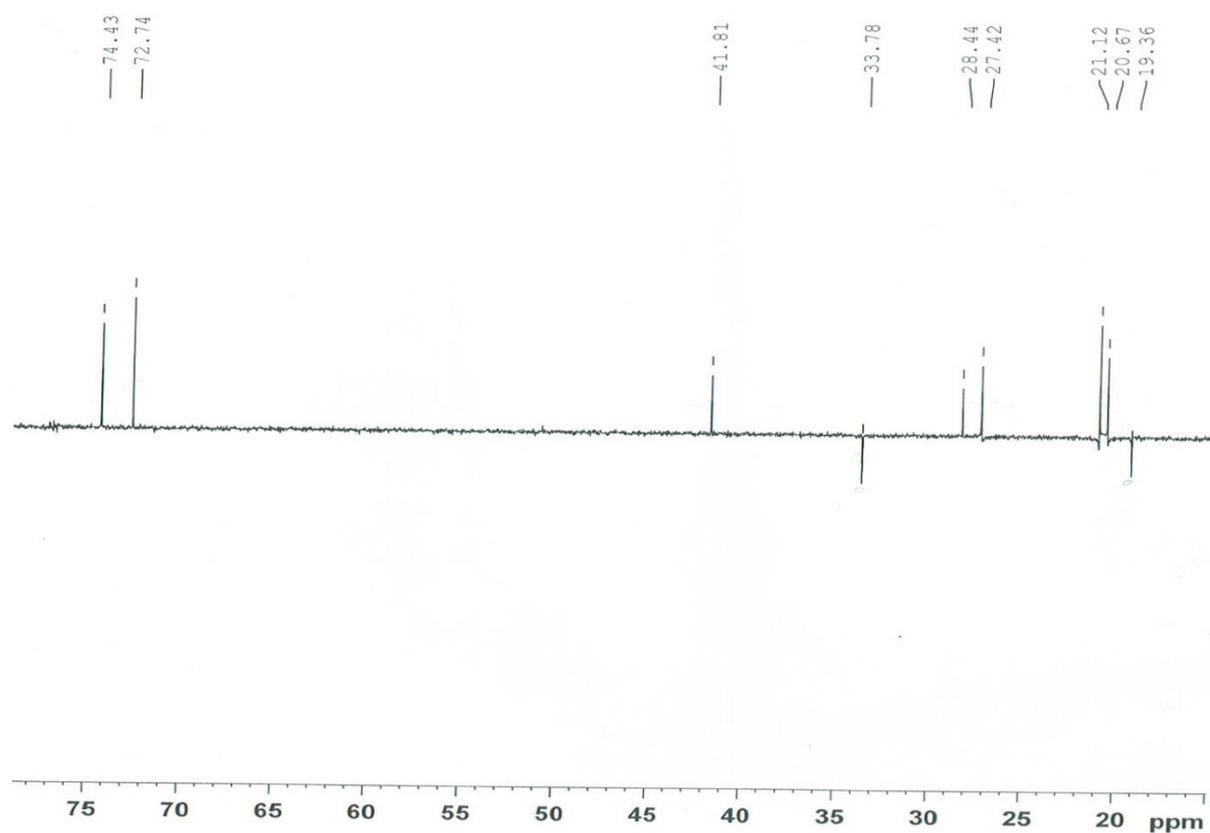


Figure 43 : Spectre DEPT 135 (150 MHz, CDCl₃) de PGN₆

Une analyse de ces signaux par la technique DEPT (Figure 43), fait ressortir la présence de :

- ❖ 4 méthines tous hybridés sp^3 parmi lesquels deux oxygénés à δ_c 74,4 ; δ_c 72,7 et deux non oxygénés à δ_c 41,8 et δ_c 28,4 ;
- ❖ 2 méthylènes hybridés sp^3 à δ_c 33,8 et δ_c 19,4 ;
- ❖ 3 méthyles à δ_c 27,4 ; δ_c 21,1 et δ_c 20,6.

Sur son spectre de RMN 1H (Figure 44, Tableau 22), on observe les signaux :

- ❖ D'un groupement isopropyle dont les signaux apparaissent à δ_H 0,94 (3H; d; 1,2 Hz) ; 0,95 (3H; d; 1,6 Hz) et 1,28 (1H, m) ;
- ❖ De deux multiplets d'un proton chacun à δ_H 1,67 (1H, m) et à 1,28 (1H, m) correspondant respectivement aux protons H-7 et H-4 ;
- ❖ De deux autres multiplets intégrant chacun pour deux protons à 1,65 et 1,56 correspondant aux protons H-6 et H-5 respectivement ;
- ❖ D'un triplet d'un proton à δ_H 3,99 correspondant au proton H-3 et un doublet à δ_H 3,61 correspondant au proton H-2 ;
- ❖ D'un singulet de trois protons à 1,23 correspondant au proton H-10.

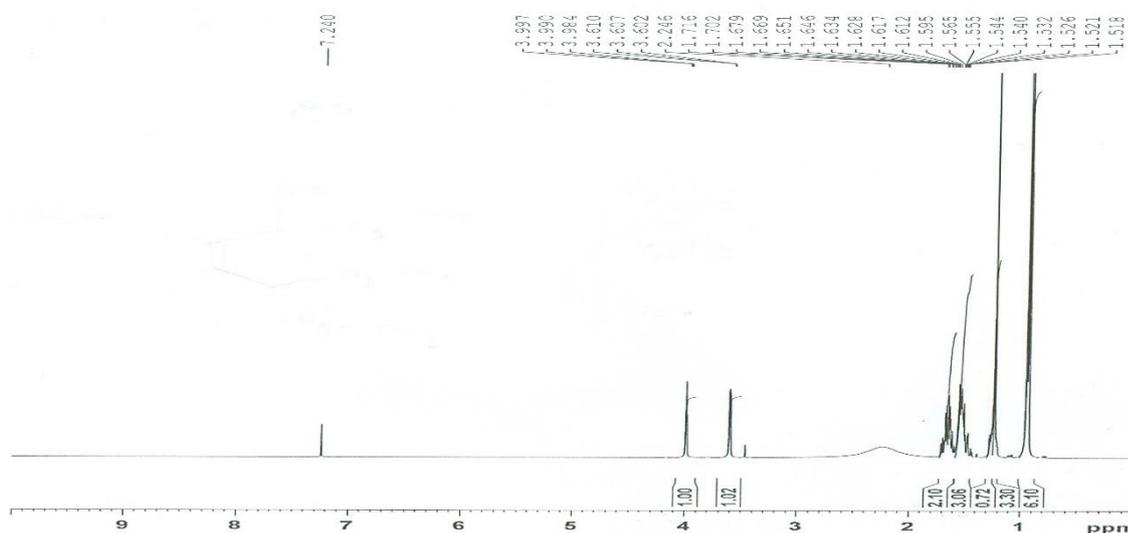
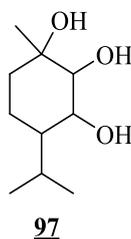


Figure 44 : Spectre de RMN 1H (400 MHz, $CDCl_3$) de PGN_6

Ces données spectrales de RMN 1H et ^{13}C de PGN_6 , sont semblables à ceux du (-)-*p*-menthanetriol, monoterpène précédemment isolé de *fusicoccine-producing fungi* par Sassa *et al.*, 2003. Ce qui nous suggère que PGN_6 serait aussi un

monoterpénol. La structure en accord avec les données spectrales ci-dessous est celle de 4-isopropyl-1-méthylcyclohexane-1,2,3-triol, possédant 4 centres asymétriques.



A ce stade de la discussion, il restait à établir la stéréochimie des trois (03) carbones porteurs des hydroxyles et du carbone porteur du groupe isopropyle. Le fait que les points de fusion de ces composés soient très différents l'un à 116-118°C pour PGN6 et l'autre à 83-85°C pour le (-)-p-menthanetriol, indique qu'ils s'agiraient des diastéréoisomères. L'exploitation du diagramme ORTEP résultant de l'analyse radiocristallographie de ce composé nous a permis d'avoir une conformation chaise stable, à partir de laquelle les stéréochimies autour des carbones chiraux C-1, C-2, C-3 et C-4 ont été établies comme étant 1R, 2S, 3S et 4R, respectivement.

Sur la base de toutes ces observations et par comparaison aux données spectrales de la littérature (Sassa *et al.*, 2003), la structure **98** correspondant au (-)-(1R,2S,3S,4R)-4-isopropyl-1-méthylcyclohexane-1,2,3-triol a été attribuée au composé PGN6. C'est un diastéréoisomère nouveau auquel nous avons donné le nom trivial de plectranmicinol.

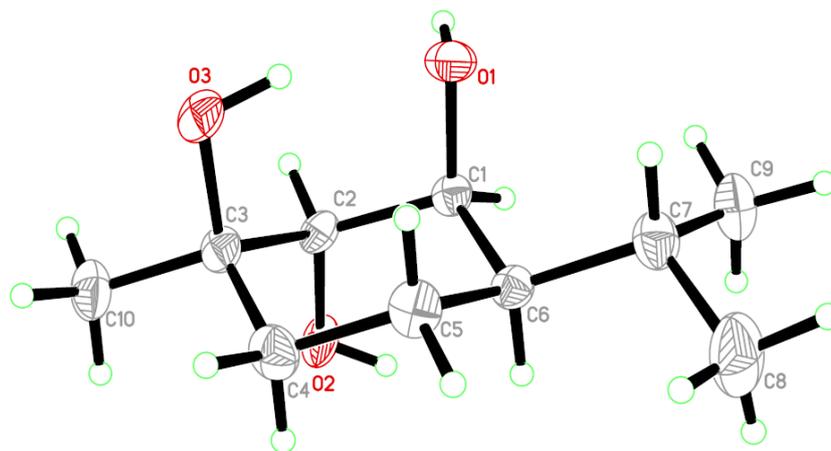


Schéma 15 : Cristallographie aux rayons X de PGN₆

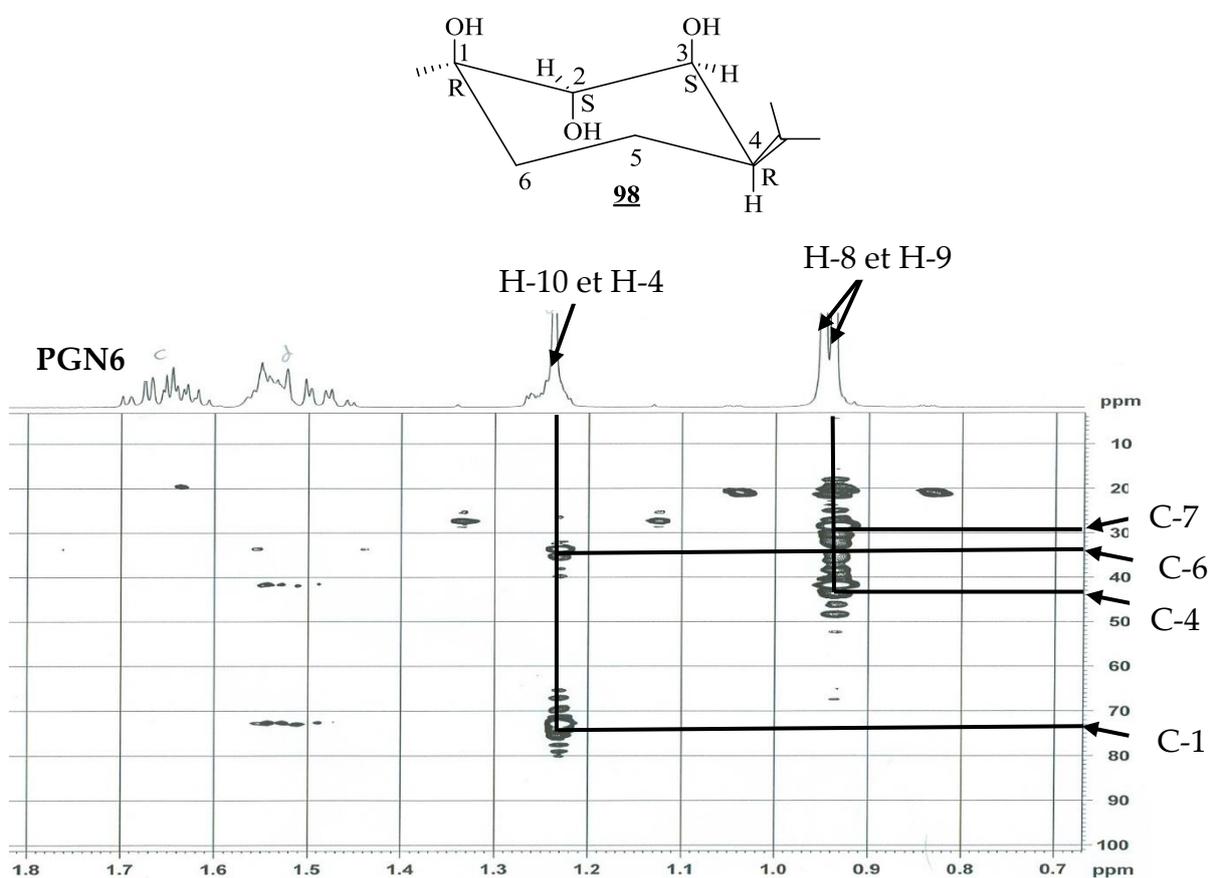


Figure 45 : Spectre HMBC de PGN₆

Tableau 22 : Données spectrales de RMN ¹H (400 MHz, CDCl₃), de RMN ¹³C (150 MHz, CDCl₃) de PGN₆

Positions	δ_H en ppm (nH, M, J en Hz)	δ_C en ppm (M)	Takeshi <i>et al.</i> , 2003	
			δ_H en ppm (nH, M, J en Hz)	δ_C en ppm (M)
1	-	72,7 (s)	-	71,8 (s)
2	3,61 (1H, d, 3,2)	74,4 (d)	3,51 (1H, d, 5)	76,4 (d)
3	3,99 (1H, t)	72,7 (d)	4,10 (1H, m)	72,4 (d)
4	1,28 (1H, m)	41,8 (d)	1,35 (1H, m)	42,9 (d)
5	1,56 (1H, m)	19,4 (t)	1,40 (1H, m)	22,1 (t)
	1,65 (1H, m)		1,62 (1H, m)	
6	1,53 (1H, m)	33,8 (t)	1,45 (1H, m)	34,3 (t)
	1,64 (1H, m)		1,65 (1H, m)	
7	1,67 (1H, m)	28,4 (d)	1,65 (1H, m)	26,2 (d)
8	0,95 (3H, d, 1,6)	20,6 (q)	0,95 (3H, d, 7)	27,4 (q)
9	0,94 (3H, d, 1,2)	21,1 (q)	1,02 (3H, d, 7)	21,6 (q)
10	1,24 (1H, s)	27,4 (q)	1,37 (3H, s)	21,5 (q)

II.3.3. Les triterpènes

II.3.3.1. Identification du composé IPT₁

Le composé IPT₁ a été isolé des feuilles de *L. rugosa* sous forme de poudre blanche, dans le mélange Hex/AcOEt (4 :1). Soluble dans le chloroforme, il répond positivement au test de Liebermann Burchard caractéristique des triterpènes. Son spectre de masse en impact électronique présente le pic de l'ion moléculaire [M]⁺ à m/z 426, dont l'analyse à haute résolution [M]⁺ à m/z 426,3872 est compatible avec la formule brute C₃₀H₅₀O (calc. pour C₃₀H₅₀O m/z 426,3862) renfermant 6 degrés d'insaturation.

Son spectre de RMN ¹³C découplé proton large bande (Figure 46, tableau 23) présente 30 signaux d'atomes de carbone comme l'indique la formule brute. Une analyse de ces signaux par la technique DEPT (figure 47), fait ressortir :

- 11 méthylènes tous hybridés sp³ résonnant à δ_c 18,4 ; 22,3 ; 30,5 ; 32,4 ; 32,7 ; 35,3 ; 35,6 ; 36,0 ; 39,2 ; 41,3 et 41,5 ;
- 4 méthines tous hybridés sp³ à δ_c 42,8 ; 53,1 ; 58,2 et 59,5 ;
- 8 méthyles angulaires apparaissant à δ_c 6,8 ; 14,6 ; 17,9 ; 18,6 ; 20,2 ; 31,8 ; 32,1 et 35,0 ;

Ce qui nous permet de déduire la présence au sein de ce composé de 7 carbones quaternaires dont un hybridé sp² à δ_c 213,1 correspondant au carbonyle d'une cétone et les autres apparaissant à δ_c 28,2 ; 30,0 ; 37,4 ; 38,3 ; 39,7 et 42,1.

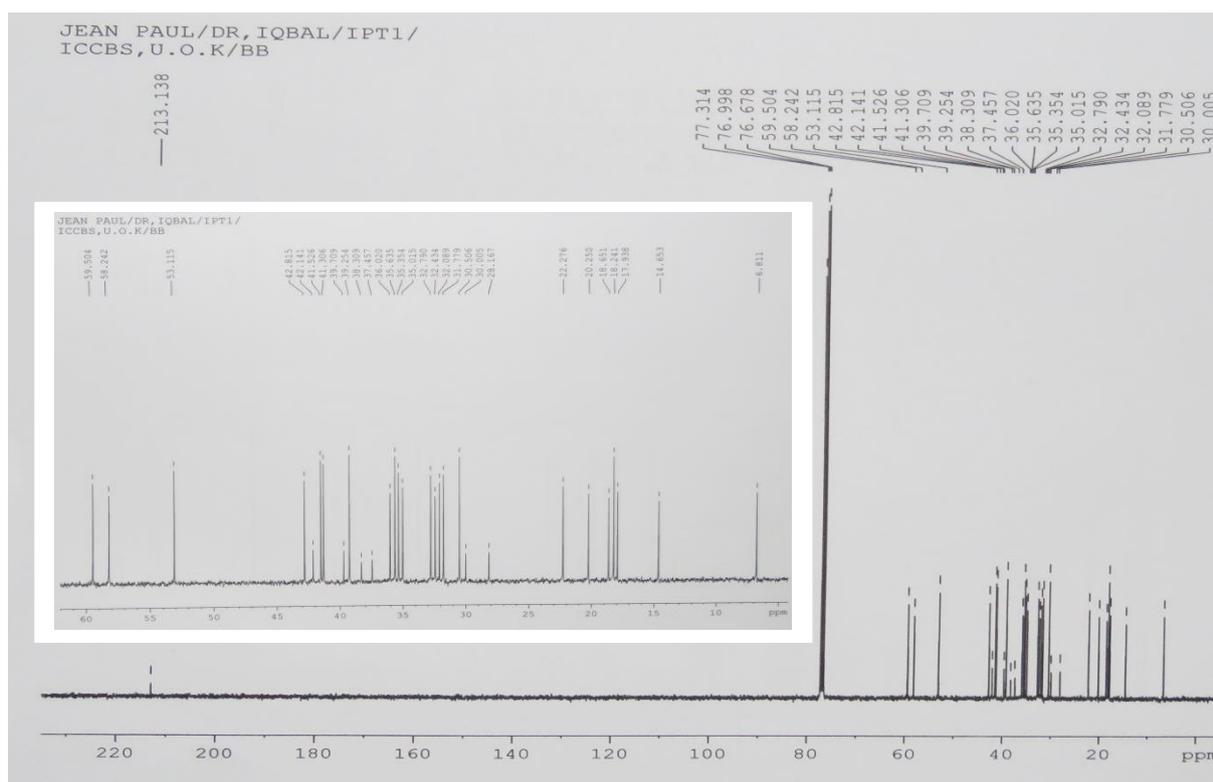


Figure 46 : Spectre de RMN ^{13}C (400MHz, CDCl_3) de IPT₁

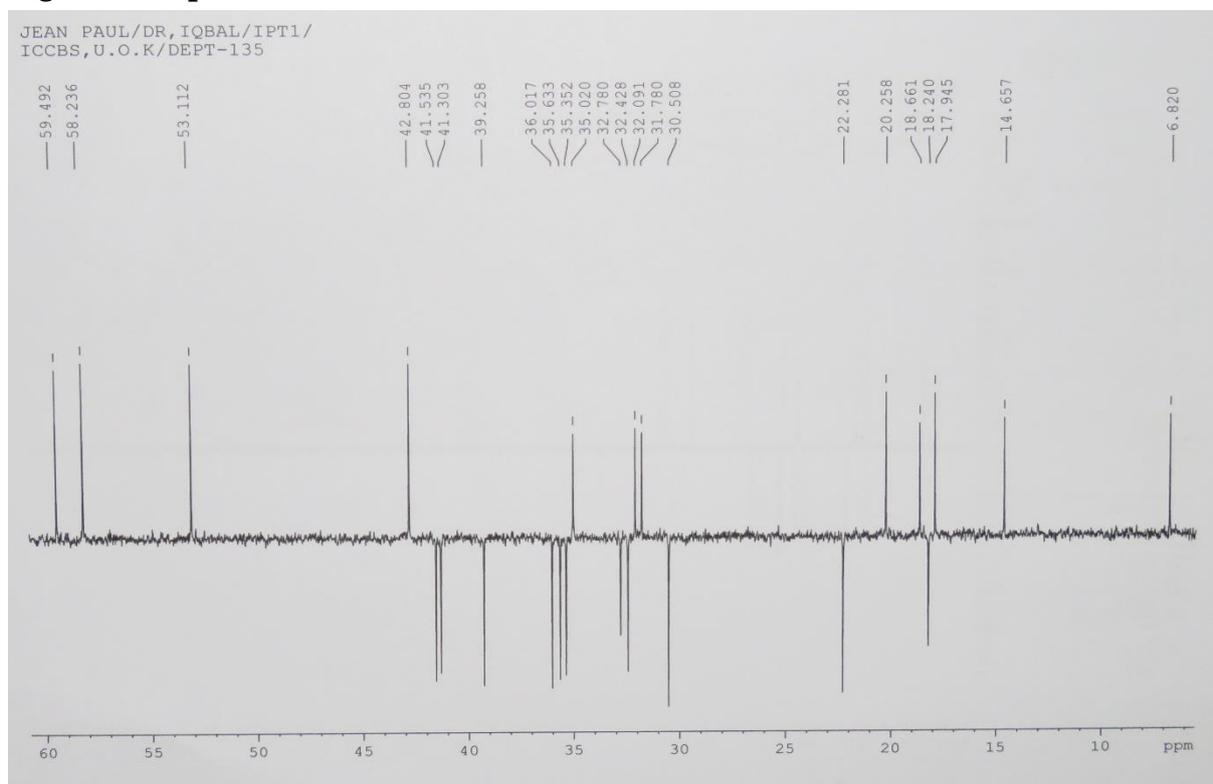


Figure 47 : Spectre DEPT 135 de IPT₁

L'analyse de ces spectres de RMN ^1H (figure 48, tableau 23) et HSQC montre 8 signaux dont un apparaissant sous forme de doublet à δ_{H} 0,86(3H, d)/ δ_{C} 6,8 et les autres en singulets à δ_{H} 0,70(3H, s)/14,6 ; δ_{H} 0,85(3H, s)/17,9 ; 0,93(3H, s)/35,0 ; 0,98(3H, s)/32,1 ; 0,99(3H, s)/20,3 ; 1,03(3H, s)/18,6 et 1,16(3H, s)/31,8 caractéristiques des huit groupements méthyles d'un squelette triterpénique de type fridelane (Corey et Ursprung, 1956).

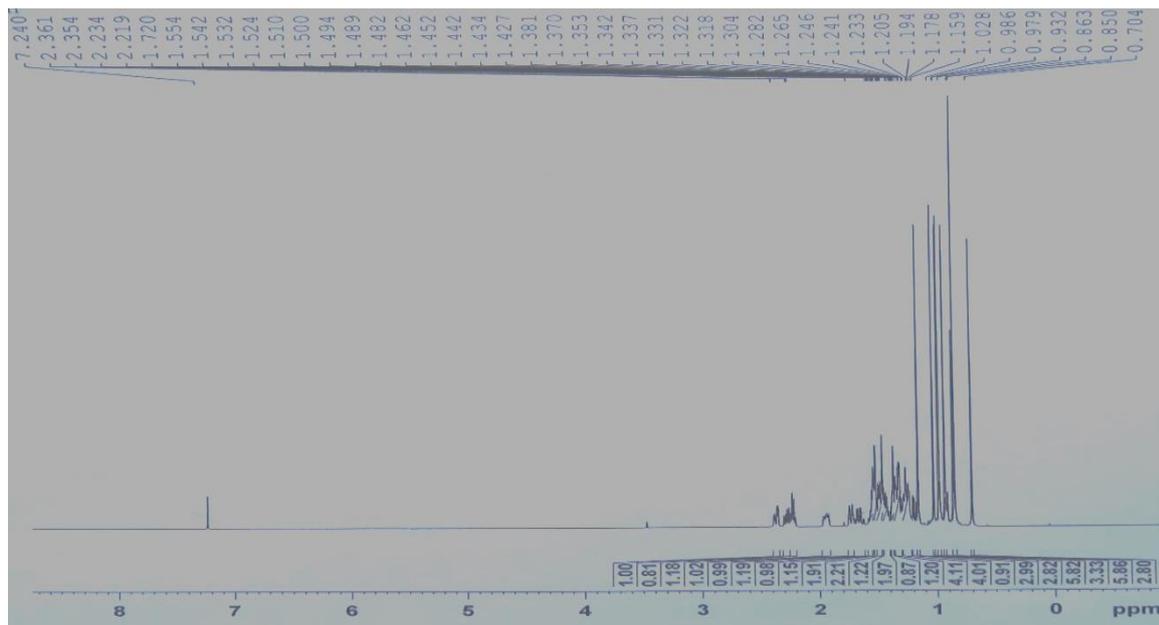


Figure 48 : Spectre de RMN ^1H (500 MHz, CDCl_3) de IPT_1

L'ensemble de toutes ces données comparées à celles décrites dans la littérature (Hugo *et al.*, 1985) nous ont permis d'attribuer au composé IPT_1 la structure **99** qui est celle de la fridelan-3-one (friedeline).

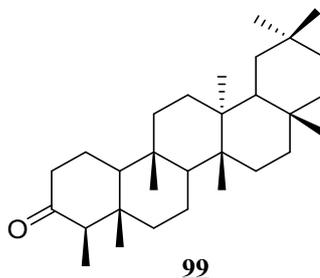


Tableau 23 : Données spectrales de RMN ¹H (400 MHz, CDCl₃), de RMN ¹³C (100 MHz, CDCl₃) de IPT₁

Positions	δ_H en ppm (nH, m, J en Hz)	δ_C en ppm M	δ_C en ppm (Hugo <i>et al.</i> , 1985)
1	1,96 (1H, m); 1,68 (1H, m)	22,3 (t)	22,29 (t)
2	2,39(1H, m); 2,27 (1H, m)	41,5 (t)	41,53 (t)
3	-	213,1 (s)	213,87 (s)
4	2,23 (1H, q)	58,2 (d)	58,26 (d)
5	-	42,1 (s)	42,13 (s)
6	1,71 (1H, d) ; 1,26 (1H, d)	41,3 (t)	41,35 (t)
7	1,45 (1H, m) ; 1,33 (1H, m)	18,2 (t)	18,27 (t)
8	1,35 (1H, dd)	53,1 (d)	53,14 (d)
9	-	37,4 (s)	37,49 (s)
10	1,50 (1H, m)	59,5 (d)	59,55 (d)
11	1,42 (1H, m) ; 1,23 (1H, m)	35,6 (t)	35,68 (t)
12	1,30 (1H, m) ; 1,29 (1H, m)	30,5 (t)	30,53 (t)
13	-	39,7 (s)	39,74 (s)
14	-	38,3 (s)	38,34 (s)
15	1,45 (1H, m) ; 1,24 (1H, m)	32,4 (t)	32,47 (t)
16	1,56 (1H, m) ; 1,32 (1H, m)	36,0 (t)	36,06 (t)
17	-	30,0 (s)	30,02 (s)
18	1,53 (1H, m)	42,8 (d)	42,87 (d)
19	1,34 (1H, m) ; 1,20 (1H, m)	35,3 (t)	35,38 (t)
20	-	28,2 (s)	28,18 (s)
21	1,47 (1H, m) ; 1,28 (1H, m)	32,8 (t)	32,84 (t)
22	1,49 (1H, m) ; 0,92 (1H, m)	39,2 (t)	39,28 (t)
23	0,86 (3H, d)	6,8 (q)	6,81 (q)
24	0,70 (3H, s)	14,6 (q)	14,67 (q)
25	0,85 (3H, s)	17,9 (q)	17,95 (q)
26	0,99 (3H, s)	20,3 (q)	20,26 (q)
27	1,03 (3H, s)	18,6 (q)	18,65 (q)
28	0,98 (3H, s)	32,1 (q)	32,12 (q)
29	0,93 (3H, s)	35,0 (q)	31,81 (q)
30	1,16 (3H, s)	31,8 (q)	35,02 (q)

II.3.3.2. Identification du composé KLR₂

Le composé KLR₂ a été isolé des tiges de *L. rugosa* sous forme de poudre blanche, dans le mélange Hex/AcOEt (9 :1). Il est soluble dans le chloroforme il répond positivement au test de Liebermann Burchard caractéristique des triterpènes. Son spectre de masse en impact électronique présente le pic de l'ion moléculaire [M]⁺ à m/z 456. Pic dont l'analyse à haute résolution [M]⁺ à m/z 456,3621 est en accord avec la formule brute C₃₀H₄₈O₃ (calc. pour C₃₀H₄₈O₃ à m/z 456,3603) renfermant 7 degrés d'insaturation.

Son spectre de RMN ¹³C découplé proton large bande (Figure 49, tableau 24) présente 30 signaux d'atomes de carbone comme indique la formule brute. L'analyse de ce spectre montre :

- 5 méthyles angulaires hybridés sp³ résonnant entre δ_c 14,9 et 22,2 ;
- 11 méthylènes dont 10 hybridés sp³ à δ_c 38,5 ; 37,6 ; 32,3 ; 34,3 ; 20,8 ; 25,5 ; 25,6 ; 29,7 ; 28,4 ; 33,3 et un hybridé sp² à δ_c 109,6 ;
- 6 méthines tous hybridés sp³ parmi lesquels un oxyméthine à δ_c 77,4 et les autres à δ_c 56,5 ; 50,4, 37,2, 42,6 et 49,1 ;
- Les signaux restants sont ceux de six carbones quaternaires dont un carbone hybridé sp² à δ_c 150,6 et cinq carbones hybridés sp³ à δ_c 25,6 ; 37,4 ; 41,0 ; 42,6 ; 47,1 ;
- Un carbonyle de l'acide à δ_c 182,1.

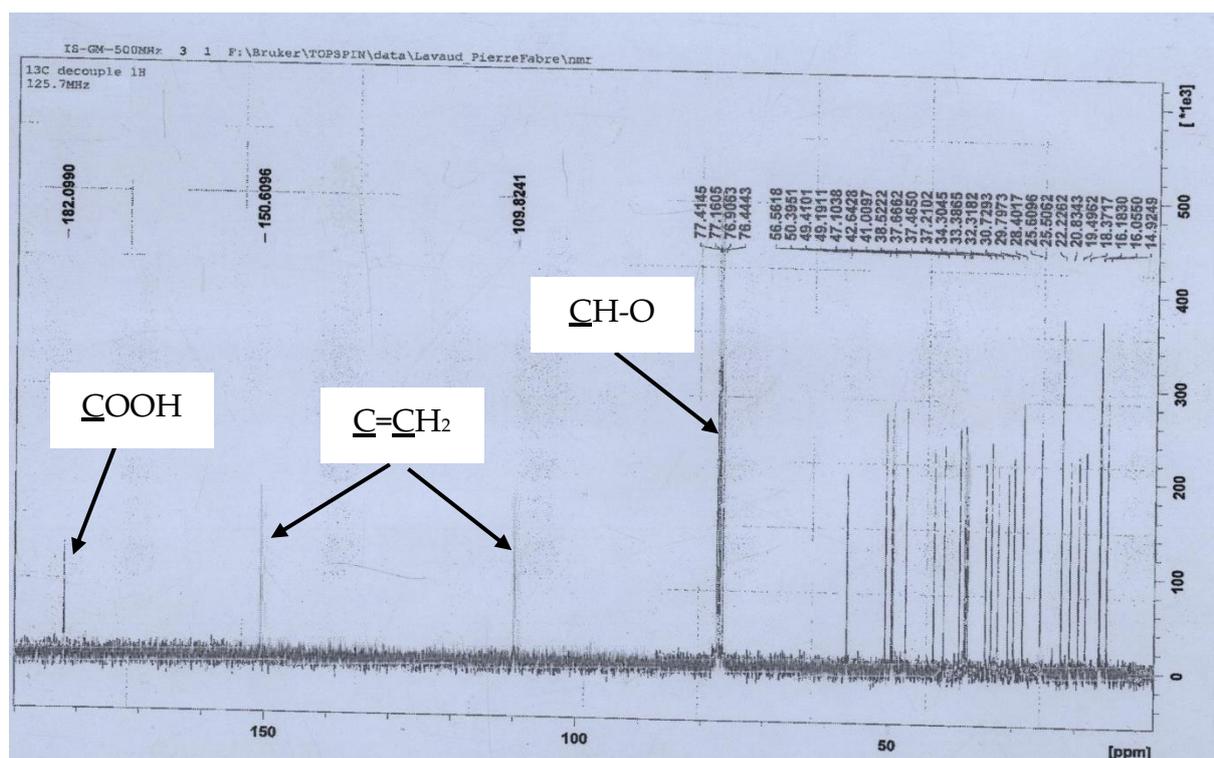


Figure 49 : Spectre de RMN 13C (500MHz, CDCl₃) de KLR₂

L'analyse combinée des spectres de RMN 1H (figure 50, tableau 24) et HSQC (figure 51) permet de mettre en évidence :

- Un groupement isopropényle dont les signaux apparaissent à δ_H 4,72 (1H, s)/ δ_C 109,6 ; 4,59 (1H, s)/ δ_C 109,6 et δ_H 1,67 (3H, s)/ δ_C 19,4 et 150,6 ;
- 6 méthyles angulaires dont la présence associée à celle du groupement isopropényle sont en faveur de l'existence au sein de ce composé d'un squelette de base de type lupane.

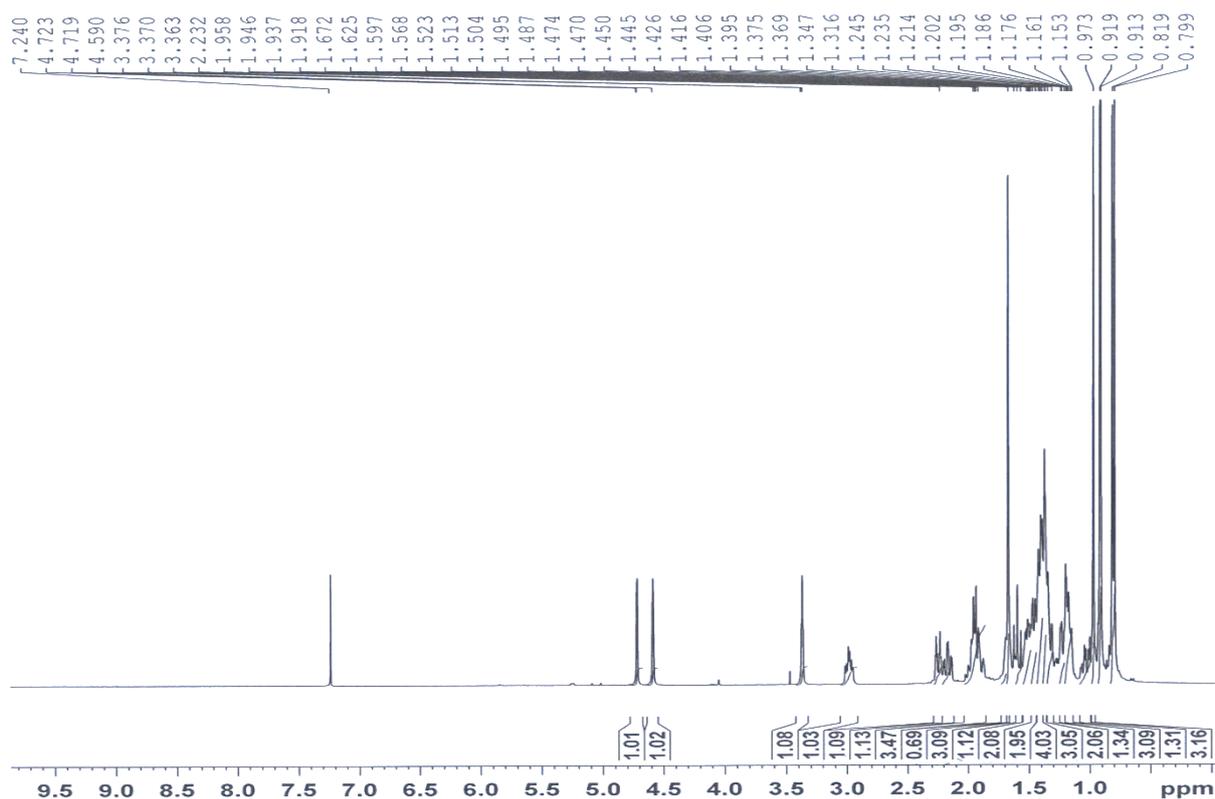


Figure 50: Spectre de RMN ^1H (400 MHz, CDCl₃) de KLR₂

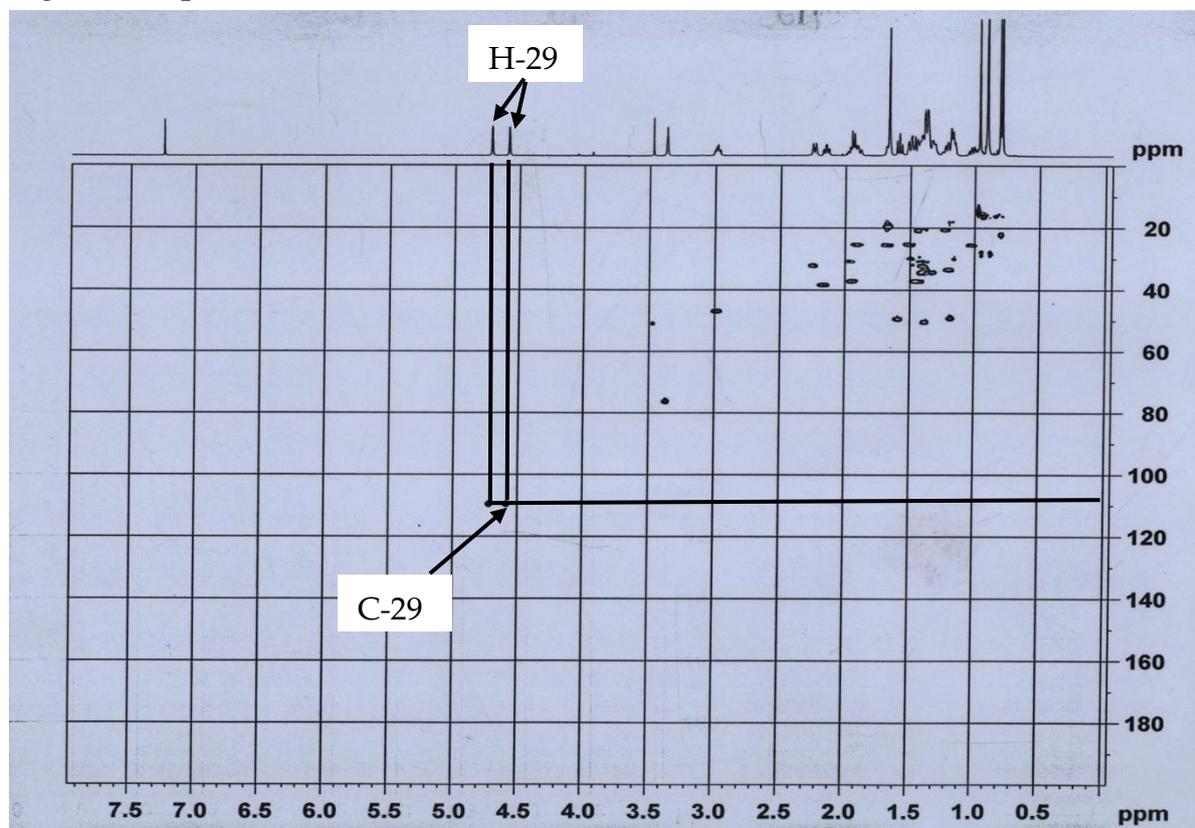


Figure 51 : Spectre HSQC de KLR₂

L'analyse de toutes ces données spectrales, comparées à celles de la littérature (Siddiqui *et al.*, 1988) nous a permis d'attribuer au composé KLR₂ la structure **100** qui est celle de l'acide bétulinique

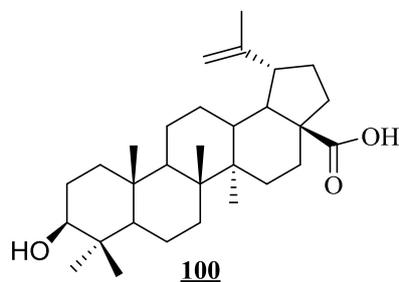


Tableau 24 : Données spectrales de RMN ^1H (400 MHz, CDCl_3), de RMN ^{13}C (125 MHz, CDCl_3) de KLR₂

Positions	δ_{H} en ppm (nH, m, J en Hz)	δ_{C} en ppm M	δ_{C} en ppm (Siddiqui <i>et al.</i> , 1988)
1	1,47 (1H, m); 1,37 (1H, m)	38,5 (t)	38,7 (t)
2	2,20 (1H, m); 2,14 (1H, m)	37,6 (t)	27,4 (t)
3	3,37 (1H, t)	77,4 (d)	78,9 (d)
4	-	25,6 (s)	38,8 (s)
5	0,90 (1H, t)	56,5 (d)	55,3 (d)
6	1,41 (1H, d) ; 1,36 (1H, d)	32,3 (t)	18,3 (t)
7	1,45 (1H, m) ; 1,33 (1H, m)	34,3 (t)	34,3 (t)
8	-	41,0 (s)	40,7 (s)
9	1,38 (1H, t)	50,4 (d)	50,5 (d)
10	-	37,4 (s)	37,2 (s)
11	1,45 (1H, m) ; 1,23 (1H, m)	20,8 (t)	20,8 (d)
12	1,52 (1H, m) ; 1,39 (1H, m)	25,5 (t)	25,5 (d)
13	1,45 (1H, m)	37,2 (d)	38,4 (d)
14	-	42,6 (s)	42,4 (s)
15	1,45 (1H, m) ; 1,24 (1H, m)	25,6 (t)	30,5 (t)
16	1,48 (1H, m) ; 1,32 (1H, m)	29,7 (t)	32,1 (t)
17	-	47,1 (s)	56,3 (s)
18	1,53 (1H, t)	42,6 (d)	46,8 (d)
19	1,19 (1H, m)	49,1 (d)	49,2 (d)
20	-	150,6 (s)	150,3 (s)
21	1,47 (1H, m) ; 1,28 (1H, m)	28,4 (t)	29,7 (t)
22	1,49 (1H, m) ; 0,92 (1H, m)	33,3 (t)	37,0 (t)
23	0,86 (3H, d)	22,2 (q)	27,0 (q)
24	0,70 (3H, s)	18,3 (q)	15,3 (q)
25	0,85 (3H, s)	16,0 (q)	16,0 (q)
26	0,99(3H, s)	16,1 (q)	16,1 (q)
27	1,03 (3H, s)	14,7 (q)	14,7 (q)
28	-	182,1 (s)	180,5 (s)
29	4,72 (1H, s); 4,59 (1H, s)	109,6 (t)	109,6 (t)
30	1,67 (3H, s)	19,4 (q)	19,4 (q)

II.3.3.3. Identification du composé ILR₁₂

Le composé ILR₁₂ a été isolé des feuilles de *L. rugosa* et de la plante entière de *P. glandulosus* sous forme de poudre blanche, dans le mélange Hex/AcOEt (4 :1). Soluble dans le chloroforme, il répond positivement au test de Liebermann-Burchard caractéristique des triterpènes. Son spectre de masse en impact électronique présente le pic de l'ion moléculaire [M]⁺ à m/z 442 compatible avec la formule brute C₃₀H₅₀O₂ renfermant 6 degrés d'insaturation. Cette formule brute, comparée à celle du composé KLR₂, montre qu'elle présente 14 unités de masse de moins que l'acide bétulinique.

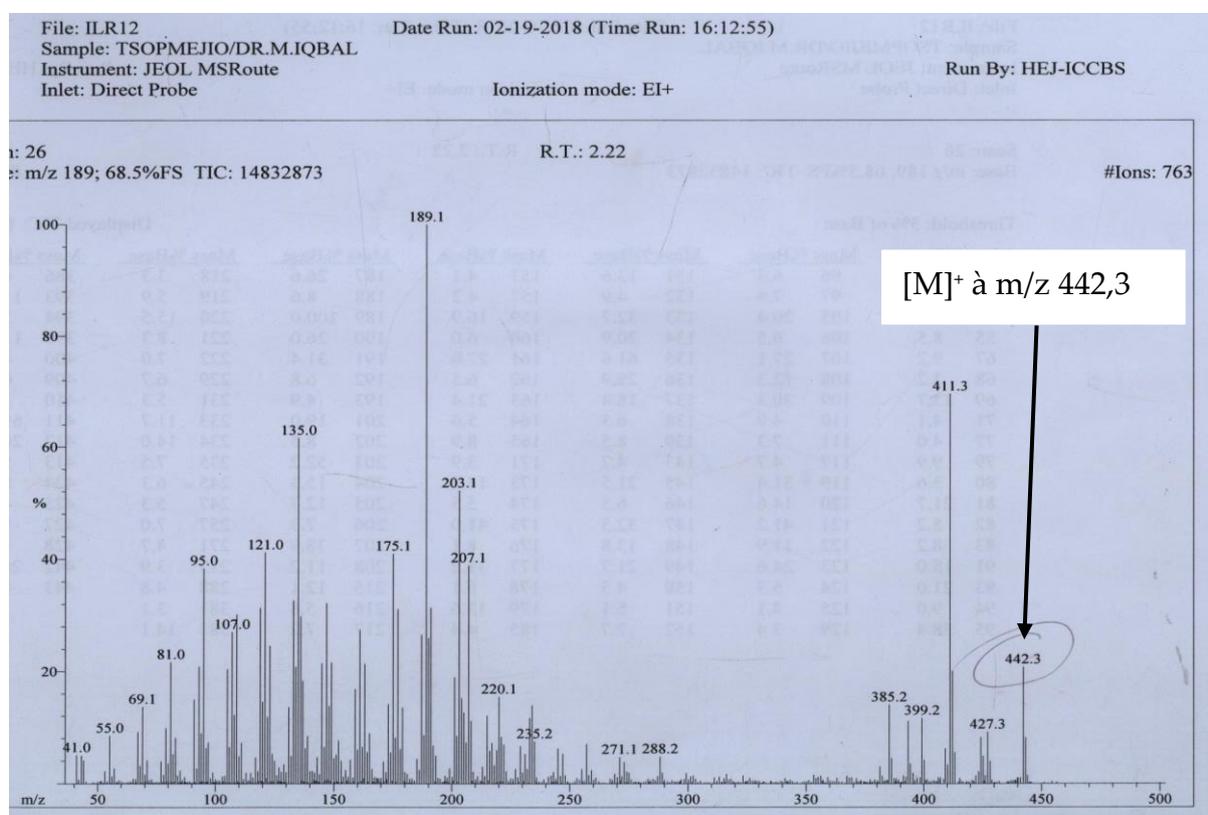


Figure 52 : Spectre de masse en impact électronique (IE) de ILR₁₂

La comparaison des données spectrales de RMN ¹H (figure 53, tableau 25) avec celles du composé l'acide bétulinique, révèle de nombreuses similitudes mais également quelques différences. Comme éléments de similitude, on note sur ce spectre, la présence de 5 méthyles angulaires et d'un groupement isopropényle dont les signaux raisonnent à δ_H 4,66(1H, s) et 4,55(1H, s) et le méthyle à δ_H 1,00(3H, s).

D'un proton de l'hydroxyméthine à δ_H 3,18 (1H, dd, 11,6-5,2). L'ensemble de ces données plaide en faveur de l'existence au sein de ce composé d'un squelette de type lupane.

La différence entre les deux composés, réside en la présence sur le spectre de RMN 1H d'un système AB caractéristique des protons de l'hydroxyméthylène apparaissant à δ_H 3,79 (1H, d, 10,8) et δ_H 3,32 (1H, d, 10,8) attribuable aux protons en position C-28. Ce qui montre que la fonction acide de l'acide bétulinique a été remplacée par un hydroxyméthylène sur le composé ILR₁₂.

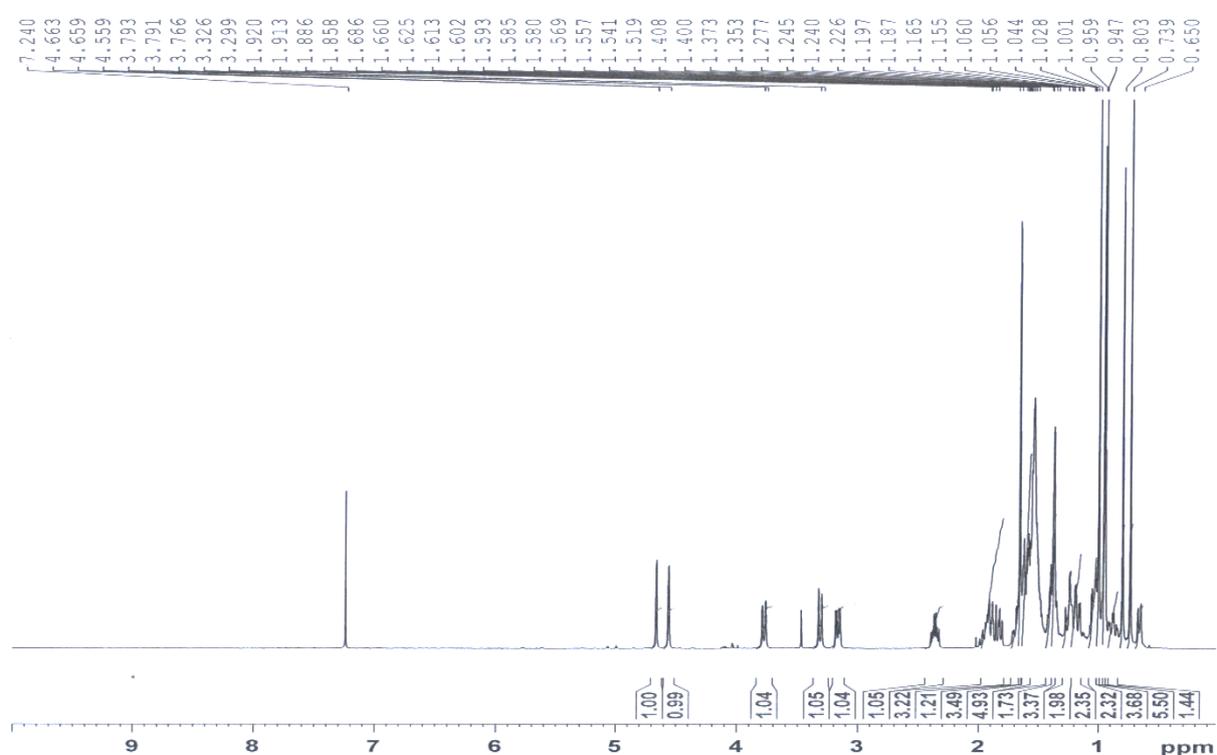


Figure 53 : Spectre de RMN 1H (400 MHz, CDCl₃) de ILR₁₂

Sur la base de toutes ces données spectroscopiques, et en comparaison avec celles de la littérature (Siddiqui *et al.*, 1988), la structure **101** a été attribuée au composé ILR₁₂ qui est celle de lup-20(29)-èn-3 β ,28-diol (bétuline)

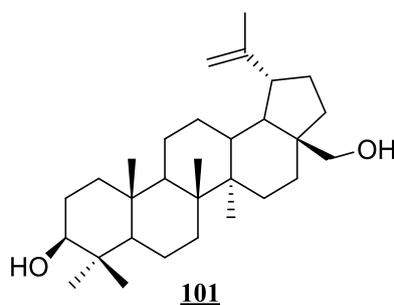


Tableau 25 : Données spectrales de RMN ^1H (400 MHz, CDCl_3), de RMN ^{13}C (125 MHz, CDCl_3) de ILR₁₂

Position	δ_H en ppm (nH, m, J en Hz)	δ_C en ppm (Siddiqui <i>et al.</i> , 1988)
1	1,47 (1H, m); 1,37 (1H, m)	38,8 (t)
2	2,20 (1H, m); 2,14 (1H, m)	27,4 (t)
3	3,18 (1H, dd, 11,6-5,2)	79,0 (d)
4	-	38,3 (s)
5	0,93 (1H, t)	55,4 (d)
6	1,41 (1H, d) ; 1,36 (1H, d)	18,3 (t)
7	1,45 (1H, m) ; 1,33 (1H, m)	34,3 (t)
8	-	41,0 (s)
9	1,38 (1H, t)	50,6 (d)
10	-	37,4 (s)
11	1,45 (1H, m) ; 1,23 (1H, m)	20,9 (t)
12	1,52 (1H, m) ; 1,39 (1H, m)	25,6 (t)
13	1,45 (1H, m)	37,0 (d)
14	-	42,8 (s)
15	1,45 (1H, m) ; 1,24 (1H, m)	27,1 (t)
16	1,48 (1H, m) ; 1,32 (1H, m)	29,3 (t)
17	-	47,8 (s)
18	1,53 (1H, t)	47,8 (d)
19	1,19 (1H, m)	48,8 (d)
20	-	150,3 (s)
21	1,47 (1H, m) ; 1,28 (1H, m)	29,8 (t)
22	1,49 (1H, m) ; 0,92 (1H, m)	34,0 (t)
23	0,86 (3H, d)	28,0 (q)
24	0,74 (3H, s)	15,3 (q)
25	0,80 (3H, s)	16,1 (q)
26	0,95(3H, s)	16,1 (q)
27	1,00 (3H, s)	14,7 (q)
28	3,79 (1H, d, 10,8); 3,32 (1H, d, 10,8)	60,8 (t)
29	4,66 (1H, s); 4,55 (1H, s)	109,6 (t)
30	1,66 (3H, s)	19,4 (q)

II.3.3.4. Identification du composé ILR₁₄

Le composé ILR₁₄ a été isolé des feuilles de *L. rugosa* cristallise sous forme de poudre blanche, dans le mélange Hex/AcOEt (9 :1). Soluble dans le chloroforme, il répond positivement au test de Liebermann-Burchard caractéristique des triterpènes. Son spectre de masse en impact électronique présente le pic de l'ion moléculaire [M]⁺ à m/z 426 compatible avec la formule brute C₃₀H₅₀O renfermant 6 degrés d'insaturation. Cette formule, brute comparée à celle du composé ILR₁₂, montre qu'elle présente 16 unités de masse de moins, qui correspondrait à un atome d'oxygène de moins.

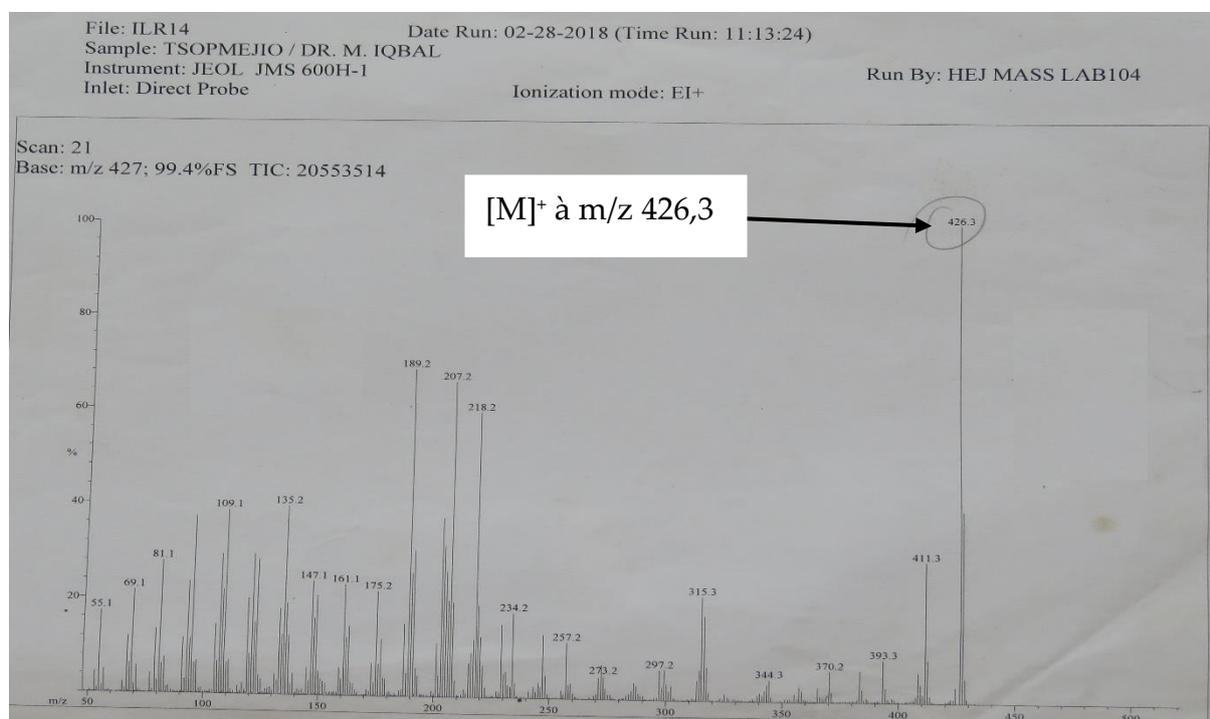


Figure 54 : Spectre de masse en impact électronique (IE) de ILR₁₄

La comparaison des données spectrales de RMN ¹H (figure 55, tableau 26) avec celles des composés KLR₁₂ et KLR₂, révèle également de nombreuses similitudes. La seule différence est que le signal de l'hydroxyméthylène à δ_H 3,79 et 3,32 caractéristique des protons en position C-28 du composé ILR₁₂ a disparu laissant place à un méthyle.

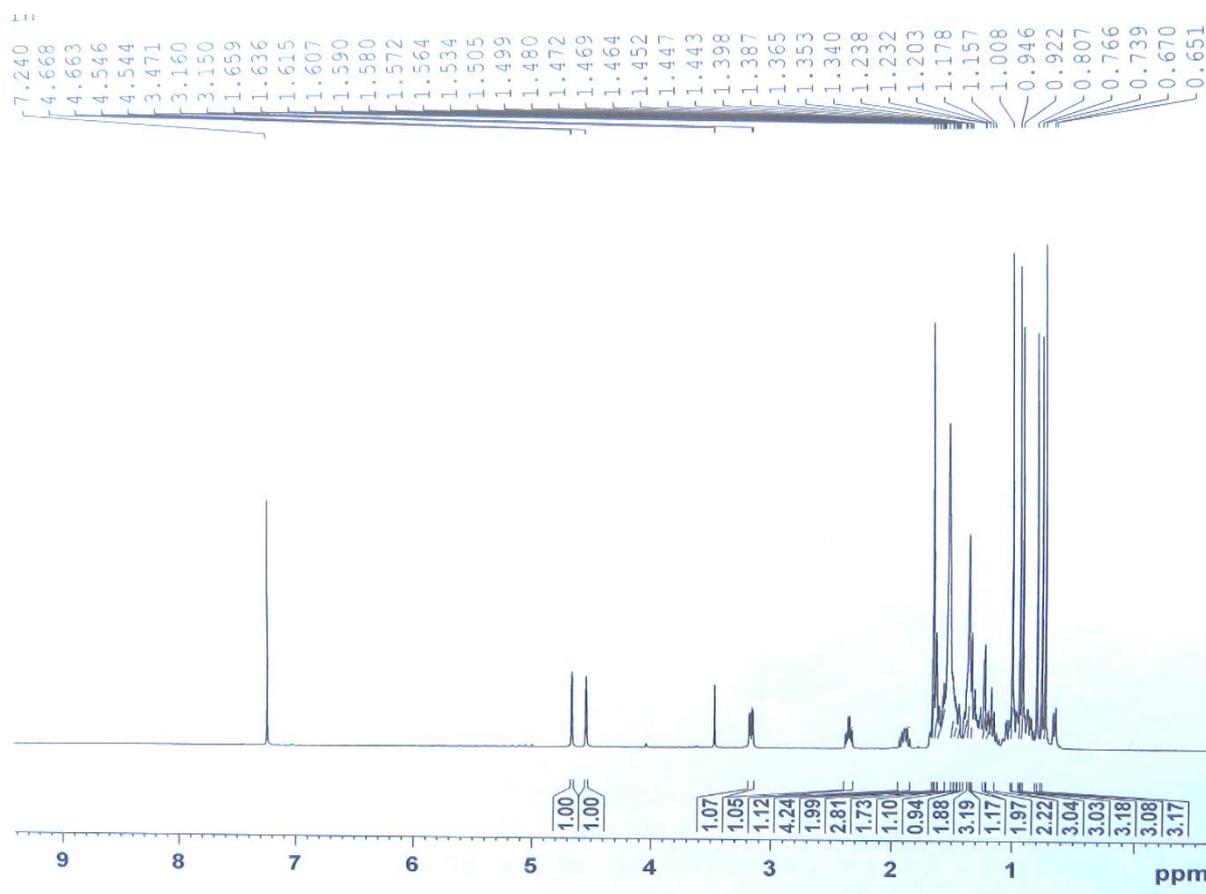


Figure 55 : Spectre de RMN ^1H (500 MHz, CDCl_3) de ILR_{14}

Sur la base de ces informations en comparaison avec celles de la littérature (Teixeira *et al.*, 2017), la structure **102** a été attribuée au composé ILR_{14} qui est celle du lup-20(29)-èn-3 β -ol (Lupéol).

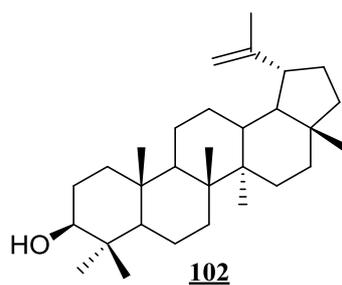


Tableau 26 : Données spectrales de RMN ¹H (500 MHz, CDCl₃), de RMN ¹³C (125 MHz, CDCl₃) de ILR₁₄

Position	δ_H en ppm (nH, m, J en Hz)	δ_C en ppm Teixeira et al., 2017
1	1,47 (1H, m); 1,37 (1H, m)	38,1 (t)
2	2,20(1H, m); 2,14 (1H, m)	24,4 (t)
3	3,18 (1H, dd, 11,6-5,2)	79,1 (d)
4	-	38,7 (s)
5	0,92(1H, t)	55,3 (d)
6	1,41 (1H, d) ; 1,36 (1H, d)	18,3 (t)
7	1,45 (1H, m) ; 1,33 (1H, m)	34,3 (t)
8	-	40,9 (s)
9	1,38 (1H, t)	50,5 (d)
10	-	37,2 (s)
11	1,45 (1H, m) ; 1,23 (1H, m)	20,9 (t)
12	1,52 (1H, m) ; 1,39 (1H, m)	25,2 (t)
13	1,45 (1H, m)	38,9 (d)
14	-	42,9 (s)
15	1,45 (1H, m) ; 1,24 (1H, m)	27,5 (t)
16	1,48 (1H, m) ; 1,32 (1H, m)	35,6 (t)
17	-	43,0 (s)
18	1,53 (1H, t)	48,3 (d)
19	1,19 (1H, m)	48,0 (d)
20	-	150,9 (s)
21	1,47 (1H, m) ; 1,28 (1H, m)	29,9 (t)
22	1,49 (1H, m) ; 0,92 (1H, m)	40,0 (t)
23	0,86 (3H, d)	28,0 (q)
24	0,74 (3H, s)	15,4 (q)
25	0,80 (3H, s)	16,1 (q)
26	0,95(3H, s)	16,0 (q)
27	1,00 (3H, s)	14,6 (q)
28	0,94 (3H, s)	18,0 (q)
29	4,66 (1H, s); 4,55 (1H, s)	109,3 (t)
30	1,66 (3H, s)	19,3 (q)

II.3.3.5. Identification du composé ILR₇

Le composé ILR₇ a été isolé des feuilles de *L. rugosa*, cristallise sous forme de poudre blanche, dans le mélange Hex/AcOEt (4 :1). Soluble dans le chloroforme il répond positivement au test de Liebermann-Burchard (coloration rouge violacée) caractéristique des triterpènes. Son spectre de masse en impact électronique présente le pic de l'ion moléculaire [M]⁺ à m/z 468 (figure 56) en accord avec la formule brute C₃₂H₅₂O₂ renfermant 6 degrés d'insaturation. Cette formule brute comparée à celle du composé ILR₁₄ (lupéol) montre qu'elle présente 42 unités de masse de plus, qui correspondrait à un groupe acétyl de plus.

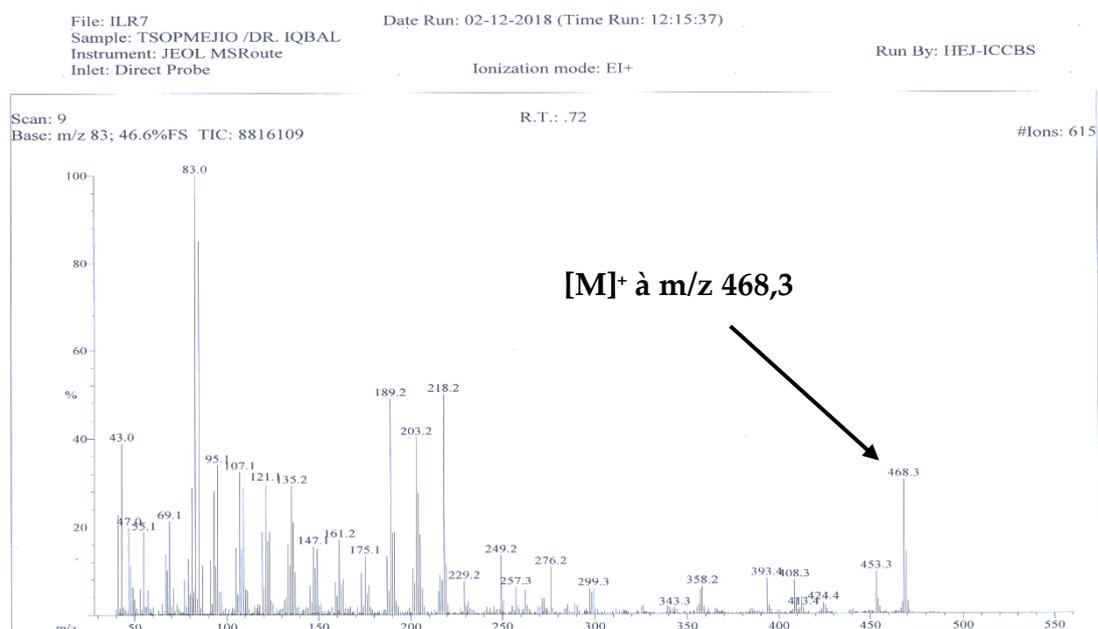


Figure 56: Spectre de masse en impact électronique IE de ILR₇

La comparaison des données spectrales de RMN ¹H (figure 57, tableau 27) de ILR₇, avec celles du composé ILR₁₄ présente de nombreuses similitudes, mais également quelques différences. Comme éléments de similitude, on note sur ce spectre, la présence de 6 méthyles angulaires et d'un groupement isopropényl dont les signaux raisonnent à δ_H 4,66(1H, s) et 4,55(1H, s) et le méthyl à δ_H 1,00(3H, s).

Comme différence, on observe sur ce spectre un singulet de trois protons fortement déblindé à δ_H 2,03(3H, s), d'un groupement acétyle, suggérant que l'hydroxyle en position 3 a été acétylé.

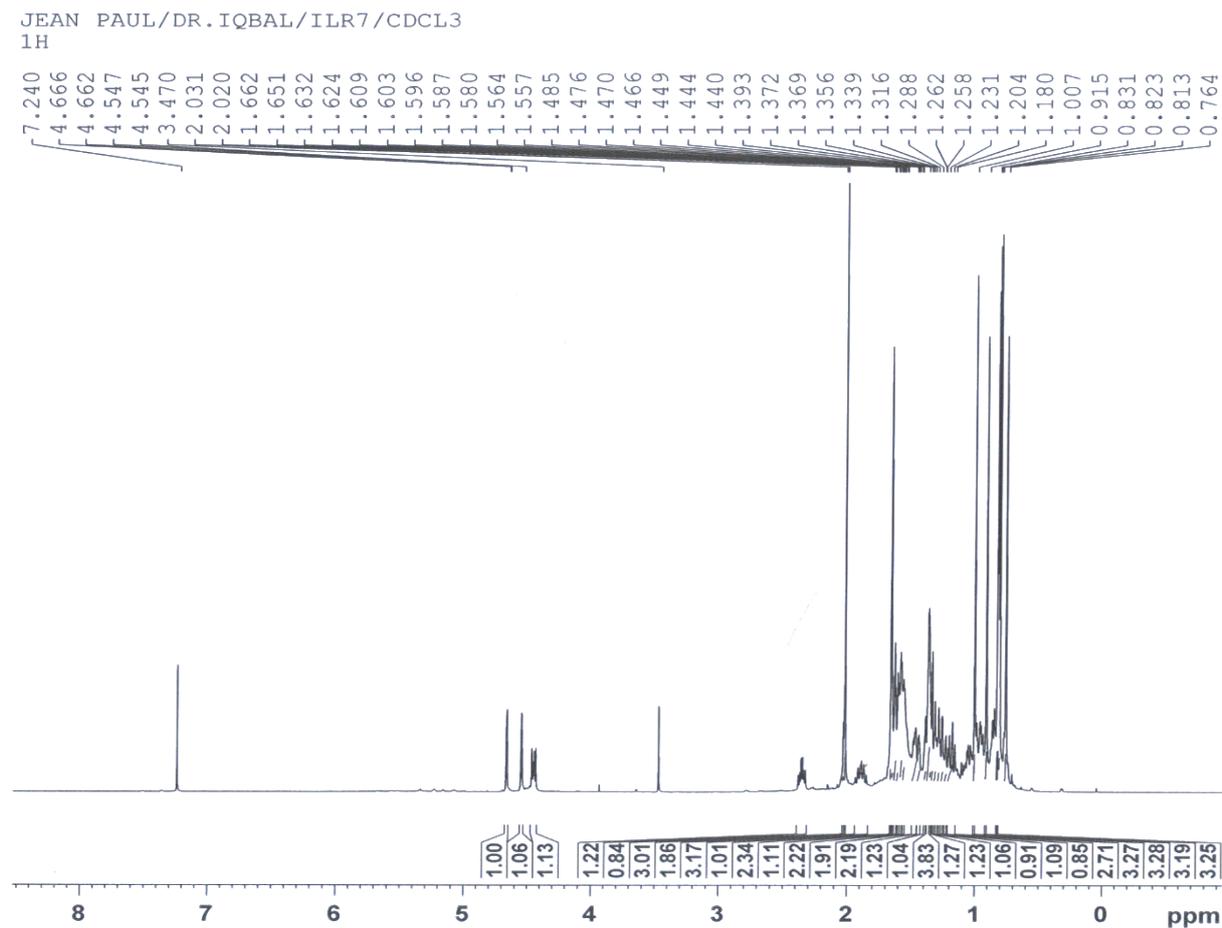


Figure 57 : Spectre de RMN ¹H (500MHz, CDCl₃) du composé ILR₇

Sur la base de ces informations en comparaison avec celles de la littérature (Teixeira *et al.*, 2017), la structure **103** a été attribuée au composé ILR₇ qui est celle de l'acétate de lupéol.

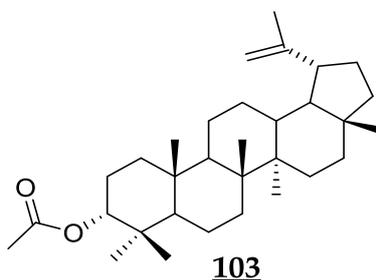


Tableau 27 : Données spectrales de RMN ¹H (500 MHz, CDCl₃), de RMN ¹³C (125 MHz, CDCl₃) de ILR₇

Position	δ_H en ppm (nH, m, J en Hz)	δ_C en ppm Teixeira et al., 2017
1	1,47 (1H, m); 1,37 (1H, m)	38,1 (t)
2	2,20(1H, m); 2,14 (1H, m)	24,4 (t)
3	2,38 (1H, m)	79,1 (d)
4	-	38,7 (s)
5	0,95 (1H, t)	55,3 (d)
6	1,41 (1H, d) ; 1,36 (1H, d)	18,3 (t)
7	1,45 (1H, m) ; 1,33 (1H, m)	34,3 (t)
8	-	40,9 (s)
9	1,38 (1H, t)	50,5 (d)
10	-	37,2 (s)
11	1,45 (1H, m) ; 1,23 (1H, m)	20,9 (t)
12	1,52 (1H, m) ; 1,39 (1H, m)	25,2 (t)
13	1,45 (1H, m)	38,9 (d)
14	-	42,9 (s)
15	1,45 (1H, m) ; 1,24 (1H, m)	27,5 (t)
16	1,48 (1H, m) ; 1,32 (1H, m)	35,6 (t)
17	-	43,0 (s)
18	1,53 (1H, t)	48,3 (d)
19	1,19 (1H, m)	48,0 (d)
20	-	150,9 (s)
21	1,47 (1H, m) ; 1,28 (1H, m)	29,9 (t)
22	1,49 (1H, m) ; 0,92 (1H, m)	40,0 (t)
23	0,86 (3H, d)	28,0 (q)
24	0,74 (3H, s)	15,4 (q)
25	0,80 (3H, s)	16,1 (q)
26	0,95(3H, s)	16,0 (q)
27	1,00 (3H, s)	14,6 (q)
28	0,91 (3H, s)	18,0 (q)
29	4,66 (1H, s); 4,55 (1H, s)	109,3 (t)
30	1,66 (3H, s)	19,3 (d)
1'		170,2 (s)
2'	2,03 (3H, s)	21,0 (q)

II.3.3.6. Identification du composé ILR₆

Le composé ILR₆ a été isolé des feuilles de *L. rugosa* et de la plante entière de *P. glandulosus* sous forme de poudre blanche, dans le mélange Hex/AcOEt (9 :1). Soluble dans le chloroforme, il réagit positivement au test de Liebermann-Burchard montrant ainsi sa nature triterpénique. Son spectre de masse en impact électronique (figure 58) présente le pic de l'ion moléculaire [M]⁺ à m/z 426 compatible avec la formule brute C₃₀H₅₀O renfermant 6 degrés d'insaturation.

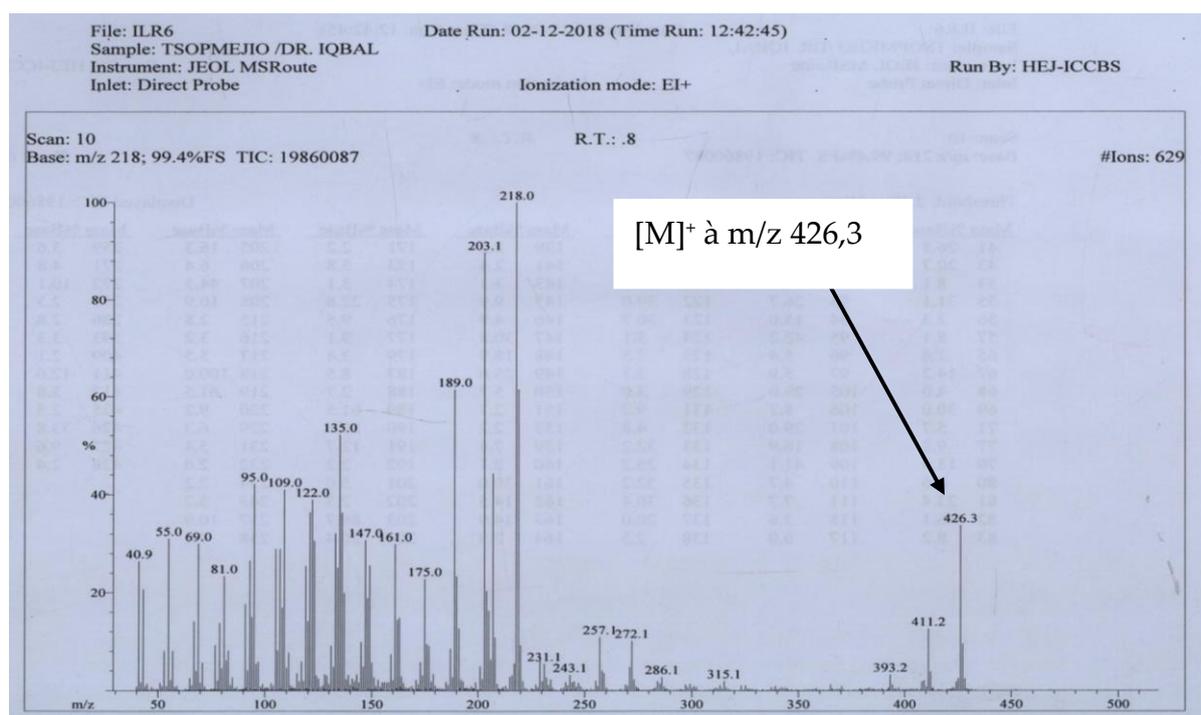


Figure 58 : Spectre de masse en impact électronique (IE) de ILR₆

Son spectre de RMN ¹H (figure 59, tableau 28), présente plusieurs signaux d'un squelette triterpénique de type ursane à savoir ; 8 méthyles tous hybridés sp³, 9 méthylènes hybridés sp³, 7 méthines dont un oxygéné à δ_H 3,22 caractéristique du proton H-3 et un hybridé sp² caractéristique du proton éthylénique H-12.

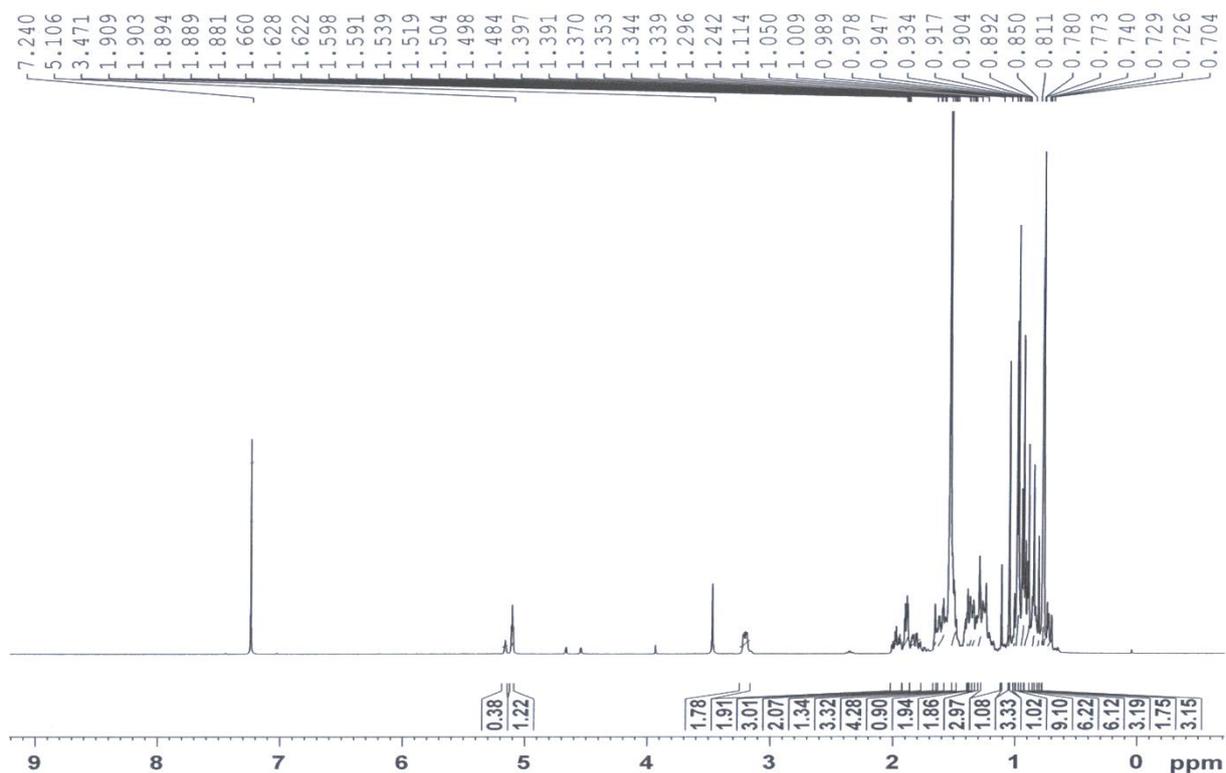


Figure 59 : Spectre de RMN ^1H (500 MHz, CDCl_3) de ILR₆

Sur la base de ces informations en comparaison avec celles de la littérature (Dias *et al.*, 2011 et Jabeen *et al.*, 2011), la structure **104** a été attribuée au composé ILR₆ qui est celle du 3β -hydroxy-urs-12-èn-3-ol (α -amyrine).

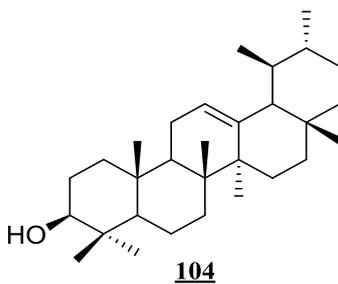


Tableau 28: Données spectrales de RMN ^1H (500MHz, CDCl_3), de RMN ^{13}C (125MHz, CDCl_3) de ILR₆

Positions	δ_{H} en ppm (nH, m, J en Hz)	δ_{C} en ppm (Jabeen at al., 2011)
1	1,66 (1H, m); 1,39 (1H, m)	38,7 (t)
2	2,00 (1H, m); 1,93 (1H, m)	28,7 (t)
3	3,22(1H, dd, 11-4,5)	79,6 (d)
4	-	38,7 (s)
5	0,72 (1H, t)	55,1 (d)
6	1,51 (1H, m) ; 1,36 (1H, m)	18,4 (t)
7	1,45 (1H, m) ; 1,33 (1H, m)	32,2 (t)
8	-	40,7 (s)
9	1,39 (1H, t)	47,7 (d)
10	-	36,6 (s)
11	1,45 (1H, m)	23,3 (d)
12	5,11 (1H, t)	124,4 (d)
13	-	139,5 (s)
14	-	42,0 (s)
15	1,94 (1H, dd, 4,5-13,5)	27,2 (t)
16	1,76 (1H, dd, 5,0-13,5)	26,6 (t)
17	-	33,7 (s)
18	1,50 (1H, d)	59,0 (d)
19	1,19 (1H, m)	39,6 (d)
20	-	39,6 (s)
21	1,47 (1H, m) ; 1,28 (1H, m)	31,2 (t)
22	1,85 (1H, dd, 3,0-7,0)	41,5 (d)
23	0,94 (3H, s)	28,1 (q)
24	0,93 (3H, s)	15,6 (q)
25	0,89 (3H, s)	15,6 (q)
26	0,85 (3H, s)	16,8 (q)
27	1,05 (3H, s)	23,2 (q)
28	0,91 (3H, s)	28,1 (q)
29	0,98 (3H, d, 5,5)	17,4 (q)
30	0,78 (3H, d, 3,5)	21,4 (q)

II.3.4. Identification du composé ILR₃

Le composé ILR₃ a été isolé des feuilles de *L. rugosa* sous forme de poudre blanchâtre dans le mélange Hex/AcOEt (3 :7) et soluble dans le diméthyle sulfoxide. Son spectre de masse GC-MS présente le pic de l'ion pseudo-moléculaire $[M-2H]^+$ à m/z 137 compatible avec la formule brute $C_7H_9O_2N$ renfermant 4 degrés d'insaturation.

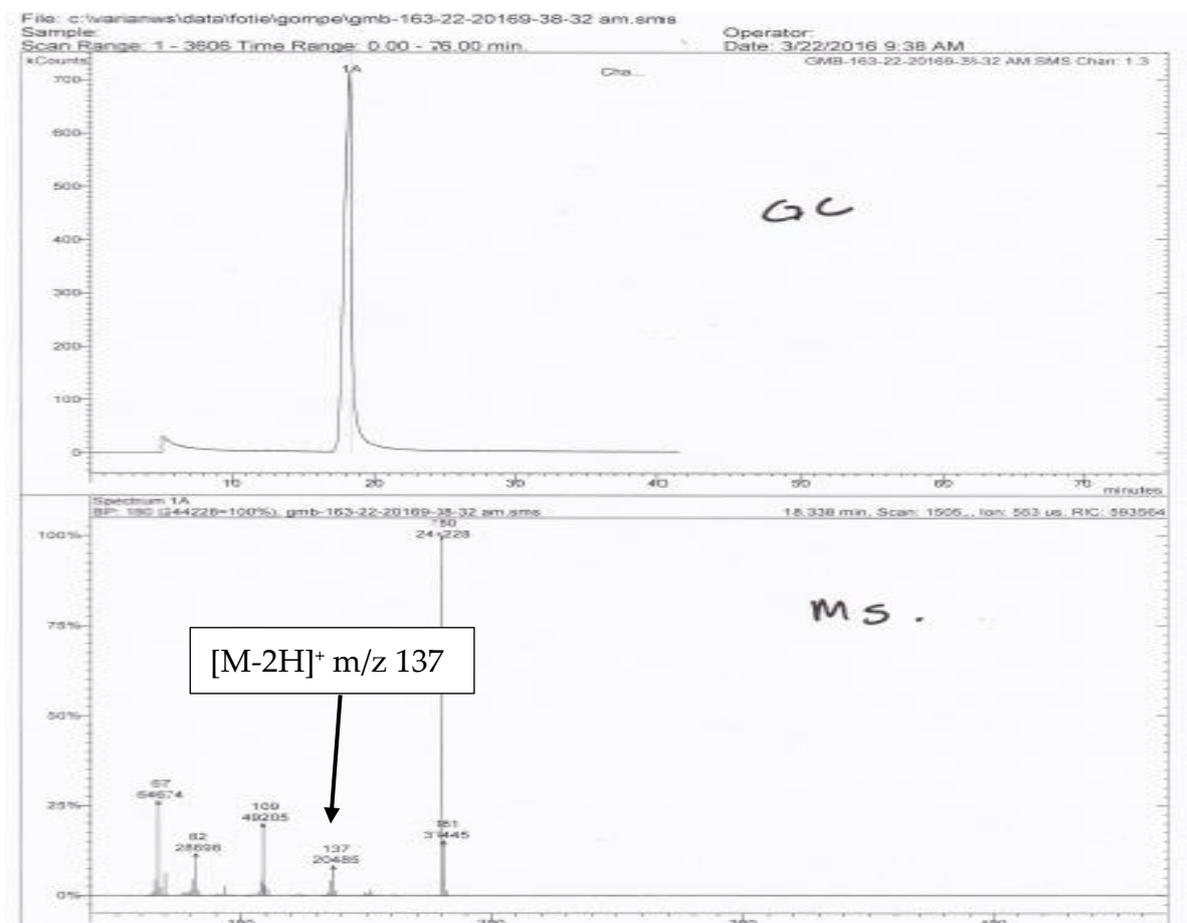


Figure 60 : Spectre de masse GC-MS de ILR₃

Sur son spectre de RMN 1H (figure 61, tableau 29), on observe un singulet à δ_H 7,96 caractéristique d'un méthine aromatique et d'un singulet à δ_H 11,08 caractéristique des hydroxyles. On observe également un singulet à δ_H 3,84 attribuable au CH_3 lié sur le cycle aromatique.

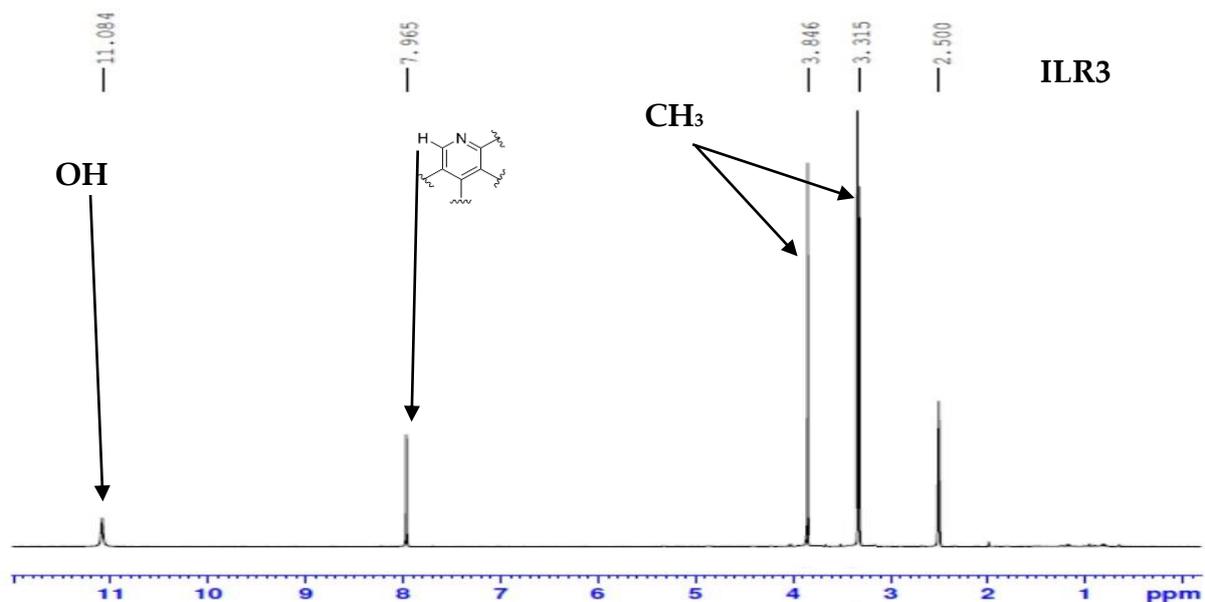


Figure 61 : Spectre de RMN ^1H (400 MHz, $\text{DMSO-}d_6$) de ILR_3

Son spectre APT (figure 62) présente 7 signaux au lieu de 9 suggérant la présence au sein du composé ILR_3 la présence de deux carbones isochrones.

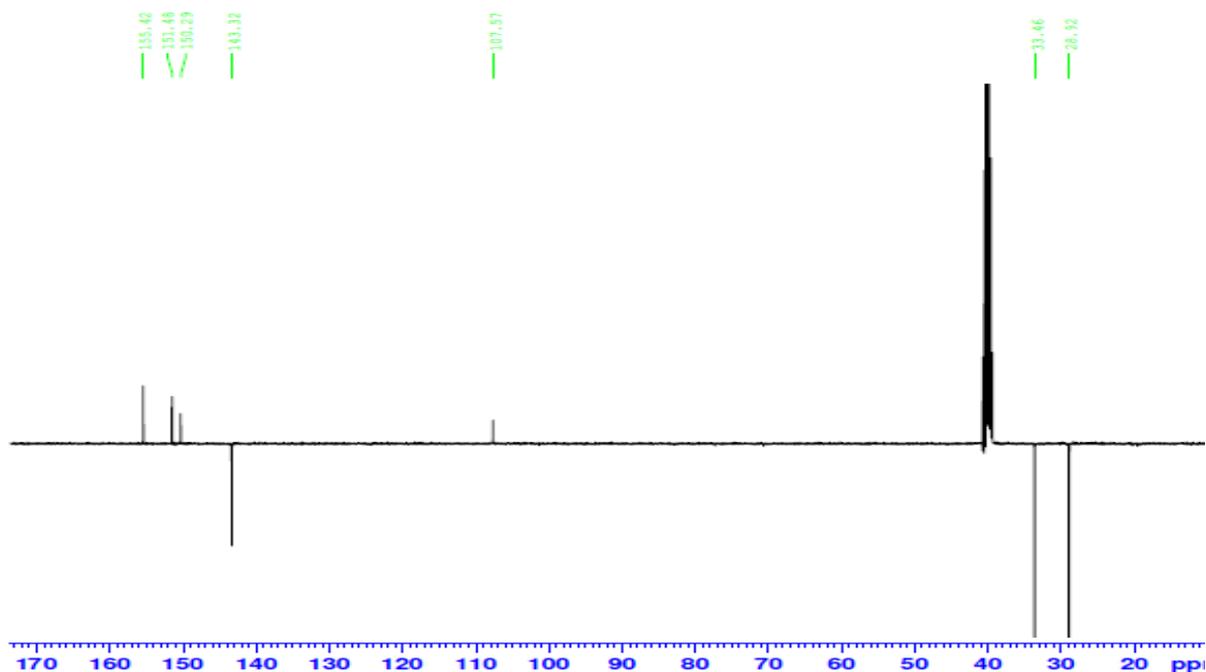


Figure 62 : Spectre APT de ILR_3

L'analyse de ces signaux complétée par le spectre HSQC (figure 63), fait ressortir :

- ❖ 2 méthyles à $\delta_{\text{H}}/\delta_{\text{C}}$ 3,31/28,9 et 3,84/33,4;

- ❖ 1 méthine à δ_H/δ_C 7,96/143,3;
- ❖ 4 carbones quaternaires à δ_C 107,6 ; 150,3 ; 151,5 et 155,4.

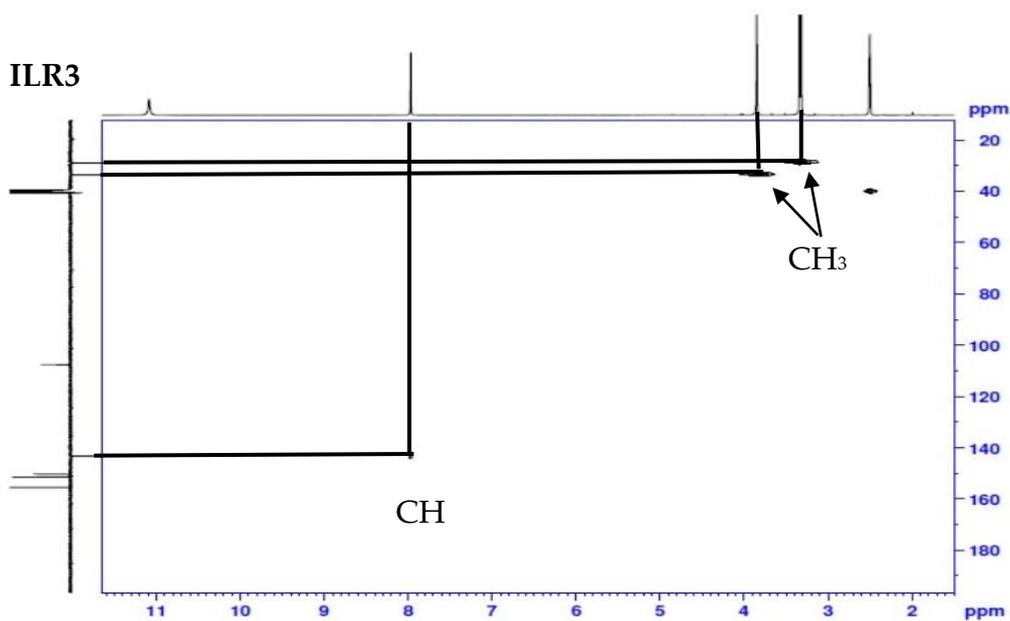


Figure 63 : Spectre HSQC du composé ILR₃

Sur la base de ces informations en comparaison avec celles de la littérature, la structure **105** a été attribuée au composé ILR₃ qui est celle de la 2,4-diméthylpyridine-3,5-diol dérivé nouveau au quel nous avons donné le nom trivial de lippiamicine.

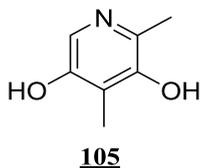


Tableau 29 : Données spectrales de RMN ^1H (400 MHz, DMSO- d_6), de RMN ^{13}C (100 MHz, DMSO- d_6) du composé ILR₃

Position	δ_{H} en ppm (nH, m, J en Hz)	δ_{C} en ppm M
1	-	-
2	-	150,3 (s)
3	-	151,4 (s)
4	-	107,7(d)
5	-	155,4(s)
6	7,96 (1H, s)	143,3 (d)
7	3,84 (3H, s)	33,4 (q)
8	3,31 (3H, s)	28,9 (q)
OH-3	11,08 (1H, s)	-
OH-5	11,08 (1H, s)	-

II.3.5. Identification du composé ILR₈

Le composé ILR₈ a été obtenu des feuilles de *L. rugosa* sous forme de poudre blanche dans le mélange Hex/AcOEt (9 :1) et soluble dans le chloroforme. Son spectre de masse en impact électronique (figure 64) présente le pic de l'ion pseudo-moléculaire $[M-H_2O]^+$ à m/z 504 compatible avec la formule brute C₃₆H₇₄O.

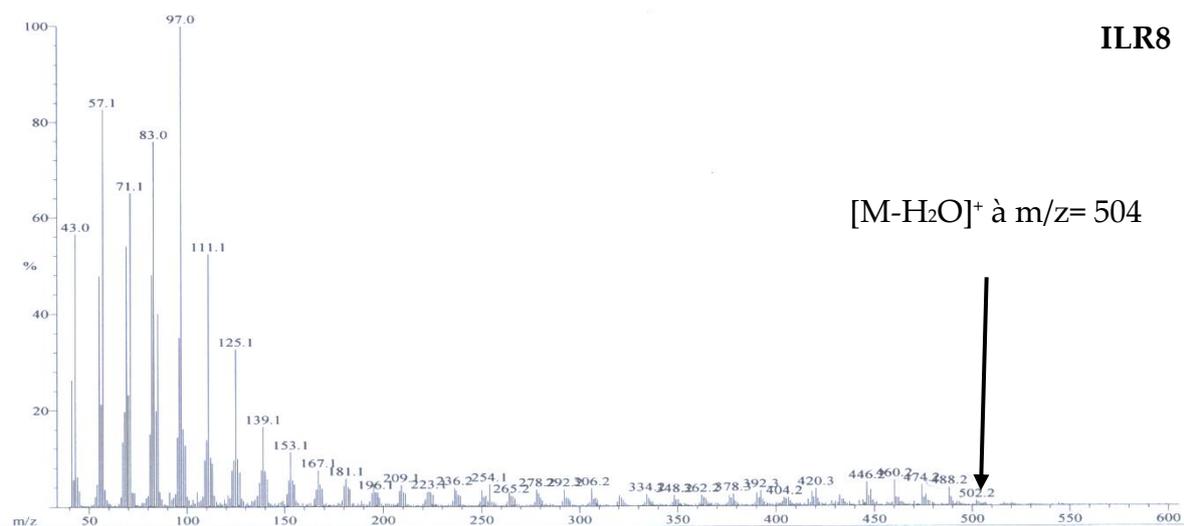


Figure 64 : Spectre de masse en impact électronique (IE) de ILR₈

Sur son spectre de RMN ¹H (figure 65), on observe plusieurs signaux caractéristiques d'un alcool gras à savoir ; le méthyle terminal à δ_H 0,87 sous forme de triplet ; le méthylène hybridé sp³ lié à l'oxygène à δ_H 3,63 et une longue chaîne de CH₂ à δ_H 1,23.

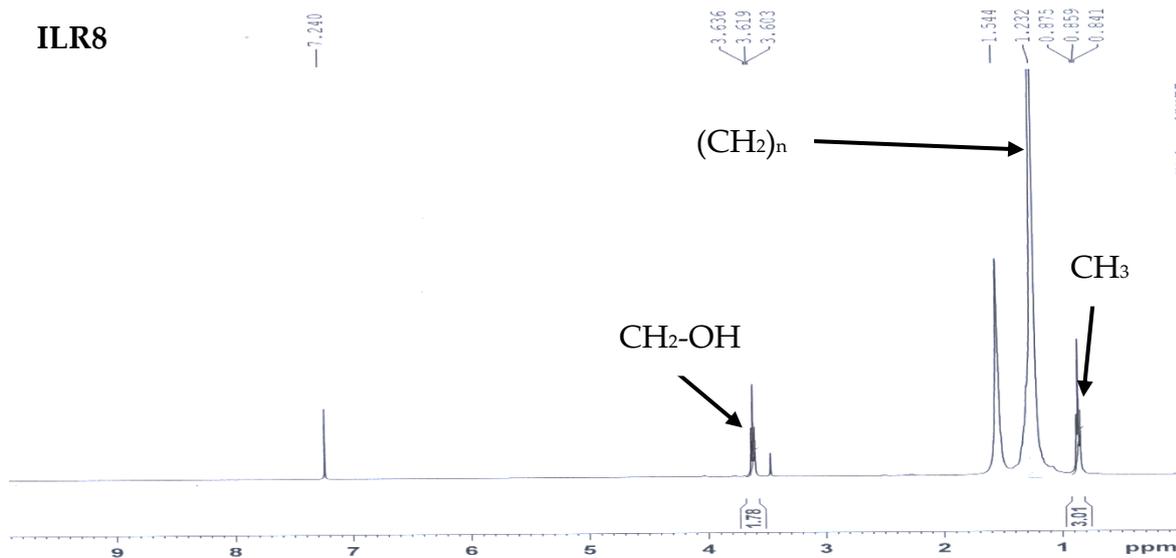
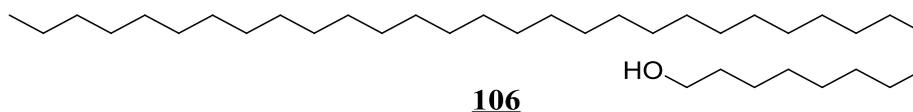


Figure 65 : Spectre de RMN ^1H (400 MHz, CDCl_3) de ILR_8

La détermination de la longueur de la chaîne a été rendu possible grâce à l'interprétation de son spectre de masse en impact électronique. C'est ainsi que la structure **106** a été attribuée au composé ILR_8 qui est celle de la Cosanol.



II.3.6. Identification du composé KLR₄

Le composé KLR₄ a été obtenu des tiges de *L. rugosa* sous forme de cristaux blanche dans le mélange AcOEt/MeOH (8 :2). Soluble dans l'eau, il donne une réaction positive au test de Molish caractéristique des sucres. Son spectre de RMN ¹³C découplé proton large bande (figure 66, tableau 30) présente 12 signaux au lieu de 13 suggérant ainsi la présence au sein de ce composé de deux carbones isochrones.

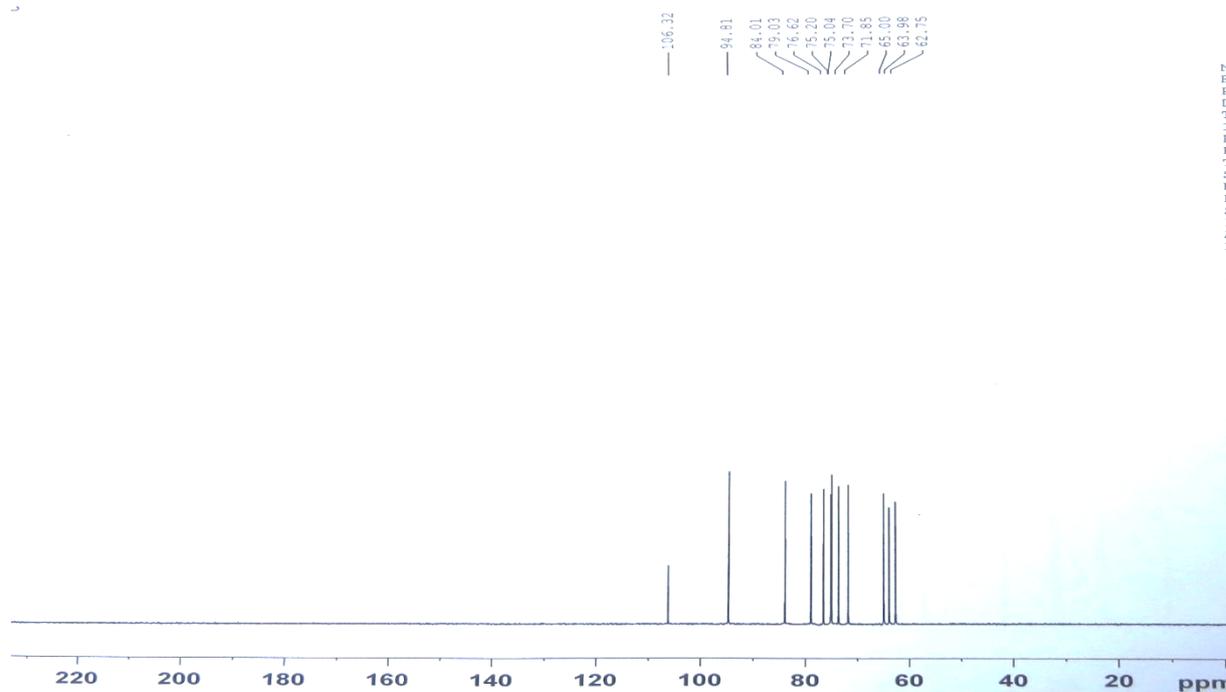


Figure 66 : Spectre de RMN¹³C découplé large bande (150 MHz, D₂O) de KLR₄

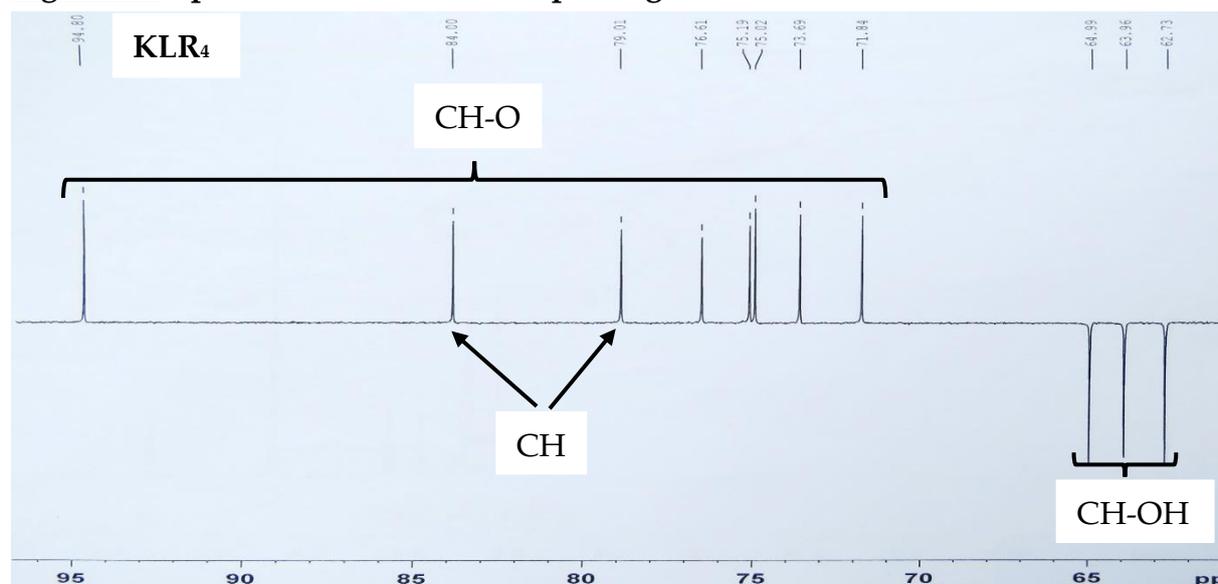


Figure 67 : Spectre DEPT 135 de KLR₄

L'analyse de ces signaux par la technique DEPT (figure 67), fait ressortir :

- ❖ 3 oxyméthylènes hybridés sp^3 résonant à δ_c 64,9 ; δ_c 63,9 et δ_c 62,7 ;
- ❖ 8 méthines dont 6 oxyméthines hybridés sp^3 à δ_c 71,8 ; δ_c 75,2 ; δ_c 73,7 ; δ_c 79,0 ; δ_c 76,6 et δ_c 76,6 et 2 non oxygénés à δ_c 84,0 ; δ_c 75,0 ;
- ❖ 1 carbone quaternaire à δ_c 106,3.

Ces données carbones sont caractéristiques d'un dimère de sucre.

L'analyse de son spectre de RMN 1H (figure 68) de KLR_4 complétée par le spectre DEPT-HSQC (figure 58) nous permet d'observer :

- ❖ Un doublet d'un proton à δ_H 5,32/ δ_c 94,8 caractéristique du proton anomérique du glucose ;
- ❖ Un doublet d'un proton à δ_H 4,13/ δ_c 79,0 caractéristique du proton H-2' du fructose ;
- ❖ Trois triplets d'un proton chacun à δ_H 3,97/ δ_c 76,6 ; δ_H 3,68/ δ_c 75,2 et δ_H 3,39/ δ_c 71,8 attribuable respectivement aux protons H-3', H-3 et H-4 ;
- ❖ Un doublet de doublet d'un proton à δ_H 3,48/ δ_c 73,7 attribuable au proton H-2 ;
- ❖ Un singulet de deux protons à δ_H 3,65/ δ_c 63,9 ;
- ❖ Un triplet de quatre protons à δ_H 3,72/ δ_c 65,0 et δ_H 3,72/ δ_c 62,7.

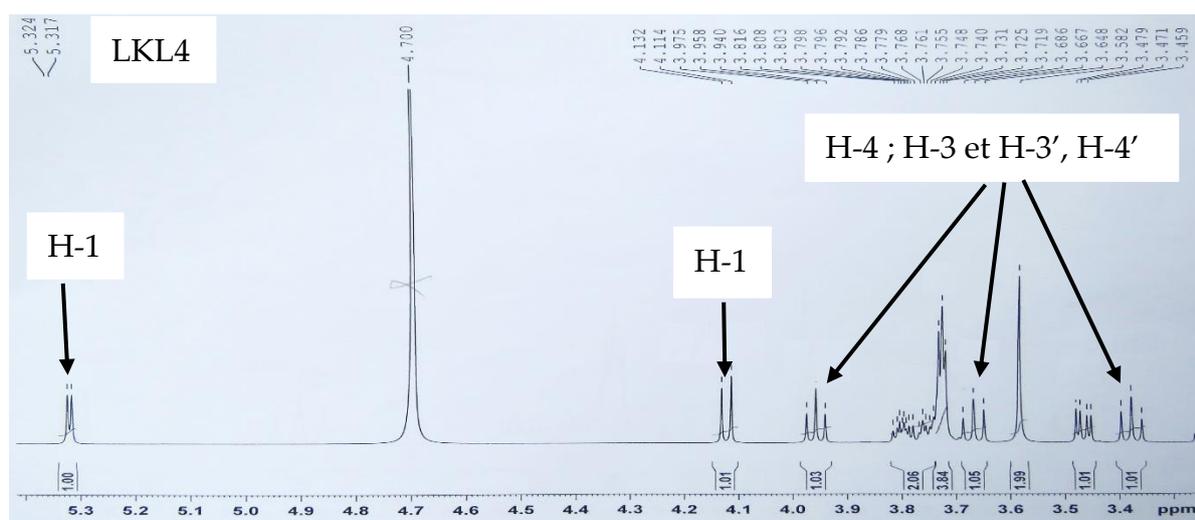


Figure 68 : Spectre de RMN 1H (500 MHz, D_2O) de KLR_4

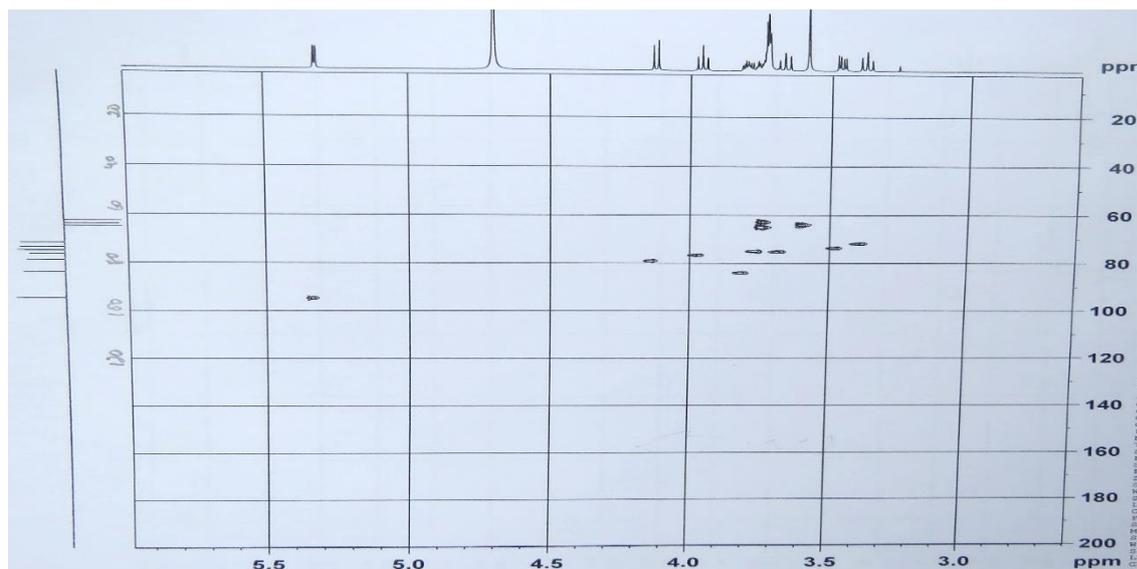


Figure 69 : Spectre DEPT-HSQC de KLR₄

Sur la base de ces informations et en comparaison avec celles de la littérature, la structure **107** a été attribuée au composé KLR₄ qui est celle du Saccharose.

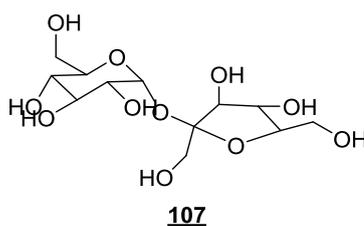


Tableau 30 : Données spectrales de RMN ¹H (500 MHz, D₂O), de RMN ¹³C (125 MHz, D₂O) de KLR₄

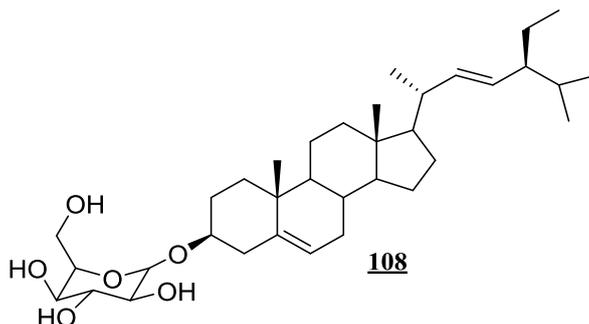
Positions	δ_H en ppm (nH, m, J en Hz)	δ_C en ppm M
1	5,32 (1H, d, 3,5)	94,8 (d)
2	3,48 (1H, dd, 4-4)	73,7 (d)
3	3,68 (1H, t)	75,2 (d)
4	3,39 (1H, t)	71,8 (d)
5	3,76 (1H, m)	75,0 (d)
6	3,73 (2H, t)	65,0 (t)
1'	-	106,3 (s)
2'	4,13 (1H, d, 9)	79,0 (d)
3'	3,97 (1H, t)	76,6 (d)
4'	3,97 (1H, t)	76,6 (d)
5'	3,81 (1H, m)	84,0
6'	3,58 (2H, s)	63,9
7'	3,73 (2H, t)	62,7

II.3.7. Identification du composé PLR₄

Le composé PLR₄ obtenu des feuilles de *L. rugosa* et identique au composé PGN₅ obtenu de la plante entière *P. glandulosus* sous forme de poudre blanche dans le mélange Hex/AcOEt (3 :7). Il est soluble dans la pyridine. Son spectre de RMN¹H (figure 70) montre les pics caractéristiques d'un glucoside de stérol. La CCM comparative avec les échantillons de stérols se trouvant au laboratoire nous a permis de conclure qu'il s'agit du glucoside de sigmastérol **108**.



Figure 70 : Spectre de RMN ¹H (400 MHz, C₅D₅N) de PLR₄



II.3.8. Identification du composé ILR₁₀

Le composé PLR₁₀ obtenu des feuilles de *L. rugosa* sous forme de cristaux blanche dans le mélange Hex/AcOEt (9 :1). Soluble dans le chloroforme, il répond positivement au test de Libermann Buchard en donnant une coloration verdâtre caractéristique des stéroïdes. La CCM comparative avec les échantillons du mélange de stigmasterol et de β -sitostérol se trouvant au laboratoire nous a permis de dire que le composé ILR₁₀ pourrait s'agir d'un mélange stigmasterol et de β -sitostérol. Ceci a été confirmé par son spectre de RMN ¹H (figure 71) sur lequel on observe :

- ❖ Un doublet d'un proton à δ_H 5,33 ppm attribuable au proton oléfinique porté par le carbone C-6 des stéroïdes ;
- ❖ Deux doublets dédoublés d'un proton chacun à δ_H 5,16 et 5,02 ppm attribuable aux protons éthyléniques du stigmasterol H-22 et H-23 ;
- ❖ Un multiplet à δ_H 3,47 ppm correspondant au proton situé au pied de l'hydroxyle en C-3 ;
- ❖ Un ensemble de six signaux entre δ_H 0,68 et 1,1 ppm attribuables aux méthyles des phytostéroïdes.

Sur la base de toutes ces informations, la structure **109** a été attribuée au composé ILR₁₀ qui est un mélange de stigmasterol et de β -sitostérol.

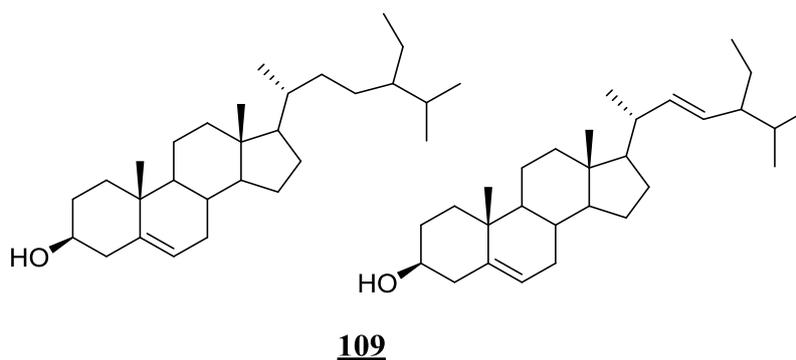




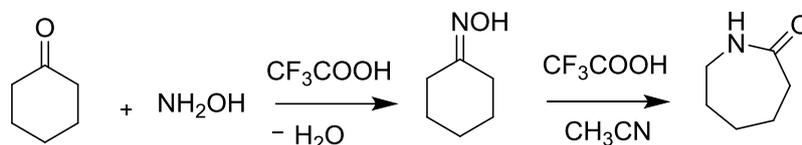
Figure 71 : Spectre de RMN ^1H (400 MHz, CDCl_3) de PLR₁₀

II.4. Quelques transformations chimiques

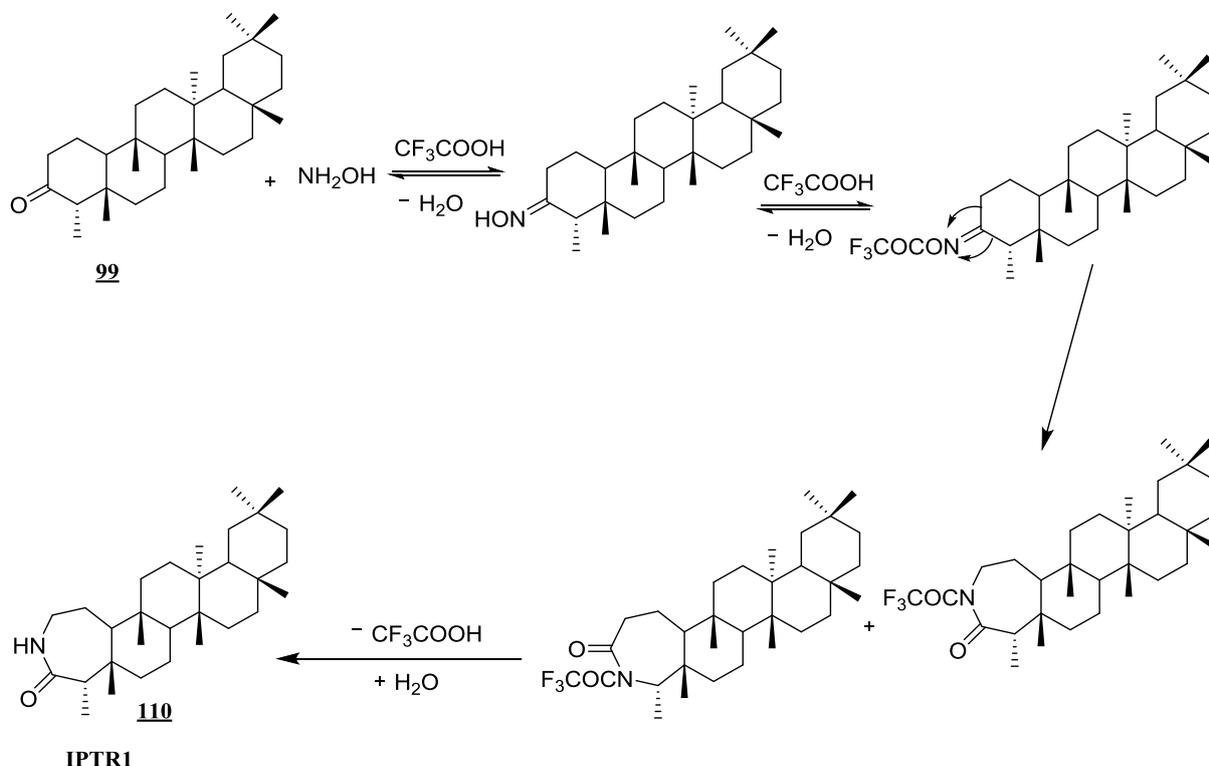
La deuxième partie de ce travail a consisté à faire des transformations chimiques sur des composés isolés en quantités appréciables, en vue non seulement de confirmer leur structure par voie chimique mais aussi de pouvoir faire une étude de la relation structure-activité. C'est ainsi que nous nous sommes intéressés aux composés **IPT₁** (frideline **99**) et **ILR₃** (2,4-diméthylpyridine-3,5-diol **105**).

II.4.1. Transposition de Beckmann

La transposition de Beckmann est une réaction de conversion des cyclohexanone en caprolactame en présence de l'hydroxylamine et catalysée par l'acide trifluoroacétique selon la réaction suivante.



C'est ainsi que la transposition de Beckmann sur le composé **IPT₁** a permis d'obtenir le composé **IPTR₁** selon le mécanisme suivant.



Cette réaction a été confirmée par l'apparition sur le spectre de RMN ^1H (figure 59) du signal d'un proton en singulet caractéristique du proton de l'amide à δ_{H} 8,29 (1H, s) et le déblindage des protons des carbones C-1 et C-2 du cycle A dû à l'introduction de la fonction amide.

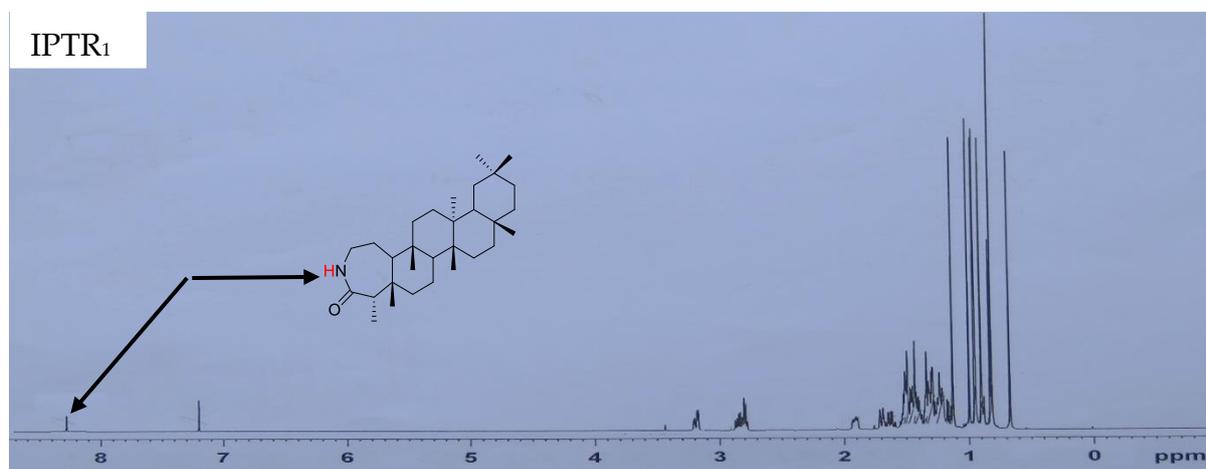
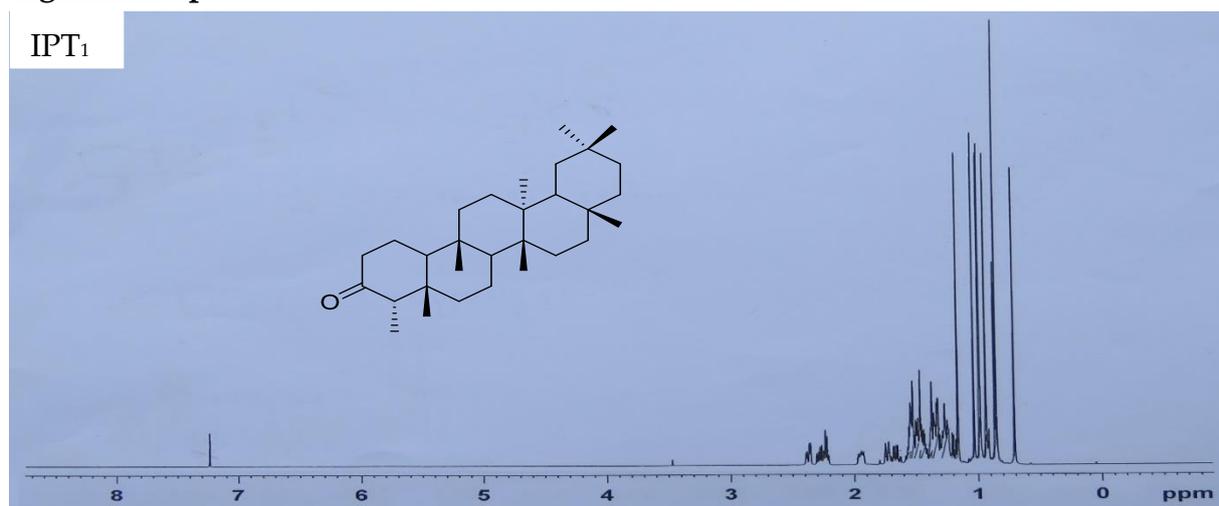
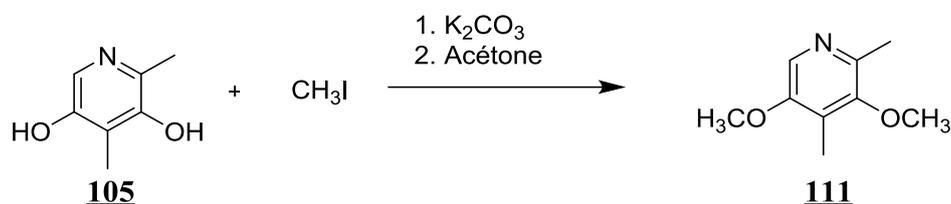


Figure 72 : Spectre de RMN ^1H (500 MHz, CDCl_3) de IPTR₁



II.4.2. Méthylation

La réaction de méthylation sur le composé **ILR₃ 105** a été réalisée avec de l'iodure de méthyle (CH₃I) en présence du carbonate de potassium (K₂CO₃) et de l'acétone selon la réaction :



Cette réaction a été confirmée par la disparition sur le spectre proton (figure 63) du singulet à δ_H 11,08 et l'apparition de deux singulets à δ_H 3,96 et 3,65 caractéristiques des méthoxyles.

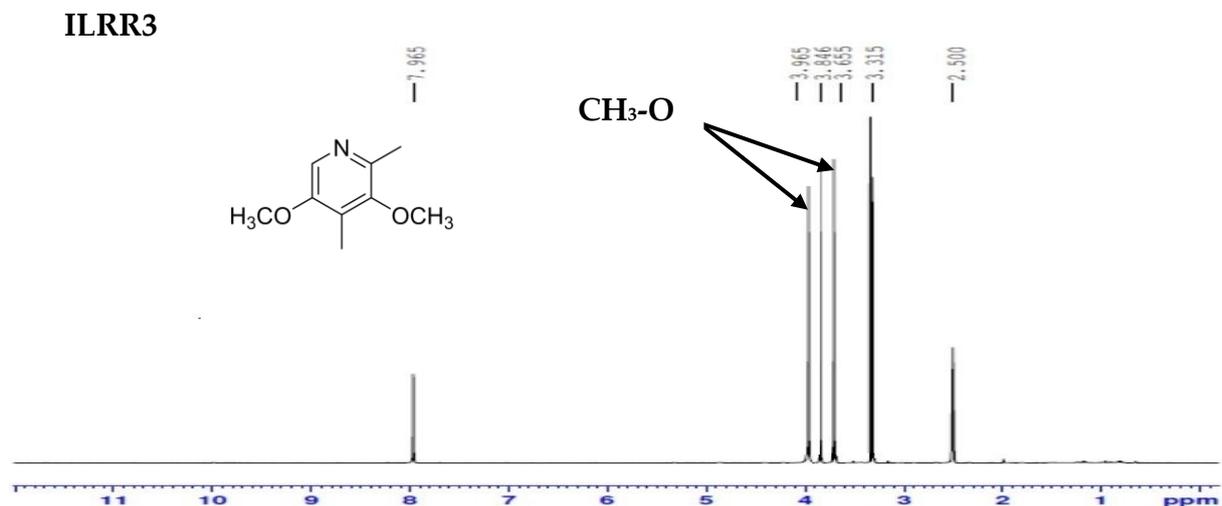
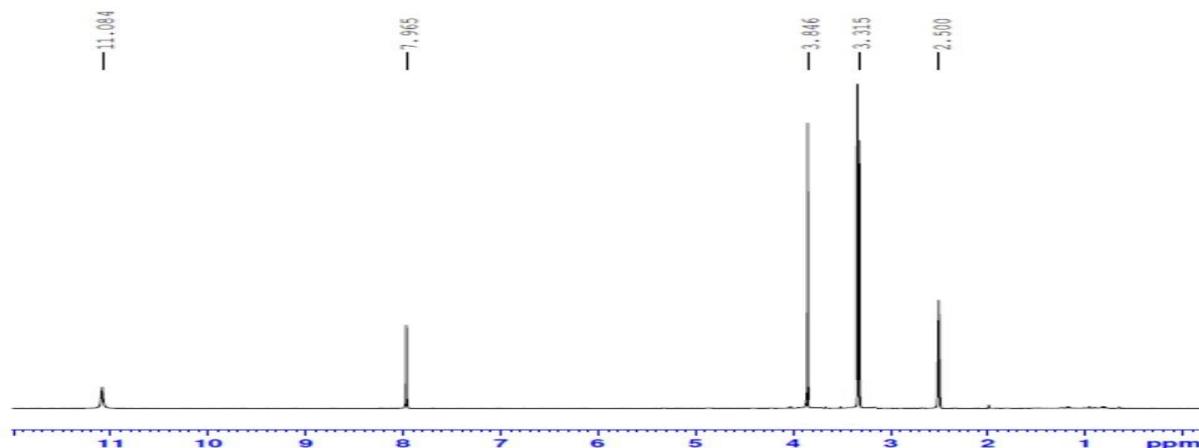


Figure 73 : Spectre de RMN ¹H (400 MHz, DMSO) du composé ILRR₃



II.5. Activités biologiques des extraits et des composés purs

Les extraits des feuilles de *L. rugosa* et de la plante entière de *P. glandulosus* ont été évalués pour leurs activités insecticides et antioxydantes. Certains composés purs isolés ont été évalués uniquement pour leurs activités antioxydantes.

II.5.1. Activités insecticides

II.5.1.1. Activité insecticides des extraits bruts des deux plantes

Les résultats des tests insecticides des différents extraits de *L. rugosa* sont présentés dans le tableau (31) et *P. glandulosus* dans le tableau (32).

Tableau 31 : Taux de mortalité de *Sitophilus zeamais* à différente concentration des extraits de *L. rugosa*

Concentration C(%)	Jour 1	Jour 2	Jour 3	Jour 4	Jour 7
Hexane					
0.1	5.00±5.00 ^a	13.75±11.25 ^a	17.50±10.00 ^a	28.75±13.13 ^a	43.75±21.25 ^a
0.2	7.50±5.00 ^{ab}	12.50±7.50 ^a	22.50±8.75 ^a	30.00±7.50 ^a	41.25±8.75 ^a
0.4	7.50±5.00 ^{ab}	13.75±4.38 ^a	27.50±8.75 ^a	36.25±6.88 ^a	52.500±7.50 ^{ab}
1	18.75±9.38 ^b	22.50±10.00 ^a	31.25±8.75 ^a	40.00±2.50 ^a	71.250±3.75 ^b
Malathion	80.00±2.50 ^c	100.00±0.00 ^b	100.00±0.00 ^b	100.00±0.00 ^b	100.00±0.00 ^c
F (p)	66.430 (0.020)	58.080 (0.030)	38.840 (0.020)	30.170 (0.020)	11.990 (0.008)
Acétate d'éthyle					
0.1	2.50±2.50 ^a	2.50±2.50 ^a	6.25±4.38 ^a	11.25±6.88 ^a	16.25±8.75 ^a
0.2	0.00±0.00 ^a	5.00±2.50 ^a	13.75±8.75 ^a	23.75±6.88 ^{ab}	30.00±7.50 ^a
0.4	1.25±1.88 ^a	7.50±3.75 ^a	17.50±5.00 ^a	33.75±8.13 ^b	55.00±7.50 ^b
1	15.00±2.50 ^b	25.00±5.00 ^b	38.75±8.75 ^b	61.25±11.25 ^c	83.75±11.25 ^b
Malathion	80.00±2.50 ^d	100.00±0.00 ^c	100.00±0.00 ^c	100.00±0.00 ^d	100.00±0.00 ^d
F (p)	488.610(0.002)	407.550(0.003)	89.020 (0.003)	52.640 (0.002)	46.850 (0.001)
Ethanol					
0.1	3.75±3.75 ^a	5.00±2.50 ^a	6.25±1.88 ^a	11.25±1.88 ^a	32.50±5.00 ^a
0.2	7.50±3.75 ^a	8.75±3.75 ^{ab}	12.50±2.50 ^b	18.75±3.75 ^{ab}	36.25±6.25 ^a
0.4	7.50±2.50 ^a	10.00±2.50 ^{ab}	13.75±3.75 ^b	21.25±6.25 ^{bc}	56.25±6.25 ^b
1	10.00±5.00 ^a	13.75±1.88 ^b	20.00±2.50 ^c	28.75±4.38 ^c	67.50±7.50 ^b
Malathion	80.00±2.50 ^b	100.00±0.00 ^c	100.00±0.00 ^d	100.00±0.00 ^d	100.00±0.00 ^c
F (p)	200.530(0.020)	528.750(0.008)	566.130(0.003)	186.220(0.004)	50.360 (0.002)
Méthanol					
0.1	0.00±0.00 ^a	0.00±0.00 ^a	3.75±1.88 ^a	3.75±1.88 ^a	36.25±16.25 ^a
0.2	6.25±4.38 ^{ab}	10.00±2.50 ^b	13.75±3.75 ^b	27.50±7.50 ^b	60.00±10.00 ^b
0.4	12.50±5.00 ^{bc}	16.25± 3.75 ^c	18.75±4.38 ^b	26.25±6.25 ^b	60.00±5.00 ^b
1	18.75±3.75 ^c	26.25±3.75 ^d	28.75±4.38 ^c	43.75±3.75 ^c	81.25±3.75 ^c
Malathion	80.00±2.50 ^d	100.00±0.00 ^c	100.00±0.00 ^d	100.00±0.00 ^d	100.00±0.00 ^d
F (p)	162.420(0.003)	512.150(0.001)	273.980(0.002)	125.300(0.002)	16.010 (0.003)

Les valeurs suivies de la même lettre ne sont pas significativement différentes dans la même colonne et pour le même extrait.

Tableau 32 : Taux de mortalité des *Sitophilus zeamais* à différente concentration des extraits de *P. glandulosus*

Concentration C(%)	Jour 1	Jour 2	Jour 3	Jour 4	Jour 7
Hexane					
0.1	1.250±1.875 ^a	1.250±1.875 ^a	16.250±3.750 ^a	32.500±12.500 ^a	52.500±7.500 ^a
0.2	1.250±1.875 ^a	8.750±3.750 ^b	28.750±9.375 ^a	50.000±22.500 ^a	76.250±8.125 ^b
0.4	2.500±2.500 ^a	15.000±5.000 ^a	53.750±1.875 ^b	85.000±2.500 ^b	93.750±3.750 ^{ab}
1	3.750±1.875 ^a	41.250±6.875 ^c	78.750±6.875 ^c	96.250±1.875 ^b	98.750±1.875 ^c
Malathion	80,000±2,500 ^b	100,000±0,000 ^d	100,000±0,000 ^d	100,000±0,000 ^b	100,000±0,000 ^c
F (p)	554,070 (0,000)	191.910 (0,000)	81.940 (0,000)	16.570 (0,000)	33.240 (0,000)
Acétate d'éthyle					
0.1	0.0000±0.000 ^a	2,5000±2,500 ^a	17.500±2.500 ^a	25.000±2.500 ^a	77.500±2.500 ^a
0.2	1.250±1.875 ^a	5.000±2,500 ^{ab}	20.000±5.000 ^{ab}	45.000±5.000 ^{ab}	80.000±5.000 ^a
0.4	3.750±1.875 ^a	10.000±5.000 ^{ab}	35.000±7.500 ^{bc}	63.750±3.750 ^c	82.500±7.500 ^a
1	3.750±1.875 ^a	17.500±17.500 ^b	42.500±10.000 ^c	81.250±6.875 ^d	97.500±2.500 ^b
Malathion	80.000±2.500 ^b	100.000±0.000 ^c	100.000±0.000 ^d	100.000±0.000 ^e	100.000±0.000 ^b
F (p)	685.320(0.000)	203.770(0,000)	70.930(0.000)	88.610(0,000)	17.500(0,000)
Ethanol					
0.1	1.250±1.875 ^a	3.750±1.875 ^a	23.750±11.250 ^a	40.000±7.500 ^a	80.000±10.000 ^a
0.2	1.250±1.875 ^a	3.750±3.750 ^a	30.000±7.500 ^{ab}	45.000±2.500 ^a	83.750±1.875 ^a
0.4	2.500±2,500 ^a	3.750±1.875 ^a	36.250±6.250 ^{ab}	48.750±1.875 ^{ab}	86.250±3.750 ^{ab}
1	2.500±2.500 ^a	11.250±6.250 ^a	43.750±1.875 ^b	57.500±1.875 ^b	90.000±2.500 ^{bc}
Malathion	80.000±2.500 ^b	100.000±0.000 ^b	100.000±0.000 ^c	100.000±0.000 ^c	100.000±0.000 ^b
F (p)	532.840(0.000)	390.950(0.000)	51.040(0.000)	79.180(0.000)	5.090(0,001)
Méthanol					
0.1	1.250±1.875 ^a	5.000±2.500 ^a	25.000±7.500 ^a	33.750±6.250 ^a	86.250±1.875 ^a
0.2	1.250±1.875 ^a	5.000±2,500 ^a	26.250±6.250 ^a	35.000±7,500 ^a	87.500±2.500 ^a
0.4	1.250±1.875 ^a	5.000±0.000 ^a	28.750±6.250 ^a	37.500±7.500 ^a	91.250±3.750 ^{ab}
1	1.250±1.875 ^c	5.000±2.500 ^a	30.000±5.000 ^a	40.000±10.000 ^a	95.000±2.500 ^{bc}
Malathion	80.000±2.500 ^b	100.000±0.000 ^b	100.000±0.000 ^b	100.000±0.000 ^b	100.000±0.000 ^c
F (p)	595.350(0,000)	722.000(0,000)	75.590(0.000)	37.590(0.000)	11.710(0.000)

Les valeurs suivies de la même lettre ne sont pas significativement différentes dans la même colonne et pour le même extrait.

Il a été constaté que les taux de mortalité des insectes provoqués par les différents extraits ont augmenté en fonction des concentrations et de la durée d'exposition (tableau 31 et 32). Les différences de mortalités entre les concentrations sont plus significatives à partir du quatrième jour avec $p < 5\%$. Au vu des résultats et pour *Lippia rugosa* au septième jour à la concentration de 1%, l'extrait le plus actif a été l'extrait à l'acétate d'éthyle avec un taux de mortalité de $83,75 \pm 11,25\%$ suivi de l'extrait à l'éthanol avec un taux de mortalité de $81,25 \pm 3,75\%$. En ce qui concerne les extraits de *P. glandulosus*, le taux de mortalité a été significatif au quatrième jour

d'exposition soient $96,250 \pm 1,875\%$ pour l'extrait à l'hexane ; $81,250 \pm 6,875\%$ pour l'extrait à l'acétate d'éthyle ; $57,500 \pm 1,875\%$ pour l'extrait à l'éthanol et $40,000 \pm 10,000\%$ pour le méthanol. Au septième jour d'exposition le taux de mortalité des différents extraits a été comparable au Malathion, soient $98,750 \pm 1,875\%$; $97,500 \pm 2,500\%$; $90,000 \pm 2,500\%$ et $95,000 \pm 2,500\%$ pour l'extrait à l'hexane, acétate d'éthyle, éthanol et méthanol, respectivement. D'une manière générale il a été constaté que le taux de mortalité était élevé pour l'extrait à l'acétate d'éthyle de *L. rugosa* et presque tous les extraits de *P. glandulosus* induisent une mortalité élevée, au bout de 7 jours d'incubation. Ce taux de mortalité serait dû à la présence des monoterpènes et des triterpènes dans ces extraits.

En outre, il a été constaté que le Malathion utilisé ici comme témoin positif a tué $80,00 \pm 2,50\%$ au premier jour et 100% de mortalités est atteint au deuxième jour. Or les extraits des deux plantes ont tué en moyenne 80% des insectes au septième jour à la concentration de 1%. Ceci nous permet de démontrer qu'à la concentration de 1%, nos extraits se comportent exactement comme le Malathion. Une augmentation du temps d'exposition potentialiserait plus nos extraits ce qui est en accord avec les travaux de Gwinner *et al.*, 1998.

II.5.2. Activité antioxydante

II.5.2.1. Résultats de l'activité antioxydante sur les extraits des deux plantes

Les résultats des tests antioxydants des différents extraits de *L. rugosa* sont présentés dans le tableau (33) et *P. glandulosus* dans le tableau (34).

Tableau 33 : Pourcentage de réduction du DPPH° à différentes concentration des extraits de *L. rugosa*

Concentrations (µg/ml)	Acétate d'éthyle	Ethanol	Méthanol	BHA
20	2,512±0,064 ^a	14,514±0,679 ^a	5,795±0,050 ^a	30,243±1,911 ^a
40	4,726±0,071 ^a	31,382±0,437 ^b	15,723±2,126 ^b	52,052±2,294 ^b
60	7,595±0,230 ^b	48,186±0,661 ^c	30,763±0,466 ^c	70,013±0,555 ^c
80	10,801±0,040 ^c	76,236±1,602 ^d	45,993±0,586 ^d	88,174±0,462 ^d
100	12,297±1,695 ^d	85,668±1,233 ^e	55,331±0,501 ^e	97,267±0,894 ^e
F(p)	46,500(0,012)	1309,440(0,009)	541,730(0,009)	611,510(0,009)

Les valeurs suivies de la même lettre ne sont pas significativement différentes dans la même colonne et pour le même extrait.

Tableau 34 : Pourcentage de réduction du DPPH° à différentes concentration des extraits de *P. glandulosus*

Concentrations (µg/ml)	Acétate d'éthyle	Ethanol	Méthanol	BHA
20	35,520±0,440 ^a	38,956±0,782 ^a	35,593±0,831 ^a	47,363±0,582 ^a
40	75,213±1,462 ^b	73,770±3,006 ^b	73,753±2,877 ^b	76,676±2,291 ^b
60	80,843±2,244 ^{bc}	80,333±0,391 ^c	76,456±2,535 ^b	87,428±1,800 ^c
80	86,106±2,877 ^{cd}	85,666±2,144 ^c	79,223±0,768 ^b	92,536±1,168 ^{cd}
100	90,420±0,973 ^d	94,586±1,071 ^d	87,056±0,582 ^c	96,046±1,024 ^d
F(p)	234,340 (0,008)	253,910 (0,010)	200,980 (0,009)	280,970 (0,009)

Les valeurs suivies de la même lettre ne sont pas significativement différentes dans la même colonne et pour le même extrait.

Il ressort de ces tableaux que le pourcentage de réduction du DPPH° croît avec la concentration des extraits. En ce qui concerne les extraits de *L. rugosa*, l'extrait à l'éthanol est plus antiradicalaire avec un pourcentage réduction de 85,668±1,233% à la concentration de 100 µg /ml. Il à été également constaté qu'à chaque concentration, il y avait une différence significative entre les extraits au seuil de probabilité $p < 5\%$. Cette activité antioxydante élevée des extraits à l'éthanol et au méthanol seraient probablement dû à la présence des flavonoïdes qui sont des composés fortement antioxydant (Maria *et al.*, 2006; Hennebelle *et al.*, 2008). Les extraits de *P. glandulosus* ont tous exhibé de bonnes activités antioxydantes. En observant le tableau 35 qui présente la CE₅₀ (concentration en antioxydant nécessaire pour réduire de moitié la

quantité de DPPH° initialement présent dans le milieu), on constate que l'extrait à l'éthanol des deux plantes a une CE₅₀ inférieure aux autres extraits.

Tableau 35: Concentration à l'équivalence (CE₅₀) des différents extraits de *L. rugosa* et *P. glandulosus*

<i>Lippia rugosa</i>				
	Acétate d'éthyle	Ethanol	Méthanol	BHA
CE ₅₀ (µg/ml)	393	58	91	43,5
R ²	0,993	0,987	0,982	0,973

<i>Plectranthus glandulosus</i>				
	Acétate d'éthyle	Ethanol	Méthanol	BHA
CE ₅₀ (µg/ml)	28	27	30	15
R ²	0,958	0,990	0,975	0,957

II.5.2.2. Résultats de l'activité antioxydante sur quelques composés isolés

L'activité antioxydante a été évaluée sur 8 composés isolés. Le tableau 36 présente les concentrations à l'équivalence de quelques composés isolés.

Tableau 36 : Concentration à l'équivalence (CE₅₀) de quelques composés isolés de *L. rugosa* et de *P. glandulosus*

Composés	DPPH		FRAP	
	CE ₅₀ (μ M/ml) \pm S.D	R ²	CE ₅₀ (μ M/ml) \pm S.D	R ²
ILR ₂₀	0,208 \pm 0,029	0,9592	0,322 \pm 0,026	0,9971
PGN ₁	0,559 \pm 0,026	0,9937	0,755 \pm 0,028	0,98.47
PGN ₂	0,749 \pm 0,017	0,9363	0,817 \pm 0,026	0,9548
LRF ₄	0,673 \pm 0,021	0,9660	0,809 \pm 0,025	0,9760
PGN ₆	0,185 \pm 0,012	0,9720	0,339 \pm 0,020	0,9909
KLR ₁	0,740 \pm 0,016	0,9230	0,819 \pm 0,022	0,9650
PLR ₁	0,545 \pm 0,028	0,9540	0,720 \pm 0,025	0,9950
PLR ₁₁	0,574 \pm 0,033	0,9752	0,744 \pm 0,021	0,9650
BHT	-	-	0,092 \pm 0,007	0,9966
BHA	0,029 \pm 0,001	0,9526	-	-

Il ressort de ce tableau que des 7 flavonoïdes testées (ILR₂₀ ; PGN₁ ; PGN₂ ; LRF₄ ; KLR₄ ; PLR₁ et PLR₁₁), 6 possèdent une activité modérée comparativement à celle de la référence (BHT). Les deux composés nouveaux à savoir la flavonoïde (ILR₂₀) et le monoterpène (PGN₆) exhibent respectivement une activité antioxydante de (0,208 \pm 0,029 et 0,185 \pm 0,012 μ M/ml) pour le DPPH° et (0,322 \pm 0,026 et 0,339 \pm 0,020 μ M/ml) pour la méthode FRAP.

Conclusion générale et perspectives

L'objectif que nous étions fixés au début de ce travail était d'entreprendre une étude chimique et biologique des métabolites secondaires de *Lippia rugosa* et de *Plectranthus glandulosus*. Au terme de ce travail :

Au plan chimique nous avons isolé à l'aide des méthodes chromatographiques sur colonne de gel de silice 19 composés distincts qui appartiennent à plusieurs classes de substances naturelles à savoir :

Sept flavonoïdes de type flavone dont un dérivé nouveau 7-hydroxyl-5,6,2',4'-tétraméthoxyflavone **88** auquel nous avons donné le nom trivial de plectranmicine **88**, les cinq autres connus ayant été identifiés à la 5-hydroxy-3,7,2',4'-tétraméthoxyflavone **94**, 5,7-dihydroxy-3,2',4'-triméthoxyflavone **95**, 7-hydroxy-5,6,4'-triméthoxyflavone **89**, 5,4'-dihydroxy-3,7-diméthoxyflavone **96**, 5-hydroxy-6,7,4'-triméthoxyflavone **91**, 5-hydroxy-3,7,4'-triméthoxyflavone **90**.

Six triterpènes pentacycliques tous connus dont 4 dérivés de type lupane : lup-20(29)-èn-3 β ,28-diol **101** (bétuline), lup-20(29)-èn-3 β -ol **102** (lupéol), acétate de lupéol **103** acide bétulinique **100**; un dérivé des ursanes 3 β -hydroxy-urs-12-èn-3-ol **104** (α -amyrine) et un dérivé de fridelane (fridelan-3-one) **99**;

Un monoterpène nouveau (-)-(1R,2S,3S,4R)-*p*-menthane-1,2,3-triol **98** auquel nous avons attribué le nom de plectranmicinol ;

Un alcaloïde connu identifié à la 2,4-diméthylpyridine-3,5-diol **105**;

Un alcool gras connu le cosanol **106**;

Un sucre connu le saccharose **107**;

Deux stérols tous connus dont l'un a été identifié au glucoside de 3-O- β -D-glucopyranosyl de sigmastérol **108** et l'autre à un mélange de stigmastérol et β -sitostérol **109**.

La détermination des structures de tous ces composés a été rendue possible grâce à une analyse de leurs données spectrales, en particulier, la RMN ^1H et ^{13}C uni

et bidimensionnelles en association avec la spectrométrie de masse faisant appel non seulement à l'impact électronique et à l'ionisation chimique, mais aussi aux méthodes d'ionisation douce telles que l'électrospray et le FAB. La stéréochimie relative du monoterpène a été établie par les méthodes faisant intervenir le pouvoir rotatoire, et la cristallographie aux rayons X.

La deuxième partie de notre travail a consisté à faire des transformations chimiques dans le but d'une part, de confirmer la structure et d'autre part, dans la mesure du possible une étude de la relation structure-activité. C'est ainsi que la transposition de Beckman effectuée sur la fridelan-3-one **99**, au moyen de l'hydroxylamine catalysée par l'acide trifluoroacétique a permis d'obtenir le caprolactame **110**. La réaction de méthylation sur la 2,4-diméthylpyridine-3,5-diol **105** au moyen d'iodure de méthyle en présence du carbonate de potassium et de l'acétone a permis d'obtenir la 2,4-diméthyl-3,5-diméthoxypyridine **111**.

Au plan biologique, les extraits de *L. rugosa*, de *P. glandulosus* et certains composés purs isolés ont été évalués pour leurs activités insecticide et antioxydante. S'agissant de l'activité insecticide, les résultats obtenus ont montré une bonne activité pour les deux plantes avec un taux de mortalité de (83,75± 11,25)% pour l'extrait à l'acétate d'éthyle de *L. rugosa* et un taux de mortalité de plus de 90% pour les extraits de *P. glandulosus* vis-à-vis du *Sitophilus zeamais*. Pour ce qui concerne l'activité antioxydante à l'égard du DPPH°, l'extrait à l'éthanol de *L. rugosa* est le plus actif avec un pourcentage d'inhibition de (85,668± 1,233)% à la concentration de 100 µg/ml. Par contre tous les extraits de *P. glandulosus* ont présenté une bonne activité, mais l'extrait à l'éthanol est le plus actif avec une inhibition de (94,586±1,071)% à la même concentration.

En ce qui concerne l'activité antioxydante de quelques composés purs isolés, la plectranmicin **88**, 5-hydroxy-3,7,2',4'-tétraméthoxyflavone **94**, 5,7-dihydroxy-3,2',4'-triméthoxyflavone **95**, 7-hydroxy-5,6,4'-triméthoxyflavone **89**, 5,4'-dihydroxy-3,7-diméthoxyflavone **96**, 5-hydroxy-6,7,4'-triméthoxyflavone **91**, 5-hydroxy-3,7,4'-

triméthoxyflavone **90**, et (-)-(1R,2S,3S,4R)-*p*-menthane-1,2,3-triol (Plectranmicinol) **98**, ont été testés pour leur pouvoir réducteur (DPPH°) et chélatant (FRAP). Les résultats montrent que la flavonoïde nouvelle plectranmicine **88** et le monoterpénol nouveau plectranmicinol **98** sont les plus actifs avec une CE₅₀ de (0,322 ± 0,026) et (0,339 ± 0,020) µM/ml pour la méthode FRAP et (0,208 ± 0,029) et (0,185 ± 0,012) µM/ml pour DPPH° respectivement.

Au vu de tous ces résultats, l'utilisation de *L. rugosa* et *P. glandulosus* dans la protection des denrées alimentaires et comme thé pour un apport en antioxydant serait due à la présence en leur sein de molécules présentant des activités biologiques que nous venons de décrire plus haut.

Pour nos investigations futures, nous envisageons, d'une part, de faire les tests insecticides sur les composés isolés et d'étudier la toxicité aussi bien aiguë que chronique des différents extraits et des composés purs isolés des deux plantes pour une rationalisation de leur utilisation dans la protection des denrées alimentaires, d'autre part, de faire les transformations chimiques sur les composés purs ayant présentés des activités biologiques intéressantes afin de faire une étude relative à la structure-activité.

Chapitre III : Partie Expérimentale

III.1. Généralités

Les points de fusion (non corrigés) ont été mesurés à l'aide d'un appareil de type Büchi (Büchi melting point M-560).

Les pouvoirs rotatoires ont été déterminés dans le méthanol, sur un polarimètre de type Perkin-Elmer, model 243.

Les spectres de dichroïsme circulaire (CD) ont été enregistrés à l'aide d'un spectromètre de type Jasco (Jasco J 500).

Les spectres Infra-Rouge (IR) ont été enregistrés à l'aide d'un spectrophotomètre Infra-Rouge à transformée de Fourier de type Shimadzu 8900 sur pastille de KBr. Les positions des bandes d'absorption sont exprimées en cm^{-1} .

Les spectres Ultraviolet (UV) ont été enregistrés à l'aide d'un spectrophotomètre de type Thermo Electron-Vision pro Software V4.10. Les longueurs d'onde sont exprimées en nm.

Les spectres de masse ont été enregistrés en mode positif sur un spectromètre de masse de type Varian MAT 731 (pour les spectres en impact électronique) ou à l'aide d'un spectromètre de type Finnigan LCQ (pour les spectres electrospray) ; tous ces appareils étant équipés d'un analyseur à temps de vol. La haute résolution (HRESIMS) a été réalisée sur un spectromètre de masse de type micromasse LCT couplé à un appareil HPLC (HP 1100).

Les expériences de Résonance Magnétique Nucléaire (RMN) à une et à deux dimensions ont été effectuées dans des solvants deutériés (CDCl_3 , $\text{DMSO-}d_6$, $\text{Pyridine-}d_5$, CD_3OD , $\text{Acétone-}d_6$) sur un spectromètre à transformée de Fourier de type Bruker Avance (400, 500, 600 et 800MHz).

Les déplacements chimiques des protons (^1H) et des carbones (^{13}C) sont exprimés en *ppm* et les constantes de couplage *J* en Hz.

Les chromatographies sur colonne ont été réalisées sur des colonnes de diamètres variables en utilisant comme phase stationnaire un gel de silice 60 Merck, de granulométrie comprise entre 63-200 et 230-400 mesh d'une part, et le séphadex LH-20 de type Pharmacia d'autre part. Les chromatographies flash ont été réalisées sur une colonne (12 x 10 cm) de porosité 2. Les différentes fractions ont été concentrées sur un évaporateur rotatif de type Heidolph vv 2000 ou de type Büchi RE-111.

La chromatographie liquide haute pression (HPLC) a été réalisée sur un instrument de type JASCO MD-910.

Pour les chromatographies sur couche mince, elles ont été pratiquées sur des plaques d'aluminium recouvertes de silice G.60 de type Kiesselgel GF254 (Merck, Darmstadt, Germany). Les plaques de CCM ont été révélées soit à la lumière UV (254 et 366 nm), soit à la vapeur d'iode, soit par pulvérisation avec une solution d'acide sulfurique 10 % suivi d'un chauffage à l'étuve à 100 °C.

III.2. Matériels utilisés

III.2.1. Matériel végétal

Les tiges et feuilles de *L. rugosa* ont été récolté respectivement en Août 2012 et Août 2017 dans la savane de type Guinéenne du campus de l'Université de Ngaoundéré région de l'Adamaoua, référencé par la latitude 07°25,11'N, de longitude 13°22,5'E et l'altitude 1063m. Par contre, *P. glandulosus* a été récolté en Août 2017 dans la région de l'Adamaoua au quartier Bibakala (champs de prière) au point de latitude 7°22'N, de longitude 13°34'E et d'altitude 1100m. Les deux plantes ont été identifiées par le professeur Mapongmetsem (Agro forestier) et enseignant du Département des Sciences Biologiques de la Faculté des sciences de l'Université de Ngaoundéré.

III.2.2. Maïs

Le maïs utilisé pour notre étude est la variété « Shaba » achetée au petit marché de Ngaoundéré. Ce maïs a été d'abord trié dans le but de retirer du stock les brisures, les résidus. Le maïs obtenu après le triage a été conservé dans des paquets

en plastique hermétiquement fermés. Puis, il a été déposé pendant 10 jours dans un congélateur à -5°C afin d'être débarrassé de tout organisme vivant. Après les 10 jours, le maïs a été retiré et déposé au laboratoire. Il a été conservé au laboratoire pendant 24 heures avant les bios essais, le temps d'acclimatation aux conditions du laboratoire.

III.2.3. Matériel animal

Les insectes ont été élevés à l'Unité de Recherches Entomologiques de l'ENSAI avec les échantillons se trouvant déjà au laboratoire. Un élevage intensif de la souche 91Z/BF-DL/01 de *S. zeamais* a été mis au point en vue d'obtenir des insectes en quantité suffisante pour les bios essais. Pour ce faire, des échantillons de 20 insectes adultes ont été chacun introduits dans un pot en verre transparent d'une capacité de 1200ml contenant 200g de maïs sains. Ces pots ont été fermés avec des couvercles préalablement percés pour permettre l'aération de l'enceinte. Après 2 semaines, les insectes ont été retirés. Après émergence, le maïs était de nouveau tamisé et les adultes de moins de deux mois d'âge ont constitué la population expérimentale.

S. zeamais est un charançon qui appartient à l'ordre des coléoptères et à la famille des curculionidae. Il mesure entre 2,5 et 5 mm de longueur et est rencontré dans les régions tropicales et subtropicales (Gwinner *et al.*, 1989). L'adulte a une couleur brun-rouge ou noire avec deux tâches claires jaunâtres sur chaque élytre. Il présente un dimorphisme sexuel, et c'est un bon volier (Delobel et Tran, 1993). Il possède un long rostre caractéristique et des antennes coudés en massues. Le rostre du mâle est plus court, plus épais et moins lisse que celui de la femelle. La larve vit obligatoirement dans le grain et est apode de couleur blanche.

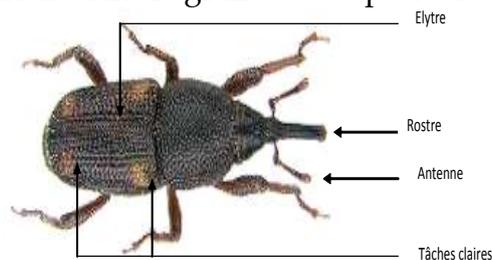


Figure 64: Adulte de *Sitophilus zeamais* Motsch (Jörg et al., 2004)

III.3. Extraction, isolement et purification des composés

III.3.1. Extraction et Fractionnement

Deux types d'extraction ont été réalisés. Dans un premier temps les extraits ont été obtenus par macération à la température ambiante pendant 4 heures et sous agitation mécanique. En effet, 500g de poudre de *L. rugosa* et *P. glandulosus* ont été macérés successivement dans différents solvants de polarité croissante (hexane, acétate d'éthyle, éthanol et méthanol). Puis laissées au repos pendant 10 minutes pour décantation et ensuite filtrées. Le filtrat a été concentré à l'aide d'un évaporateur rotatif, sous pression réduite et sous vide. Ce qui nous a permis d'obtenir les résultats présentés dans le tableau suivant.

Tableau 37 : Résultats d'extraction par des solvants de polarité croissante

Plantes	Parties de la plante	Hexane	Acétate d'éthyle	Ethanol	Méthanol
<i>L. rugosa</i>	Tiges	13,16 g	10 g	15,6 g	12,4 g
	Feuilles	16,15 g	13,02 g	21,7 g	26,4 g
<i>P. glandulosus</i>	Plante entière	11 g	17,2 g	24 g	27,2 g

Ces extraits ont été utilisés pour réaliser les tests insecticide et antioxydant.

Une seconde extraction a été réalisée, la plante entière de *P. glandulosus* découpée, séchée puis broyée à fournir une poudre de 3 kg qui a été extraite par macération à température ambiante dans le mélange dichlorométhane-méthanol (1 :1) pendant 48 heures. Après filtration, la solution résultante a été concentrée par évaporation du solvant sous pression réduite au moyen d'un évaporateur rotatif, pour obtenir 210 g d'extrait brut. Un traitement similaire appliqué successivement à 7 kg de poudre des tiges et 6 kg de poudre des feuilles de *L. rugosa* nous a permis d'obtenir respectivement 175 g et 250 g d'extraits bruts. Un dégrossissement par chromatographie flash sur gel de silice de l'extrait brut de *P. glandulosus* nous a

permis d'obtenir 4 fractions : la fraction à l'hexane F1 ; au dichlorométhane F2 ; acétate d'éthyle F3 et au méthanol F4.

III.3.1.1. Isolement et purification des composés

III.3.1.1.1. Isolement et purification de la fraction F2+F3 de *P. glandulosus*

Sur la base de la CCM la fraction F2 et F3 de *P. glandulosus* ont été mélangé pour donner la fraction F(45g) qui a été chromatographiée sur une colonne de gel de silice de granulométrie 230-400 mesh et éluée avec un mélange hexane-acétate d'éthyle ; acétate d'éthyle-méthanol de polarité croissante. 290 fractions de 50 mL chacune ont été collectées et réunies suivant la CCM analytique comme indiqué dans le tableau 36 ci-après.

Tableau 38 : Chromatogramme de la fraction issue du mélange de F1 et F2

Eluant	Fractions	Séries	Observations
Hexane	1-13	S1	Mélange huileux présentant des traîné sur CCM
Hex-AcOEt 5%	14-30	S2	Mélange huileux présentant 2 composés + traîné
	31-45	S3	Mélange de deux composés + traîné
Hex-AcOEt 10%	46-68	S4	Mélange de 3 composés + traîné dont PGN7
Hex-AcOEt 15%	69-82		
Hex-AcOEt 20%	83-99	S5	Mélange de 3 composés + traînée
	100-115		
	116-127		
Hex-AcOEt 25%	116-127	S6	Mélange de 4 composés + traînée
Hex-AcOEt 30%	128-137		
Hex-AcOEt 35%	138-150	S7	Mélange de 8 composés + traînée
Hex-AcOEt 40%	151-157	S8	Précipité jaune d'un composé PGN1
	158-165	S9	Mélange jaune de deux composés PGN1 et PGN2 observable après triple élution
Hex-AcOEt 45%	166-170	S10	Mélange vert claire de deux composés dont PGN3 identique à ILR20
	171-175	S11	Mélange d'un composé + traînée dont PGN6
Hex-AcOEt 50%	176-185	S12	Longueur traînée
Hex-AcOEt 60%	186-195	S13	Longueur traînée
Hex-AcOEt 70%	196-211	S14	Mélange de 7 composés + traînée
Hex-AcOEt 80%	212-225	S15	Mélange de 3 composés + traînée
AcOEt	226-237	S16	Mélange incolore de 2 composés dont PGN5
AcOEt-MeOH 10	238-290	S17	Longueur traînée

➤ **Traitement de la série S4**

Le traitement de la série S4 (précipité blanc) a été larvé par le système Hex-AcOEt 5% pour donner un précipité blanc indexé PGN7 (7mg). Il est soluble dans le chloroforme.

➤ **Traitement de la série S8**

La série S8 obtenue par regroupement de la fraction 151-157, a immédiatement précipité. Après lavage avec le système Hex-AcOEt 30%, nous avons obtenu une poudre jaune indexé PGN1 (10mg). Soluble dans l'acétone.

➤ **Traitement de la série S9**

La série S9 a été chromatographiée sur une colonne de sephadex LH-20. L'élution s'est faite avec le méthanol, après 30 flacons de 5 mL chacune ont été collectées. Après une CCM analytique, les flacons 15-19 contiennent le composé PGN2 (12mg). Soluble dans l'acétone.

➤ **Traitement de la série S10**

Après regroupement de la série S10, un précipité vert claire est obtenu. Après plusieurs lavages avec le système Hex-AcOEt 35% nous avons obtenu un précipité vert claire indexé PGN3 (10 mg) identique à ILR20. Soluble dans le chloroforme.

➤ **Traitement de la série S11**

La série S11 précipite directement sous forme de cristaux blanc qui après filtration nous a permis d'obtenir le composé PGN6 (15 mg). Soluble dans le chloroforme.

➤ **Traitement de la Série S16**

La série S16 a été chromatographiée sur une colonne de gel de silice de granulométrie 63-200 Mesh. L'élution s'est faite avec le chlorure de méthylène-méthanol de polarité croissante. Après 30 fractions de 20 mL recueillies. Après une CCM analytique

de ces fractions, les fractions 10-17 contiennent le composé PGN5 (8mg). Une poudre blanche soluble dans le diméthylsulfoxyde.

III.3.1.1.2. Isolement et purification de l'extrait brut des tiges de *L. rugosa*

L'extrait brut des tiges *L. rugosa*, a été soumis à une chromatographie successive sur gel de silice de granulométrie 230-400 Mesh et éluée avec un mélange hexane-acétate d'éthyle, acétate d'éthyle-méthanol de polarité croissante. 530 fractions de 100 mL chacune ont été collectées et réunies sur la base de la CCM analytique comme indique le tableau ci-dessous.

Tableau 39: Chromatogramme de l'extrait des tiges de *L. rugosa*

Eluant	Fractions	Séries	Observations
Hexane	1-25	K1	Mélange huileux présentant des traîné sur CCM
Hex-AcOEt 5%	26-40	K2	Mélange huileux présentant 6 composés + traîné
	41-65	K3	Mélange de plusieurs composés + traîné
Hex-AcOEt 10%	66-83	K4	Mélange de 2 composés + traînée dont KLR1
	84-87	K5	KLR1 + traîné
	88-102	K51	Mélange de 3 composés + traîné
Hex-AcOEt 15%	103-110	K6	Mélange de deux composés + traîné dont KLR2
	111-127	K7	Mélange de 3 composés + traîné
Hex-AcOEt 20%	128-177		
Hex-AcOEt 25%	178-201	K8	Mélange de 4 composés + longue traîné
Hex-AcOEt 30%	202-210		
Hex-AcOEt 35%	211-228	K9	Mélange de plusieurs composés + traîné
Hex-AcOEt 40%	229-260	K10	Mélange de plusieurs composés + traîné
Hex-AcOEt 60%	261-280	K11	Mélange de plusieurs composés + traîné
Hex-AcOEt 80%	281-300	K12	Mélange plusieurs composés + traîné
AcOEt	301-330	K13	traîné
AcOEt-MeOH 5%	331-362	K14	Longueur traîné
AcOEt-MeOH 10%	363-395	K15	Mélange de quelques composés + traîné
AcOEt-MeOH 20%	396-411	K16	Mélange de 3 composés + traîné
	412-420	K17	Mélange de trois composés qui précipite dont KLR4
AcOEt-MeOH 30%	421-445	K18	Mélange incolore de quelques composés
AcOEt-MeOH 40%	446-480	K19	traînée
AcOEt-MeOH 50%	481-500	K20	traîné
AcOEt-MeOH 60%	501-530	K20	traîné

➤ **Traitement de la série K4**

La série K4 a subi une purification sur une chromatographie sur colonne de gel de silice de granulométrie 63-200 Mesh. L'élution s'est faite avec un mélange Hex-AcOEt 5%. Après 25 fractions de 20 mL collectées, le composé KLR1 (5 mg) est obtenu entre les fractions 10-15. Il est soluble dans le chloroforme.

➤ **Traitement de la série K6**

La série K6 après regroupement des 8 fractions (103-110), nous avons observé directement une précipitation qui après filtration nous a donné une poudre blanche KLR2 (22 mg). Soluble dans le chloroforme.

➤ **Traitement de la série K17**

La série K17 a subi une chromatographie sur colonne de gel de silice de granulométrie 63-200 Mesh. L'élution a été faite avec un mélange DCM-MeOH 5%. 18 fractions de 20 mL ont été collectées. Le composé KLR4 obtenu entre 8-14 sous forme de cristaux blanc soluble dans l'eau.

III.3.1.1.3. Isolement et purification de l'extrait brut des feuilles de *L. rugosa*

L'extrait brut des feuilles de *L. rugosa*, a été soumis à une chromatographie successive sur gel de silice de granulométrie 230-400 Mesh et éluée avec un mélange hexane-acétate d'éthyle, acétate d'éthyle-méthanol de polarité croissante. 580 fractions de 100 mL chacune ont été collectées et réunies sur la base de la CCM analytique comme indique le tableau ci-dessous.

Tableau 40 : Chromatogramme de l'extrait brut des feuilles de *L. rugosa*

Eluant	Fractions	Séries	Observations
Hexane	1-15	P1	Mélange huileux présentant des traîné sur CCM
Hex-AcOEt 5%	16-38	P2	Mélange huileux présentant plusieurs composés + traîné
	39-55	P3	Mélange de 4 composés + traîné dont ILR12, ILR6 et ILR14
Hex-AcOEt 10%	56-75	P4	Mélange de plusieurs composés + traîné
	76-91	P5	Mélange de 4 composés + traîné dont PLR1 et ILR8
	92-122	P6	Mélange de 3 composés + traîné
Hex-AcOEt 15%	123-144	P7	Mélange de deux composés + traîné dont PLR11
	145-170	P8	Mélange de plusieurs composés + traîné
Hex-AcOEt 20%	171-195		
Hex-AcOEt 25%	196-220	P9	Mélange de 5 composés + traînée dont LRF4, IPT1, ILR20=PGN3
Hex-AcOEt 30%	221-262	P10	Mélange de plusieurs composés + traîné
Hex-AcOEt 35%	263-295	P11	Mélange de plusieurs composés + traîné
Hex-AcOEt 40%	296-311	P12	Mélange de plusieurs composés + traîné
Hex-AcOEt 60%	312-332	P13	Mélange de plusieurs composés + traînée
Hex-AcOEt 80%	333-362	P14	Mélange 4 composés + traîné dont PLR4=PGN5 et ILR3
AcOEt	363-394	P15	traîné
AcOEt-MeOH 5%	395-411	P16	Longueur traîné
AcOEt-MeOH 10%	412-441	P17	Mélange de quelques composés + traîné
AcOEt-MeOH 20%	442-471	P18	Mélange de plusieurs composés + traîné
	472-496	P19	Mélange de plusieurs composés + traîné
AcOEt-MeOH 30%	497-510	P20	Mélange incolore de quelques composés
AcOEt-MeOH 40%	511-545	P21	traîné
AcOEt-MeOH 50%	546-571	P22	traîné
AcOEt-MeOH 60%	572-580	P23	traîné

➤ **Traitement de la série P3**

La série P3 a subi une purification sur une chromatographie sur colonne de gel de silice de granulométrie 63-200 Mesh. L'élution s'est faite avec un mélange Hex-AcOEt 2,5%. Après 40 fractions de 10 mL collectées, et sur la base de la CCM ces fractions ont été regroupés ainsi qu'il suit 5-10 ; 14-23 et 32-36 qui ont précipités pour donner respectivement les composés ILR12 (12 mg) ; ILR14 (9 mg) et ILR6 (8 mg). Tous soluble dans le chloroforme.

➤ **Traitement de la série P5**

La série P5 a subi une purification sur une chromatographie sur colonne de gel de silice de granulométrie 63-200 Mesh. L'élution s'est faite avec un mélange Hex-AcOEt 7,5%. Après 22 fractions de 10 mL collectées, et sur la base de la CCM les fractions 6-11 a précipité pour donner le composé ILR8 (15 mg) et 15-18 précipite également pour donner PLR1 (7 mg). Tous soluble dans le chloroforme.

➤ **Traitement de la série P7**

La série P7 obtenue par regroupement des fractions 123-144 à immédiatement précipité. Le traitement de cette fraction nous a permis d'avoir le composé PLR11 soluble dans l'acétone.

➤ **Traitement de la série P9**

La série P9 a subi une purification sur une chromatographie sur colonne de gel de silice de granulométrie 63-200 Mesh. L'élution s'est faite avec un mélange DCM-MeOH 2,5%. Après 30 fractions de 10 mL collectées. Le regroupement de ces sous fractions sur la base de la CCM nous a permis obtenir les regroupements suivant 5-12 ; 15-19 et 23-28 qui ont précipités pour donner respectivement les composés IPT1 (25 mg), LRF4 (15 mg) et ILR20 (9 mg). Tous soluble dans le chloroforme.

➤ **Traitement de la série P14**

La série P14 a subi une purification sur une chromatographie sur colonne de gel de silice de granulométrie 63-200 mesh. L'élution s'est faite avec un mélange Hex-AcOEt 50%. Après 25 fractions de 10 mL collectées, et sur la base de la CCM les fractions 8-15 ont précipité pour donner le composé ILR3 (22 mg) soluble dans le DMSO et 21-27 précipite également pour donner PLR4 (10 mg) soluble dans la pyridine.

III.4. Caractéristiques physico-chimiques des composés isolés

➤ Composés isolés de *P. glandulosus*

❖ PGN3 :7-hydroxyl-3,5,2',4'-
tétraméthoxyflavone 88

Aspect physique : poudre verdâtre amorphe

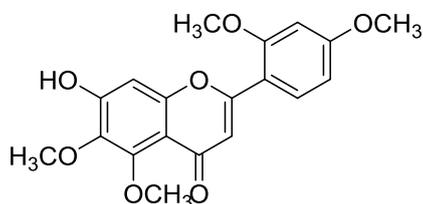
Test au chlorure ferrique et de Shinoda : positif

RMN ¹H (CDCl₃, 400MHz) et RMN ¹³C (CDCl₃, 200MHz), voir tableau 14

IR ν_{\max} (KBr): 3008 ; 1656 ; 1594 et 1515 cm⁻¹

UV λ_{\max} (MeOH) 277 et 339 nm

SM-FAB m/z : [M+1]⁺ 359,0



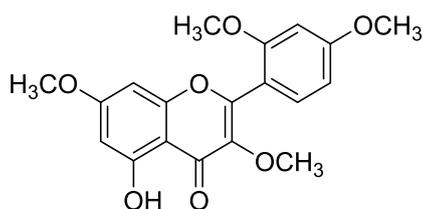
❖ PGN1 :5-hydroxyl-3,7,2',4'-
tétraméthoxyflavone 94

Aspect physique : poudre jaunâtre amorphe

Test au chlorure ferrique et de Shinoda : positif

RMN ¹H (Acétone-*d*₆, 500MHz) et RMN ¹³C (Acétone-*d*₆, 125MHz), voir tableau 18

SM-IE m/z : [M]⁺ 358,2



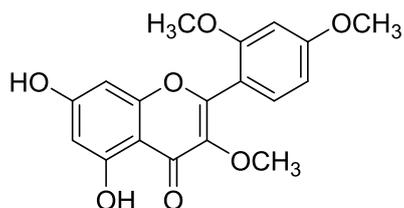
❖ PGN2 :5,7-dihydroxyl-3,2',4'-
triméthoxyflavone 95

Aspect physique : poudre jaunâtre amorphe

Test au chlorure ferrique et de Shinoda : positif

RMN ¹H (Acétone-*d*₆, 500MHz) et RMN ¹³C (Acétone-*d*₆, 150MHz), voir tableau 19

SM-IE m/z : [M]⁺ 344,3



❖ PGN6 : (-)-(1R, 2S, 3S, 4R)-p-menthane-
1,2,3-triol 98

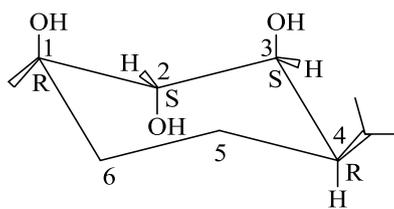
Aspect physique : Cristaux blancs

$[\alpha]_D^{589} = -3,27$ (c 0,4 ; MeOH)

RMN ^1H (CDCl_3 , 400MHz) et RMN ^{13}C (CDCl_3 , 150MHz), voir tableau 21

IR ν_{max} (KBr): 3316 ; 2976 ; 2935 et 2870 cm^{-1}

SM-FAB m/z : $[\text{M}+1]^+$ 189,1



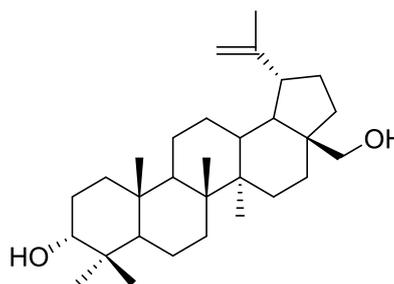
❖ PGN7 :lup-20(29)-èn-3 β ,28-diol 101

Aspect physique : poudre blanche amorphe

Test de Liebermann Burchard: positif

RMN ^1H (CDCl_3 , 400MHz) et RMN ^{13}C (CDCl_3 , 125MHz), voir tableau 24

SM-IE m/z : $[\text{M}]^+$ 442,3

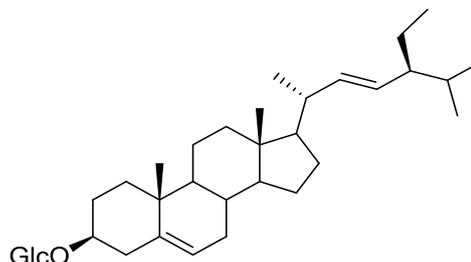


❖ Glucoside de sigmastérol 107

Aspect physique : poudre blanche amorphe

Test de Liebermann Burchard: positif

SM-IE m/z : $[\text{M}]^+$



➤ Composés isolés des tiges de *L. rugosa*

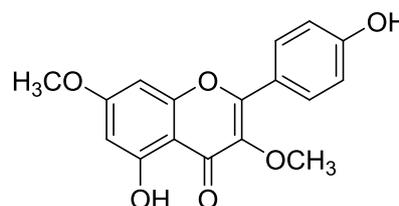
❖ KLR1 :5,4'-dihydroxyl-3,7-diméthoxyflavone 96

Aspect physique : poudre orange amorphe

Test au chlorure ferrique et de Shinoda : positif

RMN ^1H (CDCl_3 , 400MHz) et RMN ^{13}C (CDCl_3 , 125MHz), voir tableau 20

SM-IE m/z : $[\text{M}]^+$ 314,3

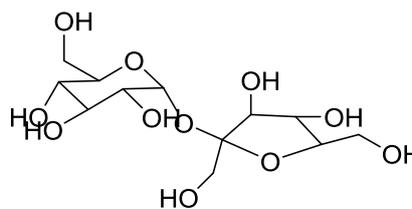


❖ **KLR4 : Saccharose 100**

Aspect physique : Cristaux blancs

Test de Molish: positif

RMN ¹H (D₂O, 500MHz) et RMN ¹³C (D₂O, 125MHz), voir tableau 28



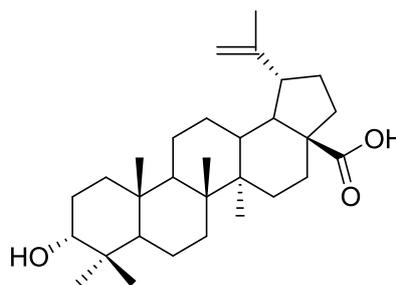
❖ **KLR2 : Acide bétulinique 100**

Aspect physique : poudre blanche amorphe

Test de Liebermann Burchard: positif

RMN ¹H (CDCl₃, 400MHz) et RMN ¹³C (CDCl₃, 125MHz), voir tableau 23

SM-IE *m/z* : [M]⁺ 456,4



➤ **Composés isolés des feuilles de *L. rugosa***

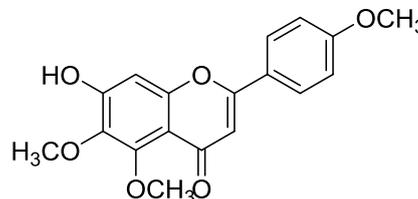
❖ **LRF4 : 7-hydroxyl-5,6,4'-triméthoxyflavone 89**

Aspect physique : poudre verdâtre amorphe

Test au chlorure ferrique et de Shinoda : positif

RMN ¹H (CDCl₃, 500MHz) et RMN ¹³C (CDCl₃, 125MHz), voir tableau 15

ESI-TOF *m/z* : [M+1]⁺ 329,5

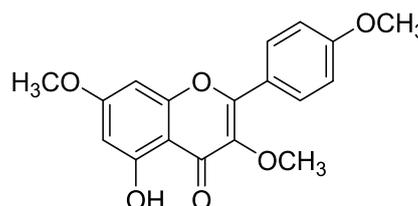


❖ **PLR11 : 5-hydroxyl-3,7,4'-triméthoxyflavone 90**

Aspect physique : poudre jaunâtre amorphe

Test au chlorure ferrique et de Shinoda : positif

RMN ¹H (Acétone-*d*₆, 600MHz) et RMN ¹³C (Acétone-*d*₆, 125MHz), voir tableau 16



SM-IE m/z : $[M]^+$ 328,2

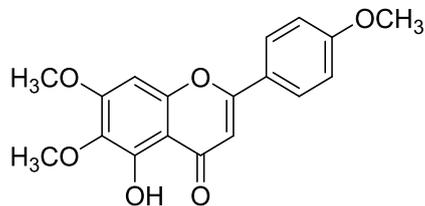
❖ **PLR1 :5-hydroxyl-6,7,4'-
triméthoxyflavone 91**

Aspect physique : poudre verdâtre amorphe

Test au chlorure ferrique et de Shinoda :
positif

RMN ^1H (CDCl_3 , 500MHz) et RMN ^{13}C
(CDCl_3 , 150MHz), voir tableau 17

SM-IE m/z : $[M]^+$ 328,2



❖ **ILR20 :7-hydroxyl-3,5,2',4'-
tétraméthoxyflavone 88**

Aspect physique : poudre verdâtre amorphe

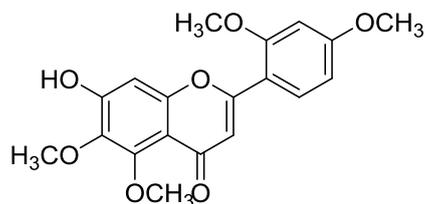
Test au chlorure ferrique et de Shinoda :
positif

RMN ^1H (CDCl_3 , 400MHz) et RMN ^{13}C
(CDCl_3 , 200MHz), voir tableau 14

IR ν_{max} (KBr): 3008 ; 1656 ; 1594 et 1515 cm^{-1}

UV λ_{max} (MeOH) 277 et 339 nm

SM-FAB m/z : $[M+1]^+$ 359,0



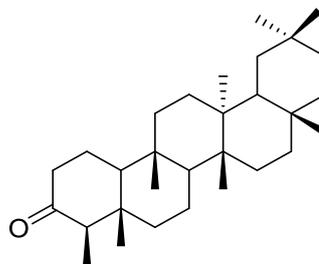
❖ **IPT1 : fridelan-3-one 99**

Aspect physique : poudre blanche amorphe

Test de Liebermann Burchard: positif

RMN ^1H (CDCl_3 , 400MHz) et RMN ^{13}C
(CDCl_3 , 100MHz), voir tableau 22

SM-FAB m/z : $[M+1]^+$ 426,3



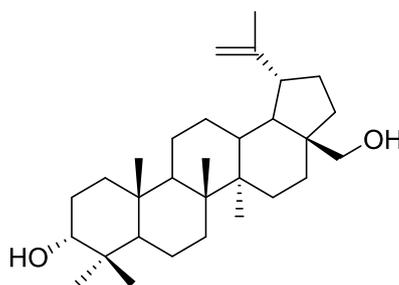
❖ ILR12 :lup-20(29)-èn-3β,28-dol 101

Aspect physique : poudre blanche amorphe

Test de Liebermann Burchard: positif

RMN ¹H (CDCl₃, 400MHz) et RMN ¹³C (CDCl₃, 125MHz), voir tableau 24

SM-IE *m/z* : [M]⁺ 442,3



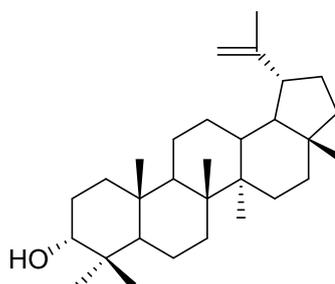
❖ ILR14 : lup-20(29)-èn-3β-ol 102

Aspect physique : poudre blanche amorphe

Test de Liebermann Burchard: positif

RMN ¹H (CDCl₃, 500MHz) et RMN ¹³C (CDCl₃, 125MHz), voir tableau 25

SM-IE *m/z* : [M]⁺ 426,3



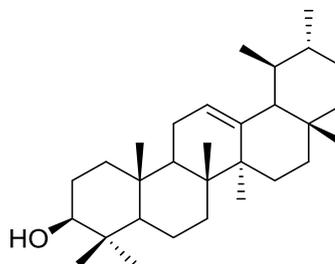
❖ ILR6 : 3β-hydroxy-urs-12-èn-3-ol 104

Aspect physique : poudre blanche amorphe

Test de Liebermann Burchard: positif

RMN ¹H (CDCl₃, 500MHz) et RMN ¹³C (CDCl₃, 125MHz), voir tableau 26

SM-IE *m/z* : [M]⁺ 426,3

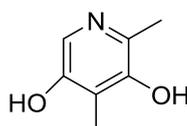


❖ ILR3 : 2,4-diméthylpyridine-3,5-diol 105

Aspect physique : poudre blanche amorphe

RMN ¹H (DMSO-*d*₆, 400MHz) et RMN ¹³C (DMSO-*d*₆, 100MHz), voir tableau 27

GC-MS *m/z* : [M-1]⁺ 181



❖ **ILR8 : Cosanol 106**

Aspect physique : poudre blanche amorphe



RMN ¹H (CDCl₃, 400MHz)

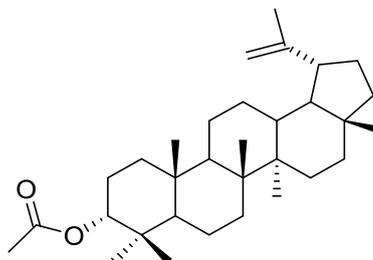
SM-IE *m/z* : [M-H₂O]⁺ 504

❖ **ILR7 : Acétate de lupéol 103**

Aspect physique : cristaux blanc

RMN ¹H (CDCl₃, 500MHz)

SM-IE *m/z* : [M]⁺ 468,3



III.5. Transformations chimiques

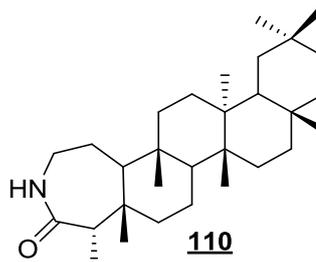
III.5.1. Transposition de Beckmann

2 mL d'acide trifluoroacétique (TFA) et 1 mL d'acétonitrile ont été mélangés dans le milieu réactionnel et chauffé sur un agitateur magnétique à 70°C. Ensuite, le mélange de 10 mg de IPT₁ et 3 mL d'hydroxylamine a été ajouté dans le milieu réactionnel à cette température. Après 8 heures, la réaction a été stoppée, le milieu réactionnel a été refroidir et nous avons ajouté une solution saturée de NaCl et extrait par le dichlorométhane. Cet extrait a été soumis après évaporation à une chromatographie sur gel de silice éluée au mélange Hex-AcOEt 5% pour donner le composé IPTRR1.

❖ **Composé IPTRR1 : 110**

Aspect physique : poudre blanche amorphe

RMN ¹H (CDCl₃, 500MHz)



III.5.2. Méthylation

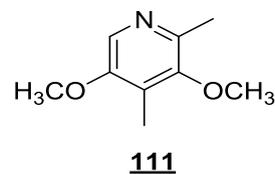
10 mg du composé ILR3 mélange à 1,5 mL d'acétone dans la glace. Après quelques minutes nous avons ajouté 20 mg de carbonate de potassium dans le milieu réactionnel puis goûte à goûte 0,034 mL de l'iodure de méthane (une goûte après 5 minutes). L'ensemble est resté sous une agitation magnétique pendant 4 heures. A la fin de la réaction, l'acétate d'éthyle a été ajouté. Après évaporation, l'extrait a été

purifié par chromatographie sur gel de silice éluée au mélange Hex-AcOEt 30% pour donner le composé ILRR3.

❖ **Composé ILRR3 : 111**

Aspect physique : poudre blanche amorphe

RMN ¹H (DMSO-*d*₆, 400MHz)



III.6. Matériels biologiques et méthodes

III.6.1. Evaluation de l'activité insecticide

III.6.2. Elevage des insectes

Les insectes ont été élevés à l'Unité de Recherches Entomologiques de l'ENSAI avec les échantillons se trouvant déjà au laboratoire. Un élevage intensif de la souche 91Z/BF-DL/01 de *S. zeamais* a été mis au point en vue d'obtenir des insectes en quantité suffisante pour les bios essais. Pour ce faire, des échantillons de 20 insectes adultes ont été chacun introduits dans un pot en verre transparent d'une capacité de 1200ml contenant 200 g de maïs sains. Ces pots ont été fermés avec des couvercles préalablement percés pour permettre l'aération de l'enceinte. Après 2 semaines, les insectes ont été retirés. Après émergence, le maïs était de nouveau tamisé et les adultes de moins de deux mois d'âge ont constitué la population expérimentale.

Une quantité de maïs non infestée, c'est-à-dire sans insectes nuisibles est pesée (200g) sur une balance électrique (Sartorius de type 1264 001 MP) et versée dans un bocal en verre transparent d'une capacité de 1200 ml où sont introduits 20 jeunes *S. zeamais* de la souche 91Z/BF-DL/01.

III.6.3. Méthode

❖ **Préparation de la manipulation**

Nous avons réalisé un test insecticide sur tous les extraits de *L. rugosa* et de *P. glandulosus* à savoir sur l'extrait à hexane, l'extrait à l'acétate d'éthyle, à l'éthanol et

au méthanol. Pour cela, nous avons introduit 20 imagos dans du maïs traité avec nos extraits.

❖ Préparation des solutions

La méthode consiste à préparer quatre solutions de concentrations différentes (0,1% ; 0,2% ; 0,4% ; 1% exprimée en g d'extrait/g de maïs) de la manière suivante : prendre 4 g d'extrait qu'on dilue dans 10,12 ml d'acétone pour l'extrait à l'hexane et acétate d'éthyle. L'extrait à l'éthanol est dilué dans 9,87 ml d'éthanol et l'extrait au méthanol dans 10,12 ml de méthanol ce qui nous permet d'avoir des solutions mères à 1%. Une fois la solution mère préparée ; 0,5 ml est prélevé et complété à 10 ml avec le solvant adéquat comme définit ci-dessus pour avoir la concentration à 0,1%. De même un volume de 1ml est dilué avec 10 ml pour la concentration à 0,2% et 2 ml pour la concentration à 0,4%. Un volume de 1ml est introduit dans chaque boîte contenant 40g de maïs et attendre environ 20 à 30 min (Nukenine *et al.*, 2010) pour que le solvant s'évapore (acétone pour l'extrait à hexane et acétate d'éthyle, éthanol pour l'éthanol, le méthanol pour le méthanol) puis l'on introduit 20 *S. zeamais* qui ont été affamés pendant 24 heures. Le nombre de morts sera dénombré après 24, 48, 72, 96 et 168 heures d'observation. Le témoin négatif est le solvant seul et le témoin positif que nous avons utilisé est le Poudrox qui est un insecticide généralement utilisé par les populations riveraines pour protéger le maïs des insectes. Nous avons effectué 4 répétitions pour chaque concentration.

III.7. Evaluation de l'activité antioxydante

III.7.1. Méthode utilisant la DPPH°

Le pouvoir antioxydant se détermine aussi par la capacité d'un antioxydant donné à piéger un radical libre ou à donner un atome d'hydrogène selon la méthode de Nassourou *et al.*, (2016) avec quelques modifications.

Le DPPH° (1,1-diphényl-2-picrylhydrazyle) radicalaire présente une absorbance élevée à 517 nm avec une chute d'absorbance au cours de la réaction, le résultat de la décoloration est stœchiométrique par rapport au nombre d'électrons

capturés par l'antioxydant. Dans le protocole d'analyse, une solution de DPPH (0,004%) est préparée dans le MeOH. Une quantité de 1 ml est introduite dans les tubes à essai contenant les extraits à concentration différentes. Attendre pendant 30 minutes avant de faire la lecture avec un spectrophotomètre de marque Rayleigh VIS-723N qui obéit à la loi de Beer Lambert.

Ainsi, une solution mère de 0,1 mg/ml a été préparée. Par dilution de la solution mère nous avons obtenu les différentes concentrations de : 0,08 ; 0,06 ; 0,04 ; 0,02 mg/ml. Il est à noter que pour chaque extrait, il y a un blanc qui est constitué du DPPH° et du méthanol. Le témoin positif utilisé est le BHA (Butylhydroxyanisole) ayant les mêmes concentrations à savoir 0,1 ; 0,08 ; 0,06 ; 0,04 et 0,02 mg/ml. Pour chaque concentration nous avons effectué trois répétitions et les densités optiques ou activités antioxydantes ont été calculées par la formule suivante :

$$A.A(\%) = \frac{A_{initiale} - A_{essai}}{A_{initiale}} \times 100$$

III.7.2. Méthode utilisant le FRAP

La capacité antioxydante des différents extraits ou produit pur a été évaluée en déterminant leur habilité à réduire le fer (III) en fer (II) par la méthode de Oyaizu (2012). Pour cela, dans un tube à essai, 1 mL de chaque extrait a été mélangé avec 0,5 mL d'une solution tampon phosphate (0,2 M, pH 6,6) et 2,5 mL d'une solution d'hexacyanoferrate de potassium $[K_3Fe(CN)_6]$ à 1 %. Le tout a été incubé pendant 20 minutes à 50°C dans un bain d'eau. Ensuite, les tubes ont été immédiatement refroidis dans de la glace et des aliquotes de 0,5 mL d'acide trichloroacétique (TCA) 10 % y ont été ajoutés. Les mélanges ont été centrifugés à 3500trs/min pendant 10 minutes à l'aide d'une centrifugeuse. Par la suite, 1 mL de chaque surnageant a été prélevé et mélangé à 1 mL d'eau distillée et 0,1 mL d'une solution aqueuse de $FeCl_3$ à 0,1 % et laissé au repos pendant 10 min. L'absorbance a été lue à 700 nm. Le control positif a été réalisé avec le BHT utilisé comme référence ; préparé dans les mêmes

conditions que les extraits ou produit pur à différentes concentrations (1000; 800; 600; 500; 400, 200; 100 et 50) µg/mL.

III.8. L'analyse des données

Les données ont été analysées grâce à l'analyse des variances (ANOVA). Les mortalités ont été corrigées par la formule d'Abbole (1925). Les moyennes significativement différentes ont été séparées par le test de Turkey et les doses létales calculées par la formule de Finney (1971) avec le logiciel Statgraphics plus 11.4. Les courbes et les histogrammes ont été tracés avec le logiciel sigmaplot 12.2.

III.9. Tests qualitatifs des composés isolés

III.9.1. Test de Liebermann Burchard

Ce test est caractéristique des triterpènes et des stérols. Le réactif de Liebermann- Burchard est composé d'anhydride acétique et d'acide sulfurique.

Mode opératoire

- Dans un tube à essai, dissoudre une petite quantité de produit dans 50 mL de dichlorométhane
- A cette solution, ajouter 20 mL d'anhydride acétique et 1 mL d'acide sulfurique

Résultat et interprétation

La présence des triterpènes se manifeste par l'apparition d'une couleur rouge violacée.

III.9.2. Test au chlorure ferrique

Ce test permet de mettre en évidence les hydroxyles phénoliques

Mode opératoire

- Dissoudre le composé dans une solution méthanolique
- Ajouter quelques gouttes de chlorure ferrique.

Résultat et interprétation

La présence des hydroxyles phénoliques est caractérisée par la formation d'un complexe de type $[\text{Fe}(\text{OAr})_6]^{3-}$ de couleur bleue, rouge, violette ou verte.

III.9.3. Test de Shinoda

Ce test permet de mettre en évidence les flavonoïdes

Mode opératoire

- Dissoudre le composé dans une solution alcoolique
- Ajouter quelques gouttes d'acide chlorhydrique concentré puis quelques copeaux de magnésium

Résultat et interprétation

La présence de flavonoïde est caractérisée par une effervescence suivi d'un changement de coloration violette ou rouge brique.

REFERENCES

A

Albuquerque, U.P., (2001). The use of medicinal plants by the cultural descendants of African people in Brazil. *Acta Farmacéutica Bonaerense* **20**, 139-144.

Andersen M. Oyvind., Kenneth R. Markham. (2006). Flavonoids: Chemistry, Biochemistry and Application. Ed by Taylor and Francis group, London New York P. 1212. Use page 150

Antonio P. Teixeira., Olga Batista., M. Fatima Simoes., J. Nascimento., Aida Duarte., Marfa C. De La Torre., Benjamfn Rodrfiguez., (1997). Abietane Diterpenoids From *Plectranthus Grandidentatus*. *Phytochemistry* **44**. 325-327

Atawodi S.E., (2005). Antioxidant potential of African medicinal plants. *African Journal of Biotechnology*. **4**. 128-133.

Arbonnier, M., (2000). Arbustes et lianes des zones sèches d'Afrique de l'Ouest. CIRAD. MNHN. UICN. 514p.

Ariadna M.R., Puga R., Hernández S.L., Guadalupe L.P., et Mendoza S. (2005). Antioxidant and antimutagenic activities of Mexican Oregano (*Lippia graveolens Kunth*). *Plant foods hum Nutr*, **63**. 1-4

Abdel-Mogib M., Albar H. A., Batterjee S. M., (2002). Chemistry of the genus *Plectranthus*, *Molecules*, **7**. 271-301.

Amvan Z. P. H., Biyiti L., Tchoumboungant F., Menut C., Lamaty G. et Bouchet P., (1998). Chemical composition and antifungal activity of thirteen essential oils from aromatic plants of Cameroon. *Flavour fragrance Journal*, **13**. 107-114.

B

Barbosa, F.G., Lima, M.A.S., Silveira, E.R. (2005). Total NMR assignments of new [C7-OC7]-biflavones from leaves of the limonene-carvone chemotype of *Lippia alba* (Mill) N.E. Brown. *Magnetic Resonance in Chemistry*; **43**. 334-338.

Barbosa F.G., Lima M.A.S., Braz-Filho R., Silveira E.R., (2006). Iridoid and phenylethanoid glycosides from *Lippia alba*. *Biochemical systematics and ecology* **34**. 819-821.

Bell A., (1996). Protection des épis de maïs contre les ravageurs des stocks sans employ d'insecticides synthétiques. GTZ, Eschborn, 42p.

Bell A., O. Mück et H. Schneider, (1998). La protection intégrée des denrées stockées est une affaire rentable. *GTZ, Eschborn*, 42p.

Boura A. F., (2006). Sensibilité des différentes souches de *Sitophilus zeamais* au maïs blanc CMS 8504 et efficacité des pratiques traditionnelles de stockage. Mémoire de DEA, ENSAI, Université de Ngaoundéré 61p.

Bruneton J. (2009). Pharmacognosie-Phytochimie, plantes médicinales. 4^{ème} édition. Paris: Edition Tec & Doc. Edition médicales internationales 1292 p.

Boyd B., Ford C., Koepke Michael C., Gary K., Hom E., Mc Amalley S., Mc Amalley B. (2003). Etude pilote ouverte de l'effet antioxydant d'Ambrotose AOTM sur des personnes en bonne santé. *GlycoScience et Nutrition*. **4**, 7p.

Bo Hee Yun., Young Hun Lee., Kyung Tae Park., Su Jin Jung., Yong Sup Lee., (2016). Synthesis of novel flavone derivatives possessing substituted benzamides and their biological evaluation against human cancer cells. *Bioorganic & Medicinal Chemistry Letters* **26**. 4170-4173

Braulio M. Fraga, Azucena Gonza'lez-Coloma, Carmen Gutie'rrez, and David Terrero., (1997). Insect Antifeedant Isoryanodane Diterpenes from *Persea indica*. *J. Nat. Prod.*, **60**. 880-883

Barbera O., Sanz J.F., Sanchez-Paradera J. et. Marco J.A, (1986). Flavones, Flavonols and their Glycosides *Phytochemistry*, **25**, p. 2361.

Bina S., Siddiqui, Fayaz A., Fouzia A., Sattar and Sabira A., (2007). Chemical constituents from the Aerial Parts of *Lippia nodiflora* linn. *Arch Pharm Resl.* **34**. 1507-1510.

C

Corey E. J. et Ursprung J. J., (1956). The Structures of the Triterpenes Friedelin and Cerin. *Contributios From The Noyes Chemical Laboratory University of Illinois*. **5**. 5041-5051

Chavi Y., Khanchara., Supawadee., Varima., Prasat K., (2004). Bioactive flavonoids from *Kaempferia parviflora*. *Fitoterapia* **75**. 89-92

D

Dixon R.A and Steele C.L. (1999). Flavonoids and isoflavonoids a gold mine for metabolic engineering. *Trends in Plant Science*, **4**. 394-400.

Defraigne J.O. et Pincemail J. (2007). Stress oxydant et antioxydants : mythes et réalités. *Rev Med Liege*, **62**. 1-10

Deng Shi-ming., Yang Xian-hui., Wang Ning., Tang Li-chang., (2009). Identification of Flavonoids in Alien Invasive Plant *Eupatorium catarium*. *Acta Bot .Boreal. Occident .Sin* **29**. 2548-2550

Danho M., Gaspard C., and Haubruge E., (2002). The impact of grain quantity on the biology of *Stophilus zeamais* Motschulky (Coleoptera : curculionidae): Oviposition distribution of eggs, adults emergence, body weight and sex ratio. *Journal of stored products research*, **38**. 266-359.

Danho M. et Haubruge E., (2003). Comportement de ponte et stratégie reproductive de *Sitophilus zeamais* (Coleoptera : Curculionidae). *Phytoprotection*, **84**. 59-168.

De Groot., (1996). Protection des céréales et des légumineuses stockées. *Agrodoc*, **18**. 3-45.

Dobigny G., (2000). Inventaire et biogéographie des ravageurs du Niger : Nuisances aux cultures, implications dans certains problèmes de santé publique et vétérinaire. Rapport de coopération pour le Service National. Septembre 1999-Décembre 2000.

Delobel A et Tran M., (1993). Les coléoptères des denrées alimentaires entreposés dans les régions chaudes. ORSTON\CTA. Paris. 42p

E

Eva de Rijke., Pieter Out., Wilfried M.A. Niessen., Freek Ariese., Cees Gooijer., Udo A.Th. Brinkman., (2006). Analytical separation and detection methods for flavonoids. *Journal of Chromatography A*, **11**. 31-63

El Gharras H. (2009). Polyphenols: Food sources, properties and applications - A review. *International Journal of Food Science and Technology*, **44**. 2512-2518.

El-Hawary, S.S., Miriam F. Yousif, M.F., Abdel Motaal, A.A., Abd-Hameed, L.M.. (2012). Bioactivities, phenolic compounds and in-vitro propagation of *Lippia citriodora* Kunth cultivated in Egypt. *Bulletin of Faculty of Pharmacy, Cairo University*; **50**. 1-6.

F

Faheem Amir., Wan Sinn Yam., Koay Yen Chin., (2011). Chemical constituents and biological applications of *Lippia nodiflora*. *Archives of Pharmacy Practice*. 2. 101-105.

Favier A. (2003). Le stress oxydant. Intérêt conceptuel et expérimental dans la compréhension des mécanismes des maladies et potentiel thérapeutique. *L'actualité chimique*. 108-115.

Fowler Z.L. and Koffas M.A.G. (2009). Biosynthesis and biotechnological production of flavanones: current state and perspectives. *Applied Microbiology and Biotechnology*, 83. 799-808.

Fernandez I., Garcia B., Pedro JR., Vereá A., (1991). Lignans and flavonoids from *carduus assoi*. *Phytochemistry* 30. 1030-1032

Focho D. A., Ndam W. T., et Fonge B. A., (2008). Medicinal plants of Aguambu-Bamumbu in the Lebialem highlands, southwest province of Cameroon. *African Journal of Pharmacy and Pharmacology*, 3. 001-013.

Q

Georgetti S. R., Casagrande R., Di Mambro V. M., Azzolini Ana ECS., et Fonseca Maria. JV., (2003). Evaluation of the Antioxidant Activity of Different Flavonoids by the Chemiluminescence Method. *AAPS Pharm Sci*. 5 2p

Gwinner J., Harnisch et Mück D., (1998). Manuel sur la manutention et la conservation des grains après récolte. GTZ, Eschborn, 300p.

Gwinner J., Harnish R. et Mück O., (1996). Manuel sur la manutention et la conservation des graines après récolte. Projet de protection des stocks et des récoltes (GTZ) RFA. 388p

Goudoum A., (2004). Résistance de *tribolium castaneum* Herbst (coleoptera: Tenebrionidae) et *Sitophilus zeamais* Motsch (coleopteran: curculionidae) au lindane et au friponil et sensibilité de ces ravageurs à trois huiles essentielles. Mémoire de DEA à l'Université de Ngaoundéré. 102P.

Gasquet M., Delmas F., Timon D.P., Keita A., Guindo M., Koito D., Doumbo O., (1993). *Fitoterapia* 64. 423.

Goudard. M., Fabre-Bonvin. J., Strelisky. J., Nogradi. M. and Chopin. J., (1979). *Phytochemistry*, 18, p. 186.

Gwinner J., Harnisch R. et Mück O., (1989). Principaux insectes nuisibles des denrées stockées. *Manuel sur la manutention et la conservation des grains après récolte*, 94p.

Githinji C. W., Kokwaro J.O., (1993). Ethnomedicinal study of major species in the family Labiatae from Kenya. *Journal of Ethnopharmacology*, **39**. 197-203.

Goudard, M., J. Fabre-Bonvin, J. Strelisky, M. Nogradi et J. Chopin, (1979). *Phytochemistry*, **18**, p. 186.

H

Hadi M. (2004). La quercétine et ses dérivées : molécules à caractère pro-oxydant ou capteurs de radicaux libres ; études et applications thérapeutiques. Thèse présentée en vue de l'obtention du grade de Docteur en Sciences de l'Université Louis Pasteur Domaine : Pharmacochimie. 155p.

Hennebelle Thierry., Sahpaz Sevser., Gressier Bernard., Henry Joseph and Bailleul François., (2008). Antioxydant and Neurosedative properties of polyphenols and iridoids from *Lippia alba*. *Phytotherapy research*. **22**. 256-258

Halliwell. B. et Gutteridge J.M.C., (1984). Oxygen toxicity, oxygen radicals, transition metals and disease. *Biochemical journal*, **2**. 1-4.

Hutchings, A., Scott, A.H., Lewis, G., Cunningham, A., (1996). Zulu Medicinal Plants: An Inventory. *University of Natal Press*, Pietermaritzburg.

Hugo E. Gottlieb, Parimi A. Ramaiah and David Lavie, (1985). ¹³C Signal assignment of friedelin and hydroxyfriedelin-2-one. *Magnetic resonance in chemistry*, **23**. 616-620

Hosein S. R., Lytle M. (2001). Les antioxydants. Traducteur: Alain Boutilier. *Catie Feuillet d'information*. 5P

Hillis W.E., et Horn D.H.S., (1965). *Austral. J. Chem.*, **18**, p. 531.

Héctor R., Juliani J.R., Biurrun F., Adolfini R., Koroch, Julio A., Zygadlo, (2000). Chemical constituents of the essential oil of *Lippia laxibracteata* (Verbenaceae). *Planta Med*, **66**. 567-572.

Harley R. M., and Reynolds T., (1992). eds *Advances in Labiate Science*. The Royal Botanic Gardens, Kew.

/

Iwashina T. 2000. The structure and distribution of the flavonoids in plants. *Journal of Plant Research*, **113**. 287-299.

Illiassa N., (2004). Analyse de la gestion post-récolte de *Vigna unguiculata* (walp) Fabaceae et évaluation de l'importance insecticide des huiles essentielles de trois plantes aromatiques. Mémoire de maîtrise en biologie animal, Université de Ngaoundéré, Cameroun. 59p.

J

Japheth Omollo Ombito, Elsie Nyangweso Salano, Philemon Kipkirui Yegon, Wesley Kipkirui Ngetich, Elizabeth Muthoni Mwangi., (2014). A review on the chemistry of some species of genus *Lippia* (Verbenaceae family). *Journal of Scientific and Innovative Research* **3**. 460-466

Jose. C.I., Phadke P.S., et Raman Rao. A.V., Spectrochim. Acta, (1974). 30 A, p. 1199.

Jabeen, K., Javaid, A., Ahmad, E. and Athar, M. (2011). Antifungal compounds from *Melia azederach* leaves for management of *Ascochyta rabiei*, the cause of chickpea blight, *Natural Products Research*, **25**. 264-276.

Jurd. L., "Chemistry of Flavonoid Compound" Edited by T.A. Geismann, 108, 130, 1962.

Jiofack T., Fokunang C., Guedje N., Kemeuze1 V., Fongnzossie E., Nkongmeneck B.A., (2010). Ethnobotanical uses of medicinal plants of two ethnoecological regions of Cameroon. *International Journal of Medicine and Medical Sciences*. **2**. 60-79.

Jose. C.I., Phadke. P.S and Raman Rao. A.V., Spectrochim. Acta, (1974) 30 A, p. 1199.

K

Kamal R., Jain S. C., (1980). Rotenoids from *Indigofera tinctoria* and their bioefficacy against *Cyclops*, the carrier of dracunculiasis. *Agricultural Biology and Chemistry*, **44**, 2985

Krippeit-Drews P., Lang F., Haussinger D., Drews G. (1994). H₂O₂ induced hyperpolarization of pancreatic B-cells. *Pflugers Arch*. **426**. 552-554.

Kapil Juvele., Katja Stefan., Michael Wiese., (2013). Synthesis and biological evaluation of flavones and benzoflavones as inhibitors of BCRP/ABCG2. *European Journal of Medicinal Chemistry.* **67.** 115-126.

Kumar, (1991). La lutte contre les insectes ravageurs : la situation de l'agriculture africaine. CTA/Karthala Eds. Wingen, eurotext, paris, 310 pp.

Kim D., Ahn Y., (2001). Contact and fumigant activities of constituents of *Foeniculum vulgare* fruit against three coleopteran stored product insects. *Pest Manag. Sci.*, **57.** 301-306.

Kéïta S.M., Vincent C., Schmit J.P., Ramaswamy S., Bélanger A., (2000). Effect of various essential oils on *Callosobruchus macullatus* (Fab) (Coleoptera: Bruchidae). *Journal of Stored product research*, **36.** 355-364.

Kanto C., Koukoua G., Guessan Y.T.N., Lota M.L., Tomiand F., Casanova J., (1999). Composition and intraspecific variability of the leaf oil of *Lippia multiflora* mold. From the Ivory coast. *J. Essent. Oil Res*, **11.** 153-158

Kanchanapoom T., Kasai R., Yamasaki K., (2002). Phenolic glycosides from *Markhamia stipulate*. *Phytochemistry* **59.** 557-563

∠

Lukhoba, C.W., Paton, A.J., (2003). A new species and new variety in *Plectranthus L'Hér* (Labiatae) in Eastern Africa. *Kew Bulletin* **58.** 917-999.

L. Jurd, (1962) "Chemistry of Flavonoid Compound" Edited by T.A. Geismann, 108-130

Locksley, H.D., The Chemistry of Biflavonoid Compounds, Progress in the Chemistry of Organic Natural Products (L. Zechmeister), Vol.30, Springer Verlag, Wein, 243, 1973.

Li L., Wang H. K. , Chang J. J., Mc Phall D. R., Terada H., Konoshima T., Kokumai M., Kozukam M. , Estes J. R., Lee K. H., (1993). Antitumor agents, 138. Rotenoids and isoflavones as cytotoxic constituents from *Amorpha fruticosa*. *Journal of Natural products*; **56.** 690-698

Long-Ze Lin., Sudarsan Mukhopadhyay., Rebecca J. Robbins., James M. Harnly., (2007). Identification and quantification of flavonoïds of Mexican oregano (*Lippia graveolens*) by LC-DAD-ESI/MS analysis. *Journal of food composition and analysis.* **20.** 361-369

M

Morel Y., Barouki R., (1999). Repression of gene expression by oxidative stress. *Biochem J.* **342.** 481-496.

Markham K.R. (1982). Techniques of flavonoids identification. Edition Academic Press, London.

Markham. K. R., (1989). "Methods in plant Biochemistry", éd. Academic press vol1, P. 209

Mabry. T.J and K.R. Markham, (1975). "The Flavonoids", éd. J.B. Harborne, T.J. Mabry et H. Mabry, Chapman and Hall, London, p. 78.

Mabry. T.J and Ulubelen. A., (1980). "Biochemical Applications of Mass Spectrometry", éd. G.R. Walker et O. Dermer, John Wiley, New York, p. 1131.

Muramatsu H., Kagawa K., Janaka M., Okumura K., Koike K., Kuga T., (1995). Superoxide dismutase in SAS human tongue carcinoma cell line is a factor defining invasiveness and cell mortality. *Cancer research.* **55.** 6210-2614.

Masateru O., Eriko O., Takemi T., Yoshihiko L., Yamasaki T., Chikako M., Tsuyoshi I., Toshihiro N., (2008). DPPH radical-scavenging effet on some constituents from the aerial parts of *Lippia triphylla*. *J Nat Med,* **62.** 101-106.

Martinez V., Barbera O., Sanchez-Parareda J., Marco JA., (1987). Phenolic and acetylenic metabolites from *Aretemisia assoana*. *Phytochemistry.* **26.** 2619-2624

Miyamura M., Nohara T., Tomimatsu T., Nishioka I., (1983). Seven aromatic compounds from bark of *Cinnanonum cassia*. *Phytochemistry* **22.** 215-218

Morton J. F., 1992. Country borage (*Coleus amboinicus* Lour.): a potent flavouring and medicinal plant. *Journal of Herbs, Spices Medicinal Plants.***1.** 77-90.

Merfort I, 1988. Acetylated and other flavonoid glycosides from *Arnica chamissonis*. *Phytochemistry* **27.** 3281-3284

Maria Fatima Simoes, Patricia Rijo, Aide Duarte, Diana Barbosa, Diogo Matias, Joana Delgado, Nadia Cirilo and Benjamin Rodriguez, (2010). Two new diterpenoids from *Plectranthus* species **3.** 221-225

N

Neuwinger, H.D., (2000). African Traditional Medicine. A Dictionary of Plant Use and Applications. Medpharm Scientific Publishers, Stuttgart.

Novelli G. P., (1997). Role of free radicals in septic shock. *J Physiol Pharmacol.* **48.** 517-521.

Nyanyiwa, M., Gundidza, M., (1999). Antimicrobial activity of essential oils of *Ageratum conyzoides*, *Plectranthus ecklonii*, *Conyza scabrida* and *Conyza bonariensis*. Student Publications, Pharmacy Department, University of Zimbabwe.

Narayana K. R., Reddy M. S., Chaluvadi M. R. et Krishna D. R. (2001). Bioflavonoids classification, pharmacological, biochemical effects and therapeutic potential. *Indian journal of pharmacology*, **33.** 2-16.

Nenad L. Vukovic, Ana D. Obradovic, Milena D. Vukic, Danijela Jovanovic, Predrag M. Djurdjevic, (2018). Cytotoxic, proapoptotic and antioxidative potential of flavonoids isolated from propolis against colon (HCT-116) and breast (MDA-MB-231) cancer cell lines. *Food Research International* **106.** 71-80

Nukenine E.N., Adler C. et Reichmuth C., (2010). Toxicity and repellency of essential oils of *Plectranthus glandulosus* and its major component, Fenchone to *Prostephanus truncatus* and two strains of *Sitophilus zeamais*. *Journal of Apply Entomology*, **134.** 132-141.

Nukenine E. N., Adler C. et Reichmuth. C., (2007). Efficacy evaluation of plant powders from Cameroon as post-harvest grain protectants against the infestation of *Sitophilus zeamais* Motchulsky (Coleoptera:Curculionidae). *Journal of Plant Disease and Protection*, **114.** 30-36.

Nukenine E. N., Adler C. et Reichmuth C., (2010a). Bioactivity of fenchone and *Plectranthus glandulosus* oil against *Protephanus truncatus* and two strains of *Sitophilus zeamais*. *Journal of Applied Entomology*, **134.** 132-141.

Nukenine E. N., Adler C. & Reichmuth C., (2010b). Efficacy of *Clausena anisata* and *Plectranthus glandulosus* leaf powder against *Prostephanus truncatus* (Coleoptera: Bostrichidae) and two strains of *Sitophilus zeamais*. *J. Pest. Sci.* **9.** 96-99.

Nukenine E.N., Adler C. et Reichmuth C., (2009). Toxicity and repellency of essential oils of *Lippia adoensis* from two agro-ecological zones in Cameroon to *Prostephanus truncatus* and two strains of *Sitophilus zeamais*. Proceeding of the meeting of IOBC-WPRS study group 'Integrated Protection of Stored Products, 20-23 August 2007, Poznan, Poland. *IOBC/wprs Bulletin* **40.** 221-230.

Ngassoum M.B., Mapongmetsem P.M., Tatsadjeu L., Jirovetz. L., Gerhard B., et Manochehr S., (2005). Comparative aroma compound analysis of different

essential oils of *Lippia rugosa* from Cameroon using GC/FID, GC/MS and olfactometry. *J. Essent oil Res*, **17**. 492-495.

Ngamo T.L.S., Goudoum A., Ngassoum M.B., Mapongmetsem P.M., Kouninki H., Hance T., (2004). Persistence of the insecticidal activity of five essential oils on the maize weevil *Sitophilus zeamais* (Motsch) (coleopteran: curculionidae). *Communication in agricultural and applied biological sciences*, **69**. 145-156

Ngamo T. L. S., (2004). A la recherche d'une alternative aux polluants organiques persistants utilisés pour la protection des végétaux. *Bulletin d'informations phytosanitaires*, **43**. 69-75.

Ngamo L.S.T., et Hance T., (2007). Diversité des ravageurs des denrées et méthodes alternatives de lutte en milieu tropical. *Tropicultura*, **25**. 215-220.

Ngamo L.S.T., Goudoum A., Ngassoum M.B., Mapongmetsem P.M., Lognay G., Malaisse F et Hance T. (2007a). Chronic toxicity of essential oils of 3 local aromatic plants towards *Sitophilus zeamais* Motsch. (Coleoptera: Curculionidae). *African Journal of Agricultural Research*. **2**. 164-167.

Ngamo Tinkeu LS, Ngassoum MB, Jirovetz L, Ousman A, Nukenine EC and Moukala O., (2001). Protection of stored maize against *Sitophilus zeamais* (Motsch.) by use of essential oils of spices from Cameroon. *Medlinden Faculteit Landbouww Universiteit Gent*, **66/2a**: 473-478.

Ngamo L.S.T., Ngassoum M.B., Goudoum A., Mapongmetsem P.M., Noudjou W.F., Malaisse F., Houbruge E., Lognay G., Kouninki H., and Hance T. (2007b). Use of essential oils of aromatic plants as protectant of grains during storage. *Agricultural journal*. **2**. 204-209.

Ndiaye Abdoulaye., (2000). Directives pour l'homologation des biopesticides au Sahel. *Phytosanitary news bulletin* **26**. 168-172.

Nagao T., Abe F., Kinjo J., Okabe H., (2002). Antiproliferative constituents in plants 10. Flavones from the leaves of *Lantana montevidensis* Briq and consideration of structure-activity relationship. *Biol Pharm Bull*, **25**. 875-879.

Nasateru O., Eriko O., Takemi T., Yoshihiko L., Yamasaki T., Chikako M., Tsuyoshi I., Toshihiro N., (2008). DPPH radical-scavenging effect on some constituents from the aerial parts of *Lippia triphylla* *J Nat Med*, **62**. 101-106.

Nduryang., (2006). Domestication de *Plectranthus glandulosus* Hook. (Lamiaceae): Etude de quelques itinéraires techniques en champ. Mémoire de maîtrise. Université de Ngaoundéré, 53p

Ngassoum M. B., Jirovetz L. et Buchbauer G., (1999). Essential oils and headspace from *Hyptis suaveolens* (L) (Poi) leaves and flowers from Cameroun. *Journal of essential oil research*, **11**. 283-288.

Ngassoum M. B., Jirovetz L, Buchbauer G., Fleischhacker W., (2001). Investigation of essential oils of *Plectranthus glandulosus* Hook f. (Lamiaceae) from Cameroon. *Journal of essential oil Research*, **13**. 73-75.

O

Olga Batista., M. Fatima Simoes., Jose Nascimento., Sofia Riberio., Aida Duarte., Benjamin Rodriguez., Maria C. De La Torre., (1996). A Rearranged Abietane Diterpenoid From *Plectranthus Hereroensis*. *Phytochemistry* **41**. 571-573

Olga Batista., M. Fatima Simoes., Aida Duarte., Maria C. De La Torre., Benjamin Rodriguez., (1995). An Antimicrobial Abietane From the root of *Plectranthus hereroensis*. *Phytochemistry* **38**. 167-169

Ono M., Nishida Y., Masuoka C., Li J., Okawa M., Ikeda T., Nohara T., (2004). Lignan derivatives and a norditerpene from the seeds of vitex negundo. *J. Nat Prod* **67**. 2073-2085

Otsuka H., Hirata E., Shinzato T., Takeda Y., (2000). Isolation of lignan glucosides and neolignan sulfate from the leaves of *Glochidion zeylanicum* (Gaertn) A. JUSS. *Chem Pharm Bull* **48**. 1084-1086

Ohashi K., Watanabe H., Okumura Y., Uji T., Kitagawa I., (1994). Indonesian medical plants. XII. Four isomeric lignan-glucosides from the bark of *Aegle marmelos* (Rutaceae). *Chem Pharm Bull* **42**. 1924-1926

P

Pooley, E., (1998). A field guide to wild flowers of Kwa Zulu-Natal and the eastern region. *Natal Flora Publications Trust*, Durban.

Pincemail J., Meurisse M., Limet R., Defraigne J. O., (1999). L'évaluation du stress oxydatif d'un individu : une réalité pour le médecin. *Vaisseaux, Cœur, Poumon*. 4 (5).

Porter, Q.N. and Balda J. Mass Spectrometry of Heterocyclic Compounds, Wiley Interscience New York, 169, 1971.

Pascal D. Douanla, Maeguerrite Hortence K. Tchuendem, Alembert T. Tchinda, Turibio Kuate Tabopda, Denis Zofou, Ewa Cieckiewicz, Michel Frederich et Augustin E. Nkengfack, (2018). Chemical constituents of the Leaves of *Caloncoba Welwitschii* Gilg. *Phytochemistry Letters* **23**. 5-8

Prudent D., Perineau F., Bessiere J. M., Michel G. M., Baccou J. C., (1995). Analysis of the essential oil of wild oregano from Martinique (*Coleus aromaticus* Benth.): Evaluation of its bacteriostatic and fungistatic properties. *Journal of Essential Oil Research*, **7**. 165-173.

R

Rice L.J., Brits G.J., Potgieter C.J., Van Staden J., (2011). *Plectranthus*: A plant for the future? *South African Journal of Botany*, **77**. 947-959

Rabe, T., Van Staden, J., (1998). Screening of *Plectranthus* species for antibacterial activity. *South African Journal of Botany* **64**. 62-65.

Ruiz A. R., DeLa T., Alonso N., Villaescusa A., Betancourt J., Vizoso A., (1996). Screening of medicinal plants for induction of somatic segregation activity in *Aspergillus nidulans*. *Journal of Ethnopharmacology* **52**. 123-127.

S

Sahar Mofidi Tabatabaei., Peyman Salehi., Mahdi Moridi Farimani., Markus Neuburger., Maria De Mieri., Matthias Hamburger and Samad Nejad-Ebrahimi., (2017). A nor-diterpene from *Salvia sahendica* leaves. *Journal of Natural Product Research*. DOI: 10.1080/14786419.2017.1290619

Sutthanut K, Sripanidkulchai B, Yenjai C, Jay M., (2007). Simultaneous identification and quantitation of 11 flavonoid constituents in *Kaempferia parviflora* by gas chromatography. *J Chromatogr A* **1143**. 227-233

Sirinapa Nantapap., Sittiporn Punyanitya., Narong Nuntasaen., Wilart Pompimon., and Puttinan Meepowpan., (2017). Flavones from aerial parts of *Polyalthia bullata* and cytotoxicity against cancer cell lines. *Chemistry of Natural Compounds* **53**. 762-763

Salimuzzaman Siddiqui., Farrukh Hafeez., Sabira Begum and Binas Siddiqui., (1988). Oleanderol, A New Pentacyclic Triterpene From The Leaves of Nerlun Oleander. *Journal of Natural Products* **51.** 229-233

Sirat, H. M., Susanti, D., Ahmad, F., Takayama, H. and Kitajima, M. (2010). Amides, triterpene and flavonoids from the leaves of *Melastoma malabathricum* L. *Journal of Natural Medicine*, **64.** 492-495

Supawadee Burapan., Milyang Kin., and Jaehong Han., (2017). Demethylation of Polymethoxyflavones by *Human Gut bacterium, Blautia SP.* MRG-PMF1. *Journal Agricultural and Food Chemistry.* **65.** 1620-1629

Scotti G., (1978). Les insectes et les acariens des céréales stockées. Normes et Techniques. AFNOR. Paris. 238p.

Sasaki H., Nishimura H., Chin M., Mitsuhashi H., (1989). Hydroxy-cinnamic acid esters of phenethylalcohol glycosides from rehmanna glutinosa var. purpurea. *Phytochemistry.* **28.** 875-879

Shobha Waldia, Bipin C. Joshi, Uma Pathak, Mukesh C. Joshi., (2011). The genus *Plectranthus* in india and its chemistry. *Chemistry and Biodiversity* **8.** 244-252

Skrzypek Z., Wyokinska H., Swicatek L., Wroblewski E., (1999). Phenylpropanoides from penstemon serrulatus. *J. Nat Prd* **62.** 127-129

Saotoing P., (2005). Diversité Culicidiène dans la partie septentrionale du Cameroun et effet des huiles essentielles sur les adultes d'*Anophèles gambiae*. Thèse de doctorat 3^{ème} cycle. Université de Yaoundé 1 Cameroun. 99p.

Sahar Mofidi Tabatabaei., Peyman Salehi., Mahdi Moridi Farimani., Markus Neuburger., Maria De Mieri., Matthias Hamburger and Samad Nejad-Ebrahimi., (2017). A nor-diterpene from *Salvia sahendica* leaves. *Journal of Natural Product Research.* DOI: 10.1080/14786419.2017.1290619

T

Tapas AR, Sakarkar DM, and Kakde RB., (2008). Flavonoids as Nutraceuticals: A Review. *Tropical Journal of Pharmaceutical Research*, **7.** 1089-1099

Takeshi Sassa., Hiromichi Kenmoku., Mitsuyoshi Sato., Tetsuya Murayama., Nobuo Kato., (2003). (+)-Menthol and Its Hydroxyl Derivatives, Novel Fungal Monoterpenols from the Fusicoccin-producing Fungi, *Phomopsis amygdali* F6a and Niigata 2. *Biosci. Biotechnol. Biochem.* **67.** 475-479

Tatsadjieu N.L., Jazet Dongmo P.M., Ngassoum M.B., Etoa F.X., Mbofung C.M.F., (2009). Investigation on the essential oil of *Lippia rugosa* from Cameroon for its potential use as antifungal agent against *aspergillus flavus* link ex. Fries. *Food Control*, **20**. 161-166

Tapondjou L.A., Adler C., Bouda H. et Fontem D.A, (2002). Efficacy of powder and essential oil from *chenopodium ambrosioides* leaves as post-harvest grain protectants against six-stored product beetles. *Journal of stored products research*, **38**. 395-402.

Tapondjou L.A, Adler C., Bouda H. et Fontem D.A, (2003). Bioefficacité des poudres et des huiles essentielles de *Chenopodium ambrosioides* et *Eucalyptus saligna* à l'égard de bruche du niébé *callosobluchus maculatus* Fab. (coleopteran, Bruchidae), *Cahier d'études et de recherché francophones/Agricultures*, **12**. 401-7

Teixeira Aline Maciele Silva., Gonçalves Cássia Magalhães., Duarte Lucienir Pains., Wagner da Nova Mussel., Gois Ruiz Ana Lucia Tasca., Shiozawa Larissa., João Ernesto de Carvalho., Izabel Cristina Trindade., Sidney Augusto Vieira Filho. (2017). Lupeol and its esters: NMR, powder XRD data and in vitro evaluation of cancer cell growth. *Brazilian Journal of Pharmaceutical Sciences*. **53**
<http://dx.doi.org/10.1590/s2175-97902017000300251>

Tatsadjieu N. L., Etoa F. X., Mbofung C. M. F. & Ngassoum M. B., (2008). Effet of *Plectrantus glandulosus* and *Ocimum gratissimum*. Essential oils on Growth *Apergillus flavus* and Aflatoxin B₁ Production. *Tropicultura*, **26**. 78-83.

Tchoumbougnag F., (1997). Contribution à la détermination des teneurs, des caractéristiques chimiques et des activités antifongiques des huiles essentielles de quelques plantes aromatique, condimentaire et médicinales du Cameroun. Thèse de doctorat troisième cycle de Biochimie. Faculté des sciences. Université de Yaoundé 1, 270p.

U

Ulubelen A., Oyturk S., and Isildatici S., (1968). A New flavone from *Salvia triloba* L. f (Labiatae). *Journal of pharmaceutical Sciences*. **57**. 1037-1038.

Urones JG., Teresa JP., Marcos IS., Martin DD., (1987). Ent-isolar-ciresinol in *reseda suffruticosa*. *Phytochemistry* **26**. 1540-1541

V

Vansant G. (2004). Radicaux libres et antioxydants : Principes de base. Symposium "Antioxydants et alimentation". Institut Danone.

Van Jaarsveld, E., (2006). South African *Plectranthus* and the art of turning shade to glade. *Fernwood Press, Simon's Town*.

Van Tunen A.J., Mur L.A., Brouns G.S., Rientra J.D., Koes R.E. and Mol J.N.M. (1990). Pollen and specific CHI promoters from *Petunia*: Tandem promote regulator of the CHI A gene. *Plant Cell*, **2**. 393-401

Vogt T. (2009). Phenylpropanoid biosynthesis. *Molecular Plant*, **3**: 2-20

Vayias B. J., Athanassiou C. G., Buchelos C. T., (2008). Evaluation of resistance development by *Tribolium confusum* Du Val (Coleoptera: Tenebrionidae) to diatomaceous earth under laboratory selection. *Journal of Stored Products Research*, **44**. 162-168.

W

Watt, J.M., Breyer-Brandwijk, M.G., (1962). The Medicinal and Poisonous Plants of Southern and Eastern Africa. E & S Livingstone, London.

Wollgast, J., Anklam, E., (2000). Review on polyphenols in *Theobroma cacao*: changes in composition during the manufacture of chocolate and methodology for identification and quantification. *Food Research International*, **33**. 423-447.

W-Erdman J., Balentine J. D., Arab L., Beecher G., Dwyer J. T., Folts J., Harnly., Hollman J. P., L -Keen C., Mazza G., Messina M., Scalbert A., Vita J., Williamson. G., Burrowes J. (2007). Flavonoids and heart: Proceeding of the ILSI North America flavonoids workshop, may 31-june 1, 2005, Washington. *Journal of Nutrition*, **137**. 718-737.

Walker D. J., and Farrell, G., (2003). Food Storage Manual. Chatham, UK: Natural Resources Institute/Rome: World Food Programme. 243 p.

Z

Zare, Z., Ahmed, M., Sattari, T. N., Iranbakhsh, A., Mehrabian, S. (2012). Antimicrobial activity of leaf and flower extracts of *Lippia nodiflora*. (Verbenacea). *Journal of Plant Protection Research*; **52**. 401-403.

LISTE DES PUBLICATIONS ISSUES DE LA THESE

1. **Jean Paul Tsopmejio**, Jean Momeni, Francine Nkouam Tsopjio, Valérie Sielinou Tedjon, Pierre Nkouna, Nuzhat Shehla, M. Iqbal Choudhary, Augustin E. Nkengfack, (2019). Bioactive secondary metabolites from *Plectranthus glandulosus* Hook. (Lamiaceae). *Phytochemistry Letters* 30. 133-137

2. Momeni, J., **Tsopmejio, J.P.**, Nkouam, F.T., Ngassoum, M.B., (2016). Antioxidant activity of the natural flavonoid 7-hydroxy-5,6,4'-trimethoxyflavone isolated from the leaves of *Lippia rugosa* A. Chev. *Natural. Sciences* 8. 70-78.