

REPUBLIQUE DU CAMEROUN

*Paix – Travail – Patrie*

\*\*\*\*\*

UNIVERSITE DE YAOUNDE I

FACULTE DES SCIENCES

DEPARTEMENT DE CHIMIE

ORGANIQUE

\*\*\*\*\*

CENTRE DE RECHERCHE ET DE

FORMATION DOCTORALE EN

SCIENCES, TECHNOLOGIES ET

GÉOSCIENCES

LABORATOIRE DES SUBSTANCES

NATURELLES ET VALORISATION



REPUBLIC OF CAMEROUN

*Peace – Work – Fatherland*

\*\*\*\*\*

UNIVERSITY OF YAOUNDE I

FACULTY OF SCIENCE

DEPARTMENT OF ORGANIC

CHEMISTRY

\*\*\*\*\*

POSTGRADUATE SCHOOL OF

SCIENCE,

TECHNOLOGY AND

GEOSCIENCES

LABORATORY OF THE

NATURAL PRODUCTS AND

VALORIZATION

**ETUDE PHYTOCHIMIQUE D'ERYTHRINA  
DROOGMANSIANA DE WILD. & T.DURAND (FABACEAE)  
PLANTE MEDICINALE ET CONTRIBUTION A LA LUTTE  
CONTRE LE DEVELOPPEMENT DU STRESS OXYDANT**

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

Par : YAYA GBAWENG Abel Joël

Master en Chimie Organique

Sous la direction de

**TALLA Emmanuel**

**Maître de Conférences**

**Université de Ngaoundéré**

**MBAFOR Tanyi Joseph**

**Professeur**

**Université de Yaoundé I**

Année Académique : 2018

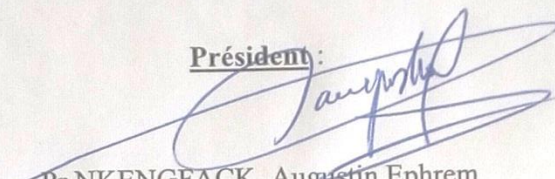


## FICHE DE CERTIFICATION DES CORRECTIONS

Nous soussignés, les membres du Jury et le Chef de Département de Chimie Organique de la Faculté des Sciences de l'Université de Yaoundé I, attestons que la présente Thèse de Doctorat PhD de **M. YAYA GBAWENG Abel Joël** a été revue et corrigée conformément aux orientations du Jury du **03 Juillet 2018**.


Le Jury,

Président :

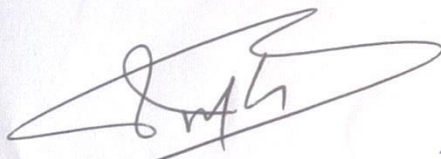
  
Pr NKENGFAK Augustin Ephrem


Rapporteurs :


  
Pr TALLA Emmanuel

  
Pr MBAFOR Tanyi Joseph

Membres :

  
Pr DONGO Etienne

  
Pr MBAZE MEVA'A Luc


  
Pr NJAMEN Dieudonné

Visa du Chef de Département

**VU ET TRANSMIS AVEC AVIS FAVORABLE** 10 4 SEPT 2018

  
NKENGFAK Augustin Ephrem  
Professeur

## LISTE PROTOCOLAIRE

<b>UNIVERSITÉ DE YAOUNDÉ I</b> <b>Faculté des Sciences</b> Division de la Programmation et du Suivi des Activités Académiques		<b>THE UNIVERSITY OF YAOUNDE I</b> <b>Faculty of Science</b> Division of Programming and Follow-up of Academic Affairs
<b>LISTE DES ENSEIGNANTS PERMANENTS</b>		<b>LIST OF PERMANENT TEACHING STAFF</b>

**ANNÉE ACADEMIQUE 2017/2018**

(Par Département et par Grade)

**DATE D'ACTUALISATION : 10 Mars 2018**

### ADMINISTRATION

**DOYEN** : AWONO ONANA Charles, *Professeur*

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

**VICE-DOYEN / DSSE** : OBEN Julius ENYONG, *Professeur*

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

ABOSSOLO Monique, *Maitre de Conférences*

<b>1- DÉPARTEMENT DE BIOCHIMIE (BC) (41)</b>			
N°	NOMS ET PRÉNOMS	GRADE	OBSERVATIONS
1	FEKAM BOYOM Fabrice	Professeur	En poste
2	MBACHAM FON Wilfried	Professeur	En poste
3	MOUNDIPA FEWOU Paul	Professeur	Chef de Département
4	NINTCHOM PENLAP V. épouse BENG	Professeur	En poste
5	OBEN Julius ENYONG	Professeur	En poste
6	ATOGHO Barbara Mma	Maître de Conférences	En poste
7	BELINGA née NDOYE FOE M. C. F.	Maître de Conférences	Chef DAF / FS
8	BIGOGA DIAGA Jude	Maître de Conférences	En poste
9	BOUDJEKO Thaddée	Maître de Conférences	En poste
10	EFFA NNOMO Pierre	Maître de Conférences	En poste

11	FOKOU Elie	Maître de Conférences	En poste
12	KANSCI Germain	Maître de Conférences	En poste
13	NANA Louise épouse WAKAM	Maître de Conférences	En poste
14	NGONDI Judith Laure	Maître de Conférences	En poste
15	NGUEFACK Julienne	Maître de Conférences	En poste
16	NJAYOU Frédéric Nico	Maître de Conférences	En poste
17	ACHU Merci BIH	Chargée de Cours	En poste
18	DEMMANO Gustave	Chargé de Cours	En poste
19	DJOKAM TAMO Rosine	Chargée de Cours	En poste
20	DJUIDJE NGOUNOUE Marcelline	Chargée de Cours	En poste
21	DJUIKWO NKONGA Ruth Viviane	Chargée de Cours	En poste
22	EVEHE BEBANDOUÉ Marie-Solange	Chargée de Cours	En poste
23	EWANE Cécile Anne	Chargée de Cours	En poste
24	KOTUE KAPTUE Charles	Chargé de Cours	En poste
25	LUNGA Paul KEILAH	Chargé de Cours	En poste
26	MBONG ANGIE M. Mary Anne	Chargée de Cours	En poste
27	MOFOR née TEUGWA Clotilde	Chargée de Cours	Inspecteur de Service MINESUP
28	NJAYOU Frédéric Nico	Chargé de Cours	En poste
29	Palmer MASUMBE NETONGO	Chargé de Cours	En poste
30	TCHANA KOUATCHOUA Angèle	Chargée de Cours	En poste
31	PACHANGOU NSANGOU Sylvain	Chargé de Cours	En poste
32	DONGMO LEKAGNE Joseph Blaise	Chargé de Cours	En poste
33	FONKOUA Martin	Chargé de Cours	En poste
34	BEBOY EDZENGUELE Sara Nathalie	Chargée de Cours	En poste
35	DAKOLE DABOY Charles	Chargée de Cours	En poste
36	MANANGA Marlyse Joséphine	Chargée de Cours	En poste
37	MBOUCHE FANMOE Marceline Joëlle	Assistante	En poste
38	BEBEE Fadimatou	Assistante	En poste
39	TIENCHEU DJOKAM Leopold	Assistant	En poste

## 2- DÉPARTEMENT DE BIOLOGIE ET PHYSIOLOGIE ANIMALES (BPA) (44)

1	BILONG BILONG Charles-Félix	Professeur	<b>Chef de Département</b>
2	DIMO Théophile	Professeur	En Poste
3	DJIETO LORDON Champlain	Professeur	En poste
4	ESSOMBA née NTSAMA MBALA	Professeur	<i>VDoyen/FMSB/UYI</i>
5	FOMENA Abraham	Professeur	En Poste
6	KAMTCHOUING Pierre	Professeur	EN POSTE
7	NJAMEN Dieudonné	Professeur	En poste
8	NJIOKOU Flobert	Professeur	En Poste
9	NOLA Moïse	Professeur	En poste
10	TAN Paul VERNYUY	Professeur	En poste
11	TCHUEM TCHUENTE Louis Albert	Professeur	<i>Coord. Progr. MINSANTE</i>
12	AJEAGAH Gidéon AGHAINDUM	Maître de Conférences	<b>Chef Service DPER</b>
13	DZEUFIET DJOMENI Paul Désiré	Maître de Conférences	En poste

14	FOTO MENBOHAN Samuel	Maître de Conférences	En poste
15	KAMGANG René	Maître de Conférences	<i>C.S. MINRESI</i>
16	KEKEUNOU Sévilor	Maître de Conférences	En poste
17	MEGNEKOU Rosette	Maître de Conférences	En poste
18	MONY Ruth épouse NTONE	Maître de Conférences	En Poste
19	TOMBI Jeannette	Maître de Conférences	En poste
20	ZEBAZE TOGOUET Serge Hubert	Maître de Conférences	En poste
21	ALENE Désirée Chantal	Chargée de Cours	En poste
22	ATSAMO Albert Donatien	Chargée de Cours	En poste
23	BELLET EDIMO Oscar Roger	Chargé de Cours	En poste
24	BILANDA Danielle Claude	Chargée de Cours	En poste
25	DJIOGUE Séfirin	Chargée de Cours	En poste
26	DONFACK Mireille	Chargée de Cours	En poste
27	GOUNOUE KAMKUMO Raceline	Chargée de Cours	En poste
28	LEKEUFACK FOLEFACK Guy B.	Chargé de Cours	En poste
29	MAHOB Raymond Joseph	Chargé de Cours	En poste
30	MBENOUN MASSE Paul Serge	Chargé de Cours	En poste
31	MOUNGANG LucianeMarlyse	Chargée de Cours	En poste
32	MVEYO NDANKEU Yves Patrick	Chargée de Cours	En poste
33	NGOuateu KENFACK Omer Bébé	Chargé de Cours	En poste
34	NGUEGUIM TSOFAK Florence	Chargée de Cours	En poste
35	NGUEMBOK	Chargé de Cours	En poste
36	NJATSA Hermine épouse MEGAPTCHE	Chargée de Cours	En Poste
37	NJUA Clarisse Yafi	Chargée de Cours	<b>CD/UBa</b>
38	NOAH EWOTI Olive Vivien	Chargée de Cours	En poste
39	TADU Zephyrin	Chargée de Cours	En poste
40	YEDE	Chargée de Cours	En poste
41	ETEME ENAMA Serge	Assistant	En poste
42	KANDEDA KAVAYE Antoine	Assistant	En poste
43	KOGA MANG DOBARA	Assistant	En poste
<b>3- DÉPARTEMENT DE BIOLOGIE ET PHYSIOLOGIE VÉGÉTALES (BPV) (26)</b>			
1	AMBANG Zachée	Professeur	Chef Division/UYII
2	BELL Joseph Martin	Professeur	En poste
3	YOUMBI Emmanuel	Professeur	<b>Chef de Département</b>
4	MOSSEBO Dominique Claude	Professeur	En poste
5	BIYE Elvire Hortense	Maître de Conférences	En poste
6	DJOCGOUE Pierre François	Maître de Conférences	En poste
7	KENGNE NOUMSI Ives Magloire	Maître de Conférences	En poste
8	MALA Armand William	Maître de Conférences	En poste
9	NDONGO BEKOLO	Maître de Conférences	<i>CE / MINRESI</i>
10	NGONKEU MAGAPTCHE Eddy L.	Maître de Conférences	En poste
11	ZAPFACK Louis	Maître de Conférences	En poste
12	MBARGA BINDZI Marie Alain	Maître de Conférences	CT/Univ Dschang
13	MBOLO Marie	Maître de Conférences	En poste
14	ANGONI Hyacinthe	Chargée de Cours	En poste

15	MAHBOU SOMO TOUKAM. Gabriel	Chargé de Cours	En poste
16	ONANA JEAN MICHEL	Chargé de Cours	En poste
17	GOMANDJE Christelle	Chargée de Cours	En poste
18	NGODO MELINGUI Jean Baptiste	Chargé de Cours	En poste
19	NGALLE Hermine BILLE	Chargée de Cours	En poste
20	NGOUO Lucas Vincent	Chargé de Cours	En poste
21	NSOM ZAMO Annie Claude épouse PIAL	Chargée de Cours	<i>Expert national /UNESCO</i>
22	TONFACK Libert Brice	Chargé de Cours	En poste
23	TSOATA Esaïe	Chargé de Cours	En poste
24	DJEUANI Astride Carole	Assistante	En poste
25	MAFFO MAFFO Nicole Liliane	Assistante	En poste
26	NNANGA MEBENGA Ruth Laure	Assistante	En poste
27	NOUKEU KOUAKAM Armelle	Assistante	En poste

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

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>Directeur Cabinet PM</i>
5	LAMINSI Samuel	Professeur	En poste
6	NANSEU Njiki Charles Péguy	Professeur	En poste
7	NDIFON Peter TEKE	Professeur	<i>ISI MINRESI/Chef de Département</i>
8	NENWA Justin	Professeur	En poste
9	NGAMENI Emmanuel	Professeur	<i>DOYEN FS Univ. Dschang</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	KEMMEGNE MBOUGUEM Jean C.	Maître de Conférences	En poste
13	KONG SAKEO	Maître de Conférences	<i>Chargé de Mission au P. M.</i>
14	NDIKONTAR Maurice KOR	Maître de Conférences	<i>Vice-Doyen Univ. Bamenda</i>
15	NGOMO Horace MANGA	Maître de Conférences	<i>VC/UB</i>
16	NJIOMOU C. épouse DJANGANG	Maître de Conférences	En poste
17	YOUNANG Elie	Maître de Conférences	En poste
18	ACAYANKA Elie	Chargé de Cours	En poste
19	EMADACK Alphonse	Chargé de Cours	En poste
20	KAMGANG YOUBI Georges	Chargé de Cours	En poste
21	NDI NSAMI Julius	Chargée de Cours	En poste
22	NJOYA Dayirou	Chargé de Cours	En poste
23	PABOUDAM GBAMBIÉ A.	Chargée de Cours	En poste
24	TCHAKOUTE KOUAMO Hervé	Chargé de Cours	En poste
25	BELIBI BELIBI Placide Désiré	Chargé de Cours	En poste
26	CHEUMANI YONA Arnaud M.	Chargé de Cours	En poste
27	NYAMEN Linda Dyorisse	Chargée de Cours	En poste
28	KENNE DEDZO GUSTAVE	Chargé de Cours	En poste
29	KOUOTOU DAOUDA	Chargé de Cours	En poste

30	MAKON Thomas Beauregard	Chargé de Cours	En poste
31	MBEY Jean Aime	Chargé de Cours	En poste
32	NCHIMI NONO KATIA	Chargé de Cours	En poste
33	NEBA nee NDOSIRI Bridget NDOYE	Chargé de Cours	En poste
<b>5- DÉPARTEMENT DE CHIMIE ORGANIQUE (CO) (34)</b>			
1	DONGO Etienne	Professeur	<b>Vice-Doyen / DPSAA</b>
2	GHOGOMU TIH Robert Ralph	Professeur	Dir IBAF/UDS
3	MBAFOR Joseph	Professeur	En poste
4	NGADJUI TCHALEU Bonaventure	Professeur	En poste
5	NGOUELA Silvère Augustin	Professeur	En poste
6	NKENGFAK Augustin Ephraïm	Professeur	<b>Chef de Département</b>
7	NYASSE Barthélemy	Professeur	<i>Directeur/UN</i>
8	PEGNYEMB Dieudonné Emmanuel	Professeur	<i>Directeur/ MINESUP</i>
9	WANDJI Jean	Professeur	En poste
10	Alex de Théodore ATCHADE	Maître de Conférences	<i>DEPE/ Rectorat/UYI</i>
11	FOLEFOC Gabriel NGOSONG	Maître de Conférences	<i>En poste</i>
12	KEUMEDJIO Félix	Maître de Conférences	En poste
13	KOUAM Jacques	Maître de Conférences	En poste
14	MBAZOA née DJAMA Céline	Maître de Conférences	En poste
15	NOUNGOUE TCHAMO Diderot	Maître de Conférences	En poste
16	TCHOUANKEU Jean-Claude	Maître de Conférences	<i>VR/ UYII</i>
17	YANKEP Emmanuel	Maître de Conférences	En poste
18	TIH née NGO BILONG E. Anastasie	Maître de Conférences	En poste
19	MKOUNGA Pierre	Maître de Conférences	En poste
20	NGO MBING Joséphine	Maître de Conférences	En poste
21	TABOPDA KUATE Turibio	Maître de Conférences	En poste
22	KEUMOGNE Marguerite	Maître de Conférences	En poste
23	AMBASSA Pantaléon	Chargé de Cours	En poste
24	EYONG Kenneth OBEN	Chargé de Cours	En poste
25	FOTSO WABO Ghislain	Chargé de Cours	En poste
26	KAMTO Eutrophe Le Doux	Chargé de Cours	En poste
27	NGONO BIKOBO Dominique Serge	Chargé de Cours	En poste
28	NOTE LOUGBOT Olivier Placide	Chargé de Cours	<b>Chef Service/Minesup</b>
29	OUAHOUE WACHE Blandine M.	Chargée de Cours	En poste
30	TAGATSING FOTSING Maurice	Chargé de Cours	En poste
31	ZONDENDEGOUNBA Ernestine	Chargée de Cours	En poste
32	NGOMO Orléans	Chargée de Cours	En poste
33	NGNINTEDO Dominique	Assistant	En poste
<b>6- DÉPARTEMENT D'INFORMATIQUE (IN) (25)</b>			
1	ATSA ETOUNDI Roger	Professeur	<b>Chef de Département</b>
2	FOUDA NDJODO Marcel Laurent	Professeur	<i>Chef Dpt ENS/ I.G.A.MINESUP</i>
3	NDOUNDAM René	Maître de Conférences	En poste
4	KOUOKAM KOUOKAM E. A.	Chargé de Cours	En poste

5	CHEDOM FOTSO Donatien	Chargé de Cours	En poste
6	MELATAGIA YONTA Paulin	Chargé de Cours	En poste
7	MOTO MPONG Serge Alain	Chargé de Cours	En poste
8	TINDO Gilbert	Chargé de Cours	En poste
9	TSOPZE Norbert	Chargé de Cours	En poste
10	WAKU KOUAMOU Jules	Chargé de Cours	En poste
11	TAPAMO Hyppolite	Chargé de Cours	En poste
12	ABESSOLO ALO'O Gislain	Assistant	En poste
13	BAYEM Jacques Narcisse	Assistant	En poste
14	DJOUWE MEFFEJA Merline Flore	Assistante	En poste
15	DOMGA KOMGUEM Rodrigue	Assistant	En poste
16	EBELE Serge	Assistant	En poste
17	HAMZA Adamou	Assistant	En poste
18	KAMDEM KENGNE Christiane	Assistante	En poste
19	KAMGUEU Patrick Olivier	Assistant	En poste
20	KENFACK DONGMO Clauvice V.	Assistant	En poste
21	MEYEMDOU Nadège Sylvianne	Assistante	En poste
22	MONTHÉ DJIADEU Valéry M.	Assistant	En poste
23	JIOMEKONG AZANZI Fidel	Assistant	En poste

#### 7- DÉPARTEMENT DE MATHÉMATIQUES (MA) (35)

1	BEKOLLE David	Professeur	<i>Vice-Recteur UN</i>
2	BITJONG NDOMBOL	Professeur	<i>En poste</i>
3	DOSSA COSSY Marcel	Professeur	En poste
4	AYISSI Raoult Domingo	Maître de Conférences	<b>Chef de Département</b>
5	EMVUDU WONO Yves S.	Maître de Conférences	<i>CD/ MINESUP</i>
6	NKUIMI JUGNIA Célestin	Maître de Conférences	En poste
7	NOUNDJEU Pierre	Maître de Conférences	En poste
8	TCHAPNDA NJABO Sophonie B.	Maître de Conférences	Directeur/AIMS Rwanda
9	AGHOUKENG JIOFACK Jean Gérard	Chargé de Cours	Chef Cellule MINPLAMAT
10	CHENDJOU Gilbert	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	MBEHOU Mohamed	Chargé de Cours	En poste
17	MBELE BIDIMA Martin Ledoux	Chargé de Cours	En poste
18	MENGUE MENGUE David Joe	Chargé de Cours	En poste
19	NGUEFACK Bernard	Chargé 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	DJIADEU NGAHA Michel	Assistant	En poste
27	MBIAKOP Hilaire George	Assistant	En poste
28	NIMPA PEFOUNKEU Romain	Assistant	En poste
29	TANG AHANDA Barnabé	Assistant	Directeur/MINTP
<b>8- DÉPARTEMENT DE MICROBIOLOGIE (MIB) (13)</b>			
1	ESSIA NGANG Jean Justin	Professeur	DRV/IMPM
2	ETOA François Xavier	Professeur	Chef de Département Recteur Université de Douala
3	NWAGA Dieudonné M.	Maître de Conférences	En poste
4	NYEGUE Maximilienne Ascension	Maître de Conférences	En poste
5	SADO KAMDEM Sylvain Leroy	Maître de Conférences	En poste
6	BOYOMO ONANA	Maître de Conférences	En poste
7	RIWOM Sara Honorine	Maître de Conférences	En poste
8	BODA Maurice	Chargé de Cours	En poste
9	BOUGNOM Blaise Pascal	Chargé de Cours	En poste
10	ENO Anna Arey	Chargée de Cours	En poste
11	ESSONO OBOUGOU Germain G.	Chargé de Cours	En poste
12	NJIKI BIKOÏ Jacky	Chargée de Cours	En poste
13	TCHIKOUA Roger	Chargé de Cours	En poste
<b>9.DEPARTEMENT DE PYSIQUE(PHY)</b>			
1	ESSIMBI ZOBO Bernard	Professeur	En poste
2	KOFANE Timoléon Crépin	Professeur	En poste
3	NDJAKA Jean Marie Bienvenu	Professeur	<b>Chef de Département</b>
4	NJOMO Donatien	Professeur	En poste
5	PEMHA Elkana	Professeur	En poste
6	TABOD Charles TABOD	Professeur	Doyen Univ/Bda
7	TCHAWOUA Clément	Professeur	En poste
8	WOAFO Paul	Professeur	En poste
9	EKOBENA FOU DA Henri Paul	Maître de Conférences	<i>Chef Division. UN</i>
10	NJANDJOCK NOUCK Philippe	Maître de Conférences	<i>Sous Directeur/ MINRESI</i>
11	BIYA MOTTO Frédéric	Maître de Conférences	<b>DG/HYDRO Mekin</b>
12	BEN- BOLIE Germain Hubert	Maître de Conférences	CD/ENS/UN
13	DJUIDJE KENMOE épouse ALOYEM	Maître de Conférences	En poste
14	NANA NBENDJO Blaise	Maître de Conférences	En poste
15	NOUAYOU Robert	Maître de Conférences	En poste
16	SIEWE SIEWE Martin	Maître de Conférences	En poste
17	ZEKENG Serge Sylvain	Maître de Conférences	En poste
18	EYEBE FOU DA Jean sire	Maître de Conférences	En poste
19	FEWO Serge Ibraïd	Maître de Conférences	En poste
20	HONA Jacques	Maître de Conférences	En poste
21	OUMAROU BOUBA	Maître de Conférences	<i>En poste</i>
22	SAIDOU	Maître de Conférences	Sous Directeur/Minresi
23	SIMO Elie	Maître de Conférences	En poste
24	BODO Bernard	Chargé de Cours	En poste

25	EDONGUE HERVAIS	Chargé de Cours	En poste
26	FOUEDJIO David	Chargé de Cours	En poste
27	MBANE BIOUELE	Chargé de Cours	En poste
28	MBINACK Clément	Chargé de Cours	En poste
29	MBONO SAMBA Yves Christian U.	Chargé de Cours	En poste
30	NDOP Joseph	Chargé de Cours	En poste
31	OBOUNOU Marcel	Chargé de Cours	DA/Univ Inter Etat/Sangmalima
32	TABI Conrad Bertrand	Chargé de Cours	En poste
33	TCHOFFO Fidèle	Chargé de Cours	En poste
34	VONDOU DerbetiniAppolinaire	Chargé de Cours	En poste
35	WOULACHE Rosalie Laure	Chargée de Cours	En poste
36	ABDOURAHIMI	Chargé de Cours	En poste
37	ENYEGUE A NYAM épouse BELINGA	Chargée de Cours	En poste
38	WAKATA née BEYA Annie	Chargée de Cours	<i>Sous Directeur/ MINESUP</i>
39	MVOGO ALAIN	Chargé de Cours	<i>En poste</i>
40	CHAMANI Roméo	Assistant	En poste
41	MLI JOELLE LARISSA	Assistante	<i>En poste</i>
<b>10- DÉPARTEMENT DE SCIENCES DE LA TERRE (ST) (42)</b>			
1	NDJIGUI Paul Désiré	Professeur	<b>Chef de Département</b>
2	BITOM Dieudonné	Professeur	<i>Doyen / FASA / UDs</i>
3	NZENTI Jean-Paul	Professeur	En poste
4	KAMGANG Pierre	Professeur	En poste
5	MEDJO EKO Robert	Professeur	<i>Coseiller Technique/UYII</i>
6	FOUATEU Rose épouse YONGUE	Maître de Conférences	En poste
7	NDAM NGOUPAYOU Jules-Remy	Maître de Conférences	En poste
8	NGOS III Simon	Maître de Conférences	DAAC/Uma
9	NJILAH Isaac KONFOR	Maître de Conférences	En poste
10	NKOUMBOU Charles	Maître de Conférences	En poste
11	TEMDJIM Robert	Maître de Conférences	En poste
12	YENE ATANGANA Joseph Q.	Maître de Conférences	<i>Chef Div. /MINTP</i>
13	ABOSSOLO née ANGUE Monique	Maître de Conférences	<i>Chef div. DAASR / FS</i>
14	GHOGOMU Richard TANWI	Maître de Conférences	CD/UMa
15	MOUNDI Amidou	Maître de Conférences	<i>Chef Div. MINIMDT</i>
16	ONANA Vincent	Maître de Conférences	En poste
17	TCHOUANKOUE Jean-Pierre	Maître de Conférences	En poste
18	ZO'O ZAME Philémon	Maître de Conférences	<i>DG/ART</i>
19	MOUNDI Amidou	Maître de Conférences	<i>CT/ MINIMDT</i>
20	BEKOA Etienne	Chargé de Cours	<i>En poste</i>
21	BISSO Dieudonné	Chargé de Cours	<i>Directeur/Projet Barrage Memve'ele</i>
22	ESSONO Jean	Chargé de Cours	<i>En poste</i>
23	EKOMANE Emile	Chargé de Cours	<i>En pste</i>
24	FUH Calistus Gentry	Chargée de cours	<i>Sec. D'Etat/MINMIDT</i>
25	GANNO Sylvestre	Chargé de Cours	En poste
26	LAMILLEN BILLA Daniel	Chargé de Cours	En poste

27	MBIDA YEM	Chargé de Cours	<i>En poste</i>
28	MINYEM Dieudonné-Lucien	Chargé de Cours	<i>CD/Uma</i>
29	MOUAFO Lucas	Chargé de Cours	En poste
31	NGO BELNOUN Rose Noël	Chargée de Cours	En poste
32	NGO BIDJECK Louise Marie	Chargée de Cours	En poste
33	NGUETCHOUA Gabriel	Chargé de Cours	CEA/MINRESI
34	NYECK Bruno	Chargé de Cours	En poste
35	TCHAKOUNTE J. épouse NOUMBEM	Chargée de Cours	<i>CT / MINRESI</i>
36	METANG Victor	Chargé de cours	En poste
37	NOMO NEGUE Emmanuel	Chargé de cours	En poste
38	TCHAPTCHET TCHATO De P.	Chargé de cours	En poste
39	TEHNA Nathanaël	Chargé de cours	En poste
40	TEMGA Jean Pierre	Chargé de cours	En poste
41	MBESSE CECILE OLIVE	Chargée de cours	En poste
42	ELISE SABABA	Chargé de cours	En poste
43	EYONG JOHN TAKEM	Assistant	En poste
44	ANABA ONANA Achille Basile	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
B.C.	5 (1)	10 (5)	20 (10)	3 (1)	<b>39 (16)</b>
B.P.A.	11 (1)	9 (3)	20 (8)	3 (5)	<b>43 (17)</b>
B.P.V.	4 (0)	9(2)	10 (2)	4 (4)	<b>27 (8)</b>
C.I.	9(1)	8(2)	16 (4)	0 (2)	<b>33 (9)</b>
C.O.	8 (0)	13 (3)	8 (2)	1 (0)	<b>30 (5)</b>
I.N.	3 (0)	1 (0)	8 (0)	12 (3)	<b>24 (3)</b>
M.A.	3 (0)	5 (0)	18 (1)	4 (0)	<b>30 (1)</b>
M.B.	2 (0)	5 (2)	6 (2)	0 (0)	<b>13 (4)</b>
P.H.	8 (0)	17 (0)	15 (2)	2 (1)	<b>42 (3)</b>
S.T.	5 (0)	15 (2)	22 (3)	2 (0)	<b>44 (5)</b>
<b>Total</b>	<b>58 (3)</b>	<b>92(19)</b>	<b>144 (33)</b>	<b>31(16)</b>	<b>325(71)</b>

Soit un total de

- Professeurs
- Maîtres de Conférences
- Chargés de Cours
- Assistants

**325(71) dont :**

**58 (3)**  
**92 (19)**  
**144 (33)**  
**31 (16)**

( ) = Nombre de Femmes

## DEDICACE

*A mon feu père YAYA Abel*

*A ma mère NGUIDJOE Elise*

*A ma chère et tendre épouse SIYOU C Laure  
et notre fils BEMKO-SI G Josias Parfait*

*A tous mes frères et sœurs  
BOURA A Frédérique, BELPOROH G Etienne, KOULAMA Z  
Estelle, DING D Marthe, KASSIWI G Rodrigue et GBAWENG E  
Sodéa, sans oublier mes nièces et mes neveux*

## REMERCIEMENTS

La réalisation de ce travail n'aurait pas été possible sans l'aide et l'apport de plusieurs personnes et Instituts. Je pense entre autres :

- Au Pr MBAFOR Tanyi Joseph, Enseignant au Département de Chimie Organique, à l'Université de Yaoundé I, superviseur de ce travail, qui malgré ses multiples occupations n'a pas cessé de me faire profiter de son expérience et qui par ses conseils, son humilité m'a permis d'énormément apprendre. Je tiens à lui exprimer ma sincère reconnaissance.
- Au Dr TALLA Emmanuel, Maître de Conférences au Département de Chimie de l'Université de Ngaoundéré, et par ailleurs Chef de Division des Affaires Générales à l'Ecole de Génie Chimique et des Industries Minérales (EGCIM) de la même Université, qui a dirigé ce travail avec une attention particulière sans se limiter au plan académique uniquement. Je lui exprime ici ma sincère reconnaissance et mon profond respect.
- Au Pr NKENGFACK Augustin Ephrem, Enseignant au Département de Chimie Organique, à l'Université Yaoundé I, et par ailleurs Chef du dit Département, pour ses encouragements et nombreux conseils, et aussi pour tous les moyens qu'il met pour une formation de qualité des étudiants dont il a la charge. Je lui suis très reconnaissant.
- Au Pr ESSAME OYONO Jean-Louis, Directeur de l'IMPM qui ne ménage aucun effort pour que ses chercheurs obtiennent leur diplôme terminal et progressent dans leur carrière scientifique. Je lui exprime ma reconnaissance.
- Au Dr TCHINDA TIABOU Alembert, Directeur de Recherche et Adjoint au chef de la division de la valorisation des résultats à l'IMPM, qui a accordé une attention particulière à ce travail et a enregistré la majeure partie des spectres des composés présents dans cette thèse. Je lui exprime toute ma reconnaissance pour tout ce qu'il a fait.
- Au Dr MELI Alain, Maître de Conférences au Département de Chimie à l'Ecole Normale Supérieure de Maroua, pour l'enregistrement de certains spectres.
- Au Pr OBEN Julius Enyong, Enseignant au Département de Biochimie de l'Université de Yaoundé I, et par ailleurs Coordonnateur du Centre de recherche et de formation doctorale en sciences, technologies et géosciences, pour la réalisation d'une partie des tests antioxydants.

- Au Dr SOKENG DONGMO Sélestin, Maître de Conférences à la Faculté des Sciences de l'Université de Ngaoundéré, pour la réalisation des tests d'activités antiinflammatoire.
- Au Pr NGO BUM Elizabeth, Enseignante au Département de Biologie et Physiologie Animales de l'Université de Ngaoundéré et par ailleurs Doyenne de la Faculté des Mines et des Industries Pétrolières à l'Université de Maroua, pour la réalisation des tests d'activités anxiolytique et anticonvulsivante.
- Au Dr AGBOR AGBOR Gabriel, Directeur de Recherche et au Dr DONGFAGSITELI TCHINDA Néhémie, Maître de Recherche respectivement chef et adjoint au chef du centre de recherche en plantes médicinales et médecine traditionnelle, pour les conseils et toutes les facilités qu'ils m'ont accordés.
- Au Dr ATCHADE Alex de Théodore, Maître de Conférences au Département de Chimie Organique de l'Université de Yaoundé I, pour ses multiples encouragements, son suivi et ses nombreux conseils ; je lui exprime ma gratitude.
- Au Dr TAGATSING FOTSING Maurice, Chargé de Cours au Département de Chimie Organique de l'Université de Yaoundé I, pour ses nombreux conseils et encouragements.
- A M. NANA Victor, pour la récolte de la plante étudiée dans cette thèse.
- Au Pr LOURA Benoît, Enseignant à l'Université de Maroua pour la qualité de formation qu'il nous a donnée alors qu'il était Chef du Département de Chimie à l'Université de Ngaoundéré.
- Aux docteurs NOUMI Guy Bertrand et HAROUNA Massai, tous deux Maîtres de Conférences au Département de Chimie de l'Université de Ngaoundéré et aux Docteurs MOMENI Jean et FADIMATOU, tous enseignants du Département de Chimie de l'Université de Ngaoundéré, pour avoir contribué à ma formation.
- A M. KAYO TABOULA Maurice, Assistant au Département de Chimie de l'Université de Bamenda pour le rôle d'ainé de laboratoire qu'il a su jouer et pour mon initiation à la recherche. Je lui suis très reconnaissant.
- A tous les membres du laboratoire N° 3 des Substances naturelles de l'Université de Yaoundé I, pour les encouragements et la chaleur fraternelle qu'ils mettent au laboratoire.
- Au Dr KOPA KOWA Théodora, M. ABDOU Jean Pierre, M. TOUKAM DJOUONZO Paul, M. SIMO David, M. ADJANG NJIDE Raymond, M. FOU DA BELINGA André, Mlle NONO Diane et au Dr DOUANLA Pascal, mes collègues du

laboratoire de phytochimie du Centre de recherche en plantes médicinales et en médecine traditionnelle de l'IMPM, pour les conseils et le soutien multiforme.

- A tous mes collègues du Centre de recherche en plantes médicinales et en médecine traditionnelle, pour leurs nombreux encouragements et conseils.
- A mes camarades de promotion ABDOU Jean Pierre, BEALEM Aristide, SAKAVA Paul, SOUAIBOU Yaouba, TEMOLA Tirmo et tous les autres. Pour leurs conseils et les échanges que nous avons eus durant toutes ces années.
- A toute la grande famille des Aumôneries Protestantes Universitaires du Cameroun- Yaoundé et Ngaoundéré pour leurs encouragements et conseils.
- A mes oncles et tantes ; cousins et cousines. Je pense particulièrement à Monsieur DOUA Jean, ADOU DIKO Solange, ADOU Habib et tous les autres.

## TABLE DES MATIERES

LISTE PROTOCOLAIRE.....	i
DEDICACES .....	x
REMERCIEMENTS .....	xi
Liste des abréviations et symboles.....	xix
Liste des tableaux.....	xxi
Liste des figures.....	xxiii
Liste des schémas.....	xxvi
Résumé.....	xxvii
Abstract.....	xxix
INTRODUCTION GENERALE.....	1
Chapitre 1 : REVUE DE LA LITTERATURE.....	5
I.1 LES RADICAUX LIBRES, LES ANTIOXYDANTS ET LE STRESS OXYDATIF.....	6
I.1.1 Les radicaux libres .....	6
I.1.1.1 Historique .....	6
I.1.1.2 Définition.....	6
I.1.1.3 Impact sur santé .....	7
I.1.1.4 Sources.....	7
I.1.1.4.1 Les radicaux libres d'origine interne.....	7
I.1.1.4.2 Les radicaux libres d'origine externe .....	8
I.1.2 Le stress oxydant.....	8
I.1.2.1 Généralités sur le stress oxydant.....	8
I.1.2.2 Conséquences du Stress oxydant.....	9
I.1.3 Les antioxydants .....	10
I.1.3.1 Différents types d'antioxydants.....	10
I.1.3.2 Importance des antioxydants .....	11
I.2 APERCU BOTANIQUE D' <i>ERYTHRINA DROOGMANSIANA</i> .....	12
I.2.1 Généralités sur la super-famille des Légumineuses .....	12
I.2.1.2 Intérêts .....	12
I.2.1.3 Classification .....	13
I.2.2 Les Papilionaceae .....	13
I.2.2.1 Le genre <i>Erythrina</i> .....	13
I.2.2.2 <i>Erythrina droogmansiana</i> .....	15
I.3 Usages des plantes du genre <i>Erythrina</i> .....	16



I.4 Métabolites secondaires isolés des <i>Erythrina</i> .....	17
I.4.1 Flavonoïdes.....	18
I.4.1.1 Introduction .....	18
I.4.1.2 Biosynthèse.....	20
I.4.1.2.1 Biosynthèse du squelette C6-C3-C6.....	20
I.4.1.2.2 Biosynthèse des différents squelettes flavonoïdiques .....	23
I.4.1.3 Intérêt des flavonoïdes.....	25
I.4.1.3.1 Le rôle biologique et physiologique .....	25
I.4.1.3.2 Le rôle thérapeutique .....	27
I.4.1.3.2.1 Effets antiallergiques .....	27
I.4.1.3.2.2 Effets anticancéreux .....	27
I.4.1.3.2.3 Effets anti-inflammatoires .....	28
I.4.1.3.2.4 Effets antiulcéreux .....	28
I.4.1.3.2.5 Autres effets biologiques .....	28
I.4.1.4 Études spectroscopiques et chimiques de quelques groupes de flavonoïdes.....	28
I.4.1.4.1 Caractéristiques spectroscopiques ultraviolettes (UV) .....	28
I.4.1.4.2 Caractéristiques spectroscopiques de la résonance magnétique nucléaire : .....	
RMN <sup>1</sup> H et couplages <sup>13</sup> C- <sup>1</sup> H .....	29
I.4.1.4.3 Spectrométrie de masse .....	31
I.4.1.5 Quelques flavonoïdes isolés des <i>Erythrina</i> .....	31
I.4.2 Les céramides .....	56
I.4.2.1 Généralité.....	56
I.4.2.2 Définition et structure des céramides .....	57
I.4.2.3 Nomenclature des céramides .....	58
I.4.2.4 Biosynthèse des céramides .....	59
I.4.2.4.1 Biosynthèse à partir du palmitoyl-coenzyme .....	59
I.4.2.5 Quelques méthodes spectroscopiques utilisées dans l'élucidation des structures des céramides .....	61
I.4.2.5.1 La spectroscopie infrarouge .....	61
I.4.2.5.2 La spectrométrie de masse.....	61
I.4.2.5.3 La résonance magnétique nucléaire du proton .....	61
I.4.2.5.4 La résonance magnétique nucléaire du carbone 13 .....	62
I.4.3 Autres classes de métabolites secondaires isolés du genre <i>Erythrina</i> .....	63
Chapitre II: RESULTATS ET DISCUSSION .....	64

II.1 ETUDE PHYTOCHIMIQUE DE <i>ERYTHRINA DROOGMANSIANA</i> .....	65
II.1.1 Matériel végétal.....	65
II.1.2 Extraction, isolement et purification des composés .....	65
II.1.2.1 Extraction et isolement des composés des écorces des racines.....	65
II.1.2.2 Extraction et isolement des composés des écorces du tronc .....	65
II.1.2.3 Extraction et isolement des composés du bois des racines .....	65
II.1.3 Etude structurale des composés isolés .....	70
II.1.3.1 Les flavonoïdes .....	70
II.1.3.1.1 Identification du composé YG <sub>4</sub> (abyssinone V-4'-méthyléther).....	70
II.1.3.1.2 Identification du composé YG <sub>5</sub> (érythrabyssine) .....	74
II.1.3.1.3 Identification du composé YG <sub>7</sub> (phasoellidine).....	77
II.1.3.1.4 Identification du composé YG <sub>11</sub> (4'-méthoxy licoflavanone).....	79
II.1.3.1.5 Identification du composé YG <sub>14</sub> (génistéine).....	82
II.1.3.1.6 Identification du composé YG <sub>15</sub> (diadzéine).....	84
II.1.3.1.7 Identification du composé YG <sub>18</sub> (4',5,7-trihydroxy-8-prénylisoflavone).....	86
II.1.3.1.8 Identification du composé YG <sub>19</sub> (abyssinone-IV-4'-methylether) .....	89
II.1.3.2 Les autres métabolites secondaires .....	92
II.1.3.2.1 Identification du composé YG <sub>12</sub> .....	92
II.1.3.2.2 Identification du composé YG <sub>13</sub> (asperphenamate) .....	966
II.1.3.2.3 Elucidation du composé YG <sub>16</sub> (droogmansiamide) .....	1022
II.1.3.2.4 Identification du composé YG <sub>20</sub> (érythrinasinate A) .....	109
II.1.3.2.5 Identification du composé YG <sub>6</sub> (érythrinasinate B).....	112
II.1.3.2.5 Identification du composé YG <sub>1</sub> .....	115
II.1.3.3 Les stéroïdes.....	117
II.1.3.3.1 Identification des composés YG <sub>10</sub> et YG <sub>10'</sub> .....	117
II.1.3.3.2 Identification des composés YG <sub>9</sub> et YG <sub>9'</sub> .....	118
II.2 Produits issus des transformations.....	119
II.3 RESULTATS ET DISCUSSION DES TESTS BIOLOGIQUES.....	124
II.3.1 Activité antioxydante des extraits et de quelques produits isolés. ....	124
II.3.2 Activité antiinflammatoire de l'abyssinone V-4'-méthyléther. ....	125
II.3.2.1 Effet de l'abyssinone V-4'-méthyléther sur l'œdème de la patte induit par la carragénine chez les rats .....	125
II.3.2.2 Effet de l'abyssinone V-4'-méthyléther sur l'œdème de l'oreille induit par le xylène chez les souris.....	126

II.3.2.3 Effet de l'abyssinone V- 4'-méthyléther sur le granulome induit par les pellets de coton chez les rats .....	127
II.3.3 Activité anticonvulsivante de l'abyssinone V-4'-méthyléther.....	128
II.3.3.1 Test au pentylènetétrazol (PTZ).....	128
II.3.3.2 Test à la picrotoxine (PIC) .....	129
II.3.3.3 Test à la pilocarpine (PILO).....	129
II.3.4 Activité anxiolytique de la phaséolidine.....	130
II.3.4.1 Test du Labyrinthe en croix surélevé .....	130
II.3.4.2 Test de la Planche à trous .....	132
II.3.4.3 Test de l'Arène ouverte .....	133
CONCLUSION GENERALE ET PERSPECTIVES .....	135
Chapitre 3 : PARTIE EXPERIMENTALE .....	138
III.1 GENERALITES .....	139
III.2 MATERIEL VEGETAL .....	140
III.3.1 Extraction.....	140
III.3.2 Isolement et purification des composés .....	140
III.3.2.1 Isolement et purification des composés des écorces des racines .....	140
III.3.2.1.1 Extrait à l'acétate d'éthyle .....	140
III.3.2.1.1.1 Traitement de la série 1 .....	141
III.3.2.1.1.2 Traitement de la série 2.....	143
III.3.2.1.1.2.1 Traitement de la série S <sup>3</sup> <sub>4</sub> .....	144
III.3.2.1.2 Extrait méthanolique.....	144
III.3.2.1.2.1 Traitement de la série RM <sub>1</sub> .....	145
III.3.2.2 Isolement et purification des composés de extrait à l'acétate d'éthyle des écorces du tronc .....	146
III.3.2.2.1 Traitement de la série T <sub>4</sub> .....	146
III.3.2.3 Traitement de l'extrait à l'acétate d'éthyle des feuilles .....	147
III.3.2.4 Traitement de l'extrait au méthanol du bois des racines.....	147
III.3.2.4.1 Traitement de la série B <sub>4</sub> .....	148
III.4 CARACTERISTIQUES PHYSICOCHEMIQUES DES COMPOSES ISOLEES .....	149
III.5 TESTS BIOLOGIQUES .....	153
III.5.1 Détermination de l'activité antioxydante.....	153
III.5.1.1 Méthode au DPPH .....	153
III.5.1.2 Méthode du FRAP .....	154

III.5.2 Evaluation des propriétés anti-inflammatoires de l'abyssinone v-4' -methylether .....	154
III.5.2.1 Œdème de la patte induit par la carragénine .....	154
III.5.2.1.1 Principe et technique.....	154
III.5.2.1.2 Protocole expérimental .....	154
III.5.2.1.3 Evaluation de l'activité anti-inflammatoire .....	155
III.5.2.2 Œdème de l'oreille induite par le xylène .....	155
III.5.2.2.1 Principe et technique.....	155
III.5.2.2.2 Protocole expérimental .....	155
III.5.2.2.3 Evaluation de l'activité anti-inflammatoire .....	156
III.5.2.3 Formation du granulome induite par les pellets de coton .....	156
III.5.2.3.1 Principe et technique.....	156
III.5.2.3.2 Protocole expérimental .....	156
III.5.2.3.3 Evaluation de l'effet anti-inflammatoire.....	157
III.5.3 Evaluation de la potentialité anticonvulsivante du composé YG <sub>4</sub> (abyssinone V-4'- méthylether) .....	157
III.5.3.1 Test à la pentylènetétrazol (PTZ) .....	157
III.5.4.2 Test à la picrotoxine (PIC) .....	158
III.5.4.3 Test à la pilocarpine (PILO) .....	158
III.5.4. Evaluation des propriétés anxiolytiques du composé YG <sub>7</sub> (phaséollidine) .....	158
III.5.4.1 Test du Labyrinthe en croix surélevé ou "Elevated Plus-Maze" test .....	158
III.5.4.2. Test de la Planche à Trous ou "Hole-Board" test .....	159
III.5.4.3. Test de l'Arène Ouverte ou "Open-Field" test .....	160
III.5.4.4 Analyse statistique des résultats .....	160
REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES .....	161

## LISTE DES ABREVIATIONS ET SYMBOLES

**Ac:** Acide

**ADN :** Acide DéoxyriboNucléique

**ANOVA:** *Analysis of Variances*

**APT:** *Attached Proton Test*

**Asc:** Ascorbique

**BHA:** Butyl-HydroxyAnisole

**BHT:** Butyl-HydroxyToluène

**<sup>13</sup>C :** Carbone 13

**CC:** Chromatographie sur Colonne

**CCM :** Chromatographie sur Couche Mince

**CDCl<sub>3</sub>:** Chloroforme deutérié

**CD<sub>3</sub>OD :** Méthanol deutérié

**CHS :** CHalcone Synthase

**CI<sub>50</sub> :** Concentration d'Inhibition à 50%

**COSY :** *COrrrelation SpectroscopY*

**d:** Deutérié

**d:** Doublet

**dd:** Doublet de Doublet

**DEPT:** *Distortionless Enhancement by Polarization Transfer*

**DMSO:** Diméthyle Sulfoxyde

**Do :** Diamètre initial de la patte

**DPPH :** 2,2-DiPhenyl-1-PicrylHydrazyl

**DRO :** Dérivés Réactifs de l'Oxygène

**Dt :** Diamètre de la patte au temps '*t*'

**ExAEER;** Extrait à l'Acétate d'Ethyle des Ecorces des Racines

**ExAEET:** Extrait à l'Acétate d'Ethyle des Ecorces du Tronc

**ExMBR:** Extrait au Méthanol du Bois des Racines

**ExMER:** Extrait au Méthanol des Ecorces des Racines

**FRAP:** *Ferric Reducing Ability Power*

**GPO:** Glutathion Peroxydase

**<sup>1</sup>H:** Proton

**HMBC:** *Heteronuclear Multiple bound Correlation*

**HSQC** : *Heteronuclear Single Quantum Correlation*

**IE** : Impact Electronique

**IR** : Infra Rouge

**J**: Constante de couplage

**MS** : *Mass Spectroscopy*

**MTA** : Médicament Traditionnel Amélioré

**OD** : Oreille Droite

**OG** : Oreille Gauche

**OMS** : Organisation Mondiale de la Santé

**%i** : Pourcentage d’Inhibition

**PIC** : Picrotoxine

**PILO** : Pilocarpine

**PTZ** : Pentylènetétrazol

**q** : Quartet

**RMN** : Résonance Magnétique Nucléaire

**RPE** : Résonance Paramagnétique Electronique

**ROI**: *Reactive Oxygen Intermediates*

**ROL** : Réactifs Oxygénés Libres

**ROM**: *Reactive Oxygen Metabolites*

**ROS**: *Reactive Oxygen Species*

**s**: Singulet

**SIDA** : Syndrome Immuno Déficience Acquis

**SiO<sub>2</sub>**: dioxyde de Silicium (silice)

**SOD**: Superoxyde Dismutase

**t** : triplet

**TMS** : TétraMéthylSilane

**UV** : Ultra-Violet

## LISTE DES TABLEAUX

<b>Tableau 1</b> : Liste des <i>Erythrina</i> recensées au Cameroun et leur lieu de localisation	14
<b>Tableau 2</b> : Utilisation ethnobotanique de quelques espèces du genre <i>Erythrina</i>	17
<b>Tableau 3</b> : Liste des enzymes rentrants dans la biosynthèse	25
<b>Tableau 4</b> : Domaine d'absorption dans l'UV de différentes classes de flavonoïdes	29
<b>Tableau 5</b> : Déplacement chimique des protons 2 et 3 des flavonoïdes	30
<b>Tableau 6</b> : Données de RMN $^1\text{H}$ des ptérocarpanes	30
<b>Tableau 7</b> : Quelques ptérocarpanes isolées des <i>Erythrina</i>	32
<b>Tableau 8</b> : Quelques flavanones isolées des <i>Erythrina</i>	40
<b>Tableau 9</b> : Quelques isoflavones isolées des <i>Erythrina</i>	46
<b>Tableau 10</b> : Quelques isoflavanones et isoflavanes isolées des <i>Erythrina</i>	51
<b>Tableau 11</b> : Quelques flavones isolées des <i>Erythrina</i>	54
<b>Tableau 12</b> : Quelques isoflav-3-ènes isolées des <i>Erythrina</i>	55
<b>Tableau 13</b> : Quelques chalcones isolées des <i>Erythrina</i>	56
<b>Tableau 14</b> : Récapitulatif des produits isolés de <i>Erythrina droogmansiana</i>	69
<b>Tableau 15</b> : Données spectrales de RMN $^1\text{H}$ (400 MHz), RMN $^{13}\text{C}$ (100 MHz) de YG <sub>4</sub> en comparaison avec celles de la littérature	73
<b>Tableau 16</b> : Données spectroscopiques de RMN $^1\text{H}$ et $^{13}\text{C}$ (500 et 125 MHz, $\text{CDCl}_3$ ) du composé YG <sub>5</sub> en comparaison avec celles de la littérature	76
<b>Tableau 17</b> : Données spectrales de RMN $^1\text{H}$ et $^{13}\text{C}$ (500 et 125 MHz, $\text{CD}_3\text{OD}$ ) du composé YG <sub>7</sub> en comparaison avec celles de la littérature	79
<b>Tableau 18</b> : Données spectrales de RMN $^1\text{H}$ et $^{13}\text{C}$ (500 et 125 MHz, $\text{CDCl}_3$ ) du composé YG <sub>11</sub> en comparaison avec celles de la littérature	81
<b>Tableau 19</b> : Données spectrales de RMN $^1\text{H}$ et $^{13}\text{C}$ (500 et 125 MHz, $\text{CD}_3\text{OD}$ ) et HMBC du composé YG <sub>14</sub>	83
<b>Tableau 20</b> : Données spectrales de RMN $^1\text{H}$ et $^{13}\text{C}$ (500 et 125 MHz, $\text{CD}_3\text{OD}$ ) du composé YG <sub>15</sub>	86
<b>Tableau 21</b> : Données spectrales de RMN $^1\text{H}$ et $^{13}\text{C}$ (500 et 125 MHz, $\text{CDCl}_3$ - $\text{CD}_3\text{OD}$ ) du composé YG <sub>18</sub> en comparaison avec celles de la littérature	88
<b>Tableau 22</b> : Données spectrales de RMN $^1\text{H}$ et $^{13}\text{C}$ (500 et 125 MHz, $\text{CDCl}_3$ - $\text{CD}_3\text{OD}$ ) du composé YG <sub>19</sub> en comparaison avec celles de la littérature	91
<b>Tableau 23</b> : : Données spectrales de RMN $^1\text{H}$ (500 MHz, $\text{CDCl}_3$ ), RMN $^{13}\text{C}$ (125 MHz, $\text{CDCl}_3$ ) et HMBC de YG <sub>12</sub>	95

<b>Tableau 24</b> : Données spectrales de RMN <sup>1</sup> H (500 MHz, CDCl <sub>3</sub> ), RMN <sup>13</sup> C (125 MHz, CDCl <sub>3</sub> ) et HMBC du composé YG <sub>13</sub>	100
<b>Tableau 25</b> : Données spectrales de RMN <sup>1</sup> H (500 MHz, CDCl <sub>3</sub> -CD <sub>3</sub> OD), RMN <sup>13</sup> C (125 MHz, CDCl <sub>3</sub> -CD <sub>3</sub> OD) et HMBC du composé YG <sub>16</sub>	109
<b>Tableau 26</b> : Données spectrales de RMN <sup>1</sup> H et RMN <sup>13</sup> C du composé YG <sub>20</sub>	112
<b>Tableau 27</b> : Données spectrales de RMN <sup>1</sup> H et RMN <sup>13</sup> C des composés YG <sub>20</sub> et YG <sub>6</sub>	115
<b>Tableau 28</b> : Données spectrales de RMN <sup>1</sup> H et RMN <sup>13</sup> C du composé YG <sub>1</sub>	117
<b>Tableau 29</b> : Données spectrales de RMN <sup>1</sup> H (500 MHz, CDCl <sub>3</sub> ) et RMN <sup>13</sup> C (125 MHz, CDCl <sub>3</sub> ) du composé YG <sub>4ac</sub>	123
<b>Tableau 30</b> : Résultats des tests antioxydants sur quelques extraits et métabolites	124
<b>Tableau 31</b> : Effet de l'abyssinone V-4'-méthyléther sur l'œdème de la patte induit par la carragénine chez le rat	126
<b>Tableau 32</b> : Effet de l'abyssinone V-4'-méthyléther sur l'œdème de l'oreille induit par le xylène	127
<b>Tableau 33</b> : Effet de l'abyssinone V-4'-méthyléther sur le granulome induit par les pellets de coton chez les rats.	127
<b>Tableau 34</b> : Chromatogramme de l'extrait à l'acétate d'éthyle des écorces des racines d' <i>Erythrina droogmansiana</i> sur le sable moyen grain	141
<b>Tableau 35</b> : Chromatogramme de la série N°1 (1 à 31) sur colonne de gel de silice	141
<b>Tableau 36</b> : Tentative de purification de 200 mg de la poudre beige par CC avec 30 g de gel de silice	143
<b>Tableau 37</b> : Chromatogramme de la série N°2 sur colonne de gel de silice	143
<b>Tableau 38</b> : Chromatogramme de la série S <sup>3</sup> <sub>4</sub> (41-62) sur colonne de gel de silice	144
<b>Tableau 39</b> : Traitement de la sous série S <sup>4</sup> <sub>1</sub> sur colonne de Sephadex	144
<b>Tableau 40</b> : Chromatogramme de l'extrait méthanolique des écorces des racines d' <i>Erythrina droogmansiana</i> sur colonne de sable moyen grain	145
<b>Tableau 41</b> : Chromatogramme de la série R <sub>M1</sub> (12g) sur colonne de gel de silice	145
<b>Tableau 42</b> : Chromatogramme de l'extrait à l'acétate d'éthyle des écorces du tronc sur colonne de gel de silice	146
<b>Tableau 43</b> : Chromatogramme de la série T <sub>4</sub> sur colonne de gel de silice	147
<b>Tableau 44</b> : Chromatogramme du dégrossissement de l'extrait méthanolique du bois des racines sur colonne de gel de silice	147
<b>Tableau 45</b> : Chromatogramme de la colonne de purification de B <sub>4</sub> sur gel de silice	148



## LISTE DES FIGURES

<b>Figure 1:</b> Squelette de base des flavonoïdes	18
<b>Figure 2:</b> Structure de base des principaux types de flavonoïdes	19
<b>Figure 3 :</b> Principaux types d'isoflavonoïdes	20
<b>Figure 4 :</b> Site de piégeage des flavonoïdes	26
<b>Figure 5 :</b> Éléments essentiels pour l'activité antioxydante.	27
<b>Figure 6 :</b> Bandes d'absorption observée sur le spectre UV des flavonoïdes	29
<b>Figure 7 :</b> Spectre de masse en mode Impact Electronique du composé YG <sub>4</sub>	70
<b>Figure 8 :</b> Spectre de RMN <sup>1</sup> H (400 MHz, CDCl <sub>3</sub> ) du composé YG <sub>4</sub>	71
<b>Figure 9 :</b> Spectre RMN <sup>13</sup> C (100 MHz, CDCl <sub>3</sub> ) du composé YG <sub>4</sub>	72
<b>Figure 10 :</b> Spectre de masse en mode Impact Electronique du composé YG <sub>5</sub>	74
<b>Figure 11 :</b> Spectre RMN <sup>1</sup> H (500 MHz, CDCl <sub>3</sub> ) du composé YG <sub>5</sub>	75
<b>Figure 12 :</b> Spectre RMN <sup>13</sup> C en mode DEPT 135 (125 MHz, CDCl <sub>3</sub> ) du composé YG <sub>5</sub>	75
<b>Figure 13 :</b> Spectre RMN <sup>1</sup> H (500 MHz, CD <sub>3</sub> OD) du composé YG <sub>7</sub>	77
<b>Figure 14 :</b> Spectre RMN <sup>13</sup> C en mode DEPT (125 MHz, CD <sub>3</sub> OD) du composé YG <sub>7</sub>	78
<b>Figure 15 :</b> Spectre RMN <sup>1</sup> H (500MHz, CDCl <sub>3</sub> ) du composé YG <sub>11</sub>	80
<b>Figure 16 :</b> Spectre RMN <sup>13</sup> C en mode APT (125 MHz, CDCl <sub>3</sub> ) du composé YG <sub>11</sub>	80
<b>Figure 17 :</b> Spectre RMN <sup>1</sup> H (500 MHz, CD <sub>3</sub> OD) du composé YG <sub>14</sub>	82
<b>Figure 18 :</b> Spectre de RMN <sup>13</sup> C en mode APT (125 MHz, CD <sub>3</sub> OD) du composé YG <sub>14</sub>	83
<b>Figure 19 :</b> Comparaison du spectre RMN <sup>1</sup> H (500 MHz, CD <sub>3</sub> OD) du composé YG <sub>15</sub> à celui du composé YG <sub>14</sub>	84
<b>Figure 20 :</b> Comparaison du spectre APT (125 MHz, CD <sub>3</sub> OD) du composé YG <sub>15</sub> à celui du composé YG <sub>14</sub>	85
<b>Figure 21 :</b> Spectre RMN <sup>1</sup> H (500 MHz, CDCl <sub>3</sub> - CD <sub>3</sub> OD) du composé YG <sub>18</sub>	87
<b>Figure 22 :</b> Spectre RMN <sup>13</sup> C : APT (125MHz, CDCl <sub>3</sub> -CD <sub>3</sub> OD) du composé YG <sub>18</sub>	87
<b>Figure 23 :</b> Spectre RMN <sup>1</sup> H (500 MHz, CDCl <sub>3</sub> -CD <sub>3</sub> OD) du composé YG <sub>19</sub>	89
<b>Figure 24 :</b> Spectre RMN en mode APT (125 MHz, CDCl <sub>3</sub> -CD <sub>3</sub> OD) du composé YG <sub>19</sub>	90
<b>Figure 25 :</b> Spectre RMN <sup>1</sup> H (500 MHz, CDCl <sub>3</sub> ) du composé YG <sub>12</sub>	92
<b>Figure 26 :</b> Spectre HSQC ( <sup>1</sup> H : 500 MHz, <sup>13</sup> C : 125 MHz, CDCl <sub>3</sub> ) du composé YG <sub>12</sub>	93
<b>Figure 27:</b> Spectre COSY <sup>1</sup> H- <sup>1</sup> H (500 MHz, CDCl <sub>3</sub> ) du composé YG <sub>12</sub>	93
<b>Figure 28 :</b> Spectre RMN <sup>13</sup> C et mode APT (125 MHz, CDCl <sub>3</sub> ) du composé YG <sub>12</sub>	94
<b>Figure 29:</b> Spectre HMBC ( <sup>1</sup> H : 500 MHz, <sup>13</sup> C : 125 MHz, CDCl <sub>3</sub> ) du composé YG <sub>12</sub>	94
<b>Figure 30 :</b> Spectre de RMN <sup>1</sup> H (500 MHz, CDCl <sub>3</sub> ) du composé YG <sub>13</sub>	96
<b>Figure 31 :</b> Spectre de HSQC ( <sup>1</sup> H : 500 MHz, <sup>13</sup> C : 125 MHz, CDCl <sub>3</sub> ) du composé YG <sub>13</sub>	97

<b>Figure 32</b> : Spectre de COSY $^1\text{H}$ - $^1\text{H}$ (500 MHz, $\text{CDCl}_3$ ) du composé $\text{YG}_{13}$	97
<b>Figure 33</b> : Spectre de RMN $^{13}\text{C}$ en mode APT (125 MHz, $\text{CDCl}_3$ ) du composé $\text{YG}_{13}$	98
<b>Figure 34</b> : Spectre de HMBC ( $^1\text{H}$ : 500 MHz, $^{13}\text{C}$ : 125 MHz, $\text{CDCl}_3$ ) du composé $\text{YG}_{13}$	98
<b>Figure 35</b> : Spectre de masse en Impact Electronique du composé $\text{YG}_{16}$	102
<b>Figure 35a</b> : Données HR du spectre de masse en Impact Electronique du composé $\text{YG}_{16}$	103
<b>Figure 36</b> : Spectre RMN $^1\text{H}$ (500 MHz, $\text{CDCl}_3$ - $\text{CD}_3\text{OD}$ ) du composé $\text{YG}_{16}$	104
<b>Figure 37</b> : Spectre COSY $^1\text{H}$ - $^1\text{H}$ (500 MHz, $\text{CDCl}_3$ - $\text{CD}_3\text{OD}$ ) du composé $\text{YG}_{16}$	104
<b>Figure 38</b> : Spectre HSQC ( $^1\text{H}$ : 500 MHz, $^{13}\text{C}$ : 125 MHz, $\text{CDCl}_3$ - $\text{CD}_3\text{OD}$ ) du composé $\text{YG}_{16}$	105
<b>Figure 38a</b> : Spectre HSQC élargi ( $^1\text{H}$ : 500 MHz, $^{13}\text{C}$ : 125 MHz, $\text{CDCl}_3$ - $\text{CD}_3\text{OD}$ ) du composé $\text{YG}_{16}$	105
<b>Figure 39</b> : Spectre RMN $^{13}\text{C}$ : APT (125 MHz, $\text{CDCl}_3$ - $\text{CD}_3\text{OD}$ ) du composé $\text{YG}_{16}$	106
<b>Figure 40</b> : Spectre HMBC ( $^1\text{H}$ : 500 MHz, $^{13}\text{C}$ : 125 MHz, $\text{CDCl}_3$ ) du composé $\text{YG}_{16}$	107
<b>Figure 40a</b> : Spectre HMBC ( $^1\text{H}$ : 500 MHz, $^{13}\text{C}$ : 125 MHz, $\text{CDCl}_3$ ) du composé $\text{YG}_{16}$	107
<b>Figure 41</b> : Spectre de masse en Impact Electronique du composé $\text{YG}_{20}$	110
<b>Figure 42</b> : Spectre RMN $^1\text{H}$ (500 MHz, $\text{CDCl}_3$ - $\text{CD}_3\text{OD}$ ) du composé $\text{YG}_{20}$	110
<b>Figure 43</b> : Spectre RMN $^{13}\text{C}$ : APT (125 MHz, $\text{CDCl}_3$ - $\text{CD}_3\text{OD}$ ) du composé $\text{YG}_{20}$	111
<b>Figure 44</b> : Comparaison spectre RMN $^1\text{H}$ (500 MHz, $\text{CDCl}_3$ ) des composés $\text{YG}_6$ et $\text{YG}_{20}$	113
<b>Figure 45</b> : Comparaison des spectres RMN $^{13}\text{C}$ (125 MHz, $\text{CDCl}_3$ ) des composés $\text{YG}_6$ et $\text{YG}_{20}$	114
<b>Figure 46</b> : Spectre RMN $^{13}\text{C}$ (100 MHz, $\text{CDCl}_3$ ) du composé $\text{YG}_1$	116
<b>Figure 47</b> : Spectre RMN $^1\text{H}$ (400 MHz, $\text{CDCl}_3$ ) du composé $\text{YG}_1$	117
<b>Figure 48</b> : Spectre RMN $^1\text{H}$ (500 MHz, $\text{CDCl}_3$ ) des composés $\text{YG}_{10}$ et $\text{YG}_{10}'$	118
<b>Figure 49</b> : Spectre RMN $^1\text{H}$ (500 MHz, $\text{DMSO-d}_6$ ) des composés $\text{YG}_9$ et $\text{YG}_9'$	118
<b>Figure 50</b> : Spectre RMN $^{13}\text{C}$ (125 MHz, $\text{DMSO-d}_6$ ) des composés $\text{YG}_9$ et $\text{YG}_9'$	119
<b>Figure 51</b> : Comparaison du spectre RMN $^1\text{H}$ (500 MHz, $\text{CDCl}_3$ ) du composé $\text{YG}_{4ac}$ à celui du composé $\text{YG}_4$ (400 MHz, $\text{CDCl}_3$ )	120
<b>Figure 52</b> : Comparaison du spectre RMN $^{13}\text{C}$ et APT 125 MHz, $\text{CDCl}_3$ ) du composé $\text{YG}_{4ac}$ à celui du composé $\text{YG}_4$ (400 MHz, $\text{CDCl}_3$ )	121
<b>Figure 53</b> : Effet de l'abyssinone V-4'-méthyléther sur la convulsion induite chez les souris par la PTZ	128
<b>Figure 54</b> : Effet de l'abyssinone V-4'-méthyléther sur la convulsion induite chez les souris par la PIC	129
<b>Figure 55</b> : Effet de l'abyssinone V-4'-méthyléther sur la convulsion induite chez les souris par la PILO	129

<b>Figure 56:</b> Effets de la phaséollidine sur le pourcentage du nombre d'entrées dans les bras ouverts	130
<b>Figure 57:</b> Effets de la phaséollidine sur le temps passé par les souris dans les bras ouverts du labyrinthe	131
<b>Figure 58 :</b> Effets de la phaséollidine sur le nombre d'entrées des souris dans les bras fermés du labyrinthe.	131
<b>Figure 59:</b> Ratio nombre d'entrées bras ouverts sur nombre d'entrées bras fermés	132
<b>Figure 60:</b> Effets de la phaséollidine sur le temps de latence d'apparition du 1 <sup>er</sup> "head-dipping"	132
<b>Figure 61 :</b> Effets de la phaséollidine sur le nombre de "head-dipping"	133
<b>Figure 62 :</b> Effets de la phaséollidine sur le nombre de "crossing"	133

## LISTE DES SCHEMAS

<b>Schéma 1</b> : Formation du chalcone par la condensation de trois molécules de l'acide acétique	21
<b>Schéma 2</b> : Condensation de trois molécules d'acétate avec le <i>p</i> -coumaroyl-CoA pour la formation de la chalcone et ses isomères.	22
<b>Schéma 3</b> : Biosynthèse des différents squelettes flavoniques	24
<b>Schéma 4</b> : Fragmentations observées sur le spectre de masse des flavonoïdes	31
<b>Schéma 5</b> : Mécanisme de biosynthèse de la sphinganine	60
<b>Schéma 6</b> : Processus de transformation de la sphinganine en céramide	60
<b>Schéma 7</b> : Protocole d'extraction et d'isolement des métabolites des écorces des racines	66
<b>Schéma 8</b> : Protocole d'extraction et d'isolement des métabolites des écorces du tronc	67
<b>Schéma 9</b> : Protocole d'extraction et d'isolement des métabolites du bois des racines	68
<b>Schéma 10</b> : Différentes fragmentations du composé YG <sub>16</sub>	108
<b>Schéma 11</b> : Différentes fragmentations du composé YG <sub>20</sub>	111
<b>Schéma 12</b> : Mécanisme réactionnel de l'acétylation de l'abyssinone V-4'-methylether	122

## RESUME

Le présent travail porte sur l'étude phytochimique d'*Erythrina droogmansiana* (Fabaceae) et la contribution à la lutte contre le développement du stress oxydant.

Dans la partie relative à la phytochimie, à l'aide des méthodes chromatographiques usuelles, des différentes parties de cette plante, 19 composés distincts ont été isolés des quels 18 ont été entièrement caractérisés. C'est ainsi que :

Des écorces des racines, 11 composés connus ont été isolés et caractérisés parmi lesquels, cinq flavonoïdes : l'abyssinone-V-4'-methylether, l'abyssinone-IV-4'-methylether, l'érythrabyssine, la phaséolidine et la 4',5,7-trihydroxy-8-prenylisoflavone ; une cinnamate : l'érythrinasinate B ; un alcool gras : le pentacosan-1-ol et quatre stérols : le  $\beta$ -sitostérol, le stigmastérol et leur glucoside.

Des écorces du tronc, 8 composés connus ont été isolés. De ces composés, six se retrouvaient déjà dans les écorces des racines. Les deux composés différents étaient, un flavonoïde : le 4'-Méthoxylicoflavanone et une cinnamate : l'érythrinasinate A.

Du bois des racines, 11 composés ont été isolés. Cinq de ces composés se retrouvent déjà dans les autres parties de la plante. Des six restants, nous avons caractérisé une céramide nouvelle : la droogmansiamide, un époxyde : le 3-(3',4'-méthylènedioxyphényl)-2,3-époxypropanole entièrement décrit au cours de ce travail et isolé de la famille des Fabaceae pour la première fois, un amide : l'asperphénamate isolée du genre *Erythrina* pour la première fois, deux flavonoïdes à savoir la genistéine et la diadézéine. L'élucidation du dernier composé qui pourrait être une saponine est en cours.

L'élucidation des structures de tous ces composés a été rendue possible grâce, d'une part, à une interprétation de leurs données spectrales, en particulier, la Résonance Magnétique Nucléaire multi-impulsionnelles à une et à deux dimensions telles que la RMN du proton et du carbone ; le COSY, le NOESY, le HMBC et le HSQC et d'autre part, par comparaison des données spectrales et physiques de certaines d'entre elles, avec celles de la littérature.

L'abyssinone-V-4'-methylether (produit majoritaire de la plante) et le 3-(3',4'-méthylènedioxyphényl)-2,3-époxypropanole ont fait l'objet d'une acétylation qui a conduit à l'obtention du dérivé acétyle de l'abyssinone-V-4'-méthyléther ; dérivé déjà synthétisé dans l'industrie pharmaceutique et d'un mélange complexe à séparer pour le second produit.

Concernant la partie réservée aux tests biologiques, plusieurs activités liées à la production des EOA ont été réalisées. Ainsi, tous les extraits, sept des huit flavonoïdes isolés, l'époxyde et l'asperphénamate ont été évalués pour leurs potentialités antioxydantes en

utilisant la méthode au DPPH et celle du FRAP. Les résultats obtenus ont montré que l'extrait à l'acétate d'éthyle des écorces des racines contient les produits les plus antioxydants avec une  $CI_{50}$  de 1,30 mg/ml et que la phaséollidine pourrait être le produit responsable de cette activité modérée de la plante avec une  $CI_{50}$  de 1,30 mg/ml. L'abyssinone-V-4'-méthyléther a été évalué pour son potentiel antiinflammatoire, sur l'inflammation aiguë (à la carragénine et au xylène) et sur l'inflammation chronique induite par les pellets de coton. Les différentes doses (2,5 ; 5 et 10 mg/kg) administrées oralement ont inhibé significativement l'inflammation à la carragénine, au xylène et aux pellets de coton. Le pourcentage moyen d'inhibition maximale était de 90% pour le test à la carragénine, 63.27 % pour le test au xylène et de 40.74 % pour le test aux pellets de coton ; cette même molécule a été évaluée pour ses propriétés anticonvulsivantes. De cette étude réalisée sur les souris, il ressort qu'à la dose de 100 mg/kg, l'abyssinone-V-4'-méthyléther protège toutes les souris des convulsions induites par le pentyltétrazole ; aux doses de 25 et 100 mg/kg, elle protège toutes les souris des convulsions générales induites par la picrotoxine et, aux doses de 25 et 50mg/kg, protège toutes les souris des convulsions induites par la pilocarpine. La phaséollidine a été évaluée pour ses potentialités anxiolytiques. Les résultats obtenus montrent qu'aux doses testées ; 25 mg/kg, 50 mg/kg et 100 mg/kg la phaséollidine au même titre que le Diazépam utilisé comme produit de référence rendent les souris moins anxieuses.

**Mots Clés : Fabaceae–*Erythrina droogmansiana*-Céramide–stress oxydatif-Potentialité antioxydante–Potentialité antiinflammatoire–Potentialité anticonvulsivante-Potentialité anxiolytique.**

## ABSTRACT

This work deals with the phytochemical evaluation of *Erythrina droogmansiana* (Fabaceae) and its role in the fight against the development of oxidative stress.

In the part relating to phytochemistry, using the usual chromatographic methods, from the different parts of this plant, 19 distinct compounds have been isolated from which 18 have been fully characterised.

From root barks, 11 known compounds have been isolated and characterised, among which five flavonoids: the abyssinone-V-4'-methylether, the abyssinone-IV-4'-methylether, the erythrabyssine, the phaseollidin and the 4',5,7-trihydroxy-8-prenylisoflavone; one cinnamate: the erythrinasinatate B; A fatty alcohol: pentacosan-1-ol and four sterols:  $\beta$ -sitosterol, stigmasterol and their glucoside.

From the stem barks, 8 known compounds have been isolated. Of these compounds, six were already found in the roots bark. The two different compounds were a flavonoid the 4'-Methoxylicoflavanone and one cinnamate the erythrinasinatate A.

From the roots wood, 11 compounds were isolated. Five of these compounds were already found in other parts of the plant. Of the remaining six, we have characterised a new ceramide: the droogmansiamide, an epoxide: 3-(3',4'-methylenedioxyphenyl)-2,3-epoxypropanol fully described in this work and isolated from the Fabaceae family for the first time, an amide: asperphenamate isolated from the genus *Erythrina* for the first time, two flavonoids namely genistein and diadzein. The elucidation of the last compound which could be a saponin is in progress. The structural elucidation of all these compounds was made possible by on the one hand, an interpretation of their spectral data, in particular, single and two-dimensional multi-impulse nuclear magnetic resonance such as proton NMR and carbon NMR; COSY, NOESY, HMBC and HSQC, and on the other hand, by comparing the spectral and physical data of some of them, with those of the literature.

Abyssinone-V-4'-methyl ether (YG<sub>4</sub>) (the major product of the plant) and 3-(3',4'-methylenedioxyphenyl)-2,3-epoxypropanole (YG<sub>12</sub>) were acetylated. After the reaction, the acetyl derivative of abyssinone-V-4'-methyl ether was obtained; a derivative already synthesized in the pharmaceutical industry and a complex mixture for the second product.

Concerning the part reserved for the biological tests, several activities related to the production of the ROS have been carried out. Thus, all extracts, seven of the eight isolated flavonoids, epoxide and asperphenamate were evaluated for their antioxidant potentialities using the DPPH method and the FRAP method. The results obtained showed that the ethyl

acetate extract of the root bark contained the most antioxidant products with an  $IC_{50}$  of 1.30 mg/ml and that phaseollidin could be the product responsible for this moderate activity of the plant with an  $IC_{50}$  of 1.30 mg/ml. The abyssinone-V-4'-methyl ether was evaluated for its anti-inflammatory potential, acute inflammation (carrageenan and xylene) and chronic inflammation induced by cotton pellets. The different doses (2.5, 5 and 10 mg/kg) administered orally significantly inhibited inflammation of carrageenan, xylene and cotton pellets. The mean maximum inhibition percentage was 90% for the carrageenan test, 63.27% for the xylene test and 40.74% for the cotton pellet test. This same molecule was evaluated for its anticonvulsant properties. From this study in mice, it was found that at the dose of 100 mg/kg, abyssinone-V-4'-methyl ether protects all mice from the convulsions induced by pentylenetrazole, at doses of 25 and 100 mg/kg, protects all mice from general convulsions induced by rotoxin and protects all mice from pilocarpine-induced convulsions at doses of 25 and 50 mg/kg. The phaseollidin was evaluated for its anxiolytic potential. The results obtained show that at the doses tested; 25 mg/kg, 50 mg/kg and 100 mg/kg phaseollidin in the same way as Diazepam used as a reference product make the mice less anxious.

**Keywords: Fabaceae-Erythrina droogmansiana-Ceramide-Oxidative Stress-Antioxidant Potentiality-Anti-inflammatory Potential-Anticonvulsant Potentiality-Anxiolytic Potentiality.**



# **INTRODUCTION GENERALE**

## INTRODUCTION GENERALE

Le stress oxydant correspond à un déséquilibre entre la génération d'espèces oxygénées activées (EOA) et les défenses antioxydantes de l'organisme, en faveur des EOA. Notre mode de vie (tabagisme, alcoolisme, l'absence d'exercice physique), mais aussi nos mauvaises habitudes alimentaires augmentent de façon anormale la production des EOA dans notre organisme. A long terme, ce mauvais mode de vie peut contribuer à l'apparition de diverses pathologies chroniques comme les cancers, les maladies cardio-vasculaires etc. Parmi les EOA, les radicaux libres sont les plus représentés [1]. Les radicaux libres sont des espèces chimiques neutres ou chargées qui possèdent un électron non apparié sur leur couche externe. Cette configuration confère à ces radicaux une réactivité élevée qui se traduit par une tendance à équilibrer leur couche électronique externe en arrachant un électron aux molécules avec qui elles se trouvent en contact (protéines, lipides, ADN et hydrates de carbone) d'où l'oxydation de ces dernières. Sans les excès, l'organisme posséderait un système de défense constitué d'antioxydants endogènes qui luttent contre l'action des radicaux libres [2].

Plusieurs facteurs endogènes et exogènes favorisent la production des espèces oxygénées activées. L'inflammation occupe une place de choix parmi ces facteurs [1]. L'inflammation ou réaction inflammatoire est la réponse des tissus vivants, vascularisés, à une agression. Ce processus comprend : des phénomènes généraux exprimés biologiquement par le syndrome inflammatoire et cliniquement de façon variable, le plus souvent par de la fièvre et éventuellement une altération de l'état général, des phénomènes locaux : l'inflammation se déroule dans le tissu conjonctif vascularisé [3].

L'inflammation est un processus habituellement bénéfique. Son but est d'éliminer l'agent pathogène et de réparer les lésions tissulaires. Parfois l'inflammation peut être néfaste du fait de l'agressivité de l'agent pathogène, de sa persistance, du siège de l'inflammation, par anomalies des régulations du processus inflammatoire, ou par anomalie quantitative ou qualitative des cellules intervenant dans l'inflammation. Les causes sont multiples. Elles déterminent des lésions cellulaires et tissulaires qui vont déclencher l'inflammation ce sont entre autre : l'infection par des micro-organismes (bactérie, virus, parasites, champignons) ; les agents physiques correspondant à des traumatismes, chaleur, froid et les radiations. Les agents chimiques caustiques, toxines, venins peuvent également provoquer l'inflammation. Le défaut de vascularisation et l'agression dysimmunitaire (anomalie de la réponse immunitaire, allergies, auto-immunité...) en sont aussi quelques causes. En plus de l'inflammation, plusieurs autres paramètres favorisent également la production des EOA c'est le cas de

l'anxiété par exemple car il a été démontré qu'un état de stress de même que toute pathologie du système nerveux favoriseraient la production excessive des EOA [1 ; 3].

Selon les prévisions l'OMS et de plusieurs autres observateurs, les africains souffrent et meurent aujourd'hui des maladies qui pendant longtemps leur étaient inconnues. D'après l'OMS (2018) [4], les maladies non transmissibles, et principalement les maladies cardiovasculaires, les cancers et le diabète, constituent une grave menace pour la santé de l'homme et pour le développement. Ces maladies sont les premières causes de mortalité dans le monde. On estime qu'elles provoquent chaque année 41 millions de décès soit 71% de l'ensemble des décès à l'échelle mondiale dont 85% de ces décès prématurés se produisent dans les pays à revenu faible ou intermédiaire à l'instar des pays de l'Afrique subsaharienne [4 ; 5].

Du fait de l'exposition aux métaux lourds et autres substance polluantes présents dans les eaux, dans l'air, dans les aliments, dans les pesticides et dans les engrais utilisés, et même à cause de l'effet de serre ; les populations, même inconsciemment s'exposent au développement d'un stress oxydant poussé. Les maladies qui en résultent ont un coût de traitement élevé, sont sujettes la plus part de temps à des erreurs de diagnostic et sont même ignorées de plusieurs.

Le problème que ce travail vise à résoudre est celui du taux très élevé de mortalité des populations de l'Afrique subsahariennes dû aux maladies non transmissibles résultantes pour la plus part des complications du stress oxydant. La question qui découle ce problème est celle de savoir comment faire pour obtenir des composés chimiques efficaces pour lutter contre le développement du stress oxydant et les pathologies qui en découlent ?

Parmi les multiples pistes de solutions explorées dans le monde, la recherche des substances antioxydantes et antiinflammatoires gagnent du terrain ceci à cause des effets secondaires des molécules synthétiques existantes sur le marché d'une part et leur non accessibilité d'autre part. La richesse de la flore camerounaise et l'attrait que 80% des populations dans le monde ont pour la médecine traditionnelle font que la solution au problème susmentionné pourrait venir des plantes médicinales. Le processus d'inflammation étant au début de la prolifération des EOA et en même temps une conséquence de leur abondance dans l'organisme [6], l'obtention des substances nouvelles ou connues douées d'un fort potentiel anti-inflammatoire d'une part et antioxydant d'autres part pourrait être d'un grand apport dans la prévention en aval du stress oxydant poussé et des maladies qui en résultent.

Pour apporter notre contribution à ce vaste programme de recherche sur le stress oxydant et ses conséquences, nous avons entrepris ce travail qui porte sur « **Etude**

**phytochimique d'*Erythrina droogmansiana* (Fabaceae), plante médicinale et contribution à la lutte contre le développement du stress oxydant**» au Laboratoire N°3 des substances naturelles du Département de Chimie Organique de l'Université de Yaoundé I ; Département qui fait depuis plus de quatre décennies de la recherche sur des nouvelles drogues à partir des plantes médicinales un axe important de sa recherche. Le choix de cette plante présente au Cameroun a été motivé d'une part sur la base des données ethnobotaniques des plantes du genre *Erythrina* et surtout sur la base des données chimiotaxonomiques de ces dernières. Les plantes de la famille des Fabaceae en général et celles du genre *Erythrina* en particulier sont connues pour leur richesse en métabolites secondaires appartenant principalement à la classe des flavonoïdes qui, d'après la littérature, posséderaient de bon potentiel antioxydant, anti-inflammatoire, etc. A notre connaissance, cette plante n'a fait l'objet d'aucune étude aussi bien phytochimique que biologique. C'est pourquoi nous avons entrepris dans le cadre de notre thèse de doctorat/PhD de mener une investigation approfondie sur la recherche des molécules bioactives pouvant se retrouver dans cette espèce.

L'objectif général de notre travail est la recherche des molécules bioactives (antioxydante, antiinflammatoire, anticonvulsivante et anxiolytique) pouvant être testées plus tard sur certains cancers. Plus spécifiquement, il s'est agi pour nous :

- D'extraire, d'isoler, de caractériser et d'élucider les structures des produits flavonoïdiques et autres présents dans les différentes parties de cette plante ;
- D'effectuer si possible des réactions d'hémisynthèses de certains de ces produits;
- D'évaluer l'activité antioxydante, anti-inflammatoire, anticonvulsivante et anxiolytique des extraits et des produits purs qui seront isolés de cette plante.

L'hypothèse de ce travail est la suivante : *Erythrina droogmansiana* contient des métabolites secondaires doués de potentiel antiinflammatoire, antioxydant, anticonvulsivant et anxiolytique.

Ce travail s'articule autour de trois chapitres.

Le premier chapitre porte sur la revue de la littérature ;

Le deuxième chapitre porte sur les différents résultats obtenus tant sur les aspects phytochimique et biologique.

Le troisième chapitre quant à lui porte sur la partie expérimentale.

## **Chapitre 1 : REVUE DE LA LITTERATURE**

## **Chapitre 1 : REVUE DE LA LITTERATURE**

### **I.1 LES RADICAUX LIBRES, LE STRESS OXYDANT ET LES ANTIOXYDANTS**

#### **I.1.1 Les radicaux libres**

##### **I.1.1.1 Historique**

Au milieu des années 50, Gerschman montre que le dioxygène, molécule pourtant indispensable à la vie, présente également une toxicité pour l'organisme [7]. Inspiré par ces travaux, Harman propose la «free radical theory of ageing» [8] : *via* la production de radicaux libres, l'oxygène est à l'origine du processus de vieillissement cellulaire. En 1969, date clé dans l'histoire du stress oxydant, les Américains McCord et Fridovich [9] isolent à partir de globules rouges humains un système enzymatique antioxydant : le superoxyde dismutase (SOD) qui élimine le radical libre anion superoxyde produit par réduction univalente de l'oxygène. Cette découverte fondamentale montre indirectement que des radicaux libres sont produits dans notre organisme. Ceci est alors le point de départ d'un nombre faramineux de recherches sur les sources de production de l'anion superoxyde et sur ses rôles pathologique et physiologique. Toutefois, pendant très longtemps, des doutes sont émis quant à l'existence réelle des radicaux libres et sur leurs effets *in vivo*. Tout au début des années 1990, cette incertitude est levée de façon irréfutable grâce à l'utilisation de la technique de la résonance paramagnétique électronique (RPE) associée au « spin trapping » (piégeur de spin) dans des modèles de stress oxydant *in vivo*. A titre d'exemple, la formation de radicaux libres a été mise en évidence dans le plasma de rats exposés au tétrachlorure de carbone [10] ou de chiens et de lapins dont le cœur [11] ou les reins [12] étaient soumis à des phénomènes d'ischémie reperfusion. Chez l'homme, la démonstration a été faite chez des patients soumis à une angioplastie coronarienne [13] ou à une chirurgie cardiovasculaire sous circulation extracorporelle [14].

##### **I.1.1.2 Définition**

Par définition, Les radicaux libres sont des atomes ou des molécules possédant un électron célibataire. Dans l'organisme, Ils peuvent se former quand l'oxygène interagit avec certaines molécules [3]. Les radicaux libres sont très instables et réagissent rapidement avec d'autres composants, essayant de capter l'électron nécessaire pour acquérir la stabilité. Une réaction en chaîne débute lorsqu'un radical libre attaque la molécule stable la plus proche en lui «volant» son électron, et «la molécule attaquée» devient alors elle-même un radical libre.

### **I.1.1.3 Impact sur santé**

Le principal danger des radicaux libres vient des dommages qu'ils peuvent provoquer lorsqu'ils réagissent avec des composants cellulaires importants tels que l'ADN ou la membrane cellulaire. Suite à une exposition aux radicaux libres, il peut se produire une prolifération (multiplication anormale) de cellules, entraînant un cancer, un dysfonctionnement cellulaire ou la mort des cellules [15]. A une certaine teneur, les radicaux libres protègent notre corps de certaines bactéries, mais leur production en excès provoque des dommages pour l'organisme. Les radicaux libres peuvent avoir une origine externe et une origine interne [16]. Il est établi qu'il existe une association étroite entre l'altération des systèmes de défense antioxydants et le développement de plus de 200 pathophysiologies différentes allant de l'athérosclérose au cancer en passant par le SIDA, les maladies inflammatoires, le diabète, etc [17].

### **I.1.1.4 Sources**

La première source de radicaux libres est tout à fait normale et naturelle. Ils sont produits par une activité interne que déploient nos cellules pour nous apporter de l'énergie. Chaque fois que nos cellules utilisent de l'oxygène, des radicaux libres se forment. La seconde source de radicaux libres est externe. Ils apparaissent lors des expositions au soleil, à la pollution, aux radiations, lors des ingestions d'aliments traités, et des fumées de cigarettes [16].

#### **I.1.1.4.1 Les radicaux libres d'origine interne**

En dehors de toutes pathologies, une première origine des phénomènes radicalaires est la formation initiale de l'anion superoxyde ( $O_2^{\bullet -}$ ), le plus courant des radicaux oxygénés libres (ROL). Cet anion superoxyde peut alors dismuter soit spontanément, soit de façon enzymatique, pour donner de l'eau oxygénée ( $H_2O_2$ ) qui peut à son tour se transformer en radical hydroxyle ( $\bullet OH$ ), le plus réactif des ROL. Les radicaux oxygénés libres sont aussi appelés « dérivés réactifs de l'oxygène » (DRO) ou, « reactive oxygen species » (ROS), « reactive oxygen intermediates » (ROI) ou encore « reactive oxygen metabolites » (ROM). Les sources internes sont intensifiées par la présence des aliments qui intègrent des substances nocives comme certains pesticides ou détergents. Le mode de cuisson des aliments est aussi important car il crée des acides aminés pyrolysés et des acides gras oxydés. L'eau de rivière à cause de sa proximité avec les champs, quant à elle contient des nitrates, des sels d'aluminium, des hydrocarbures et des métaux lourds. En plus, les allergies, les

inflammations, les infections peuvent générer des radicaux libres mais aussi ceux liés aux divers mécanismes physiologiques. C'est le cas des phénomènes de catabolisme musculaire (l'effort physique), de détoxification ou de la respiration mitochondriale (production d'énergie); cette dernière étant la résultante de la combustion des sucres et des graisses alimentaires, absorbées pour fournir de l'énergie et qui produit en moyenne 5 % des radicaux libres [15].

#### **I.1.1.4.2 Les radicaux libres d'origine externe**

Notre environnement et notre mode de vie sont également à l'origine d'une augmentation du stress oxydant dans notre organisme. Les expositions prolongées au soleil et aux radiations, les contacts avec des agents cancérogènes et le tabagisme, la prise de médicaments (dont la pilule contraceptive), la pratique intense ou mal gérée d'un sport, la consommation excessive d'alcool, le stress intellectuel ou thermique, la pollution, les agents infectieux renforcent la production d'éléments pro-oxydants tels que les radicaux libres [17].

### **I.1.2 Le stress oxydant**

#### **I.1.2.1 Généralités sur les stress oxydant**

La découverte d'espèces chimiques radicalaires présentes normalement dans l'organisme a bouleversé la compréhension des mécanismes biologiques. Bien qu'utiles pour l'organisme à dose raisonnable ; la production de ces espèces chimiques radicalaires peut devenir excessive ou résulter de phénomènes toxiques exogènes et l'organisme va devoir se protéger de ces excès par différents systèmes antioxydants. Dans les circonstances quotidiennes normales, des radicaux libres sont produits en permanence en faible quantité comme les médiateurs tissulaires ou les résidus des réactions énergétiques ou de défense, et cette production physiologique est parfaitement maîtrisée par des systèmes de défense, d'ailleurs adaptatifs par rapport au niveau de radicaux présents. Dans ces circonstances normales, on dit que la balance antioxydants/pro-oxydants 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 ». Cette rupture d'équilibre, lourde de conséquence, peut avoir de multiples origines. L'organisme peut avoir à faire face à une production beaucoup trop forte pour être maîtrisée, qui sera observée dans les intoxications aux métaux lourds, dans l'irradiation, dans les ischémies/reperfusions suivant des thromboses. La rupture d'équilibre peut provenir d'une défaillance nutritionnelle ou de la carence en un ou plusieurs des antioxydants apportés par la nutrition comme les vitamines ou les oligo-éléments. Enfin, la mauvaise adaptation peut résulter d'anomalies génétiques responsables d'un mauvais codage d'une protéine. Généralement, le stress oxydant sera la



résultante de plusieurs de ces facteurs et se produira dans un tissu et un type cellulaire bien précis, objet de la défaillance et non pas dans tout l'organisme [18].

### **I.1.2.2 Conséquences du stress oxydant**

Le stress oxydant est impliqué dans de très nombreuses maladies comme facteur déclenchant ou associé à des complications de l'évolution. La multiplicité des conséquences médicales de ce stress n'a rien de surprenant car, selon les maladies, celui-ci se localisera à un tissu et à des types cellulaires particuliers, mettra en jeu des espèces radicalaires différentes et sera associé à d'autres facteurs variables et à des anomalies génétiques spécifiques à chaque individu. La plupart des maladies induites par le stress oxydant apparaissent avec l'âge car le vieillissement diminue les défenses antioxydantes et augmente la production mitochondriale de radicaux [19]. En faisant apparaître des molécules biologiques anormales et en sur-exprimant certains gènes, le stress oxydant sera la principale cause initiale de plusieurs maladies : cancer, cataracte, sclérose latérale amyotrophique, syndrome de détresse respiratoire aigu, œdème pulmonaire, vieillissement accéléré. Ainsi, les relations entre stress oxydant et cancer s'avèrent très étroites, les radicaux libres intervenant dans l'activation des pro-carcinogènes en carcinogènes, créant les lésions de l'ADN, amplifiant les signaux de prolifération et inhibant des gènes suppresseurs de tumeur. Le stress oxydant est aussi un des facteurs potentialisant l'apparition de maladies plurifactorielles tels : le diabète, la maladie d'Alzheimer, les rhumatismes et les maladies cardiovasculaires [20]. Dans la genèse de la plaque d'athérome, l'oxydation des LDL est un des phénomènes clefs transformant les monocytes en cellules spumeuses. Le stress oxydant joue également un rôle dans l'apparition des autres facteurs athérogènes : augmentation de la résistance à l'insuline, activation des cellules endothéliales libérant des médiateurs pro-oxydants (prostacycline, cytokine, facteur de fibrinolyse, superoxyde, NO), augmentation de la prolifération des fibres lisses. Un facteur de risque découvert récemment, l'homocystéine, voit son action liée en partie à la génération de radicaux libres au cours de son métabolisme. Les causes essentielles de ce stress oxydant sont soit d'origine nutritionnelle dans les cas de carences en vitamines et oligo-éléments, ou inversement de surcharges en facteurs pro-oxydants (fer, acides gras), soit d'origine accidentelle (inflammation, exposition à des xénobiotiques pro-oxydants...), soit d'origine génétique. Le plus souvent, l'association de ces différents facteurs aboutira au mécanisme pathogène. La responsabilité la plus nette des radicaux libres est mise en évidence dans les maladies directement induites par des anomalies d'un gène antioxydant [18]. Comment lutter contre le développement d'un stress oxydant poussé?

### I.1.3 Les antioxydants

#### Définition

Le terme antioxydant désigne les substances qui, présentes à des faibles concentrations comparées à celles des oxydants, empêchent ou préviennent l'oxydation d'un substrat oxydable [21].

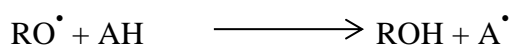
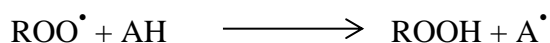
#### I.1.3.1 Différents types d'antioxydants

Pour se protéger des effets toxiques de l'oxygène, l'organisme a développé des systèmes de défense contre ces toxiques ou acquiert les antioxydants de l'alimentation. Il existe deux types d'antioxydants : les antioxydants enzymatiques naturellement fabriqués par notre organisme ou antioxydants endogènes et les antioxydants d'origine alimentaire ou antioxydants exogènes. Les antioxydants enzymatiques sont produits par notre organisme et sont représentés par trois systèmes enzymatiques, à savoir la SOD (Superoxyde Dismutase), la GPO (Glutathion Peroxydase) et la Catalase. Ces systèmes enzymatiques nécessitent des cofacteurs d'origine alimentaire tels que le Cuivre, le Manganèse, le Magnésium, le Zinc et le Sélénium ; mais aussi certaines vitamines (C, E, A) ou des molécules comme le glutathion [22].

On distingue également les antioxydants synthétiques. Ce sont des composés ayant des structures phénoliques avec de degrés variés de substitution des groupements alkyles. Ils sont généralement utilisés pour limiter l'oxydation des denrées alimentaires à l'instar du butyl-hydroxyanisole (BHA) et le butyl-hydroxytoluène (BHT) qui ont été utilisés depuis le début du vingtième siècle [23]. Cependant ces antioxydants de synthèse sont de moins en moins utilisés dans les denrées alimentaires, les antioxydants naturels leur étant préférés en raison de leur effet carcinogène [24; 25].

Les antioxydants peuvent également être classés en fonction de leur mécanisme d'action. On distingue ainsi les inhibiteurs des radicaux libres, les décomposeurs des peroxydes, les désactivateurs des ions métalliques, ou les piègeurs d'oxygènes [26, 27].

- **Les antioxydants de type I** : encore appelés « anti radicalaires », les antioxydants de type I sont des composés qui transforment les radicaux très réactifs en molécules stables. Ils peuvent stopper complètement une réaction jusqu'à ce que les radicaux soient totalement consommés : il y a donc un effet quantitatif déterminant [28]. Cette réaction s'effectue selon les équations suivantes :



(AH : antioxydant et A<sup>•</sup> : radical de l'antioxydant, ROO<sup>•</sup> : radical libre hautement réactif)

Les composés appartenant à cette classe d'antioxydants sont les composés phénoliques naturels ou de synthèse [23]. Ces composés phénoliques sont considérés comme les métabolites secondaires, synthétisés à partir des plantes qui ont subi un développement normal [29].

- **Les antioxydants de type II** : ce type d'antioxydants prévient la formation des radicaux libres et peut intervenir par différents mécanismes. Certains chélatent les ions métalliques réduisant l'effet pro-oxydant des ions ; c'est le cas des acides phosphorique et citrique. Cette activité antioxydante est attribuée à la propriété que possèdent ces bio-polymères à former des complexes avec les métaux de transition [30].
- **Les antioxydants de type III** : ils regroupent les facteurs de l'environnement qui ont une action antioxydante en agissant sur le potentiel redox du milieu, la température, la pression en oxygène, la lumière. L'emballage des produits permet ainsi de minimiser l'exposition à l'air et à la lumière. La mise sous vide permet de limiter les réactions d'oxydation et donc de prolonger la durée de vie des produits. L'emballage peut également être réalisé sous atmosphère modifiée (azote ou CO<sub>2</sub>), méthode efficace mais peu utilisée [31].
- **Les agents synergiques** : ce sont des molécules qui améliorent l'action de certains antioxydants, ce qui se traduit souvent par un accroissement de la période de protection. Parmi eux se trouvent : les acides lactiques, tartriques et *ortho* phosphoriques et leurs sels de sodium, potassium ou calcium. L'efficacité des antioxydants peut être augmentée par l'utilisation d'un mélange d'antioxydants de type I et II. L'association de ces deux types d'antioxydants permet d'inhiber les phases d'initiation et de propagation de l'oxydation des lipides [32].
- **Autres types d'antioxydants** : Certains composés protéiques possèdent une activité antioxydante. C'est le cas par exemple de la carnosine [33], des concentrés protéiques obtenus à partir du lait qui sont susceptibles de complexer le fer.

### **I.1.3.2 Importance des antioxydants**

Chaque année, des milliers de rapports de recherche sont publiés sur le rôle des antioxydants dans le maintien de la santé, la prévention des maladies et les besoins nutritifs. Il existe en outre plusieurs revues scientifiques consacrées principalement ou exclusivement à la biologie des radicaux libres et des antioxydants [34]. Ces domaines de connaissance sont

d'une grande actualité étant donné l'intérêt sans cesse grandissant suscité par les produits nutraceutiques et les suppléments alimentaires, de même que le recours de plus en plus répandu à la génomique et à la biotechnologie pour améliorer la teneur en antioxydants dans les aliments [34].

Bien que les preuves scientifiques établissent clairement une corrélation entre la consommation de fruits et de légumes et les risques de maladies, aucune étude n'a été réalisée pour définir s'il existe un lien entre les fruits et légumes biologiques et les risques de maladies [35]. En outre, il existe très peu de preuves permettant d'établir un lien direct entre la consommation d'antioxydants et un bienfait particulier pour la santé [34].

Quoi qu'il en soit, la consommation d'antioxydants joue sans doute un rôle important dans le lien qui existe entre la diète et la santé d'une population donnée. La plupart des bienfaits des antioxydants (si ce n'est la totalité) pour la santé sont attribuables à leurs propriétés anti-inflammatoires sur le corps [36]. Les dommages causés par les radicaux libres sont inflammatoires en soi et déclenchés par l'inflammation. En atténuant les dommages causés par les radicaux libres, les antioxydants réduisent l'inflammation. Ces importantes propriétés des antioxydants favorisent la santé cardiovasculaire, le ralentissement de la croissance de tumeurs cancéreuses et de masses cellulaires, le ralentissement du vieillissement des cellules cérébrales et nerveuses et réduisent les risques et la gravité des maladies neurodégénératives, dont la maladie d'Alzheimer, la maladie de Parkinson et la maladie de Huntington. On a par ailleurs observé un rôle potentiel dans la réduction de la gravité de l'asthme dans le cadre d'une étude cas témoin basée sur une population donnée. Il a également été démontré que la quercétine, un flavonoïde, peut soulager les douleurs pelviennes chroniques, une affection courante, mais difficile à traiter [34].

## **I.2 APERCU BOTANIQUE D'*ERYTHRINA DROOGMANSIANA***

### **I.2.1 Généralités sur la super-famille des Légumineuses**

Du nom latin « legumen » qui signifie légume, les Légumineuses, avec ses plus de 650 genres répartis en plus de 1800 espèces, constituent la troisième grande famille de plantes à fleurs (Angiospermes) après les Compositaceae et les Orchidées [37]. Ces espèces poussent aussi bien dans les zones tempérées, tropicales humides, arides, que dans les savanes, les hautes et basses terres ; celles-ci sont parfois des plantes aquatiques. [38]

#### **I.2.1.2 Intérêts**

Les légumineuses renferment au niveau de leurs racines de petits renflements appelés nodosités qui leurs permettent de fixer l'azote atmosphérique  $N_2$  et la transformer en azote

organique (NH<sub>3</sub>, NO<sub>3</sub>), constituant principal des engrais. Les Légumineuses sont très utilisées à cause de leur valeur nutritive (teneur en protéines végétale élevée : cas du soja, haricot et arachide), et également à cause de leur composition chimique (alcaloïdes, flavonoïdes, saponines ...) [37].

### **I.2.1.3 Classification**

La super-famille des Légumineuses se subdivise en trois familles : les Mimosaceae, les Césalpiniaceae et les Papilionaceae [37, 38].

### **I.2.2 Les Papilionaceae**

Les Papilionacées avec ses plus de 480 genres et 1200 espèces constituent une grande famille réparties dans les régions chaudes du monde [37].

Les genres *Indigofera* (100 espèces), *Erythrina* (110 espèces), *Crotalaria* (200 espèces), *Tephrosia* (50 espèces) sont numériquement les plus importants. Les plantes de cette famille sont des arbres, des arbustes et des lianes. Les feuilles sont surtout composées, avec des stipules et souvent des stipelles. Les Fabaceae (ou Papilionaceae) présentent une grande diversité dans la nature de leurs principes chimiques et, par conséquent, dans leurs emplois. On y trouve des espèces alimentaires (soja, arachide), fourragères (tréfle, luzerne), d'autres sont utilisées pour la teinture (indigotier), astringentes et tanniques (kno de Gambre), insecticides par leurs rotenoïde (*Tephrosia*), médicales par leur alcaloïdes (Erythorines Curarisantes, fève de Calabar), par leur principe sucré (feuilles de jequirity), toxique par leur alcaloïdes à pyrrolizidines (Crotalaires), à saponosides ou à phytotoxines (graines de Jéquirity) [39].

#### **I.2.2.1 Le genre *Erythrina***

Le genre *Erythrina* (Légumineuses) compte plus de 110 espèces, et pousse dans les régions tropicales et sud tropicales d'Amérique, d'Afrique et d'Asie [38].

En Afrique, ce genre se retrouve au Congo, en Gambie, en République centrafricaine, au Nigéria et au Cameroun [40, 41]. Au Cameroun, 10 espèces ont été recensées dans les régions de savane boisée Soudano-Guinéenne du haut plateau de l'Adamaoua entre 800 et 1200 m d'altitude [42, 43]. Ce genre est facilement reconnaissable et son identification repose sur les caractéristiques suivantes [43] :

- ✓ Les feuilles trifoliolées

On note la présence de glandes sur les rachis des pétioles.

Le rachis, les rameaux et les branches sont hérissés d'épines crochues. La floraison a lieu pendant la défeuillaison ou en même temps qu'apparaissent les feuilles.

- ✓ Les fleurs sont rouges, papillonées. Les gousses sont oblongues, linéaires, déhiscentes, coriaces et contiennent de nombreuses graines.

Contrairement à la détermination du genre qui est facile, celle des espèces est difficile car les feuilles sont semblables d'une espèce à l'autre.

Les fleurs constituent l'élément principal de la classification des espèces. Pendant leur épanouissement, elles présentent un calice tubulaire qui se fend latéralement et peut être entier ou dentée. Les dents peuvent être plus ou moins longues. Elles sont :

- ❖ Courtes et obtuses pour les espèces *Erythrina eriotricha* Harms, *E. sigmoïdea*.
- ❖ Filiformes et longues chez *E. indica*
- ❖ Linéaires chez *E. abyssinica* Lam.

Plus de 80 espèces du genre *Erythrina* ont déjà fait l'objet d'études phytochimiques et même pharmacologiques. Ces multiples études ont permis de révéler que les membres de ce genre sont riches en métabolites divers dont les plus abondants sont les composés phénoliques divers et les alcaloïdes.

**Tableau 1** : Liste des *Erythrina* recensées au Cameroun et leur lieu de localisation (source : Herbar national)

Noms	Types de plante	Noms locaux	Localisations
<i>Erythrina addisoniae</i>	Arbre	-	Ekekam, environs de Yaoundé
<i>Erythrina buesgenii</i>	Arbre	-	-
<i>Erythrina droogmansiana</i>	Arbre	Engolam (Ewondo)	Ferme de Mvog Betsi, Yaoundé
<i>Erythrina excelsa</i>	Arbre		Buea vers Ekona, Kupé-Manengouba, Mouamboug, autour de Nyasoso, base du Mont Kupé
<i>Erythrina glauca</i> ( <i>fusca</i> )	Arbre		Bota (Limbé)
<i>Erythrina milbraedii</i>		Anga'am (Ewondo)	Boral de l'étang de pisciculture de Melen Yaoundé
<i>Erythrina senegalensis</i>	Arbre	Mba-Meghan (Bamoun)	Pont du Mbam, route Tibati-Banyo, Nkoutoupi Bangangté, Mont Alanlika
<i>Erythrina sigmoïdea</i>	Arbuste	Meghan (Bamoun)	Ngaoundéré, au Nord de Touraké (Deng-deng), Loumbam, Mayo-Banyo, Garoua, Mogobé-Mokolo, Yarang-Maré
<i>Erythrina vogelii</i>	Arbre	Etong (Fang)	Mogodé-Mokolo, Foubot

### **I.2.2.2 *Erythrina droogmansiana***

*E. droogmansiana* est un arbre de taille moyenne, caducifolié, atteignant 30-45 m de haut ; son fût est droit, dépourvu de branches sur une hauteur atteignant 20 m, atteignant 80-250 cm de diamètre et pourvu d'épines ligneuses, coniques, parfois à contreforts raides atteignant 7 m de haut. La surface de son écorce est recouverte d'aiguillons. Les feuilles sont trifoliolées ; les stipules triangulaires, jusqu'à 4 mm de long, persistantes ; les pétioles varient entre 4-21 cm de long, souvent épineux, les rachis varient entre 2-8,5 cm de long, à grosses glandes à la base des pétiolules, stipelles de 2-3,5 mm de long, pétiolules de 6-12 mm de long ; folioles elliptiques à ovales ou oblongues-elliptiques, de 7-23,5 cm × 3,5-16,5 cm, arrondies à légèrement cordées à la base, aigües ou courtement acuminées à l'apex, initialement poilues surtout au-dessous mais glabrescentes, pennatinvées à environ 9 nervures latérales.



a) Branches d'*E. droogmansiana* De Willd et T. Durand



b) Tronc d'*E. droogmansiana* De Willd et T. Durand

**Image 1 :** Branches et tronc d'*E. droogmansiana* De Willd et T. Durand (Photo Yaya, Août 2010)

### **I.3 Usages des plantes du genre *Erythrina***

Les plantes du genre *Erythrina* sont utilisées comme poteaux pour la construction des clôtures et des maisons et comme arbres décoratifs. Les graines servent d'ornement, de perle ou sont utilisées dans les jeux traditionnels.

Concernant les intérêts thérapeutiques, les écorces et les racines de ces plantes ont un rôle dans la pharmacopée traditionnelle, où elles sont utilisées sous forme d'infusion, de poudre ou de décoction pour le traitement de diverses maladies telles que la jaunisse, la stérilité féminine, la lèpre [45] Altaminaro et son équipe ont reconnu depuis 1877 l'activité pharmacologique des extraits de *E. americana*. Actuellement plusieurs publications signalent que la plupart des espèces d'*Erythrina* sont utilisées dans la médecine traditionnelle.



**Tableau 2** : Utilisation ethnobotanique de quelques espèces du genre *Erythrina* [44, 45]

Plante	Parties utilisées	Usages
<i>E. flabelliformis</i>	Graines	Mal de dents Comme contraceptif
<i>E. folkersii</i>	Ecorces Graines	Inflammation gastrique (voie orale) Diurétique
<i>E. fusca</i>	Ecorces Graine	Lavage des plaies infectées Infections cutanées Antiinflammatoire
<i>E. glauca</i>		Traitement de la malaria (voie orale) Purgatif
<i>E. humeana</i>	Ecorces	Pour le traitement de la tuberculose (voie orale)
<i>E. indica</i>	Ecorces Feuilles	Anthelminthique Aphrodisiaque Contre les troubles menstruels
<i>E. mulungu</i>	Ecorces	Traitement de fièvre (voie orale)
<i>E. sacleuxii</i>	Feuilles Ecorces	Traitement de la malaria (voie orale) Traitement de la malaria (voie orale) Blessures graves
<i>E. senegalensis</i>	Ecorces Ecorces + feuilles Plante entière	Infections oculaires Bronchite (voie orale) Jaunisse (voie orale) Stérilités chez les femmes (voie orale) Dysenterie (voie orale) Maladies vénériennes (voie orale)
<i>E. stricta</i>	Ecorces	Epilepsie (voie orale)
<i>E. subumbrans</i>	Feuilles	Ménorragie (voie orale)
<i>E. variagata</i>	Ecorce + huile de cocotier Fleurs Feuilles	Abcès et inflammations (application externe) Ulcères cutanés Contre l'asthme (voie orale) Pour augmenter la sécrétion lactée
<i>E. zeyheri</i>	Ecorces	Pour la tuberculose (voie orale)

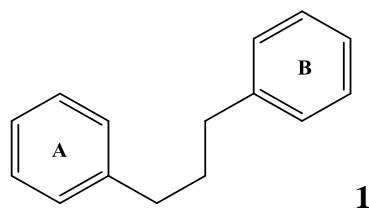
#### I.4 Métabolites secondaires isolés des *Erythrina*

Plusieurs travaux chimiques et biologiques ont été menés sur les espèces du genre *Erythrina* ; travaux qui ont permis d'isoler plusieurs classes de métabolites secondaires dont les plus abondants sont les alcaloïdes et les flavonoïdes. Au cours de ce travail, nous avons isolé majoritairement les flavonoïdes.

## I.4.1 Flavonoïdes

### I.4.1.1 Introduction

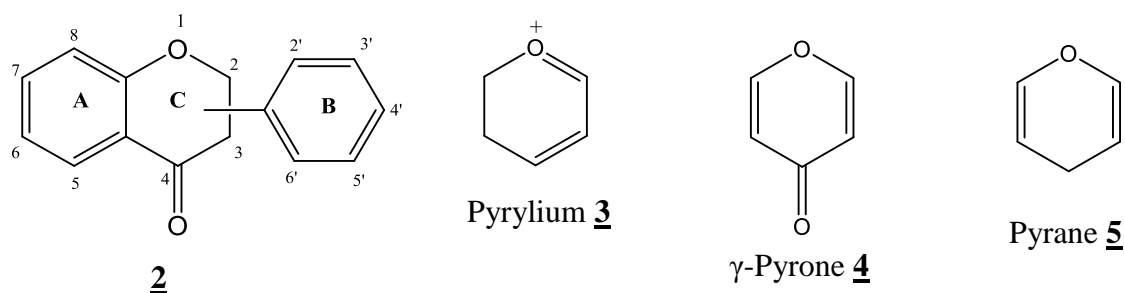
Le terme flavonoïde désigne une très large gamme de composés naturels appartenant à la famille des polyphénols. Ils sont considérés comme des pigments quasi universels des végétaux. Structuellement, les flavonoïdes se répartissent en plusieurs classes de molécules dont les plus importantes sont : les flavones, les flavanones, les dihydroflavanols, les isoflavones, les isoflavanones, les chalcones, les auronnes, les anthocyanes et les tanins [46]. Parmi toutes les molécules flavoniques, les flavonols sont considérés comme l'étendue la plus ancienne [47]. A nos jours, plus de 8000 flavonoïdes ont été identifiés [48]. Ils ont une origine biosynthétique commune et par conséquent possèdent tous un même squelette de base à quinze atomes de carbone, constitué de deux unités aromatiques, deux cycles en C6 (A et B) reliés par une chaîne en C3 (**Figure 1**) [49].



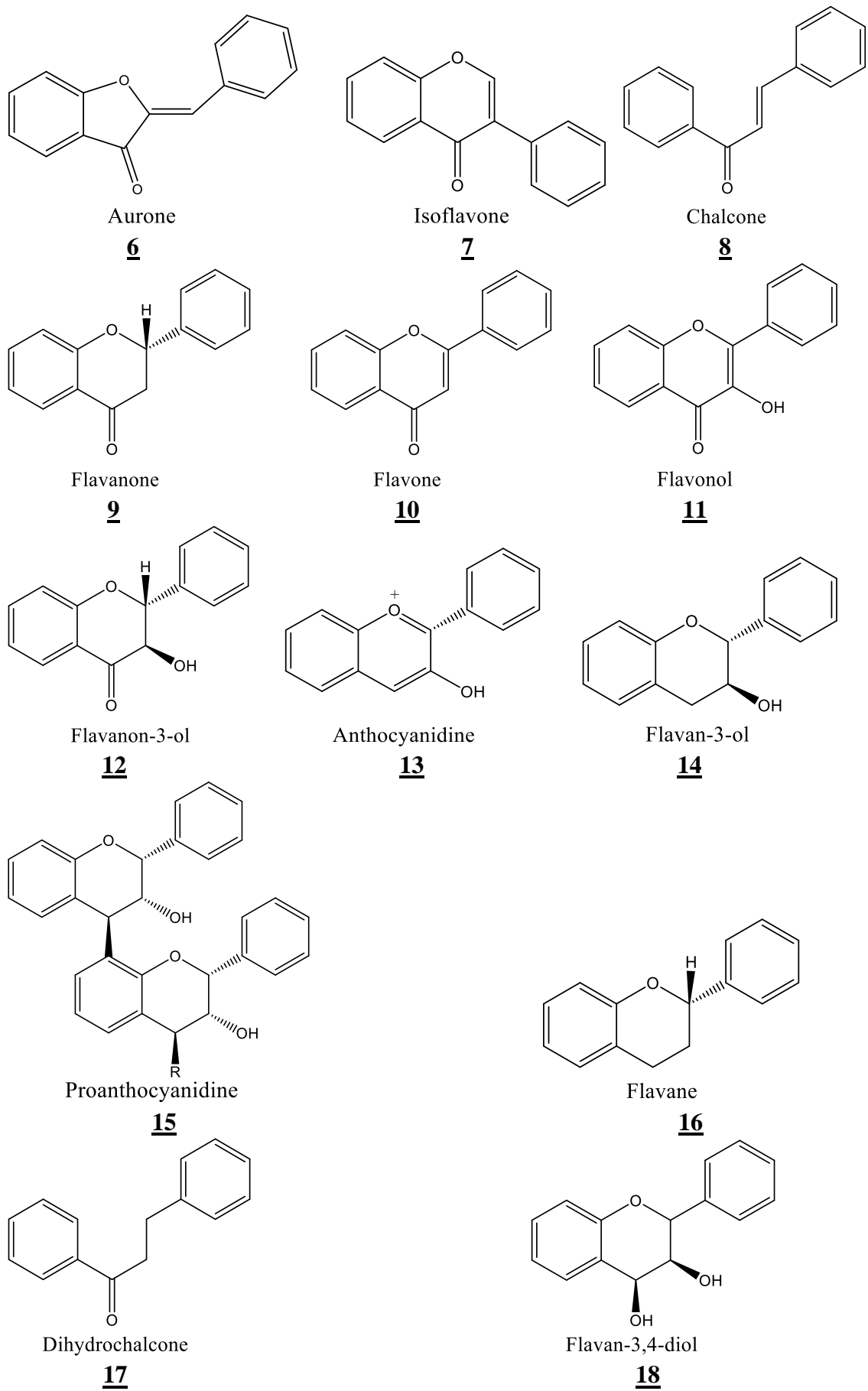
**Figure 1:** Squelette de base des flavonoïdes

A l'état naturel, on trouve très souvent les flavonoïdes sous forme de glycosides, une ou plusieurs de leurs fonctions hydroxyles sont alors glycosylés [49]. Les flavonoïdes sont présents dans toutes les parties des végétaux supérieurs : racines, tiges, feuilles, fleurs, pollen, fruits, grains, et bois.

Les composés flavoniques varient relativement au changement de la nature du cycle oxygéné non homogène (C), ils sont dérivés de l'un de ces composés : pyrane,  $\gamma$ -pyrane, pyrylium.



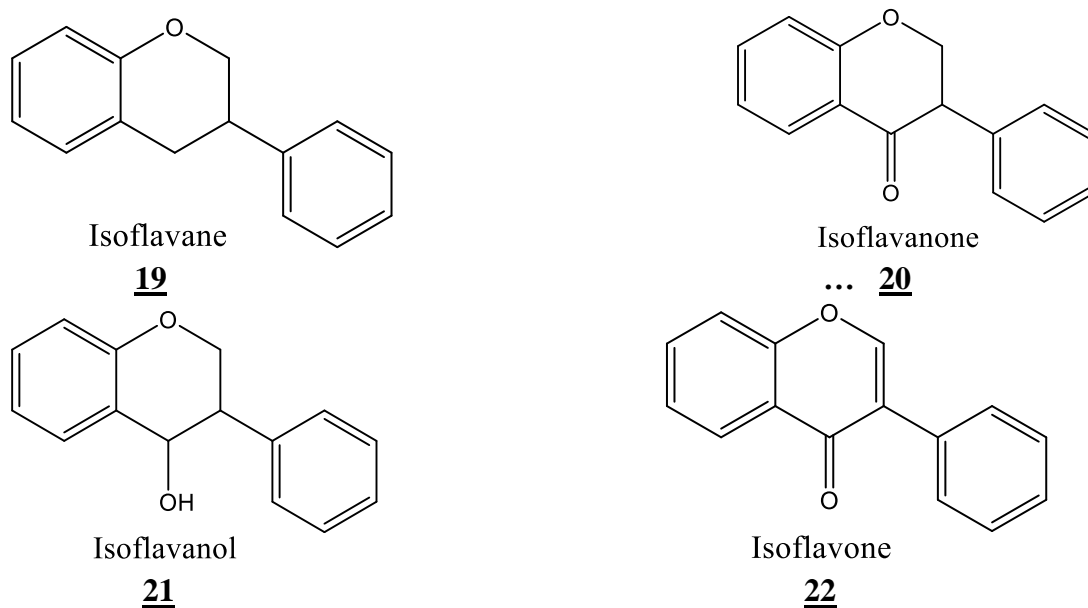
La figure 2 présente quelques familles des flavonoïdes. [50].



**Figure 2:** Structure de base des principaux types de flavonoïdes

Les isoflavonoïdes forment une sous classe très large et très distinguée des flavonoïdes ; ces composés très actifs se trouvent essentiellement dans la famille des Fabales (les Légumineuses) [51]. Ils jouent un rôle important sur la santé humaine. Certains isoflavonoïdes fonctionnent comme des phytoalexines, synthétisées comme défense contre le stress (microorganisme infectieux, froid, UV). C'est aussi le seul groupe de flavonoïdes connus pour être hautement toxiques envers de nombreux insectes [52].

Structurellement les isoflavonoïdes se différencient des flavonoïdes par le positionnement du cycle (B) du squelette flavonique sur le carbone 3, La figure 3 présente les principaux types d'isoflavonoïdes :



**Figure 3** : Principaux types d'isoflavonoïdes

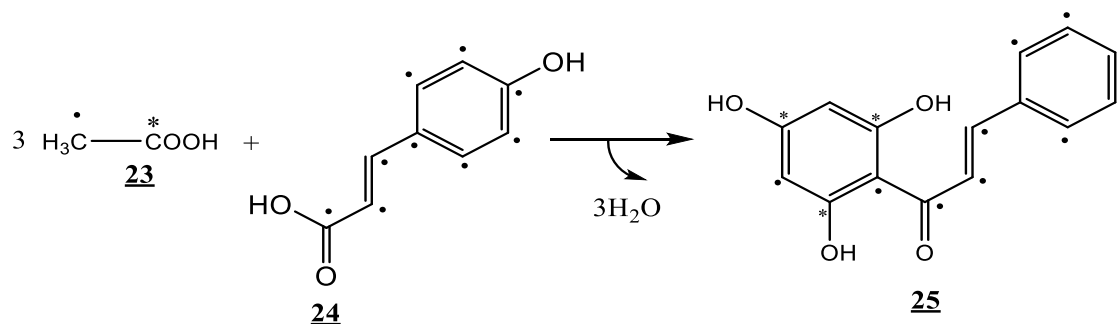
#### I.4.1.2 Biosynthèse

L'importance des flavonoïdes et leur propagation de plus en plus étendue ont attiré l'attention de plusieurs chercheurs : chimistes, biologistes et même des biogénéticiens qui ont accentué leurs recherches sur l'origine de l'évolution héréditaire de ces composés quant à leur biosynthèse dans les plantes.

##### I.4.1.2.1 Biosynthèse du squelette C6-C3-C6

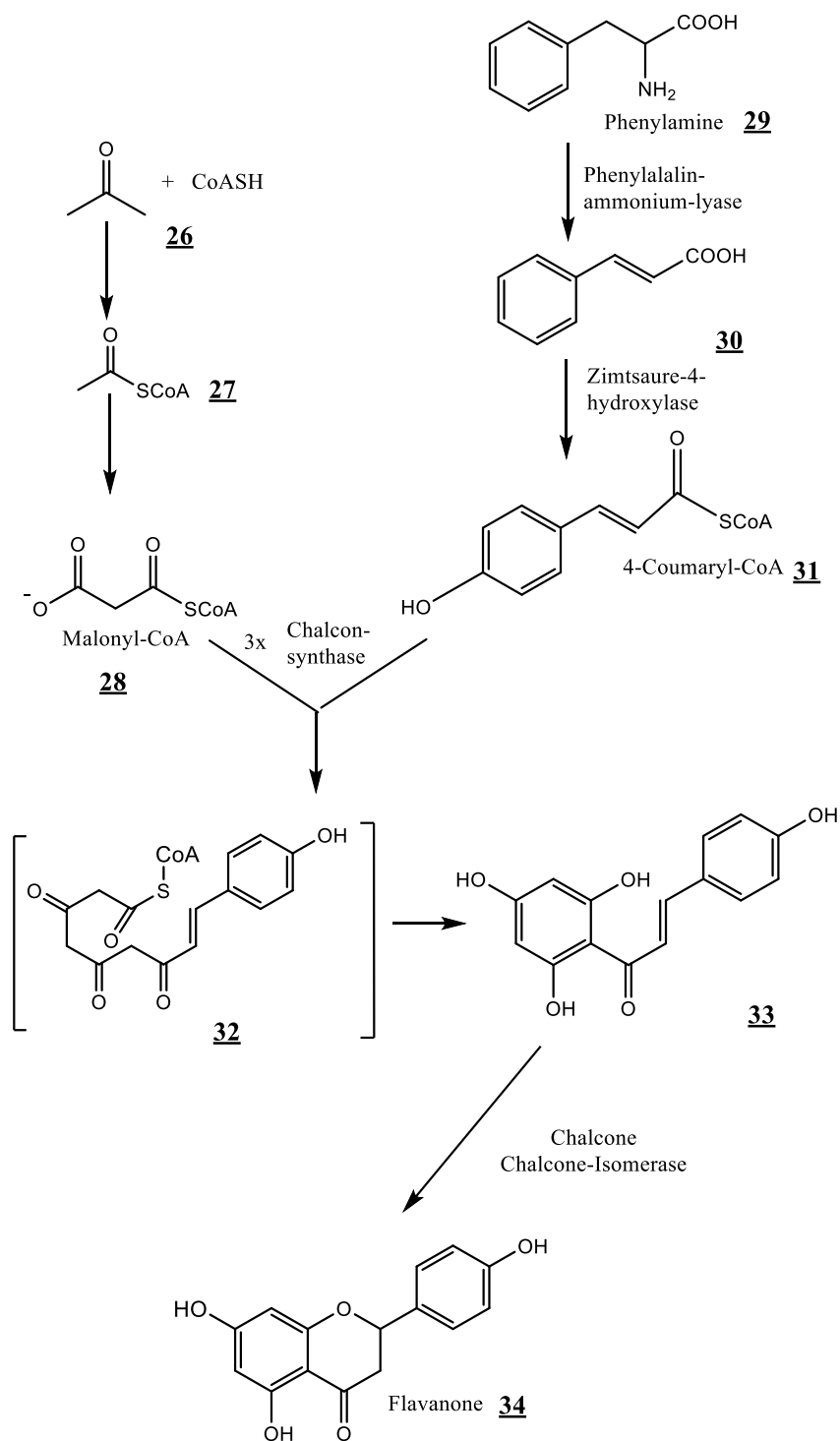
Les études dans ce domaine ont fait des progrès, grâce à l'utilisation du carbone 14 (<sup>14</sup>C) qui a montré que le chalcone synthase (CHS) est l'enzyme clé dans la biosynthèse des divers flavonoïdes [53] et que la biosynthèse passe par deux voies, la voie acétate et la voie shikimate. Les expériences faites par Grisebach en 1957 ont montré le rôle de l'acide acétique dans la formation du cycle A (**Schéma 1**) et ceci dans l'étude de la biosynthèse du composé

cyanidine dans le chou rouge à partir de l'acétate irradié du groupe méthyle ou carbonyle [54, 55].



**Schéma 1** : Formation du chalcone par la condensation de 3 molécules de l'acide acétique avec une molécule de l'acide *p*-coumarique.

Le cycle (A) est formé par la condensation de trois unités d'acétate en forme de malonyl-CoA avec *p*-coumaroyl-CoA



**Schéma 2** : Condensation de trois molécules d'acétate avec le *p*-coumaroyl-CoA pour la formation de la chalcone et ses isomères.

Pour le cycle (B), les études faites par Davis en 1955 sur la plante « Shikimi-no-ki » ont montré le rôle de l'acide shikimique dans la formation du cycle (B) [56].

#### **I.4.1.2.2 Biosynthèse des différents squelettes flavonoïdiques**

Depuis la découverte de l'enzyme CHS qui a été isolée et caractérisée dans des différentes espèces de plantes, elle est devenue la cible attirante pour les généticiens qui cherchent en premier lieu à modifier la couleur des fleurs vers le blanc pur en bloquant la biosynthèse des flavonoïdes. L'enzyme CHS catalyse progressivement la condensation de trois molécules de Malonyl-CoA avec 4-coumaroyl en 4, 2, 4, 6-tetrahydroxy-chalcone. Cette chalcone de couleur jaune est métabolisée sous l'action de l'enzyme chalcone isomérase, en flavone naringénine. C'est sur cette dernière qu'agit ensuite la flavone synthase ou la (2*S*)-flavanone-3-hydroxylase pour donner la flavone apigénine ou dihydroflavonol : (2*R*, 3*R*)-dihydrokaempférol, respectivement.

Les deux enzymes fonctionnent différemment, la première introduit la double liaison entre les carbones C-2 et C-3, tandis que la deuxième catalyse l'hydroxylation du carbone C-3. Le dihydroflavonol en présence de la flavonol synthase ou la dihydroflavonol-4-réductase, se métabolise en flavonol kaempférol ou en flavan-3,4-diol leucoanthocyanidine, respectivement. Ce dernier semble être le précurseur des flavan-3-ols et des anthocyanidines. Cependant, les étapes ultimes de leur formation ne sont pas encore élucidées. Le pélagonidine, sous l'action de la 3-*O*-glycosyl-transférase se transforme en pélagonidin-3-glucoside (**Schéma 3**) [57].

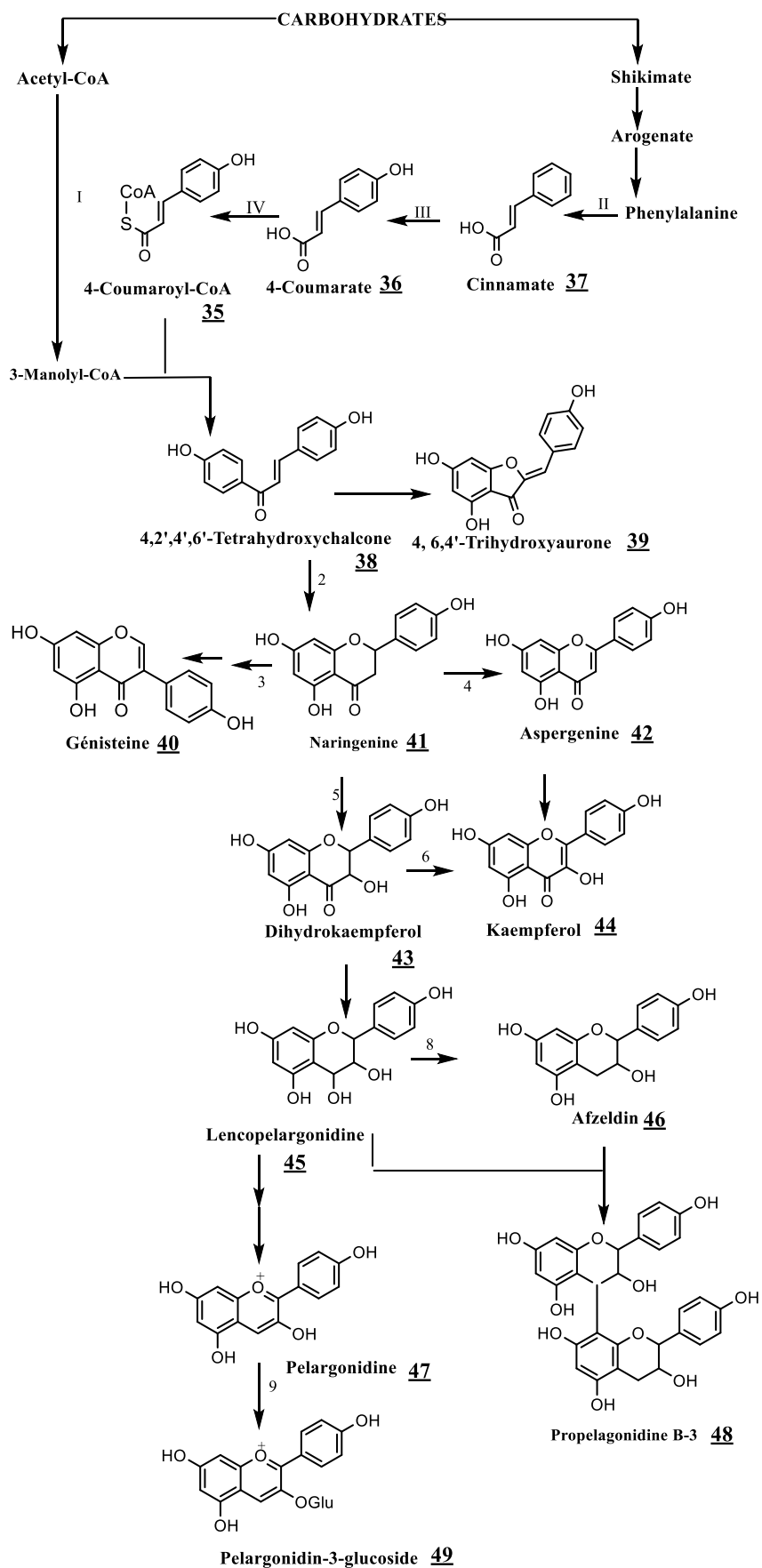


Schéma 3 : Biosynthèse des différents squelettes flavonoïdiques [57]



Le tableau suivant donne la liste des enzymes entrant dans la biosynthèse des différentes classes de flavonoïdes.

**Tableau 3** : Liste des enzymes rentrants dans la biosynthèse

Noms des enzymes	Numéro d'enzyme
Acetyl-CoA carboxylase	I
Phénylalanine ammonia-lyase	II
Cinnamate-4-hydroxylase	III
4-coumarate : CoA liase	IV
Chalcone synthase	1
Chalcone isomérase	2
2-hydroxyisoflavonesynthase	3
Flavone synthase	4
(2S)-Flavone-3-hydroxylase	5
Flavonol synthase	6
Dihydroflavonol-4-reductase	7
Flavan-3, 4-cis-diol-4-reductase	8
Anthocyanidine/ flavonol-3-O-glycosyltransferase	9

### I.4.1.3 Intérêt des flavonoïdes

Les substances naturelles issues des végétaux ont des intérêts multiples et sont mis à profit dans l'industrie alimentaire, en cosmétologique et en dermopharmaceutique. Parmi ces composés on retrouve en grande nombre les flavonoïdes; ils sont surtout utilisés en thérapeutique comme anti-cancérogènes, anti-inflammatoires, anti-tumoraux et antioxydants [58]. Les flavonoïdes jouent deux rôles principaux:

#### I.4.1.3.1 Le rôle biologique et physiologique

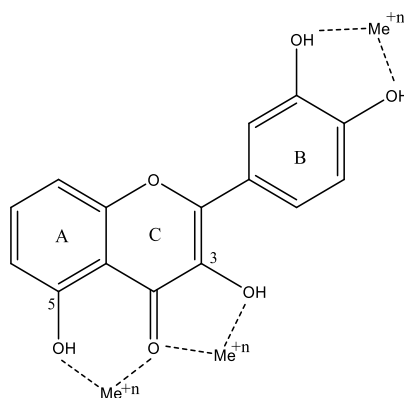
Des travaux plus anciens (Nitsch et Nitsch 1961 ; Alibert *et al.* 1977) ont montré que les flavonoïdes seraient associés à de nombreux processus physiologiques : croissance cellulaire, différenciation, organogène, dormance des bourgeons, floraison et tubérisation [58].

Ils déterminent également la saveur des fruits : les flavones sont responsables de l'amertume des *Citrus* et peuvent donner naissance par transformation chimique à des

dihydrochalcones à saveur sucrée, les tanins catéchiques sont à l'origine de la sensation d'astringence des fruits non murs [58].

Les flavonoïdes jouent un rôle important dans la croissance et le développement des plantes ; ils protègent les plantes contre l'attaque des micro-organismes et les parasites [59] et ceci par leur couleur et odeur qui servent comme communicateurs avec l'environnement [60]. Ils exercent un effet attracteur sur les oiseaux, les insectes et les animaux qui contribuent à la dispersion des grains des plantes et assurent la reproduction des plantes [58], tandis qu'ils peuvent repousser certains insectes par leur goût désagréable. Les flavonoïdes offrent à la plante une protection contre les rayons ultra-violet.

Les flavonoïdes sont considérés comme de bons chélateurs des ions métalliques, par exemple : le Fer ( $Fe^{2+}$ ) et le Cuivre ( $Cu^+$ ) qui sont essentiels pour certaines fonctions physiologiques comme constituants des hémoprotéines, ou des cofacteurs des différentes enzymes du système de défense antioxydant, par exemple le Fer pour la catalase, le Cuivre et le Zinc pour le superoxyde dismutase (Morris, 1995 ; Brown, 1998). On peut résumer les sites essentiels pour la chélation des ions métalliques sur la figure suivante :

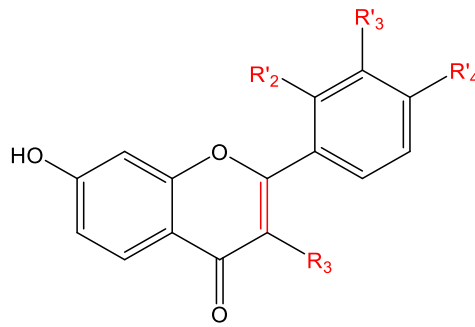


#### 50

**Figure 4** : Site de piégeage des flavonoïdes

**Le piégeage des radicaux libres** : De nombreuses études ont établi les relations entre les structures chimiques des flavonoïdes et leur capacité de piéger les radicaux libres.

Les travaux effectués par Rice-Evans et *al* ont permis de développer un test basé sur la capacité d'un antioxydant à piéger le radical cation chromophore, acide 2,2'-azinobis (3-éthylbenzothiazoline-6-sulfonique) (ABTS) [61]. L'activité des flavonoïdes est comparée avec celle du Trolox (acide 6-hydroxy-2,5,7,8-tétraméthylchroman-2-carboxylique) et exprimée en TEAC (Trolox Equivalent Antioxydant Capacity). Afin de déterminer les éléments majeurs de l'activité antioxydante, la figure suivante montre les sites essentiels pour l'activité antioxydante des flavonoïdes.



**51**

**Figure 5 :** Éléments essentiels pour l'activité antioxydante.

#### **I.4.1.3.2 Le rôle thérapeutique**

De plus en plus, les flavonoïdes deviennent l'un des principaux sujets de recherche médicale, ils ont démontré des activités antivirales, anti-tumorales, anti-inflammatoires, antiallergiques et anti-cancéreuses.

##### **I.4.1.3.2.1 Effets antiallergiques**

Les flavonoïdes sont connus pour leurs effets antiallergiques ; ces effets sont attribués à l'influence des flavonoïdes sur la production d'histamine. Les flavonoïdes inhibent les enzymes qui augmentent l'apparition de l'histamine dans les cellules mastocytes et des basophiles, par exemple l'ATPase Ca<sup>2+</sup> dépendante dégrade l'ATP produisant ainsi de l'énergie afin de faciliter l'absorption du Calcium par les membranes cellulaires ; ce qui favorise la libération de l'histamine stockée dans les vésicules. Par exemple, le flavonoïde isolé par Khelin des fruits de la plante égyptienne *Amuni visnaga* a été utilisé pour le traitement d'asthme [61].

##### **I.4.1.3.2.2 Effets anticancéreux**

Beaucoup de chercheurs ont mené les études sur l'activité anti-tumorale des flavonoïdes par exemple : l'activité anti-tumorale de la catéchine, flavanol présent dans le thé vert et d'autres plantes telles que : *Areca catechu*, *Crataegus oxyacantha*, *Cinnamomum cassia*, *Polygonum multiflorum* et *Rheum palmatum*. Ce flavonoïde a inhibé l'invasion de cellule tumorales et il a été démontré que cette activité de la catéchine pourrait être en rapport avec sa capacité de lier le tissu type plasminogène activator (t-PA) à laminine, une molécule de la matrice extracellulaire qui joue un rôle important pendant l'adhésion de la cellule cancéreuse, mène à une inactivation partielle de la t-PA [63-64]. Quelques flavonoïdes (quercétine, épigallocatechine) et l'extrait du thé vert inhibent l'augmentation de la tumeur en stoppant quelques phases du cycle cellulaire et en bloquant le récepteur ou rivalisant la place de l'hormone récepteur [65-66].

#### **I.4.1.3.2.3 Effets anti-inflammatoires**

Les recherches effectuées par Landolfi *et al* ont montré que beaucoup de flavonoïdes étudiés étaient capables de modifier le métabolisme de l'acide arachidonique dans les plaquettes pour donner la prostaglandine et le leucotriène induisant des phénomènes inflammatoires. Ce groupe a aussi montré que quelques flavonoïdes tels que la myricétine et la quercétine bloquent la cyclooxygénase et la lipo-oxygénase à des fortes concentrations. En plus, d'autres flavonoïdes tels que l'apigénine et la chrysin agissent principalement sur l'activité de la cyclooxygénase [67].

#### **I.4.1.3.2.4 Effets antiulcéreux**

Dans des expériences réalisées sur les rats, il a été démontré que la quercétine et la naringénine jouent un rôle important dans la réduction de l'ulcère et la protection des cellules gastriques. Il a été suggéré que la quercétine exerce son activité *via* un mécanisme complexe impliquant la production du mucus, le piégeage des radicaux libres et également l'inhibition de la production de leucotriène. [67]

#### **I.4.1.3.2.5 Autres effets biologiques**

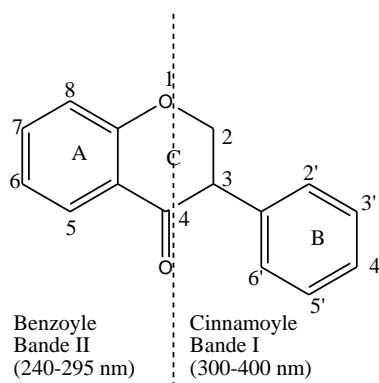
Les flavonoïdes peuvent aussi prévenir le diabète ou du moins le réduire en inhibant l'enzyme aldose réductase [67]. Ong et Khoo ont reporté que la myricétine et d'autres flavonoïdes réduisent le risque des maladies cardiovasculaires [68]. Plusieurs flavonoïdes exercent des effets de l'anti-agrégatoire à travers l'inhibition de la phosphodiesterase [66]. Des propriétés antivirales et antimicrobiennes ont aussi été démontrées [69, 70].

#### **I.4.1.4 Études spectroscopiques et chimiques de quelques groupes de flavonoïdes.**

Pendant longtemps, les phytochimistes ont été confrontés aux problèmes d'identifications structurales. Avec l'évolution des techniques analytiques, les points d'ombres ont peu à peu été levés. Les techniques spectroscopiques et spectrométriques sont les plus utilisées dans l'élucidation structurale des métabolites secondaires en général et celle des flavonoïdes en particulier.

##### **I.4.1.4.1 Caractéristiques spectroscopiques ultraviolettes (UV) [71]**

La spectroscopie ultraviolette a été depuis longtemps considérée comme une technique très importante pour les analyses structurales de tous les flavonoïdes et isoflavonoïdes en général. La plupart de ces composés présentent sur leurs spectres UV deux bandes d'absorptions maximales : l'une entre 300-400 nm appelée bande I est caractéristique du système du cycle B cinnamoylé et l'autre entre 240-295 nm appelée bande II qui a pour origine le cycle A benzoylé (**Figure 6**).



**Figure 6 :** Bandes d'absorption observée sur le spectre UV des flavonoïdes

Le tableau 4 présente le domaine d'absorption observée sur le spectre UV des différentes classes de flavonoïdes.

**Tableau 4 :** Domaine d'absorption dans l'UV de différentes classes de flavonoïdes

Bande I ( $\lambda$ nm)	Bande II ( $\lambda$ nm)	Différentes classes de flavonoïdes
310-350	310-330	Flavones
330-360	310-330	Flavonols (substitués en position 3)
350-385	310-330	Flavonols (avec hydroxyle libre en 3)
310-330 (épaulement)	245-295	Isoflavones
300-330 (épaulement)	275-295	Flavanones, isoflavanones, dihydroflavones
380-390	230-270	Chalcones
380-430	230-270	Aurones
465-560	270-280	Anthocyanidine et anthocyanine

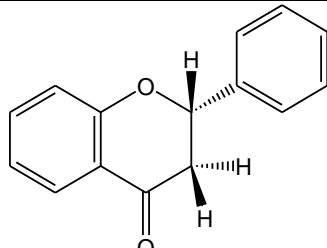
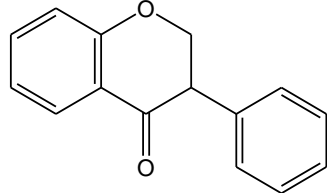
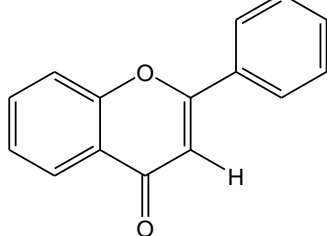
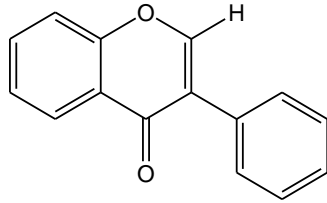
Chacun des réactifs inorganiques suivants utilisés en solution alcoolique peut réagir avec un ou plusieurs groupements fonctionnels contenus dans le squelette flavonoïdique et provoquer par conséquent des modifications très considérables sur le spectre UV. Ce sont : le méthoxyde de sodium (NaOMe), l'acétate de sodium (NaOAc), le couple acétate de sodium/ acide borique (NaOAc/H<sub>3</sub>BO<sub>3</sub>), le chlorure d'aluminium (AlCl<sub>3</sub>) et le mélange chlorure d'aluminium/acide chlorhydrique (AlCl<sub>3</sub>/HCl).

#### I.4.1.4.2 Caractéristiques spectroscopiques de la résonance magnétique nucléaire :

##### RMN<sup>1</sup>H et couplages <sup>13</sup>C- <sup>1</sup>H

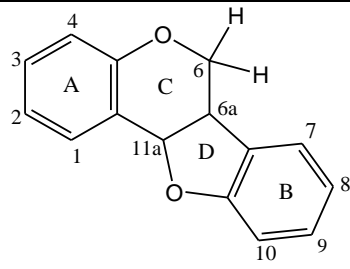
La spectroscopie de RMN <sup>1</sup>H est l'une des méthodes la plus importante pour la détermination des structures des flavonoïdes et des isoflavonoïdes en général et en particulier de celle des composés appartenant aux quatre groupes flavones, flavanones, isoflavones et isoflavanones. La grande différence qui caractérise chacun des 4 groupes est basée sur les déplacements chimiques des protons portés par les carbones C-2, et C-3 de l'hétérocycle C. Le tableau 5 présente les déplacements chimiques des protons 2 et 3 des flavonoïdes.

**Tableau 5** : Déplacement chimique des protons 2 et 3 des flavonoïdes

Types de flavonoïdes	H-2	H-3
 <p>Flavanones <b>55</b></p>	$\delta = 5-5,5$ ppm ( <i>dd</i> ; $J_{cis}=J_{BX}=3,5-5$ Hz ; $J_{Trans}=J_{AX}=12$ Hz)	$\delta = 2,6-3,2$ ppm ( <i>dq</i> ; $J_{cis} = J_{BX} = 3,5-5$ Hz ; $J_{Trans} = J_{AX} = 12$ Hz, $J_{AB} = 17$ Hz)
 <p>Isoflavanones <b>56</b></p>	$\delta = 4,6-5,1$ ppm ( <i>dq</i> ; $J_{H-2a, H-2b} = 11$ Hz ; $J_{cis} = J_{H-3, H-2b} = 5,3$ Hz ; $J_{trans} = J_{H-3, H-2a} = 9,7$ Hz)	$\delta = 3,90-4,1$ ppm ( <i>dd</i> ; $J_{cis} = J_{H-3, H-2b} = 5,3$ Hz ; $J_{trans} = J_{H, H-2a} = 9,7$ Hz)
 <p>Flavones <b>57</b></p>		$\delta = 6,32-7,00$ ppm (S)
 <p>Isoflavones <b>58</b></p>	$\delta = 6,7-7,8$ ppm (S) parfois, cette valeur atteint 8,4 ppm	

Le tableau 6 quant à lui présente les données des protons H-6 et H-11 des ptérocarpanes.

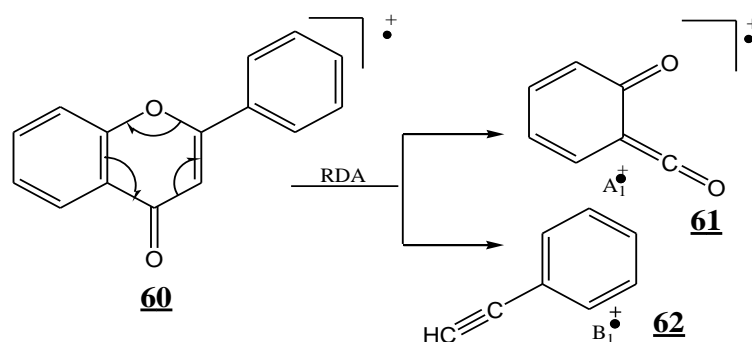
**Tableau 6** : Données de RMN  $^1\text{H}$  des ptérocarpanes

Types d'isoflavonoïdes	H-6 <sub>eq</sub>	H-6 <sub>ax</sub>	H-6a	H-11 <sub>a</sub>
 <p><b>59</b></p>	$\delta = 4,57$ ppm ( <i>dd</i> ; $J = 4,5 ; 9,6$ Hz)	$\delta = 3,60$ ppm ( <i>dd</i> ; $J = 9,6 ; 10,7$ Hz)	$\delta = 3,48$ ppm ( <i>ddd</i> ; $J = 4,5 ; 6,5 ; 10,7$ Hz)	$\delta = 5,48$ ppm ( <i>d</i> ; $J=6, 5$ Hz)

#### I.4.1.4.3 Spectrométrie de masse

La spectrométrie de masse constitue une méthode de choix pour la détermination de la structure des flavonoïdes. A l'état gazeux, on ionise les molécules par un faisceau d'électron riche en énergie. Si l'énergie est suffisante, les radicaux-cations peuvent alors se fragmenter pour donner d'autres cations ou espèces neutres. Les hauteurs relatives des pics sont proportionnelles aux abondances relatives des cations ; la position des pics permet généralement de connaître la masse des cations. Les fragmentations tendent à fournir les cations les plus stables [73]. Le fragment le plus important est l'ion moléculaire qui permet de déterminer la masse moléculaire du composé. En dehors de l'ion moléculaire, les ions fragments importants résultent généralement d'une rupture du type retro Diels Alder (RDA) du cycle C avec ou sans transfert d'hydrogène (schéma 5). Ces ions sont généralement obtenus par deux principales voies notées voie I et voie II.

##### Voie I



##### Voie II

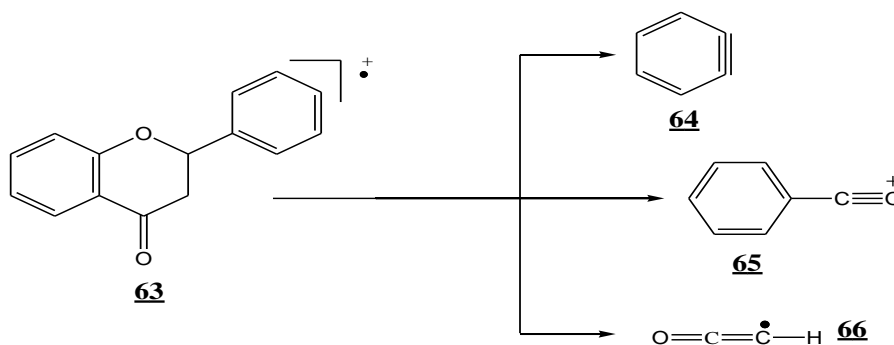


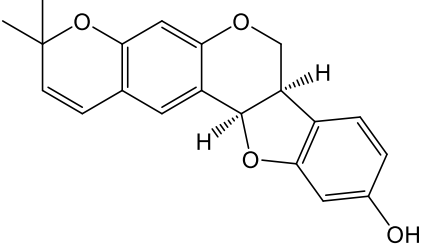
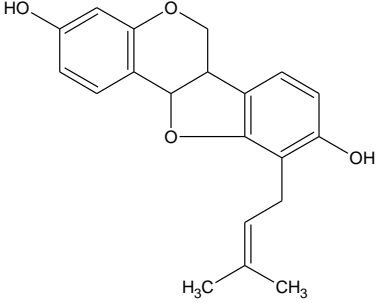
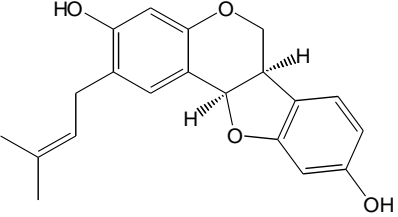
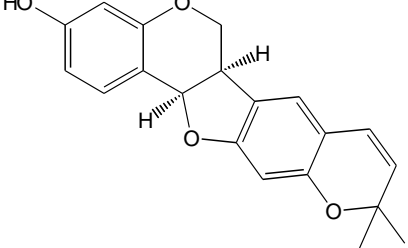
Schéma 4 : Fragmentations observées sur le spectre de masse des flavonoïdes

#### I.4.1.5 Quelques flavonoïdes isolés des *Erythrina*

Les flavonoïdes font partie de la classe majeure de métabolites ayant été isolés des espèces du genre *Erythrina*. Ainsi, plusieurs classes de flavonoïdes dont quelques-uns énumérés dans les tableaux suivants ont été isolés.

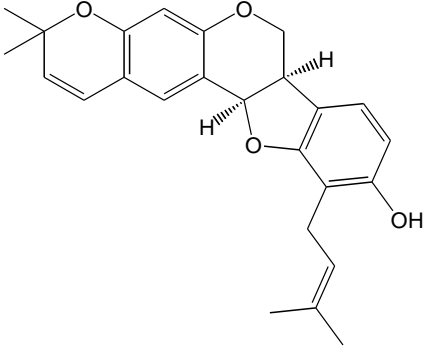
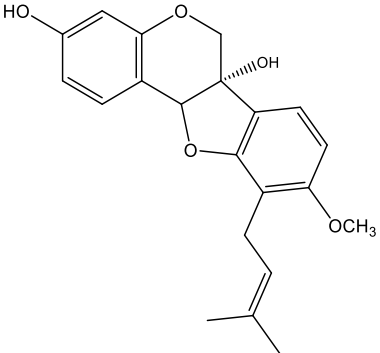
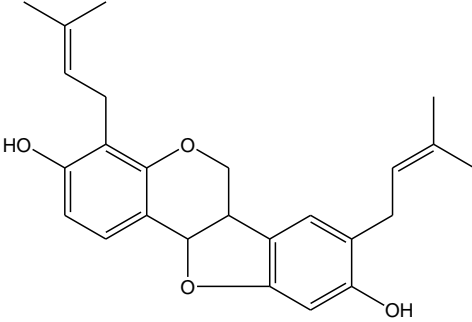
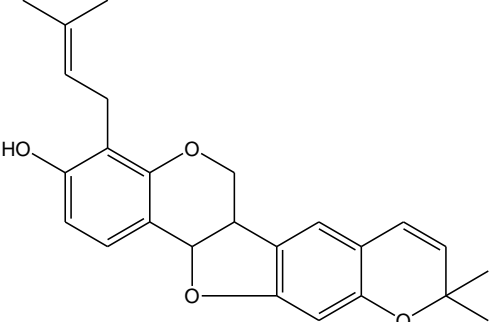
➤ **Ptérocarpanes**

**Tableau 7** : Quelques ptérocarpanes isolées des *Erythrina*

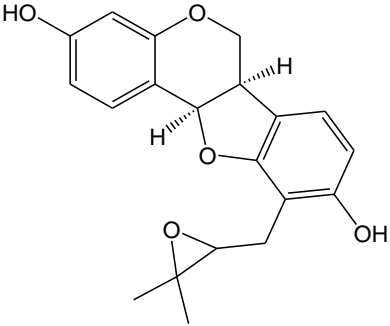
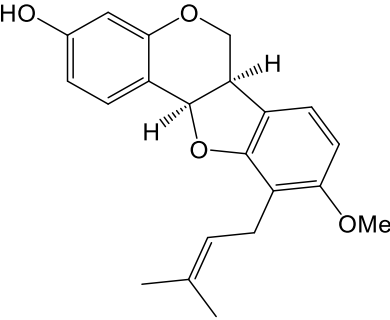
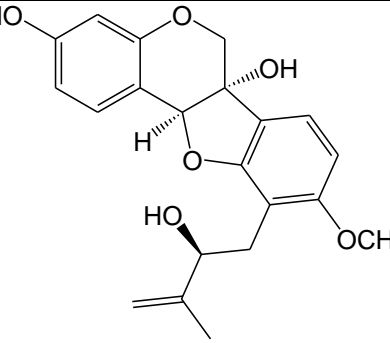
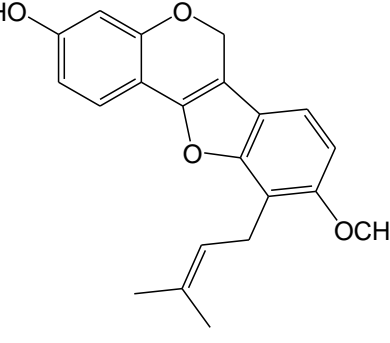
Composés	Plantes	Sources
 <p style="text-align: center;"><b>Néorauténol <u>67</u></b></p>	<i>E. addisoniae</i> , <i>E burttii</i> , <i>E. lysistemon</i> , <i>E eriotricha</i>	<b>[72, 73, 74 et 100]</b>
 <p style="text-align: center;"><b>Phaséollidine <u>68</u></b></p>		
 <p style="text-align: center;"><b>Calopocarpine <u>69</u></b></p>		
 <p style="text-align: center;"><b>Isonéorauténol <u>70</u></b></p>		



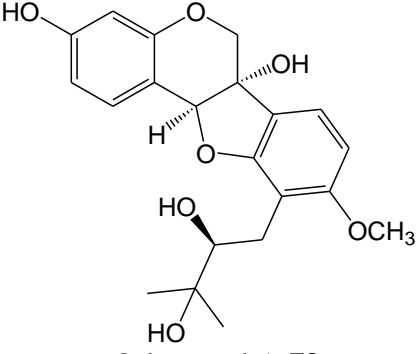
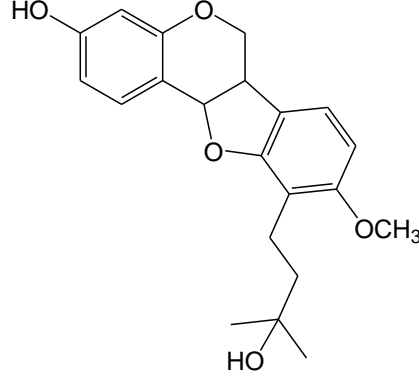
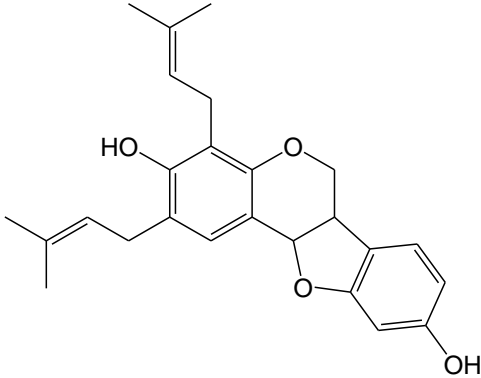
**Tableau 7 :** Quelques ptérocarpanes isolées des *Erythrina* suite

Composés	Plantes	Sources
 <p style="text-align: center;"><b>Orientanol C <u>71</u></b></p>	<p><i>E. addisoniae</i>, <i>E. fusca</i></p>	<p>[72 ; 74]</p>
 <p style="text-align: center;"><b>Cristacarpine <u>72</u></b></p>		
 <p style="text-align: center;"><b>Erybraedine C <u>73</u></b></p>	<p><i>E. eriotrichia</i></p>	<p>[100]</p>
 <p style="text-align: center;"><b>Erybraedine D <u>74</u></b></p>		

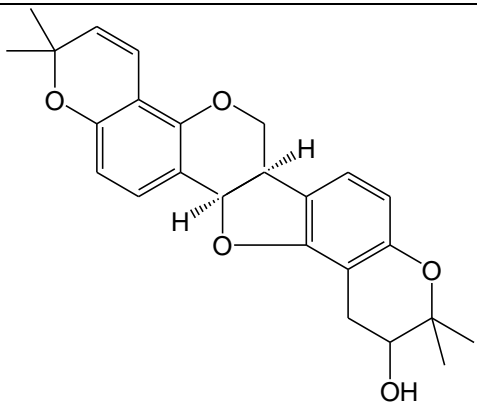
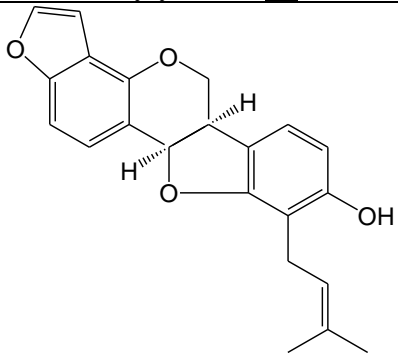
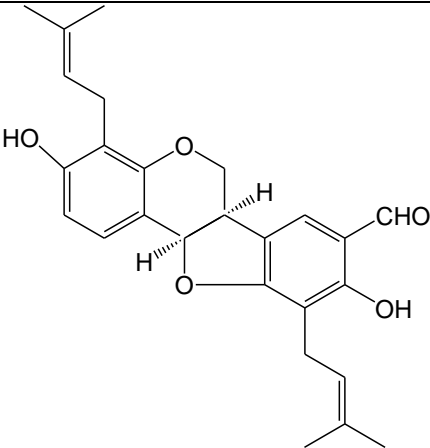
**Tableau 7** : Quelques ptérocarpanes isolées des *Erythrina* suite

Composés	Plantes	Sources
 <p>Fuscarpane A <b>75</b></p>	<p><i>E. fusca</i></p>	<p>[74]</p>
 <p>Sandwicensine <b>76</b></p>		
 <p>Fuscarpane B <b>77</b></p>		
 <p>Eryvarine D <b>78</b></p>		

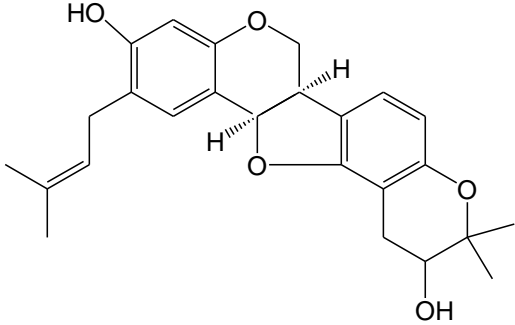
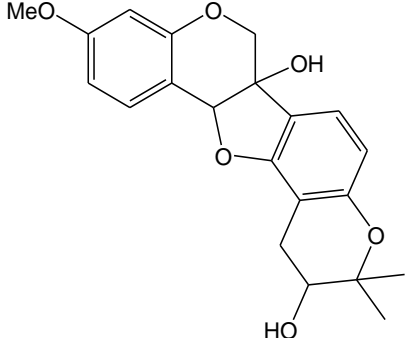
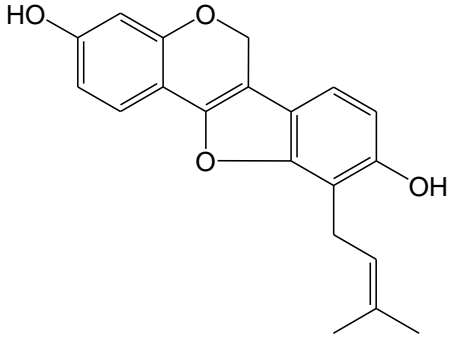
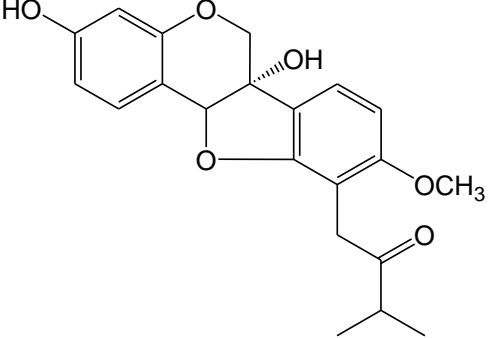
**Tableau 7 :** Quelques ptérocarpanes isolées des *Erythrina* suite

Composés	Plantes	Sources
 <p style="text-align: center;"><b>Orientanol A <u>79</u></b></p>	<i>E. fusca</i>	<b>[74; 75]</b>
 <p style="text-align: center;"><b>3-Hydroxy-10-(3-hydroxy-3-méthylbutyl)-9-méthoxyptérocarpane <u>80</u></b></p>		
 <p style="text-align: center;"><b>3-prenylcalopocarpine <u>81</u></b></p>	<i>E. indica</i>	<b>[76]</b>

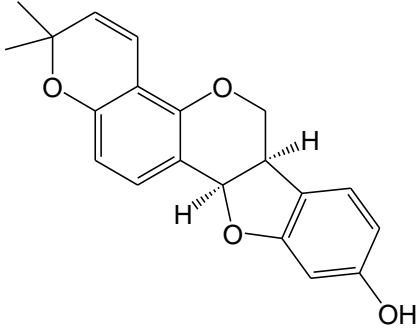
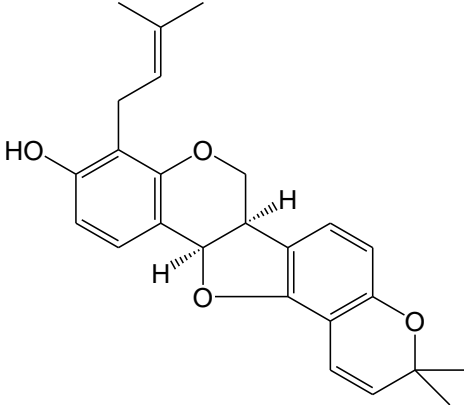
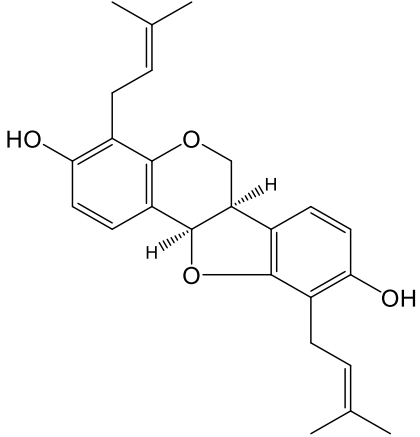
**Tableau 7** : Quelques ptérocarpanes isolées des *Erythrina* suite

Composés	Plantes	Sources		
 <p style="text-align: center;"><b>Erylysine A <u>82</u></b></p>	<i>E. lysistemon</i>	<b>[79]</b>		
 <p style="text-align: center;"><b>Erylysine B <u>83</u></b></p>				
 <p style="text-align: center;"><b>Erylysine C <u>84</u></b></p>				

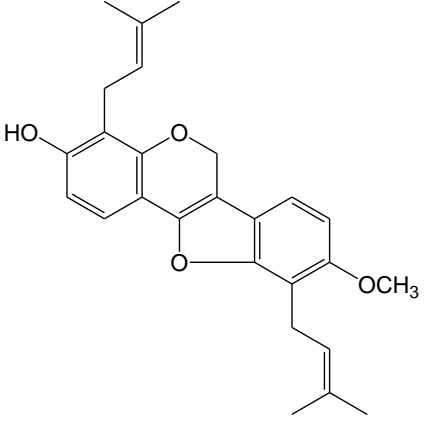
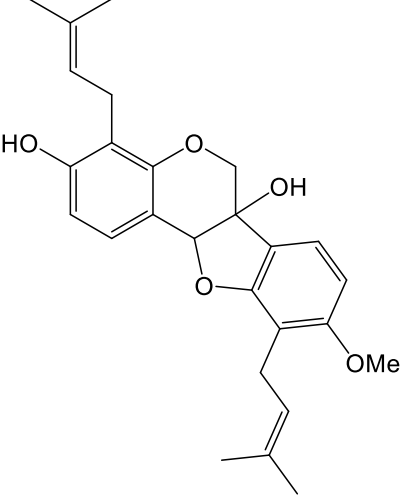
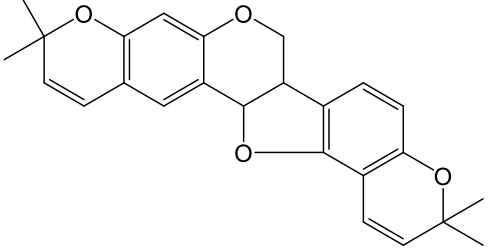
**Tableau 7 :** Quelques ptérocarpanes isolées des *Erythrina* suite

Composés	Plantes	Sources
 <p style="text-align: center;">Erysubine D <b><u>85</u></b></p>	<p style="text-align: center;"><i>E. lysistemon</i></p>	<p style="text-align: center;">[77, 78]</p>
 <p style="text-align: center;">2'-hydroxy-3-méthyletherphaseolline <b><u>86</u></b></p>		
 <p style="text-align: center;">Erypoegine H <b><u>87</u></b></p>	<p style="text-align: center;"><i>E. poeppigiana</i></p>	<p style="text-align: center;">[79, 80]</p>
 <p style="text-align: center;">Erypoegine I <b><u>88</u></b></p>		

**Tableau 7** : Quelques ptérocarpanes isolées des *Erythrina* suite

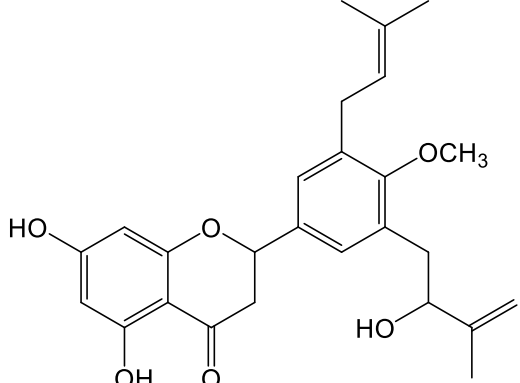
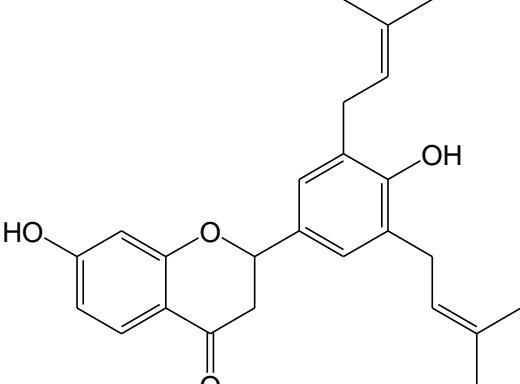
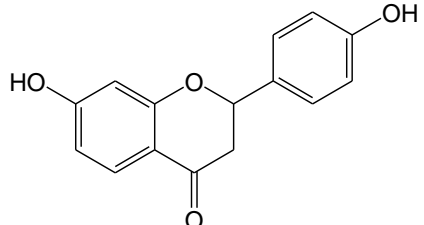
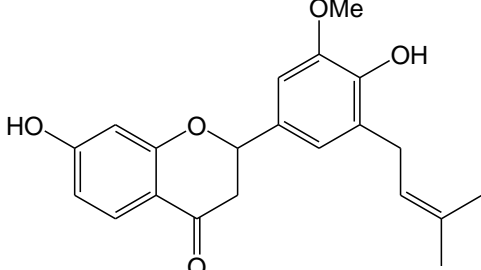
Composés	Plante	Sources
 <p style="text-align: center;"><b>Shinpterocarpine <u>89</u></b></p>	<i>E. saclexii</i>	[81]
 <p style="text-align: center;"><b>Erybraedine B <u>90</u></b></p>	<i>E. subumbrans</i> <i>E. eriotricha</i>	[82, 103]
 <p style="text-align: center;"><b>Erysubine F <u>91</u></b></p>		

**Tableau 7 :** Quelques ptérocarpanes isolées des *Erythrina* suite

Composés	Plantes	Sources
 <p style="text-align: center;">Eryvarine E <b><u>92</u></b></p>	<p><i>E. subumbrans</i></p>   <p><i>E. eriotricha</i></p>	<p>[82, 103]</p>
 <p style="text-align: center;">Eryzerin E <b><u>93</u></b></p>	<p><i>E. zeheyri</i></p>	<p>[83]</p>
 <p style="text-align: center;">Gangetinine <b><u>94</u></b></p>	<p><i>E. spp</i></p>	<p>[84]</p>

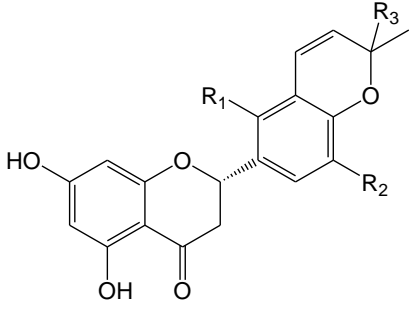
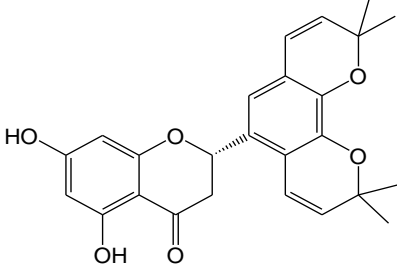
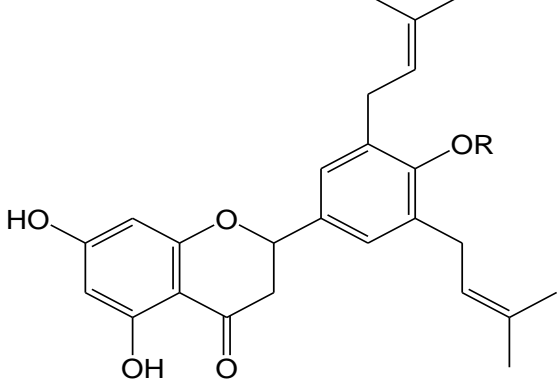
➤ Flavanone

Tableau 8 : Quelques flavanones des *Erythrina*

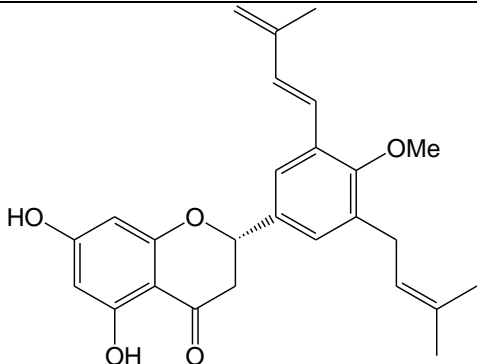
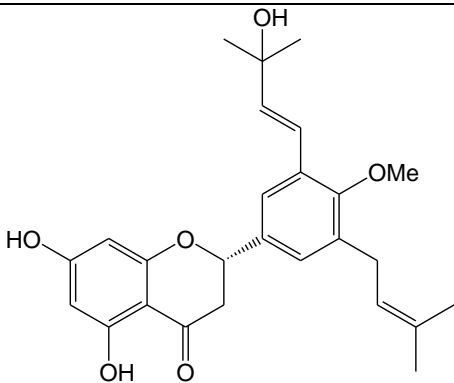
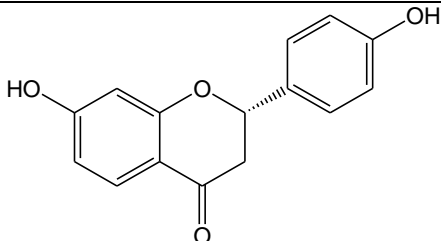
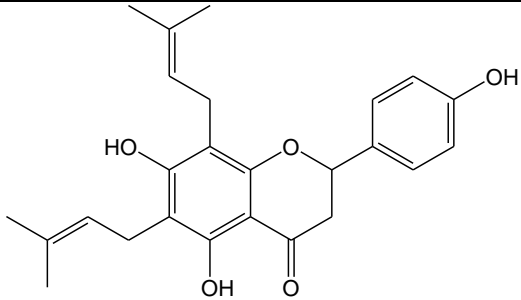
Composés	Plante	Source
 <p>Abyssinoflavanone VII <b>95</b></p>	<p><i>E. addisoniae</i></p>	<p>[85]</p>
 <p>Abyssinone IV <b>96</b></p>		
 <p>7, 4'-dihydroxyflavanone <b>97</b></p>		
 <p>5-Déoxyabyssinine <b>98</b></p>	<p><i>E. abyssinica</i></p>	<p>[86]</p>



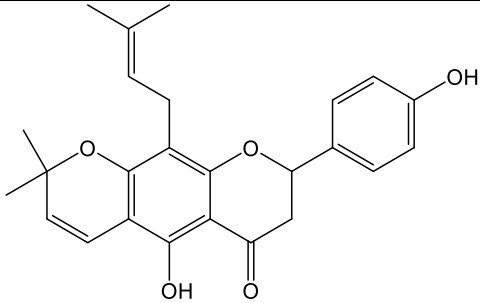
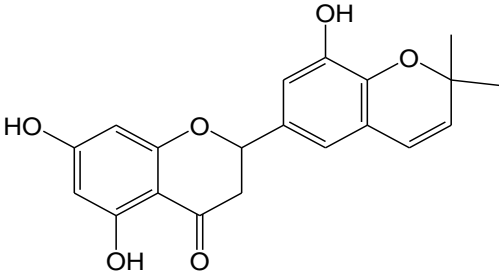
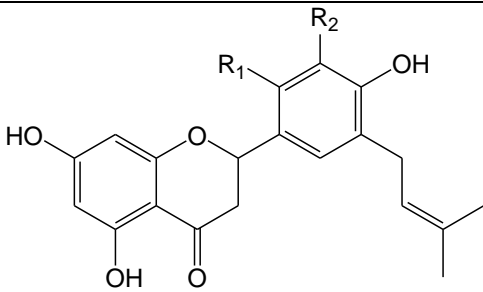
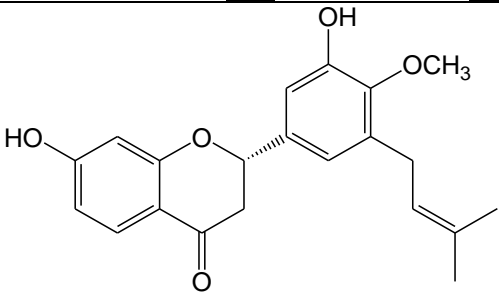
**Tableau 8 :** Quelques flavanones des *Erythrina* suite

Composés	Plantes	Sources
 <p> <math>R_1 = \text{prenyl}, R_2 = \text{OH}, R_3 = \text{CH}_3</math>  <math>R_1 = \text{H}, R_2 = \text{OH}, R_3 = \text{CH}_2\text{OH}</math>  <math>R_1 = \text{H}, R_2 = \text{OCH}_3, R_3 = \text{CH}_2\text{OH}</math> </p> <p>2(s)-5,5',7-trihydroxy-2'-prenyl-(2'',2''-diméthylpyrano)-(5'',6'',3',4')-flavanone <b>99</b>, 2(s)-5,5',7-trihydroxy-[2''-(5''-hydroxy)-(méthylpyrano)-(5'',6'': 3',4')-flavanone <b>100</b>, 2(s)-5,7-dihydroxy-3'-méthoxy-[2''-(5''-hydroxy)-méthylpyrano]-(5'',6'': 3',4')-flavanone <b>101</b></p>	<p><i>E. abyssinica</i></p>	<p>[86, 87]</p>
 <p>2(s)-5,7-dihydroxy-[(5'',6'': 3',4')-(2'',2''-diméthylpyrano)-(5''',6''':5',6')-(2''',2''''-diméthylpyrano)-flavanone <b>102</b></p>		
 <p> <math>R = \text{Me}</math>  <math>R = \text{H}</math> </p> <p>Abyssinone-V-4'-méthyléther <b>103</b>,  Abyssinone-V <b>104</b></p>	<p><i>E. burtii</i>,  <i>E. lysistemon</i>,  <i>E. addisoniae</i></p>	<p>[72, 78, 85]</p>

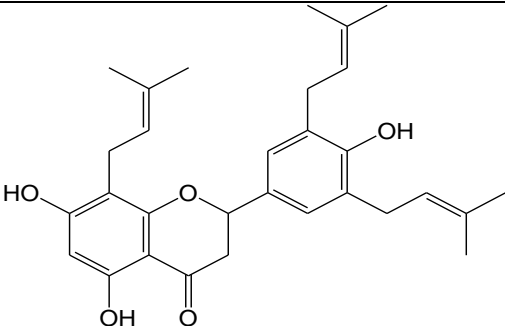
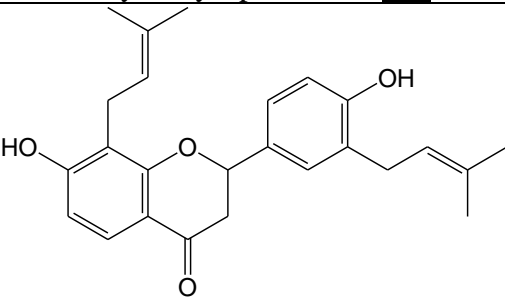
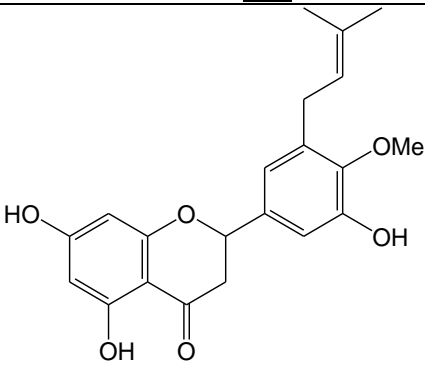
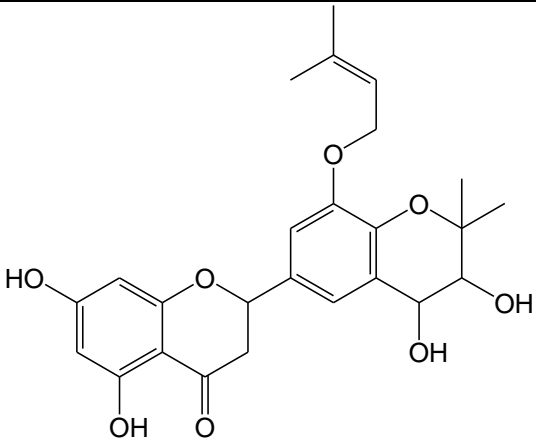
**Tableau 8 :** Quelques flavanones des *Erythrina* suite

Composés	Plantes	Sources
 <p style="text-align: center;"><b>Burtinonedehydrate <u>105</u></b></p>	<p style="text-align: center;"><i>E. burtii</i>, <i>E. lysistemon</i></p>	<p style="text-align: center;">[77, 88]</p>
 <p style="text-align: center;"><b>Burtinone <u>106</u></b></p>		
 <p style="text-align: center;"><b>Liquiritigenine <u>107</u></b></p>	<p style="text-align: center;"><i>E. fusca</i></p>	<p style="text-align: center;">[74, 75]</p>
 <p style="text-align: center;"><b>Lonchocarpol A <u>108</u></b></p>		

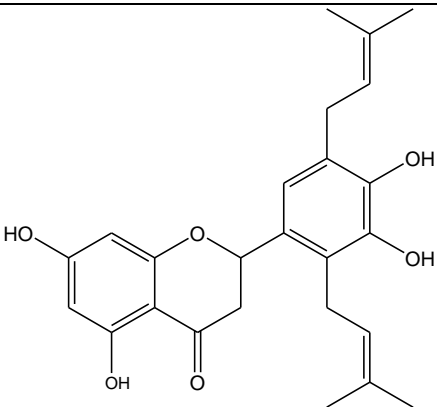
**Tableau 8 :** Quelques flavanones des *Erythrina* suite

Composés	Plantes	Sources
 <p style="text-align: center;"><b>Lupinifoline <u>109</u></b></p>	<i>E. fusca</i>	[74, 75]
 <p style="text-align: center;"><b>Sigmoidine C <u>110</u></b></p>	<i>E. latissima</i> , <i>E. addisoniae</i>	[85, 89 et 90]
 <p style="text-align: center;"> <math>R_1=H, R_2=OCH_3</math>  <math>R_1=H, R_2=OH</math>  <math>R_1=H, R_2=Prenyl</math>  <math>R_1=Prenyl, R_2=OH</math> </p> <p>4',5,7-trihydroxy- 3'-méthoxy-5'-prenylflavanone <u>111</u>, Sigmoidine B <u>112</u>, 4',5,7-trihydroxy- 3',5'-diprénylflavanone <u>113</u>, Sigmoidine A <u>114</u></p>		
 <p style="text-align: center;"><b>7,3'-dihydroxy-4'-méthoxy-5'-<math>\gamma,\gamma</math>-diméthylallylflavanone <u>115</u></b></p>		

**Tableau 8 :** Quelques flavanones des *Erythrina* suite

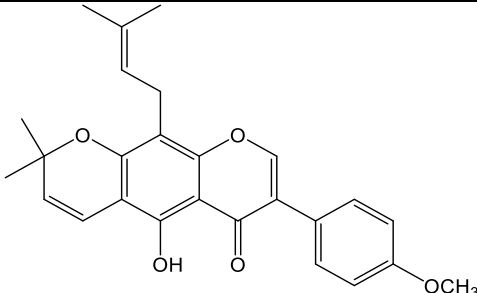
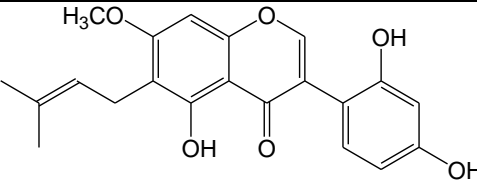
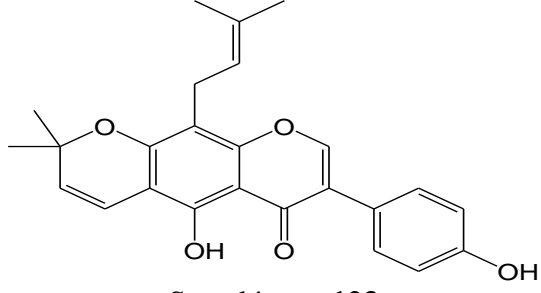
Composés	Plantes	Source
 <p>5-hydroxysophoranone <b>116</b></p>	<i>E. subumbrans</i>	[82]
 <p>Glabrol <b>117</b></p>		
 <p>Eryvellutinone <b>118</b></p>	<i>E. vellutina</i>	[91]
 <p>Sigmoidine L <b>119</b></p>	<i>E. spp</i>	[84]

**Tableau 8 :** Quelques flavanones des *Erythrina* suite

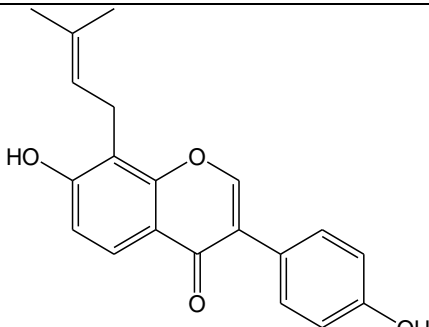
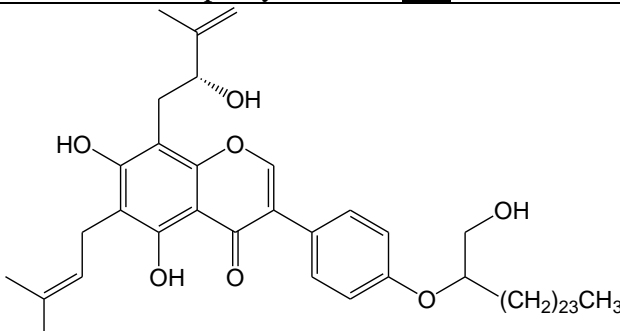
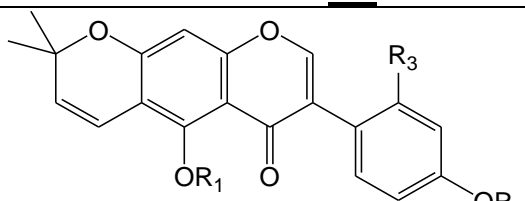
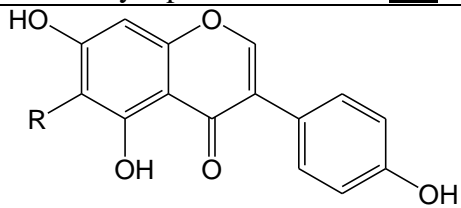
Composés	Plantes	Sources
 <p><b>Sigmoidine A <u>120</u></b></p>	<i>E. spp</i>	[84]

➤ **Isoflavones**

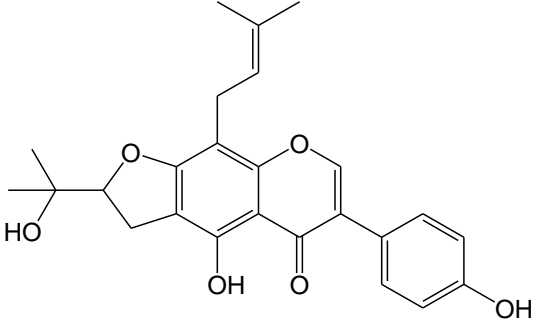
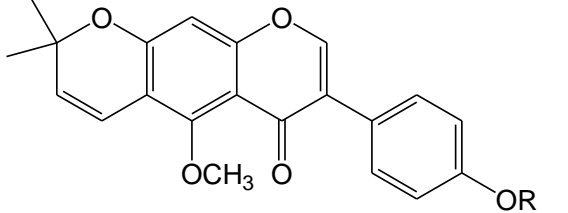
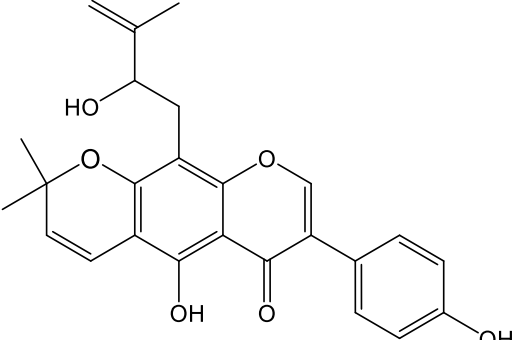
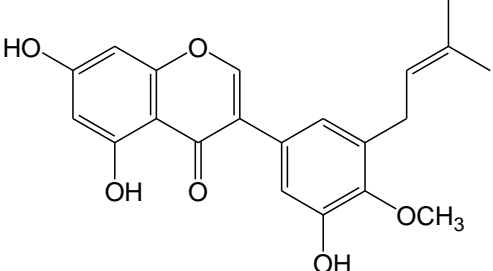
**Tableau 9 :** Quelques isoflavones isolées des *Erythrina*

Composés	Plantes	Sources
 <p><b>4'-O-méthylscandénone <u>121</u></b></p>	<i>E. addisoniae</i>	[92]
 <p><b>7-O-méthyllutéone <u>122</u></b></p>	<i>E. burtii</i>	[88]
 <p><b>Scandénone <u>123</u></b></p>	<i>E. fusca</i>	[74]

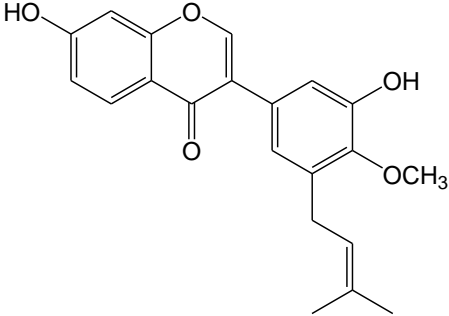
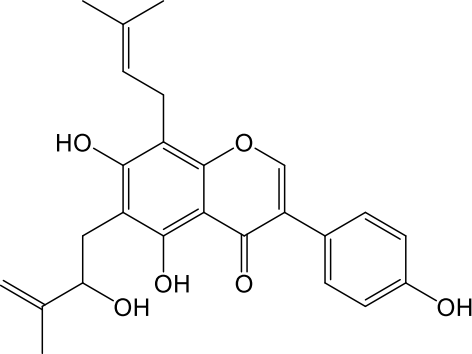
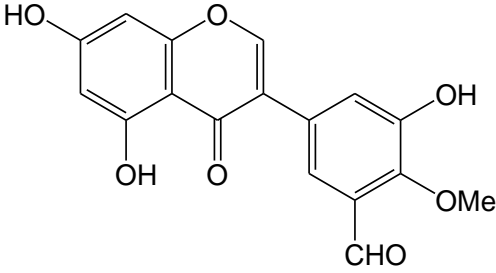
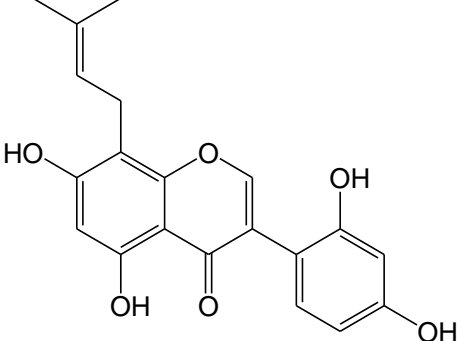
**Tableau 9** : Quelques isoflavones isolées des *Erythrina* suite

Composés	Plantes	Source
 <p style="text-align: center;"><b>8-prenyldaidzein <u>124</u></b></p>	<i>E. fusca</i>	[75]
 <p style="text-align: center;"><b>Indicanine D <u>125</u></b></p>	<i>E. indica</i>	[92]
 <p style="text-align: center;"> <math>R_1=CH_3, R_2=CH_3, R_3=OH</math>  <math>R_1=H, R_2=H, R_3=H</math>  <math>R_1=CH_3, R_2=CH_3, R_3=H</math> </p> <p style="text-align: center;"><b>Indicanine E <u>126</u>, Alpinumisoflavone <u>127</u>, diméthylalpinumisoflavone <u>128</u></b></p>	<i>E. indica</i> , <i>E. lysistemon</i>	[76, 78, 93]
 <p style="text-align: center;"> 3- R=H  4- R= prenyl  <b>Genistéine <u>129</u>, Whutéone-<u>130</u></b> </p>		

**Tableau 9 :** Quelques isoflavones isolées des *Erythrina* suite

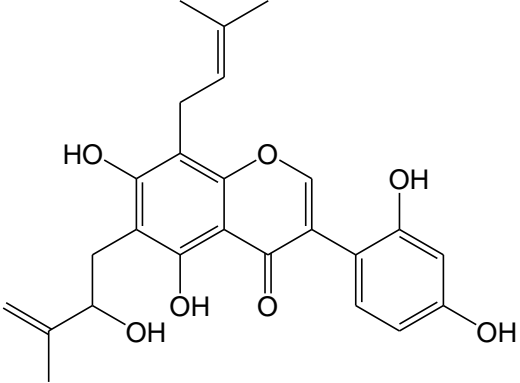
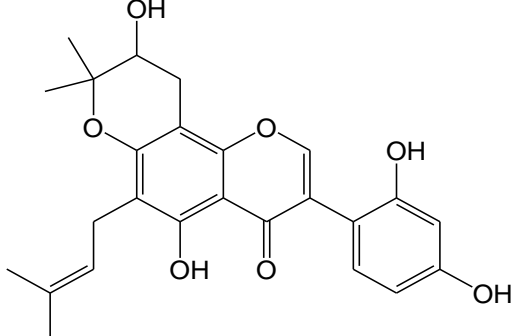
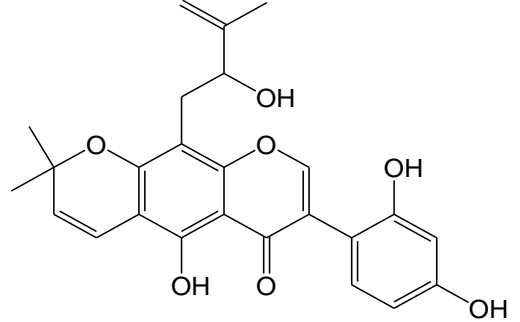
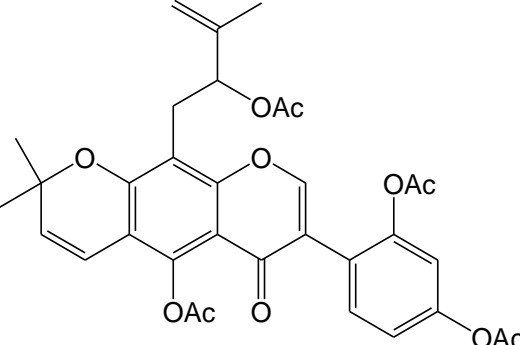
Composés	Plantes	Source
 <p>8-prénylerythrine <b>131</b></p>	<p><i>E. indica</i>, <i>E. lysistemon</i></p>	<p>[94, 95]</p>
 <p>R=H R=Me Indicanine C <b>132</b>, 5,4'-di-O-méthylalpinumisoflavone <b>133</b></p>		
 <p>Erythrivarone C <b>134</b></p>		
 <p>5'-prénylpratenséine <b>135</b></p>	<p><i>E. latissima</i></p>	<p>[89]</p>

**Tableau 9 :** Quelques isoflavones isolées des *Erythrina* suite

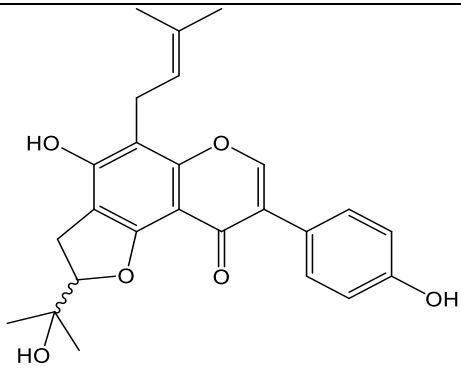
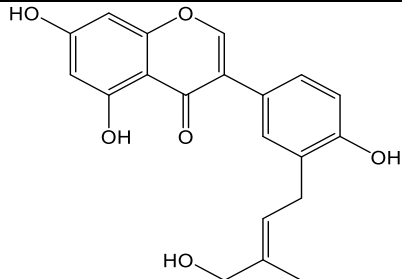
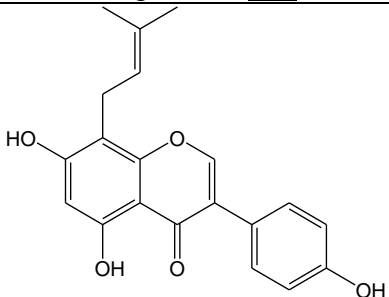
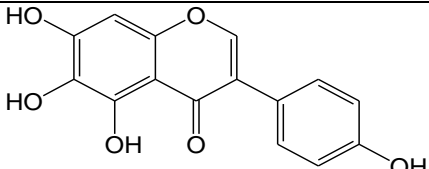
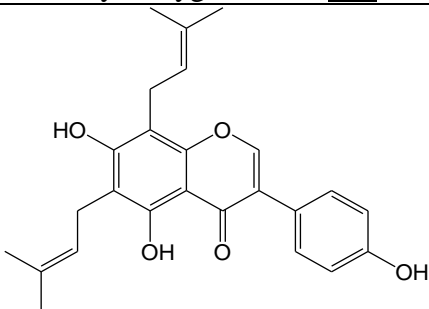
Composés	Plantes	Source
 <p style="text-align: center;"><b>Erylatissine C <u>136</u></b></p>	<i>E. latissima</i>	<b>[90]</b>
 <p style="text-align: center;"><b>Lysistéisoflavone <u>137</u></b></p>	<i>E. lysistemon</i>	<b>[78]</b>
 <p style="text-align: center;"><b>5'-formylpratenséine <u>138</u></b></p>	<i>E. sacleuxii</i>	<b>[81, 96]</b>
 <p style="text-align: center;"><b>2,3-déhydrokievitone <u>139</u></b></p>		



**Tableau 9** : Quelques isoflavones isolées des *Erythrina* suite

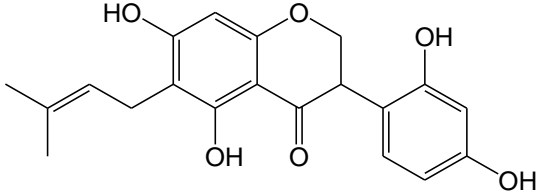
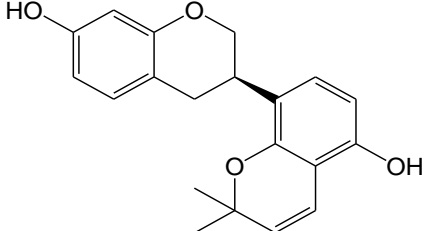
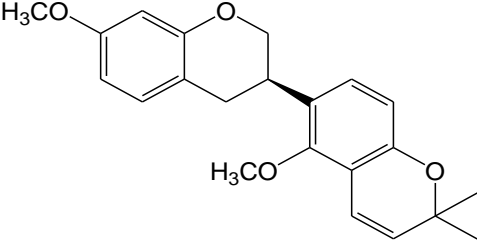
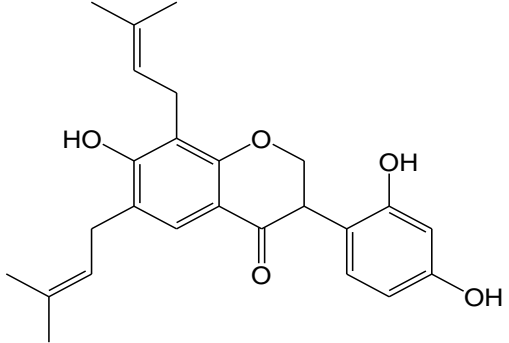
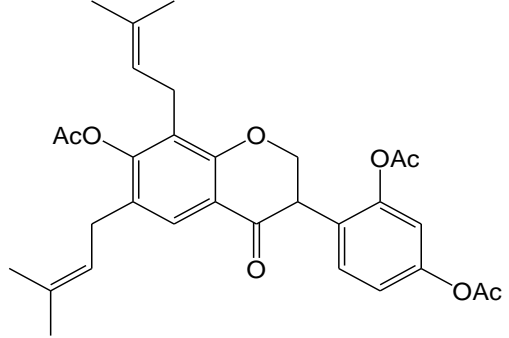
Composé	Plante	Source
 <p>Erysenegalenseine N <b>140</b></p>	<i>E. senegalensis</i>	<b>[97, 98]</b>
 <p>Erysenegalenseine M <b>141</b></p>		
 <p>Erysenegalenseine L <b>142</b></p>		
 <p>Tétra-acétate d'érysenegalenseine L <b>143</b></p>		

**Tableau 9 :** Quelques isoflavones isolées des *Erythrina* suite

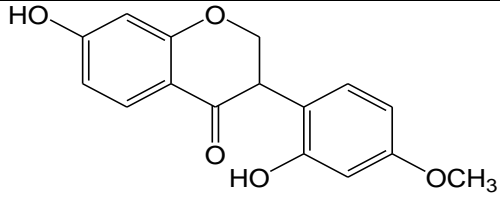
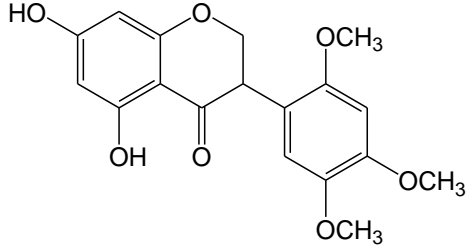
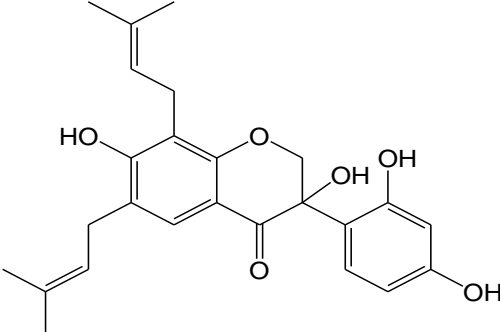
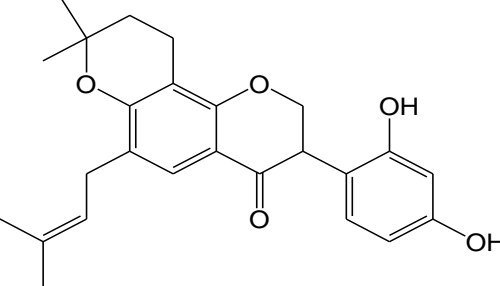
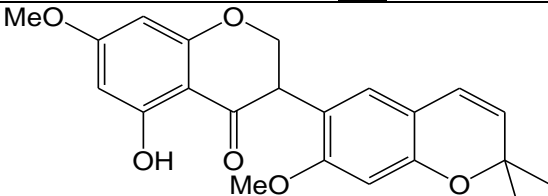
Composé	Plantes	Source
 <p style="text-align: center;"><b>Vogeline H <u>144</u></b></p>	<i>E. vogelii</i>	<b>[99, 100]</b>
 <p style="text-align: center;"><b>Vogeline E <u>145</u></b></p>		
 <p style="text-align: center;"><b>4',5,7-trihydroxy-8-prénylisoflavone <u>146</u></b></p>	<i>E. variegata</i>	<b>[101]</b>
 <p style="text-align: center;"><b>6-hydroxygénistéine <u>147</u></b></p>		
 <p style="text-align: center;"><b>6,8-diprénylgénistéine <u>148</u></b></p>	<i>E. spp</i>	<b>[84]</b>

➤ Isoflavanones et isoflavanes

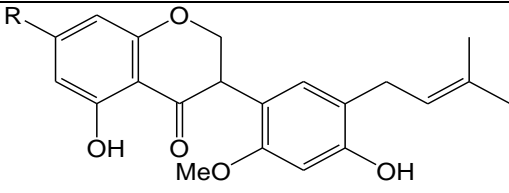
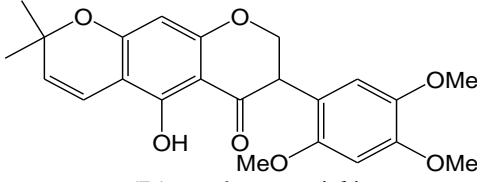
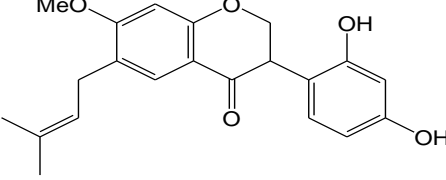
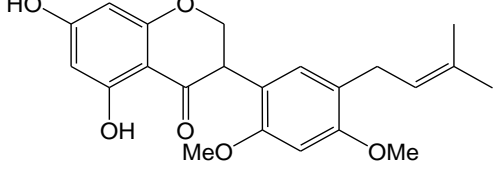
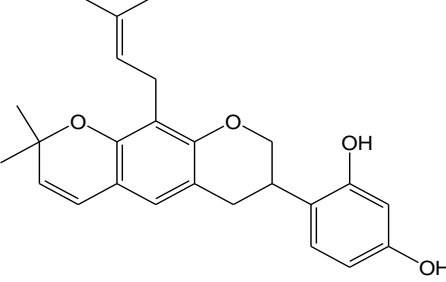
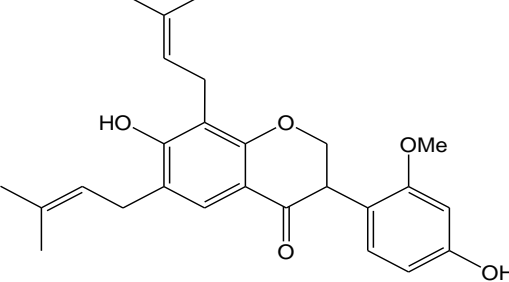
**Tableau 10:** Quelques isoflavanones et isoflavanes isolées des *Erythrina*

Composés	Plantes	Sources
 <p>3',5',5',7-tetrahydroxyisoflavanone <b>149</b></p>	<i>E. burtii</i>	[88]
 <p>Erythbitine A <b>150</b></p>	<i>E. x bidwillii</i>	[102]
 <p>2'-méthoxyphaseollinisoflavane <b>151</b></p>		
 <p>Eriotricine B <b>152</b></p>	<i>E. eriotricha</i>	[103]
 <p>Eriotricine B triacétate <b>153</b></p>		

**Tableau 10:** Quelques isoflavanones et isoflavanes isolées des *Erythrina* suite

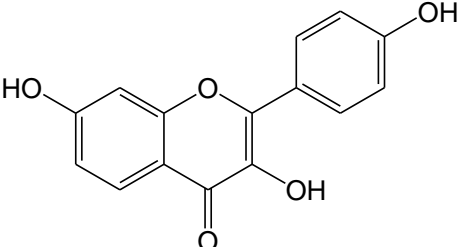
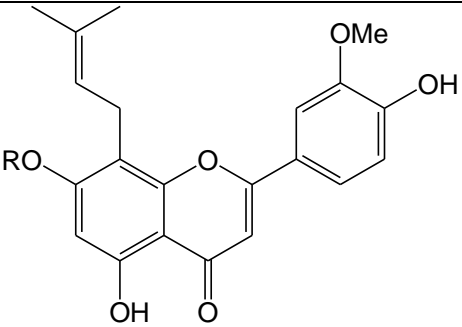
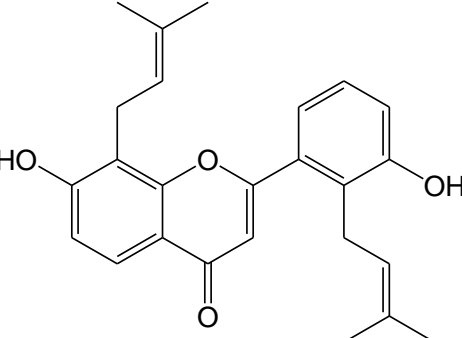
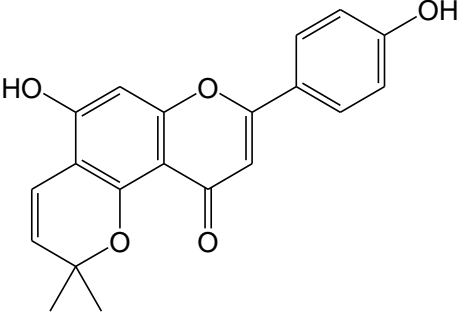
Composé	Plantes	Source
 <p style="text-align: center;"><b>Vestinone <u>154</u></b></p>	<i>E. fusca</i>	<b>[74]</b>
 <p style="text-align: center;"><b>5,7-Dihydroxy-2',4',5'- trimethoxyisoflavanone <u>155</u></b></p>	<i>E. latissima</i> , <i>E. sacleuxii</i>	<b>[89, 96]</b>
 <p style="text-align: center;"><b>Orientanol D <u>156</u></b></p>	<i>E. orientalis</i>	<b>[104]</b>
 <p style="text-align: center;"><b>Orientanol F <u>157</u></b></p>		
 <p style="text-align: center;"><b>Erypogine G <u>158</u></b></p>	<i>E. poeppigiana</i>	<b>[79]</b>

**Tableau 10:** Quelques isoflavanones et isoflavanes isolées des *Erythrina* suite

Composé	Plantes	Source
 <p>3: R=OH 4: R=OMe</p> <p>Eriopogine C <b>159</b>, Epoegine D <b>160</b></p>	<i>E. poeppigiana</i>	<b>[80]</b>
 <p>(R)-saclenone <b>161</b></p>	<i>E. saclexii</i>	<b>[96]</b>
 <p>Eryvellutinine <b>162</b></p>	<i>E. vellutina</i>	<b>[91]</b>
 <p>5,7-dihydroxy-4',6'-diméthoxy-3'- prénylisoflavanone <b>163</b></p>	<i>E. vogelii</i>	<b>[100]</b>
 <p>Eryzerine D <b>164</b></p>	<i>E. zeheyri</i>	<b>[83]</b>
 <p>Eryzerine B <b>165</b></p>		

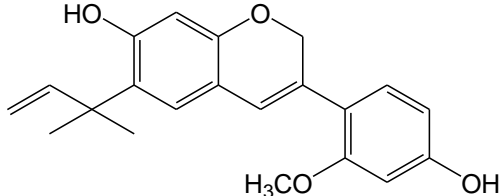
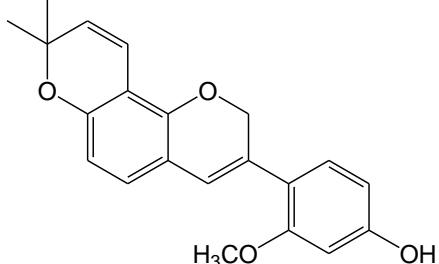
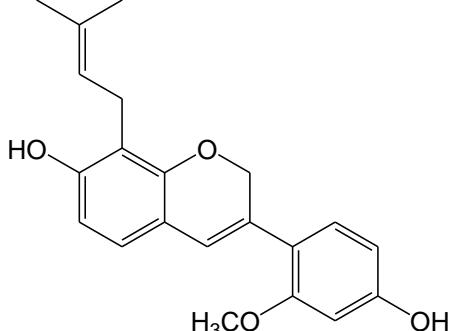
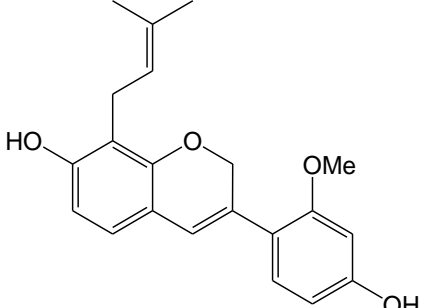
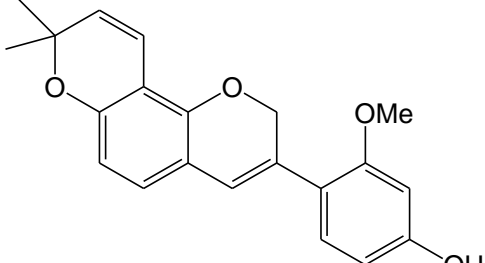
➤ Flavones

**Tableau 11** : Quelques flavones et flavonols isolées des *Erythrina*

Composés	Plantes	Source
 <p>3,7,4'-trihydroxyflavone <b>166</b></p>	<i>E. fusca</i>	[74]
 <p>R= D-glucosyl-(1 → 3)-L-arabinosyl 5,7,4'-trihydroxy-3'-méthoxy-8-C- prénylflavone-7-O-β-D- glucopyranosyl-(1 → 3)-α-L- arabinopyranoside <b>167</b></p>	<i>E. indica</i>	[95]
 <p>Erysubine F <b>168</b></p>	<i>E. subumbrans</i>	[82]
 <p>Vogeline J <b>169</b></p>	<i>E. vogelii</i>	[99]

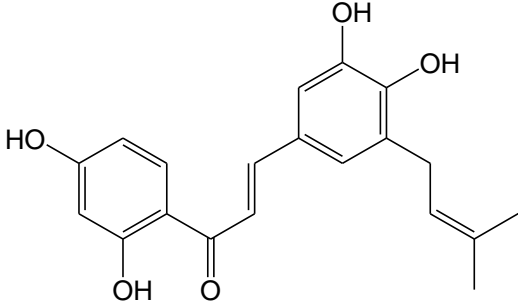
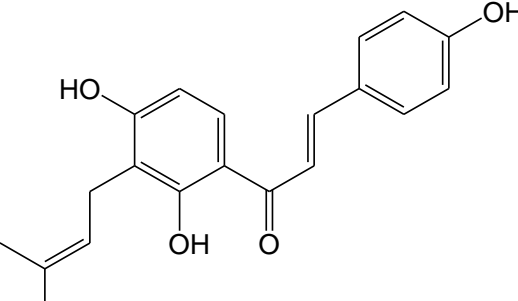
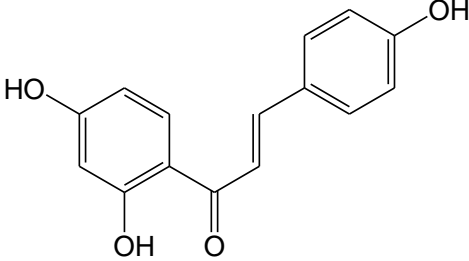
➤ Isoflav-3-ène

Tableau 12: Quelques isoflav-3-ènes isolées des *Erythrina*

Composés	Plantes	Source		
 <p>Burtinol A <b>170</b></p>	<p><i>E. burttii</i></p>	<p>[105]</p>		
 <p>Burtinol B <b>171</b></p>				
 <p>Burtinol C <b>172</b></p>				
 <p>Erypoeigine A <b>173</b></p>	<p><i>E. poeppigiana</i></p>	<p>[80]</p>		
 <p>Erypoeigine B <b>174</b></p>				

➤ **Chalcones**

**Tableau 13** : Quelques chalcones isolées des *Erythrina*

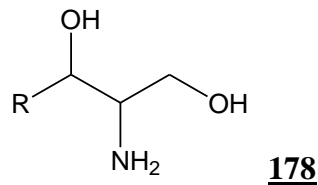
Composés	Plantes	Source
 <p>5-prénylbutéine <b>175</b></p>	<i>E. abyssinica</i>	[75]
 <p>Isobavachalcone <b>176</b></p>	<i>E. burtii</i>	[73]
 <p>Isoliquirigenine <b>177</b></p>	<i>E. fusca</i>	[74]

## I.4.2 Les céramides

### I.4.2.1 Généralité

Comme les cérébrosides, les céramides font partie du groupement chimique des sphingolipides. Les sphingolipides sont des lipides complexes dérivés des sphinganines ou des sphin-4-ènes, plus connus sous le nom de sphingosines. Ces deux derniers dérivent eux-mêmes de la condensation d'un acide gras et de la sérine [106]. Les sphinganines et les sphingosines ont pour formule générale semi-développée :





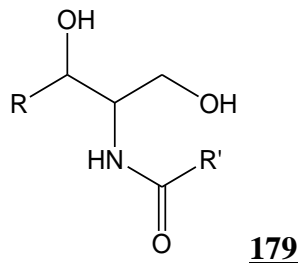
Les sphingolipides peuvent se répartir en 9 sous-classes :

- Les sphing-4'-énines ou sphingosines
- Les céramides
- Les phosphosphingolipides
- Les glycosphingolipides neutres
- Les glycosphingolipides acides
- Les glycosphingolipides basiques
- Les glycosphingolipides amphotères
- Les arsénosphingolipides

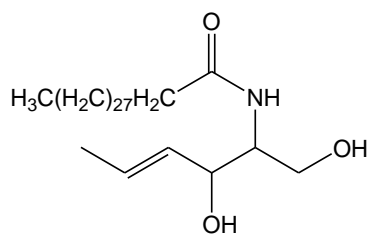
Les sphingolipides sont les constituants essentiels des membranes cellulaires. Ils jouent un rôle de messenger qui régule la prolifération, la survie et la mort de la cellule [107].

#### **I.4.2.2 Définition et structure des céramides**

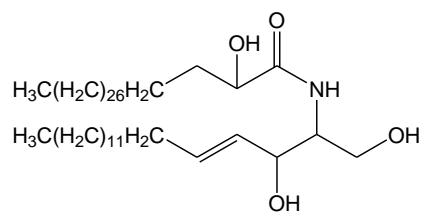
Les céramides sont des précurseurs des sphingolipides. Ils sont composés d'une base sphingosine à longue chaîne et d'un acide gras lié par une liaison amide à l'azote de cette base [108]. La formule générale des céramides (**184**) est de la forme :



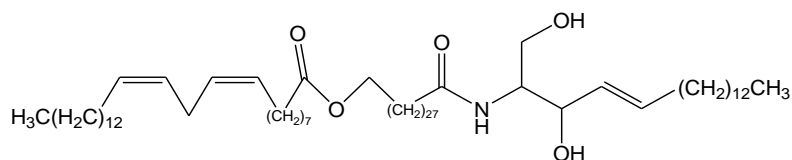
Dans l'épiderme des mammifères, les céramides représentent environ 40% des lipides totaux de la couche cornée et constituent une famille hétérogène. Le groupe N-acyle de l'acide gras peut être non-hydroxylé (**185**) ou hydroxylé (**186**). Il peut contenir un groupe hydroxyle terminal, lequel est libre ou estérifié par un acide linoléique (**187**) ou par un acide hydroxylé en position-2 (**188**). Les bases du règne animal diffèrent de celles du règne végétal par la présence d'un groupe hydroxyle en position 4 [108].



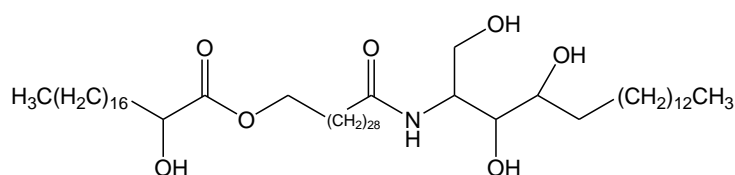
**180**



**181**



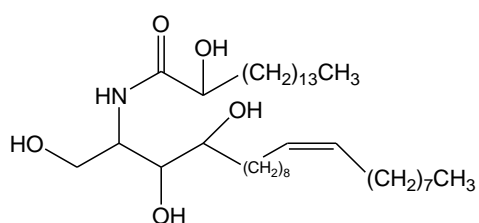
**182**



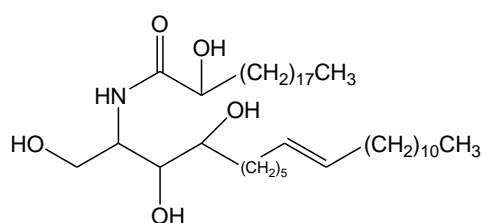
**183**

### I.4.2.3 Nomenclature des céramides

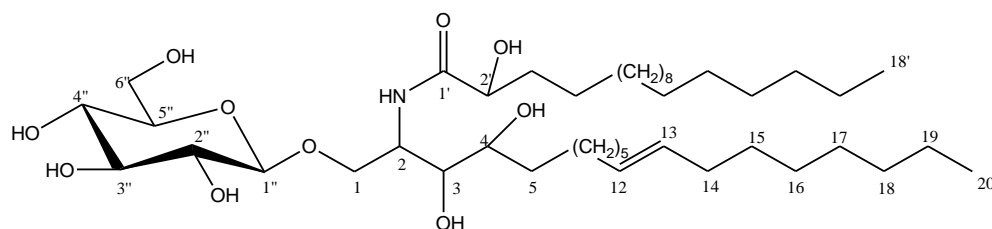
Les noms que portent les céramides ont des origines diverses. C'est ainsi qu'un certain nombre d'entre eux dérive des noms des plantes dont elles ont été isolées. Nous pouvons citer le cas de la Laportomide A (**184**) isolée des feuilles de *Laportea ovalifolia* [109], de l'asteriacéramide A (**185**) isolée de *Arterias amurensis* Lütken [110] et de la pynangloside (**186**) isolée de *Pycnanthus angolensis* [111].



**184**

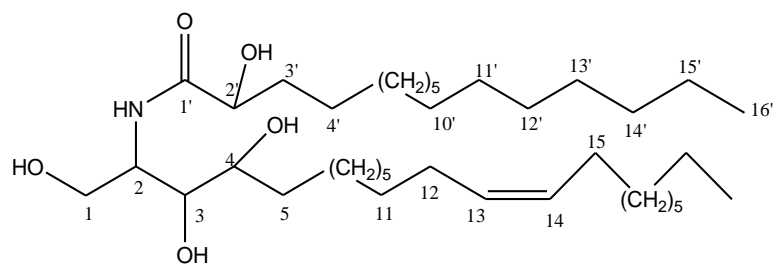


**185**



**186**

Il existe une nomenclature systématique qui permet de nommer tous ces composés, en prenant pour squelette de base la structure de la longue chaîne basique. Pour illustrer cela, nous allons donner le nom systématique de l'asteriacéramide A.



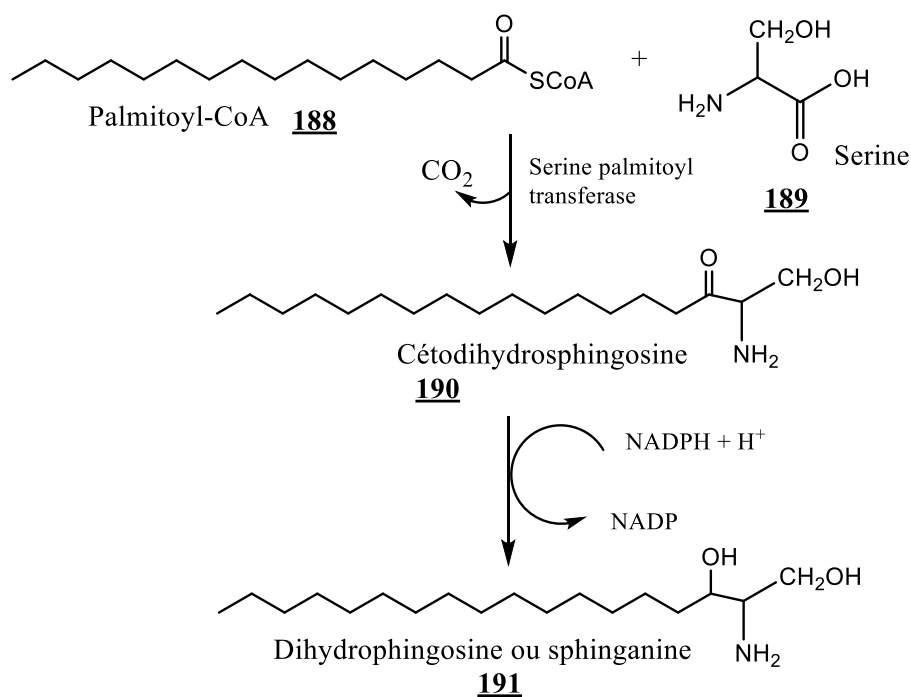
**187**

(2*S*, 2'*R*, 3*S*, 4*R*, 13*Z*)-*N*-[2'-hydroxyhexadecanoyl]-2-aminodocos-13-ene-1,3,4-triol

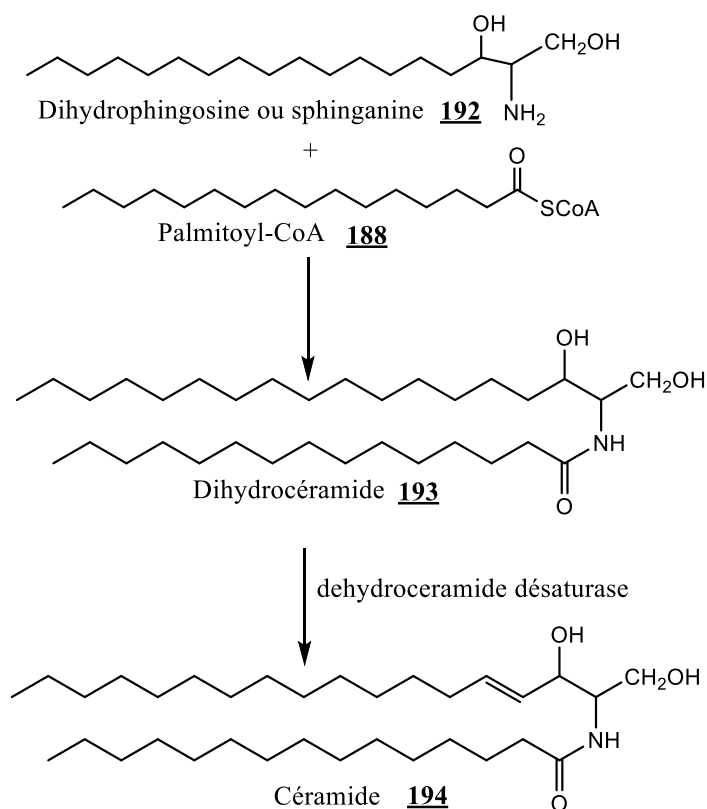
#### I.4.2.4 Biosynthèse des céramides

##### I.4.2.4.1 Biosynthèse à partir du palmitoyl-coenzyme [112]

La biosynthèse des céramides débute par la condensation du palmitoyl-coenzyme A (**188**) avec la sérine (**189**) pour donner la 3-cétodihydrosphingosine (**190**). Cette réaction est catalysée par la sérine palmitoyl-transferase. Par la suite, la 3-cétodihydrosphingosine est réduite en dihydrosphingosine (**191**) comme indiqué dans le schéma 5. La dihydrosphingosine ou sphingonine (**192**) subit une acétylation catalysée par la dihydroceramide synthase pour donner la dihydroceramide (**193**). La réaction finale est catalysée par la dihydroceramide désaturase pour donner la céramide (**194**) comme le présente le schéma 6.



**Schéma 5:** Mécanisme de biosynthèse de la sphinganine



**Schéma 6:** Processus de transformation de la sphinganine en céramide

#### **I.4.2.5 Quelques méthodes spectroscopiques utilisées dans l'élucidation des structures des céramides**

Le principe de base des méthodes spectroscopiques repose sur le fait que la molécule est soumise à une source d'énergie et que sa réponse est enregistrée sous forme d'un spectre. Les techniques utilisées pour la détermination des structures des céramides sont presque les mêmes utilisées pour les autres familles des composés. On peut citer l'IR, l'UV, la RMN  $^1\text{H}$  et la RMN  $^{13}\text{C}$ . La RMN à deux dimensions (COSY, HMBC, HMQC etc...) et la spectrométrie de masse.

##### **I.4.2.5.1 La spectroscopie infrarouge [113, 114, 115]**

La spectroscopie infrarouge est utilisée pour déterminer la présence de l'amide secondaire, le groupement hydroxyle, la chaîne aliphatique de l'acide gras et la fonction oléfinique. C'est ainsi que les absorptions à 3400, 1600 et 1530  $\text{cm}^{-1}$  suggèrent la présence de la fonction amide. Le groupe hydroxyle apparaît entre 3600 et 3380  $\text{cm}^{-1}$ . Les absorptions à 2928, 2855 et 1467  $\text{cm}^{-1}$  correspondent à la chaîne aliphatique de l'acide gras. Enfin la double liaison oléfinique apparaît vers 1630  $\text{cm}^{-1}$ .

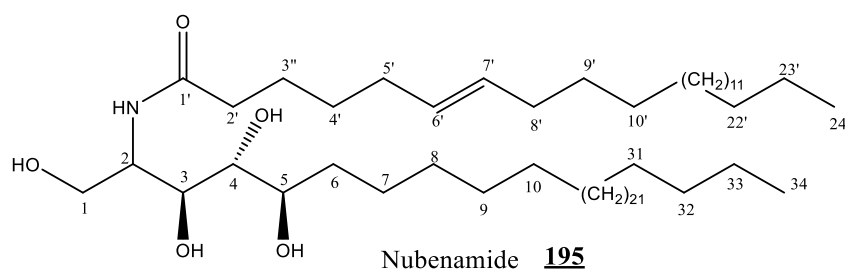
##### **I.4.2.5.2 La spectrométrie de masse**

La spectrométrie de masse est une méthode destructive qui permet à la fois d'accéder à la mesure de la masse moléculaire d'une substance ainsi que d'obtenir des données structurales. La substance ionisée se trouve dans un état excité qui provoque sa fragmentation. L'analyse des différents fragments informe sur la structure de la molécule. La spectrométrie de masse est indispensable dans la détermination des structures des céramides. Elle permet de déterminer la longueur de la chaîne basique, la présence et la position de la double liaison. Elle permet aussi de déceler la présence des groupes hydroxyles [116].

##### **I.4.2.5.3 La résonance magnétique nucléaire du proton**

La RMN  $^1\text{H}$  des céramides montre des signaux caractéristiques. C'est ainsi que le signal du proton de l'amide apparaît sous forme de doublet entre 8,34 et 8,61 ppm avec une constante de couplage  $J^3$  comprise entre 8 et 9 Hz [115, 116, 117]. Le signal du méthyle terminal apparaît à 0,86 ppm sous forme de triplet avec une constante de couplage comprise entre 6,8 et 7,8 Hz [113]. Les signaux des méthylènes associés à la longue chaîne apparaissent entre 1,11 et 1,34 ppm [115]. Les protons Ha et Hb de l'hydroxyméthylène en position 1 apparaissent en paires de doublé-dédoublés entre 4,50 ppm (dd ; 10,7 ; 4,4 ; Ha) et 4,40 (dd ; 10,7 ; 4,9 ; Ha, Hb) dans la pyridine- $d_5$  [115, 116, 117]. Les signaux des protons de la double

liaison *trans* apparaissent sous forme de doublet de triplet entre 5,31 et 5,53 ppm et la valeur de l'une des constantes de couplage est de 15,3 Hz [115, 116, 117]. Dans le cas où le composé a une double liaison de configuration *cis*, les deux doublés de triplet sont presque confondus. Le signal du proton porté par le carbone 2 apparaît vers 5,02 ppm [117], enfin les signaux caractéristiques des protons géminés aux groupes hydroxyles entre 4,21 et 4,80 ppm [115, 117].



#### I.4.2.5.4 La résonance magnétique nucléaire du carbone 13

Sur le spectre de RMN  $^{13}\text{C}$  des céramides, on observe le signal caractéristique du carbonyle des amides entre 175,6 et 177,1 ppm [115, 116, 117]. Le carbone 2 c'est-à-dire le carbone de l'aminométhine résonne vers 53,4 ppm [115]. Sur ce spectre on observe les résonances des hydroxyméthines entre 72,5 et 78,3 ppm; les carbones oléfiniques apparaissent entre 129,1 et 134,0 ppm tandis que les carbones des méthyles terminaux apparaissent vers 14,5 ppm. Les hydroxyméthylènes résonnent vers 62,2 ppm et les signaux des carbones méthyléniques proches de la double liaison *trans* sortent habituellement entre 32,2 et 33,5 ppm [115, 116, 117]. Lorsque la double liaison est *cis*, ces signaux sont inférieurs à 29,3 ppm [116].

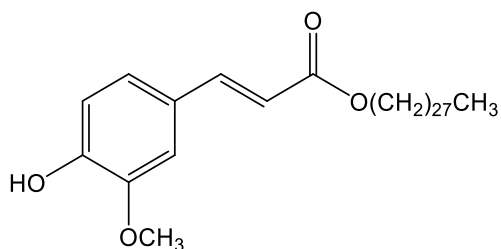
Les céramides jouent un rôle important dans l'organisme humain précisément dans le fonctionnement des cellules. Elles interviennent entre autres dans la régulation de la différenciation cellulaire et de l'apoptose, ainsi que dans la transformation et la prolifération des cellules. Le dérèglement pathologique du processus d'apoptose est à l'origine de certaines maladies graves telles que les cancers, le diabète, les neuropathies, la maladie de Parkinson et les athéroscléroses [108]. Les céramides sont aussi utilisées en dermatologie et en cosmétique pour le traitement et les soins de la peau ou des cheveux car elles ont un effet hydratant permettant de prévenir ou de corriger certains effets du dessèchement apparent de la peau ou des cheveux. Elles sont également utilisées dans le but de prévenir ou d'atténuer le vieillissement cutané [107]. Elles interviennent aussi en médecine comme stimulateurs de la fertilité féminine et masculine [108].

A notre connaissance, aucune céramide n'a encore été publiée sur le genre *Erythrina*.

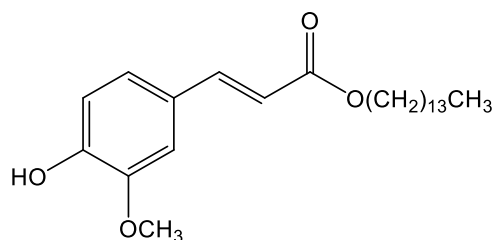
### I.4.3 Autres classes de métabolites secondaires isolés du genre *Erythrina*

En plus des flavonoïdes, plusieurs autres métabolites secondaires ont été isolés du genre *Erythrina*. Nous pouvons citer entre autres :

#### ➤ Les cinnamates [73, 84]

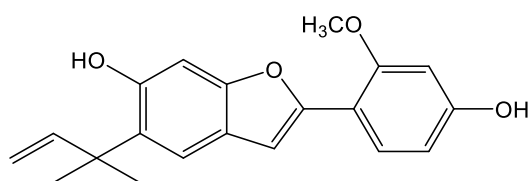


Erythrinnassinate A **196**

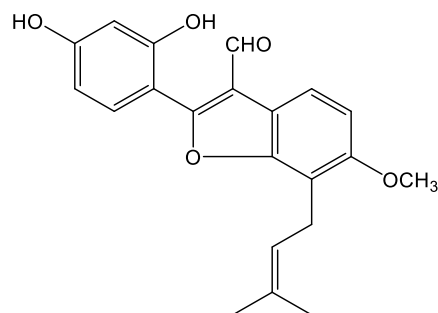


Erythrinnassinate C **197**

#### ➤ Les arylfuranes [79, 105]

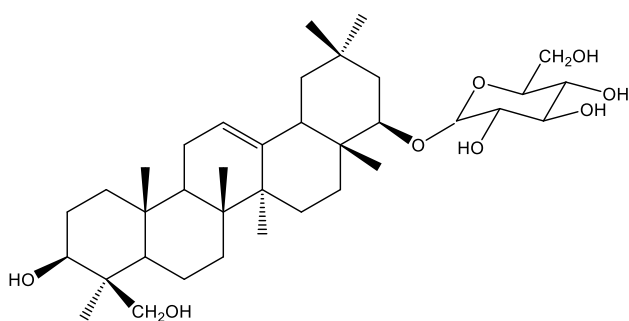


Burttinol D **198**

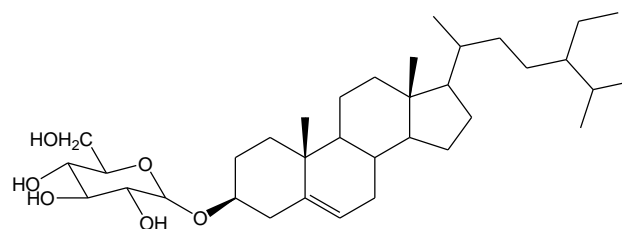


Erypogine F **199**

#### ➤ Terpénoïdes [118]



Sigmoidine C **200**



3-O-[\beta-D-glucopyranosyl]-sitostérol **201**

## **Chapitre II: RESULTATS ET DISCUSSION**



## **Chapitre II: RESULTATS ET DISCUSSION**

### **II.1 ETUDE PHYTOCHIMIQUE DE *ERYTHRINA DROOGMANSIANA***

#### **II.1.1 Matériel végétal**

Le matériel végétal qui a fait l'objet de cette étude est constitué des différentes parties d'*Erythrina droogmansiana* T. Durand (écorces du tronc, écorces des racines, bois des racines et feuilles). Cette plante a été récoltée à Nkomekoui dans la Région du Centre (Cameroun) en Août 2010 par un botaniste de l'Herbier National du Cameroun. L'identification a été faite dans cet Herbier par comparaison à un échantillon authentique (4261/SRFK).

#### **II.1.2 Extraction, isolement et purification des composés**

##### **II.1.2.1 Extraction et isolement des composés des écorces des racines**

Les écorces des racines ont été découpées, séchées puis broyées. La poudre obtenue (1,35 Kg) a été extraite par macération à température ambiante à l'acétate d'éthyle (8 L) puis au méthanol (6 L) pendant 72 heures et trois fois pour chaque solvant. Après évaporation sous pression réduite, nous avons respectivement obtenu 225 g d'extrait à l'acétate d'éthyle et 185 g d'extrait au méthanol.

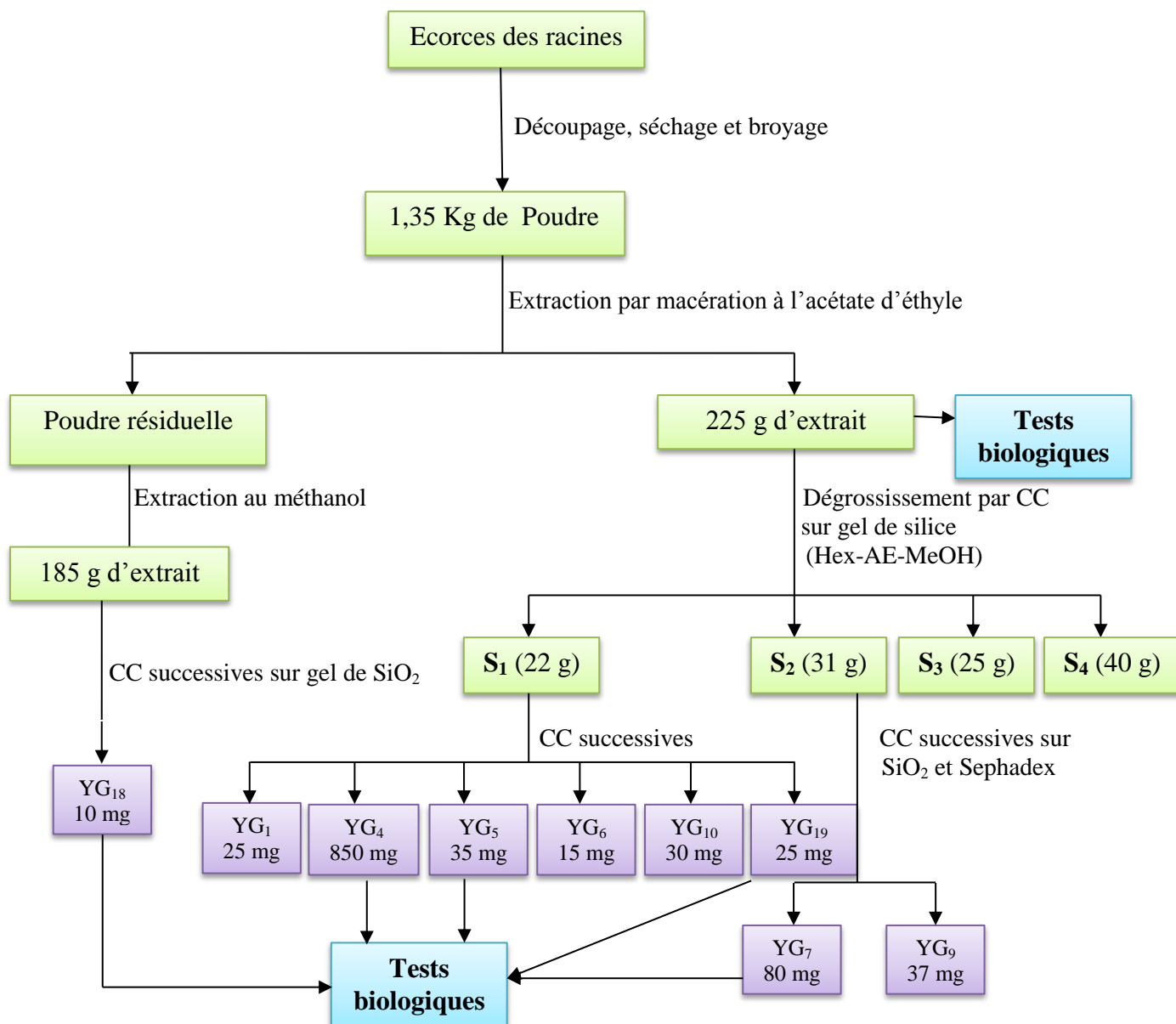
Chaque extrait obtenu a été chromatographié sur colonne de gel de silice. Les fractions obtenues ont été combinées sur la base de leur profil observé par CCM analytique et purifiées de nouveau sur colonne de gel de silice ou de Séphadex LH-20. L'hexane, les mélanges hexane-acétate d'éthyle, acétate d'éthyle-méthanol et méthanol ont été utilisés comme solvant d'élution à des degrés de polarité croissant Ceci a permis d'obtenir neuf (9) composés comme l'indique le schéma 7.

##### **II.1.2.2 Extraction et isolement des composés des écorces du tronc**

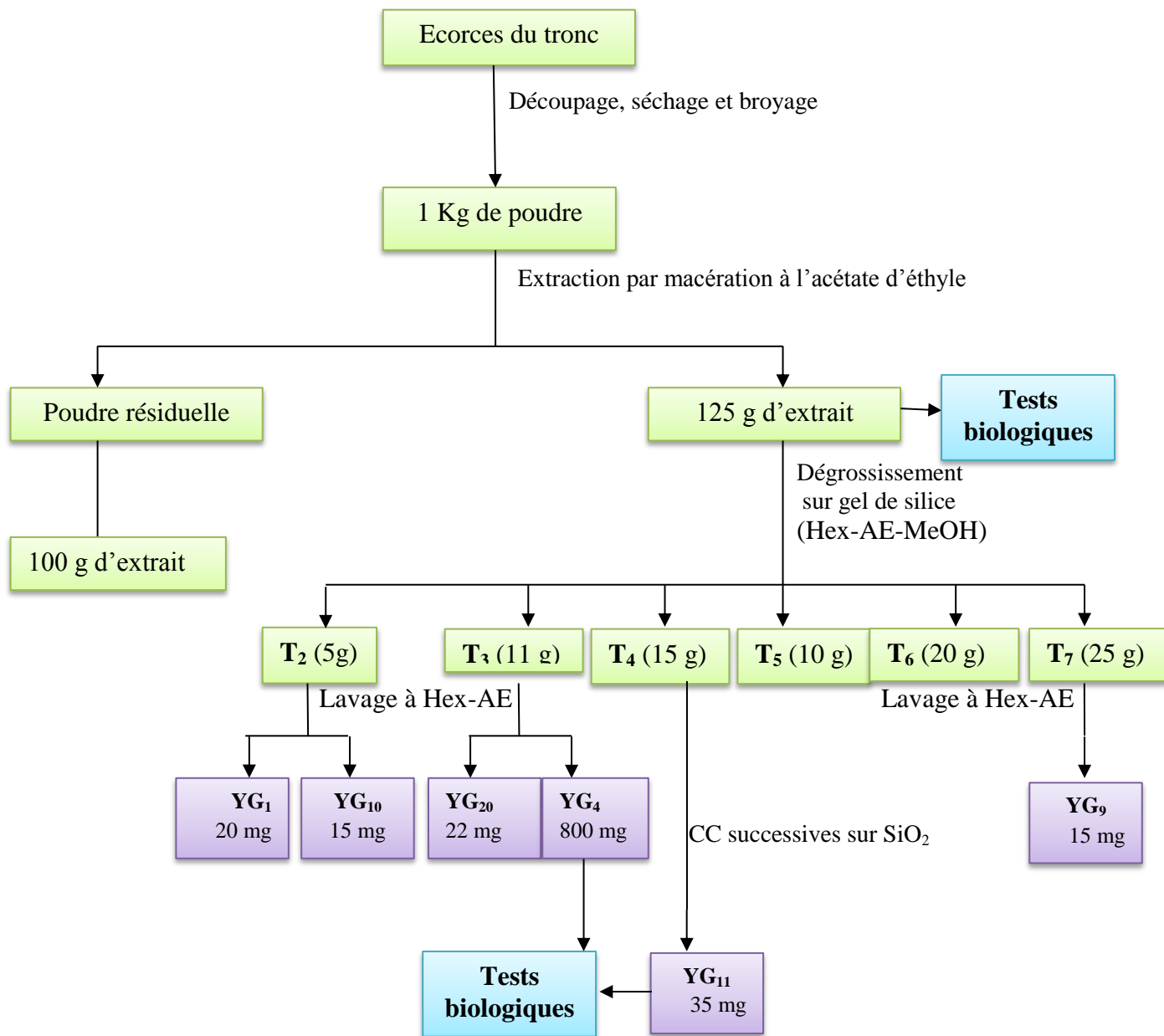
Les écorces du tronc ont subi le même traitement que les écorces des racines. Des extraits obtenus, six (6) composés ont été isolés comme l'indique le schéma 8.

##### **II.1.2.3 Extraction et isolement des composés du bois des racines**

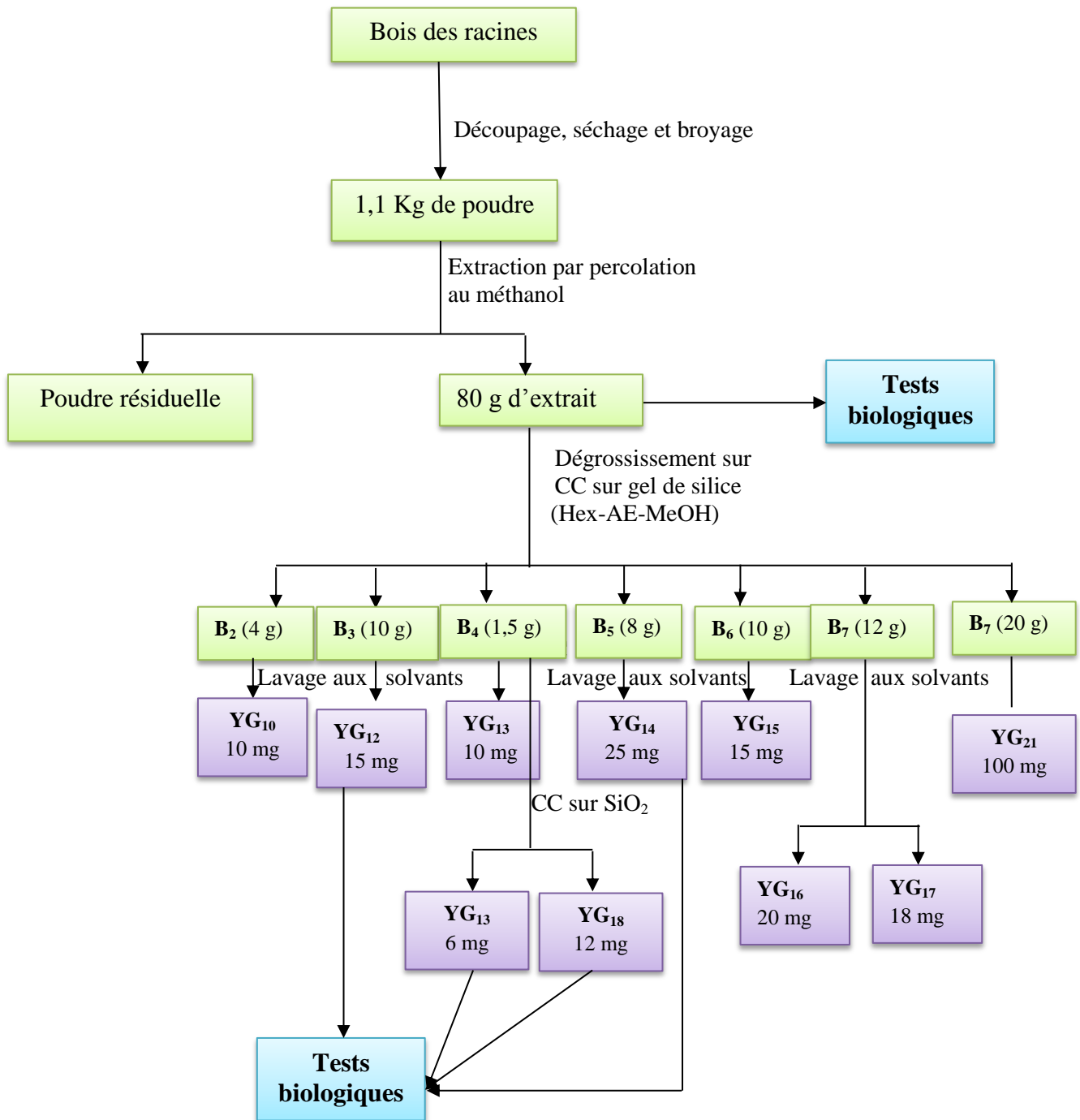
Le bois des racines a été découpé, séché puis broyé. La poudre obtenue (1,1 Kg) a subi une extraction par percolation au méthanol pendant une semaine. Le filtrat obtenu a été évaporé à sec à l'aide d'un évaporateur rotatif. L'extrait obtenu (80 g) a subi des chromatographies successives sur colonne de silice en utilisant l'hexane, les mélanges hexane-acétate d'éthyle, acétate d'éthyle-méthanol et méthanol comme solvant d'élution. De cet extrait, huit (8) composés ont été isolés comme l'indique le schéma 9.



**Schéma 7:** Protocole d'extraction et d'isolement des métabolites des écorces des racines



**Schéma 8** : Protocole d'extraction et d'isolement des métabolites des écorces du tronc



**Schéma 9** : Protocole d'extraction et d'isolement des métabolites du bois des racines

Le tableau suivant résume la liste des différents métabolites isolés par partie de la plante

**Tableau 14** : Récapitulatif des produits isolés de *Erythrina droogmansiana*

Plantes (extrait)	Index	Numéro	Masse
Extrait à l'acétate d'éthyle des écorces des racines	YG <sub>1</sub>	<b>210</b>	25 mg
	YG <sub>4</sub>	<b>103</b>	850 mg
	YG <sub>5</sub>	<b>202</b>	35 mg
	YG <sub>6</sub>	<b>209</b>	15 mg
	YG <sub>7</sub>	<b>68</b>	80 mg
	YG <sub>9</sub> et YG <sub>9'</sub>	<b>213-214</b>	35 mg
	YG <sub>10</sub> et YG <sub>10'</sub>	<b>211-212</b>	30 mg
Extrait au méthanol des écorces des racines	YG <sub>1</sub>	<b>210</b>	3 mg
	YG <sub>4</sub>	<b>103</b>	10 mg
	YG <sub>10</sub>	<b>211</b>	5 mg
	YG <sub>18</sub>	<b>146</b>	10 mg
Extrait à l'acétate d'éthyle des écorces du tronc	YG <sub>1</sub>	<b>210</b>	20 mg
	YG <sub>4</sub>	<b>103</b>	800 mg
	YG <sub>9</sub> et YG <sub>9'</sub>	<b>213-214</b>	15 mg
	YG <sub>10</sub> et YG <sub>10'</sub>	<b>211-212</b>	22 mg
	YG <sub>11</sub>	<b>203</b>	35 mg
Extrait méthanolique du bois des racines	YG <sub>20</sub>	<b>196</b>	22 mg
	YG <sub>9</sub> et YG <sub>9'</sub>	<b>213-214</b>	18 mg
	YG <sub>10</sub> et YG <sub>10'</sub>	<b>211-212</b>	10 mg
	<b>YG<sub>12</sub></b>	<b>206</b>	15 mg
	<b>YG<sub>13</sub></b>	<b>207</b>	16 mg
	YG <sub>14</sub>	<b>129</b>	25 mg
	YG <sub>15</sub>	<b>204</b>	15 mg
	<b>YG<sub>16</sub></b>	<b>208</b>	20 mg
YG <sub>18</sub>	<b>146</b>	12 mg	
YG <sub>21</sub>	En cours	500 mg	

En rouge, les produits décrits pour la première fois du genre et en bleu ceux décrits pour la première fois

L'observation de ce tableau nous permet donc de dire que quelques métabolites à savoir : YG<sub>1</sub>, YG<sub>4</sub>, YG<sub>9</sub> et YG<sub>10</sub> se retrouvent dans plusieurs parties et que YG<sub>4</sub> est le produit majoritaire de cette plante. Ces composés appartiennent à plusieurs classes de métabolites parmi lesquelles : les flavonoïdes (8), les cinnamates (2), les époxydes (1), les amides (1), les sphingolipides (1), les stéroïdes (4) et les alcools gras (1). L'élucidation structurale de ces composés et de leurs dérivés réactionnels feront d'une part l'objet de ce chapitre. D'autre part, nous présenterons les résultats des tests biologiques effectués sur les extraits et certains de ces composés.

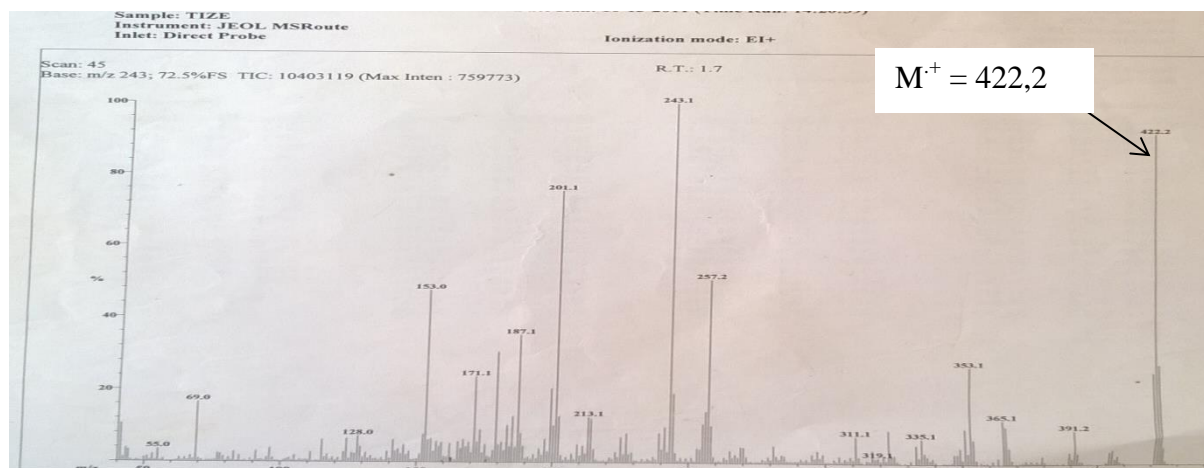
### II.1.3 Etude structurale des composés isolés

#### II.1.3.1 Les flavonoïdes

##### II.1.3.1.1 Identification du composé YG<sub>4</sub> (abyssinone V-4'-méthyléther)

Le composé YG<sub>4</sub>, produit majoritaire de la plante, cristallise sous forme d'aiguille blanche dans le mélange hexane/acétate d'éthyle (90/10) des extraits à l'acétate d'éthyle des écorces du tronc et des racines. Il est soluble dans le chloroforme et répond positivement aux tests des composés phénoliques et à celui de la cyanhydrine pour les flavonoïdes.

Son spectre de masse (**Figure 7**) en impact électronique (IE<sup>+</sup>) laisse apparaître le pic de l'ion moléculaire à  $m/z$  422,2 qui, combiné aux autres données spectrales, permet de lui donner la formule brute C<sub>26</sub>H<sub>30</sub>O<sub>5</sub> soit 12 insaturations.

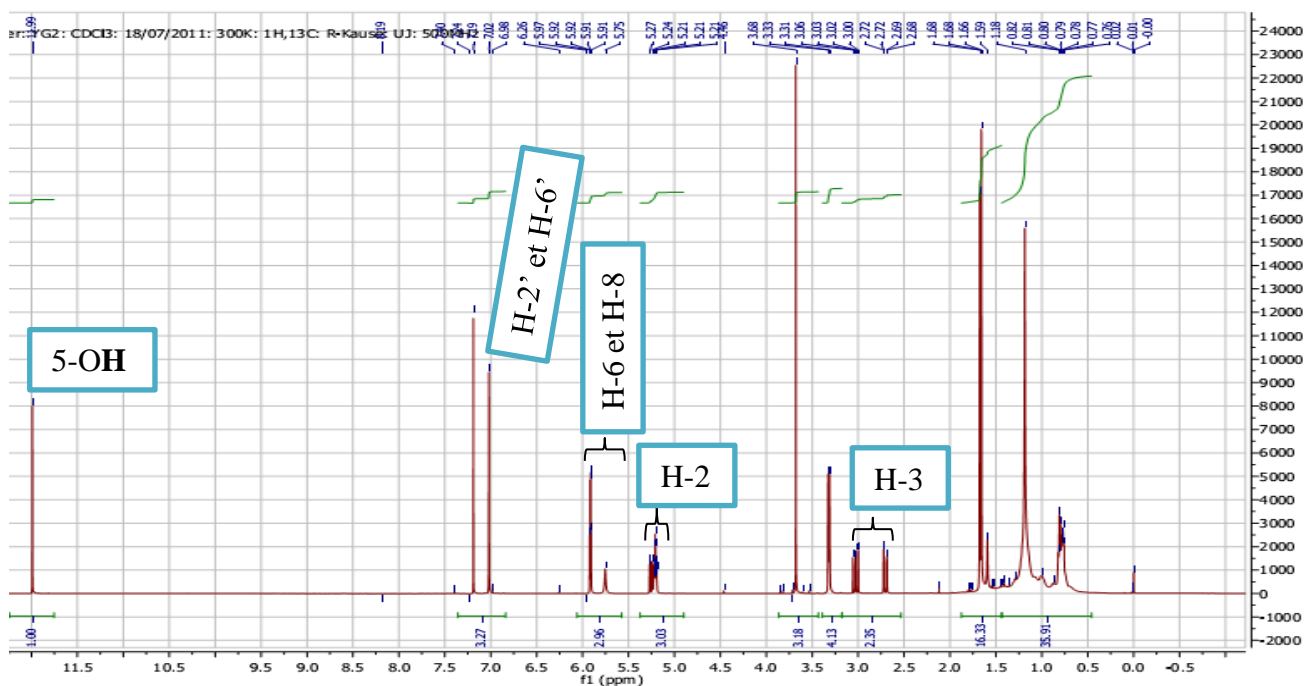


**Figure 7** : Spectre de masse en mode Impact Electronique du composé YG<sub>4</sub>

Son spectre de RMN <sup>1</sup>H (**Figure 8**) montre des protons particuliers respectivement à δ 5,27 (1H, m), 2,68 (1H, dd,  $J = 2,8$  et  $17,2$  Hz) et à δ 3,06 (1H, dd,  $J = 13,2$  et  $17,2$ ) signaux caractéristique des protons H-2 et H-3 du cycle C des flavanones [75]. YG<sub>4</sub> est donc une flavanone. On observe également des signaux des protons aromatiques couplant entre eux par un système AM à δ 5,92 (1H, d,  $J = 2$  Hz) et à δ 5,97 (1H, d,  $J = 2$  Hz) qui sont également

caractéristiques des protons aromatiques du cycle A disubstitué d'une flavanone. Le signal aromatique à  $\delta$  7,09 (2H, s), correspond aux protons du cycle B et indique une trisubstitution de ce cycle. De plus, le signal à  $\delta$  3,68 (3H, s) indique la présence d'un groupement méthoxyle sur ce composé ; les signaux à  $\delta$  1,66 (3H, s) et à  $\delta$  1,68 (3H, s) apparaissant de manières superposées chacun indique la présence de deux unités isoprényles sur ce composé. Cette hypothèse est confirmée par la présence de deux signaux à  $\delta$  5,29 (1H, d,  $J = 2,8$  Hz) et à  $\delta$  5,27 (1H, d,  $J = 2,8$  Hz) correspondant aux protons éthyléniques des unités isopréniques ; et ceux à  $\delta$  3,39 (2H, d,  $J = 7,2$  Hz) et à  $\delta$  3,06 (2H, d,  $J = 4,4$  Hz) correspondant aux protons méthyléniques des unités isopréniques. Le signal observé à  $\delta$  12,05 (1H, s) sur le même spectre indique une chélation entre le proton de l'hydroxyle en position 5 du cycle A et le carbonyle en position 4.

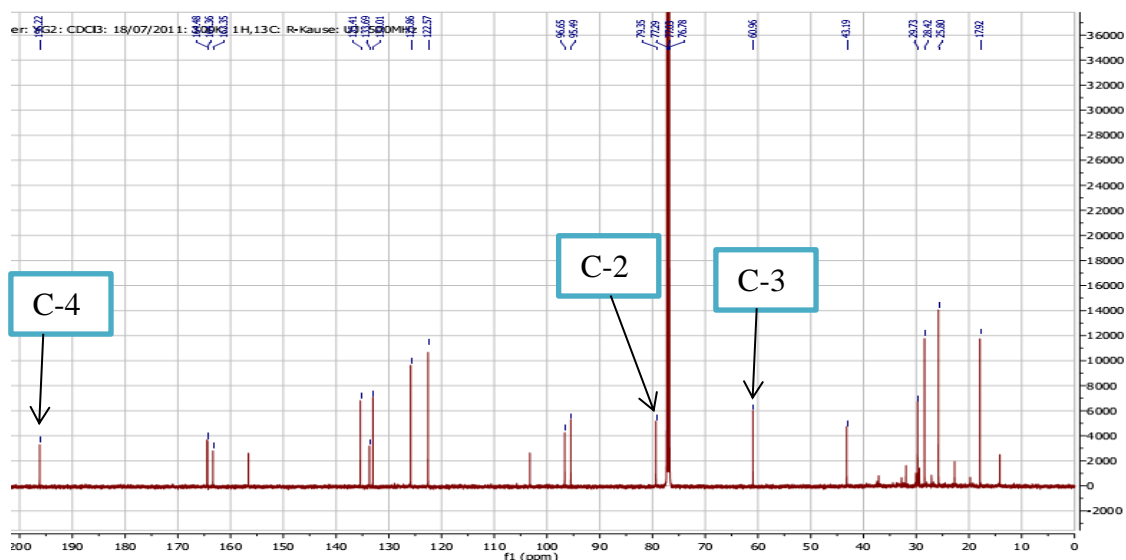
L'ensemble de toutes ces données permettent donc de dire que YG<sub>4</sub> est une flavanone avec plusieurs substituants (méthoxyle, isoprènes et hydroxyles).



**Figure 8** : Spectre de RMN<sup>1</sup>H (400 MHz, CDCl<sub>3</sub>) du composé YG<sub>4</sub>

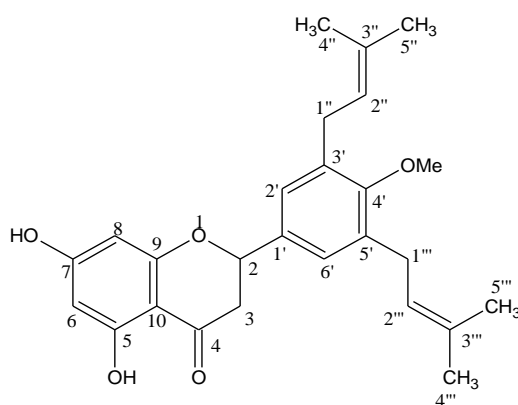
Son spectre de RMN <sup>13</sup>C (**Figure 9**) montre à  $\delta$  196,2 un carbone quaternaire, correspondant au groupement carbonyle des flavanones ; à  $\delta$  79,4 un carbone tertiaire, caractéristique du carbone C-2 des flavanones et à  $\delta$  43,2 un carbone secondaire, caractéristique du carbone C-3 des flavanones. En plus, à  $\delta$  95,5 et 96,6 on observe deux carbones aromatiques tertiaires du cycle A ; à  $\delta$  125,9 et 135,4 deux carbones aromatiques tertiaires du cycle B ; entre 133,0–135,4 ppm 3 carbones quaternaires aromatique et deux

carbones tertiaires éthylénique ; à  $\delta$  60,9 un carbone primaire, correspondant à un méthoxy substitué sur ses deux positions *ortho* [119] ; à  $\delta$  28,4 et 29,7 deux carbones secondaires confirmant la présence de deux unités isopréniques et à  $\delta$  17,9 et 25,8 les signaux des carbones primaires des unités isopréniques.



**Figure 9** : Spectre RMN  $^{13}\text{C}$  (100 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ) du composé  $\text{YG}_4$

Ces données spectrales sont parfaitement en accord avec celles présentes dans la littérature et correspondant à la 5,7-dihydroxy-4'-méthoxy-3',5'-di-(méthylbut-2-ènyle) flavanone (abyssinone V-4'-methylether), déjà isolé de *Erythrina burttii* par Yenesew *et al* (1998) [73].



**103**

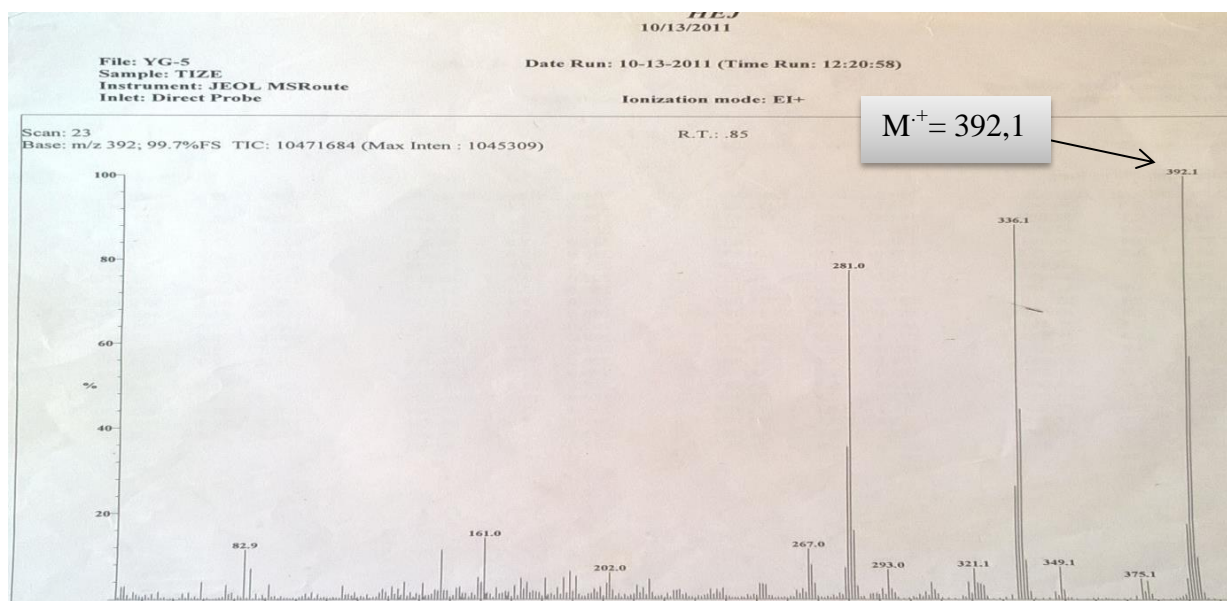


**Tableau 15 :** Données spectrales de RMN  $^1\text{H}$  et  $^{13}\text{C}$  (400 et 100 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ) du composé  $\text{YG}_4$  en comparaison avec celles de la littérature

N° carbone	$^{13}\text{C}$ ( $\delta_{\text{C}}$ )	H ( $\delta_{\text{H}}$ )	Données RMN $^1\text{H}$ (300 MHz, $\text{CDCl}_3$ ) et $^{13}\text{C}$ (75 MHz, $\text{CDCl}_3$ ) de la littérature [73]	
2	79,4 (d)	5,27 <i>m</i>	5,33 <i>m</i>	79,0
3	43,2 (t)	2,68 <i>dd</i> 3,06 <i>dd</i>	2,76 <i>dd</i> 3,11 <i>dd</i>	43,0
4	196,2 (s)			196,3
5	164,4 (s)			164,2
6	96,6 (d)	5,97 <i>s</i>	5,98 <i>s</i>	96,6
7	164,5 (s)			165,3
8	95,5 (d)	5,92 <i>s</i>	5,98 <i>s</i>	95,6
9	163,4 (s)			163,3
10	103,2 (s)			103,0
1'	133,7 (s)			133,7
2'	125,9 (d)	7,09 <i>s</i>	7,09 <i>s</i>	125,9
3'	135,5 (s)			135,4
4'	156,4 (s)			156,4
5'	135,4 (s)			135,4
6'	125,9 (d)	7,09 <i>s</i>	7,09 <i>s</i>	125,9
1''	28,4 (t)	3,39 <i>d</i>	3,39 <i>d</i>	28,4
2''	122,6 (d)	5,21 <i>t</i>	5,29 <i>t</i>	122,5
3''	133,0 (s)			133,0
4''	25,8 (q)	1,66 <i>s</i>	1,73 <i>s</i>	25,7
5''	17,9 (q)	1,68 <i>s</i>	1,74 <i>s</i>	17,9
1'''	29,7 (t)	3,39 <i>d</i>	3,39 <i>d</i>	28,4
2'''	122,6 (d)	5,21 <i>t</i>	5,29 <i>t</i>	122,5
3'''	133,0 (s)			133,0
4'''	25,8 (q)	1,66 <i>s</i>	1,73 <i>s</i>	25,7
5'''	17,9 (q)	1,68 <i>s</i>	1,74 <i>s</i>	17,9
4'-OMe	60,9 (q)	3,68 <i>s</i>	3,80 <i>s</i>	60,9
5-OH		12,05 <i>s</i>	12,05 <i>s</i>	

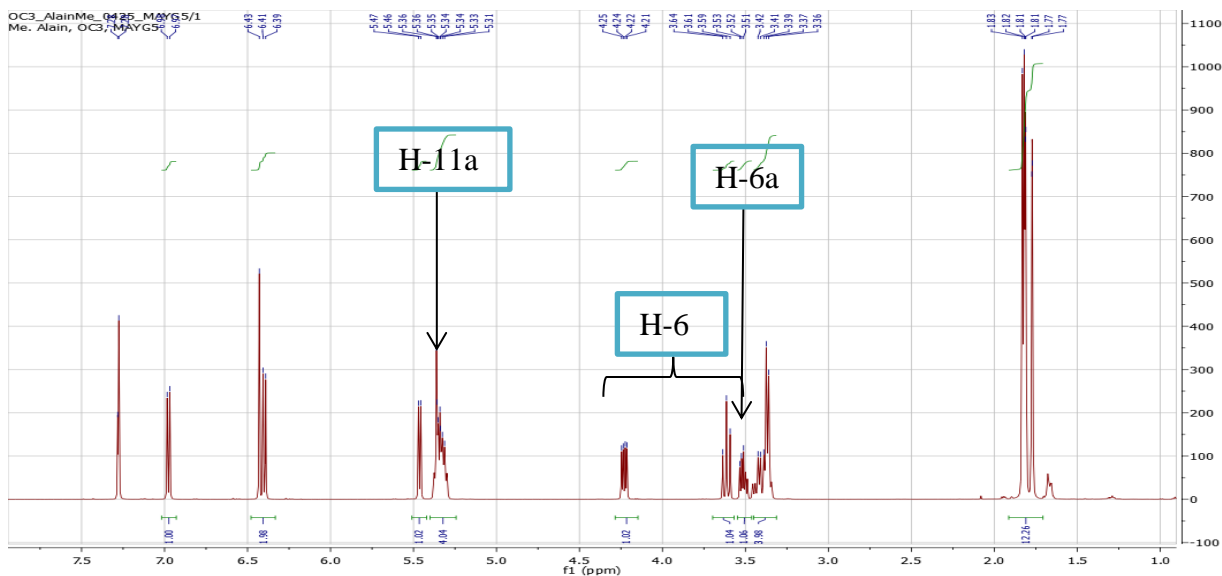
### II.1.3.1.2 Identification du composé YG<sub>5</sub> (érythrabyssine)

Le composé YG<sub>5</sub> est obtenu des écorces des racines. Il cristallise sous forme de solide amorphe blanc et répond positivement au test de la cyanhydrine caractéristique des flavonoïdes. Son spectre de masse en impact électronique (IE) présente le pic de l'ion moléculaire à  $m/z$  392,1. Cette donnée combinée à toutes les autres données spectrales permettent de lui attribuer la formule brute C<sub>25</sub>H<sub>28</sub>O<sub>4</sub>, soit 12 insaturations.



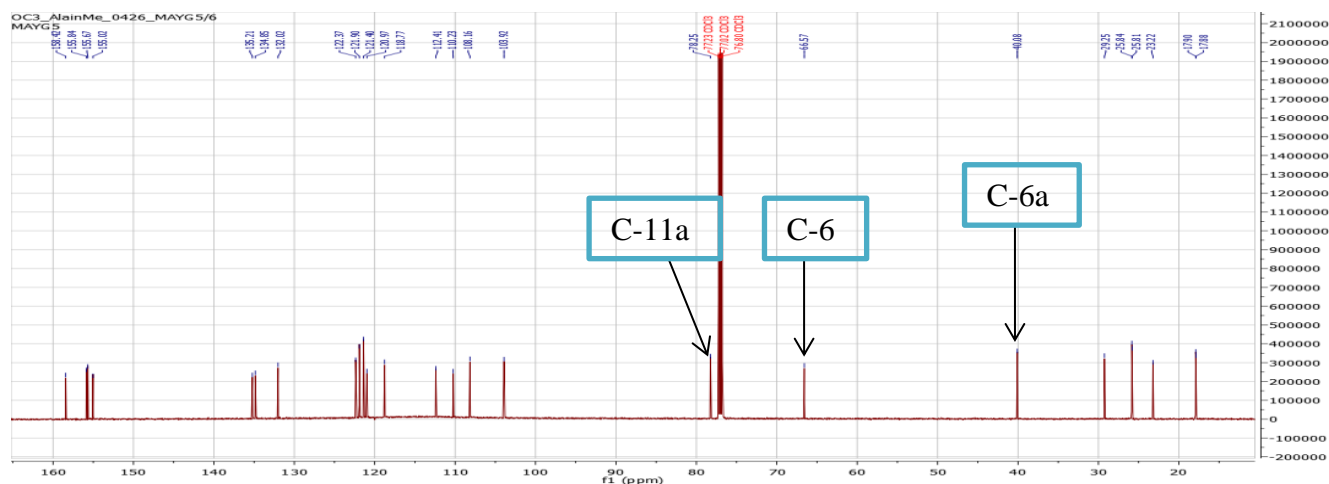
**Figure 10** : Spectre de masse en mode Impact Electronique du composé YG<sub>5</sub>

Son spectre de RMN <sup>1</sup>H (**Figure 11**) montre des signaux caractéristiques des protons H-6 et H-6a des ptérocarpanes à  $\delta$  3,52 (1H, m) ; 3,61 (1H, t,  $J = 10,9$  Hz), 4,23 (1H, dd,  $J = 5,2$  et  $10,9$  Hz) et 5,46 (1H, d,  $J = 4$ Hz) [74]. Sur ce même spectre, les signaux de deux protons aromatiques du cycle D des ptérocarpanes formant un système AB à  $\delta$  6,97 (1H, d,  $J = 8$ Hz) ; 6,43 (1H, d,  $J = 10$  Hz) et indiquant ici le caractère disubstitué de ce cycle. D'autres protons aromatiques sont également observés à  $\delta$  6,40 (1H, s) et 7,28 (1H, s) correspondant aux deux protons du cycle A. Le cycle A est donc également disubstitué. La présence des signaux à  $\delta$  5,35 (1H, t,  $J = 4$ Hz) ; 5,32 (1H, t,  $J = 4$ Hz) ; 3,41 (2H, d,  $J = 4$ Hz) ; 3,36 (2H, d,  $J = 4$ Hz) ; 1,77 (3H, s) ; 1,81 (3H, s) ; 1,82 (3H, s) et à  $\delta$  1,83 (3H, s) indique qu'il y a deux unités isopréniques dans ce composé.



**Figure 11** : Spectre RMN  $^1\text{H}$  (500 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ) du composé  $\text{YG}_5$

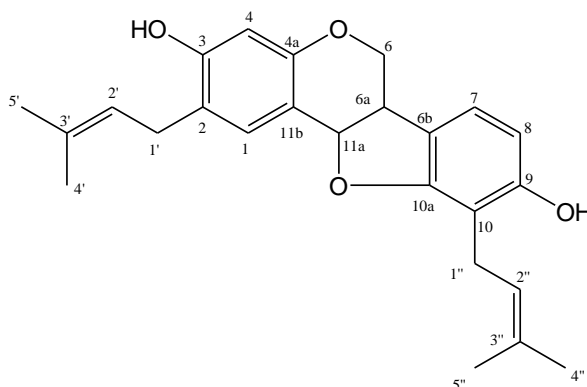
Son spectre de RMN  $^{13}\text{C}$  (**Figure 11**) montre les signaux de près de onze carbones quaternaires, qui correspondent entre autres aux carbones oxygénés, aux carbones éthyléniques et aux carbones quaternaires simples des noyaux aromatiques. Il laisse également apparaître près de 8 carbones tertiaires parmi lesquels ceux à  $\delta$  40,1 et 78,2 sont particulièrement caractéristique des carbones C-6a et C-11a des ptérocarpanes ; 3 carbones secondaires à  $\delta$  23,2 ; 29,2 et 66,5 correspondant aux méthylènes des deux unités isopréniques et au méthylène du cycle B des ptérocarpanes. Ce spectre présente également des carbones primaires des méthyles des deux unités isopréniques à  $\delta$  17,9 et 25,8.



**Figure 12** : Spectre RMN  $^{13}\text{C}$  (125 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ) du composé  $\text{YG}_5$

En plus de ces données, celles des spectres 2D (COSY, HSQC et HMBC) et les informations présentes dans la littérature nous ont permis d'attribuer à ce composé la structure **202** qui est

celle de l'érythrabyssine isolée précédemment des écorces des racines de *E. subumbrans* par Rukachaisirikul *et al* (2007) [82].



## 202

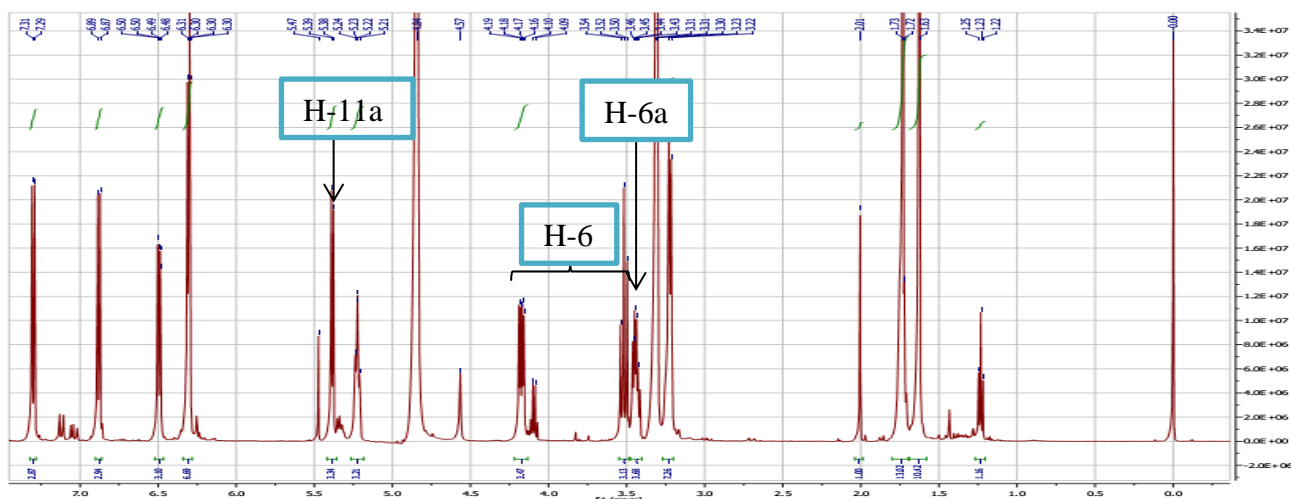
**Tableau 16** : Données spectroscopiques de RMN  $^1\text{H}$  et  $^{13}\text{C}$  (500 et 125 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ) du composé YG<sub>5</sub> en comparaison avec celles de la littérature

N° carbone	$^{13}\text{C}$ ( $\delta_{\text{C}}$ )	$^1\text{H}$ ( $\delta_{\text{H}}$ )	Données RMN $^1\text{H}$ et $^{13}\text{C}$ (400 et 67,5 MHz, $\text{CDCl}_3$ ) de la littérature [120]	
1	132,0 (d)	7,28 (1H, s)	132,0 (d)	7,25 (1H s)
2	120,9 (s)		121,0 (s)	
3	155,0 (s)		155,0 (s)	
4	103,9 (d)	6,40 (1H, s)	103,9 (d)	6,41 (1H, s)
4a	155,6 (s)		155,7 (s)	
6	66,5 (t)	3,61 (1H, t, 10.9Hz) 4,23 (1H, dd, 5.2; 10.9Hz)	66,6 (t)	3,59 (1H, t) 4,20 (1H, dd)
6a	40,1 (d)	3,52 (1H, m)	40,1 (d)	3,49 (1H, m)
6b	118,7 (s)		118,8 (s)	
7	121,9 (d)	6,97 (1H, d, $J = 8\text{Hz}$ )	122,4 (d)	6,95 (1H, d)
8	108,2 (d)	6,43 (1H, d, $J = 8\text{Hz}$ )	108,2 (d)	6,37 (1H, d)
9	155,8 (s)		155,9 (s)	
10	110,2 (s)		110,2 (s)	
10a	158,0 (s)		158,4 (s)	
11a	78,2 (d)	5,46 (1H, d, $J = 4\text{Hz}$ )	78,2 (d)	5,44 (1H, d)
11b	112,4 (s)		112,4 (s)	
1'	29,2 (t)	3,41 (2H, d, $J = 4\text{Hz}$ )	29,2 (t)	3,34 (2H, d)
2'	121,4 (d)	5,35 (1H, t, $J = 4\text{Hz}$ )	121,4 (d)	5,29 (1H, t)
3'	134,8 (s)		134,8 (s)	
4'	17,8 (q)	1,83 (3H, s)	17,9 (q)	1,81 (3H, s)
5'	25,8 (q)	1,81 (3H, s)	25,8 (q)	1,80 (3H, s)
1''	23,2 (t)	3,36 (2H, d, $J = 4\text{Hz}$ )	23,2 (t)	3,37 (2H, d)
2''	122,4 (d)	5,32 (1H, t, $J = 4\text{Hz}$ )	121,9 (d)	5,34 (1H, t)
3''	135,2 (s)		135,2 (s)	
4''	17,9 (q)	1,82 (3H, s)	17,9 (q)	1,79 (3H, s)
5''	25,9 (q)	1,77 (3H, s)	25,8 (q)	1,75 (3H, s)

### II.1.3.1.3 Identification du composé YG<sub>7</sub> (phasoellidine)

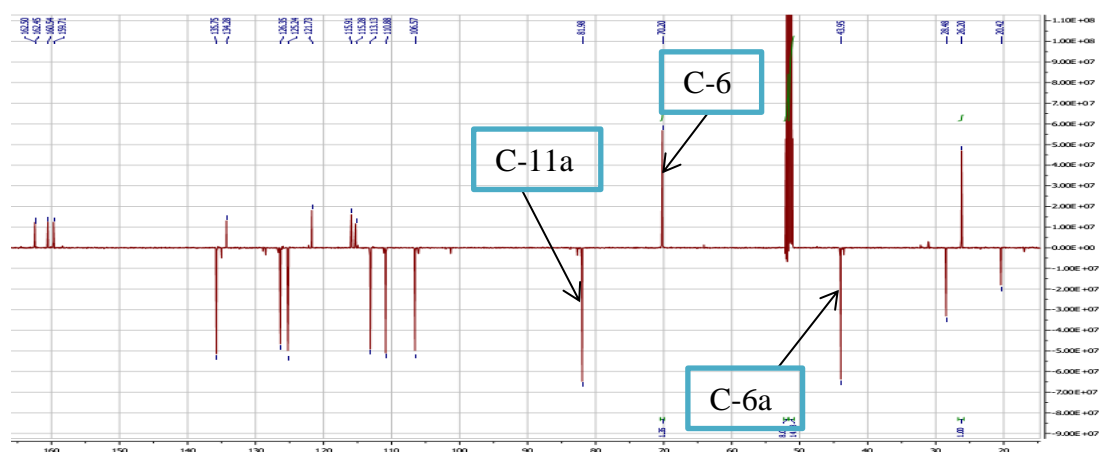
Le composé YG<sub>7</sub> obtenu des écorces des racines se présente sous forme d'une pâte amorphe rougeâtre. Il répond positivement au test au chlorure ferrique caractéristique des composés phénoliques et à celui de la cyanhydrine caractéristique des flavonoïdes. Sa formule brute C<sub>20</sub>H<sub>20</sub>O<sub>4</sub>, correspondant à 11 insaturations, est déduite des données de ses différents spectres de RMN.

En effet, son spectre de RMN <sup>1</sup>H (**Figure 13**) montre des signaux de protons H-6 et H-6a caractéristique de ceux des ptérocarpanes à δ 3,43 (1H, m), 3,45 (1H, dd, *J*=9,6 ; 10,7 Hz), 4,17 (1H, dd, *J* = 4,5 ; 9,6 Hz) et 5,38 (1H, d ; *J* = 6,5 Hz). Ces données nous permettent de dire que ce composé est une ptérocarpane comme le composé YG<sub>5</sub> [74]. La comparaison de ses données RMN <sup>1</sup>H à celles de YG<sub>5</sub> permet de noter quelques différences telles que l'apparition à δ 6,49 (1H, dd, *J* = 8,3 ; 2,3 Hz) d'un proton qui couple en COSY <sup>1</sup>H-<sup>1</sup>H au travers d'un système AB avec le proton aromatique à δ 7,30 (1H, d, *J* = 8,3 Hz) du cycle A des ptérocarpanes ; information qui indique que contrairement à YG<sub>5</sub>, ce cycle est monosubstitué. Nous notons également l'absence des signaux à δ 1,83 et 1,82 ; 3,23 et 5,33 ppm indiquant la présence d'une seule unité isoprénique sur ce composé.



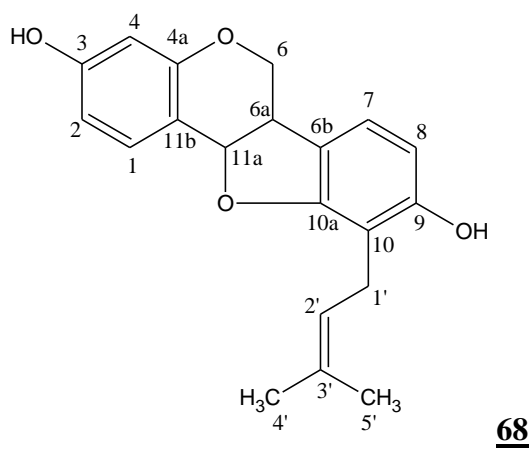
**Figure 13:** Spectre RMN <sup>1</sup>H (500 MHz, CD<sub>3</sub>OD) du composé YG<sub>7</sub>

Son spectre de RMN <sup>13</sup>C (**Figure 14**), quant à lui, présente 7 carbones quaternaires correspondant entre autres aux carbones oxygénés, au carbone éthylénique et aux carbones des noyaux aromatiques ; 9 carbones tertiaires, parmi lesquels ceux caractéristiques des carbones C-6a et C-11a des ptérocarpanes ; 2 carbones secondaires et 2 carbones primaires des méthyles de l'unité isoprénique.



**Figure 14 :** Spectre RMN  $^{13}\text{C}$  en mode DEPT 135 (125 MHz,  $\text{CD}_3\text{OD}$ ) du composé  $\text{YG}_7$

Ces données indiquent que  $\text{YG}_7$  est presque identique à  $\text{YG}_5$  avec comme seule différence l'absence d'une unité isoprénique. La comparaison de ces données avec celles présentes dans la littérature nous permet d'attribuer à  $\text{YG}_7$  la structure **68** qui est celle de la phasoellidine isolée récemment de *E. addisoniae* par Watjen *et al.* (2007) [72].



**Tableau 17 :** Données spectrales de RMN  $^1\text{H}$  et  $^{13}\text{C}$  (500 et 125 MHz,  $\text{CD}_3\text{OD}$ ) du composé  $\text{YG}_7$  en comparaison avec celles de la littérature

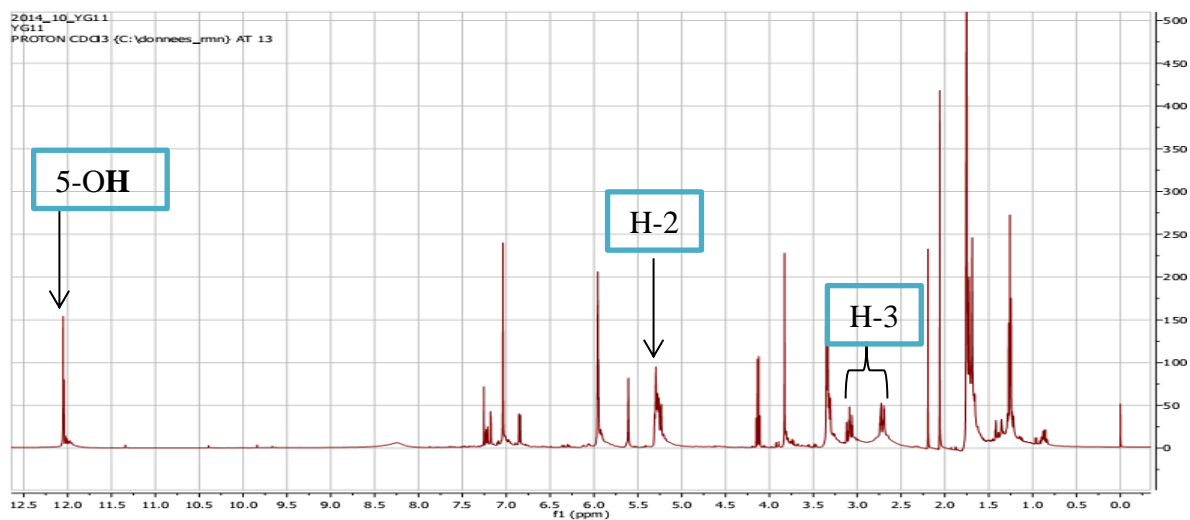
N° carbone	$^{13}\text{C}$ ( $\delta_{\text{C}}$ )	$^1\text{H}$ ( $\delta_{\text{H}}$ )	Données RMN $^1\text{H}$ et $^{13}\text{C}$ (400 et 67,5 MHz, acétone- $d_6$ ) de la littérature [121]	
1	131,3 (d)	7,30 (1H, d, $J = 8,3$ Hz)	133,0 (d)	7,34 (1H, d)
2	110,1 (d)	6,49 (1H, dd, $J = 8,3 ; 2,3$ Hz)	110,4 (d)	6,56 (1H, dd)
3	159,5 (s)		159,6 (s)	
4	103,6 (d)	6,31 (1H, d, $J = 2,3$ Hz)	103,9 (d)	6,35 (1H, d)
4a	156,7 (s)		157,6 (s)	
6	67,2 (t)	3,45 (1H, dd, $J = 9,6 ; 10,7$ Hz) 4,17 (1H, dd, $J = 4,5 ; 9,6$ Hz)	67,1 (t)	3,58 (1H, dd) 4,23 (1H, dd)
6a	40,9 (d)	3,43 (1H, m)	40,9 (d)	3,53 (1H, m)
6b	118,7 (s)		118,9 (s)	
7	122,2 (d)	6,86 (1H, d, $J = 8,4$ Hz)	122,6 (d)	6,94 (1H, d)
8	107,9 (d)	6,30 (1H, d ; $J = 8,4$ Hz)	108,1 (d)	6,38 (1H, d)
9	157,5 (s)		156,8 (s)	
10	112,3 (s)		112,0 (s)	
10a	159,4 (s)		159,7 (d)	
11a	78,9 (d)	5,38 (1H, d ; $J = 6,5$ Hz)	78,9 (d)	5,45 (1H, d)
11b	112,9 (s)		113,2 (s)	
1'	23,2 (t)	3,23 (2H, d ; $J = 7,1$ Hz)	23,4 (t)	3,26 (2H, d)
2'	123,4 (d)	5,33 (1H, t ; $J = 7,1$ Hz)	123,6 (d)	5,27 (1H, t)
3'	132,8 (s)		131,2 (s)	
4'	17,4 (q)	1,63 (3H, s)	17,8 (q)	1,61 (3H, s)
5'	25,5 (q)	1,72 (3H, s)	25,8 (q)	1,73 (3H, s)

#### II.1.3.1.4 Identification du composé $\text{YG}_{11}$ (4'-méthoxy licoflavanone)

$\text{YG}_{11}$  obtenu des écorces du tronc, se présente sous forme de poudre amorphe jaune. Il répond positivement au test de la cyanhydrine caractéristique des flavonoïdes. L'analyse rigoureuse de ses données spectrales nous ont permis de lui attribuer la formule brute  $\text{C}_{21}\text{H}_{22}\text{O}_5$  ; soit 11 insaturations.

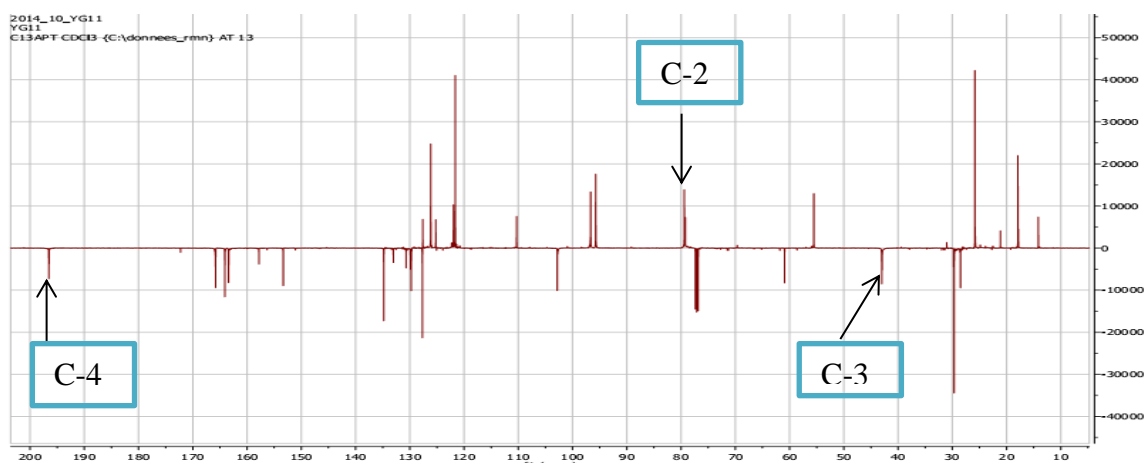
Son spectre de RMN  $^1\text{H}$  (**Figure 15**) montre des signaux à  $\delta$  5,26 (1H, dd,  $J = 2,5 ; 10$  Hz), 2,70 (1H, dd,  $J = 2,5 ; 5$  Hz) et 3,12 (1H, dd,  $J = 5 ; 15$  Hz) caractéristique des protons H-2 et H-3 du cycle C des flavanones [73].  $\text{YG}_{11}$  est donc une flavanone. On observe également à  $\delta$  5,95 (1H, d,  $J = 1,6$  Hz) ; 5,61 (1H, d,  $J = 1,6$  Hz) ; 7,18 (1H, d,  $J = 2,2$  Hz) ; 6,85 (1H, d,  $J = 8,5$  Hz) et 7,23 (1H, dd,  $J = 2,2 ; 8,5$ Hz) signaux correspondant respectivement aux protons aromatiques du cycle A opérant entre eux un couplage de type AM et à ceux du cycle B opérant entre eux un couplage de type ABX. En plus, on observe également à  $\delta$  1,75 (1H, s) ; 1,72 (1H, s) ; 3,34 (2H, d,  $J = 7,3$  Hz) ; 5,31 (1H, t,  $J = 2,5$  Hz) et 3,83 (3H, s) des signaux qui

correspondent respectivement aux protons des méthyles, du méthylène et au proton éthylénique de l'unité isoprénique et au proton d'un groupement méthoxyle. La présence d'un signal à  $\delta$  12,05 indique que ce composé a un proton d'hydroxyle chélaté. Ce composé possède donc une unité isoprénique et un groupement méthoxyle.



**Figure 15** : Spectre RMN<sup>1</sup>H (500MHz, CDCl<sub>3</sub>) du composé YG<sub>11</sub>

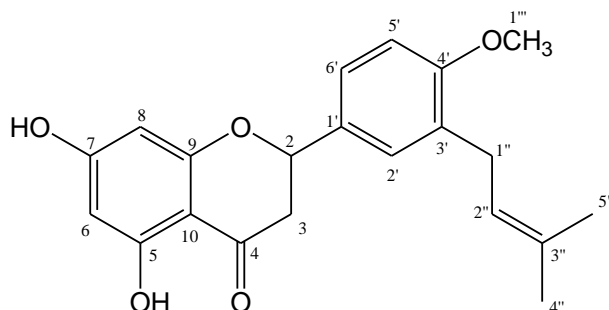
Son spectre de RMN <sup>13</sup>C (**Figure 16**) présente à  $\delta$  79,3 un carbone tertiaire, caractéristique du carbone C-2 des flavanones et à  $\delta$  42,9 un carbone secondaire, caractéristique du carbone C-3 des flavanones. En plus de ces deux signaux, ce spectre montre également 9 carbones quaternaires correspondant entre autre au carbonyle à  $\delta$  196,6 ; aux carbones liés aux oxygènes, aux carbones des noyaux aromatiques et de l'unité isoprényle ; 7 carbones tertiaires correspondant aux méthines des cycles A, B et de l'unité isoprénique ; un carbone secondaire à  $\delta$  28,5 correspondant au méthylène de l'unité isoprénique et 3 carbones primaires correspondant aux méthyles de l'unité isoprénique et à celui du groupement méthoxyle.



**Figure 16** : Spectre RMN <sup>13</sup>C en mode APT (125 MHz, CDCl<sub>3</sub>) du composé YG<sub>11</sub>



l'ensemble de ces données, celles recueillies ses spectres en 2D (COSY, HSQC et HMBC) et les données présentes dans la littérature nous ont permis d'attribuer à YG<sub>11</sub> la structure **203** qui est celle de la 4'-méthoxylicoflavanone isolé précédemment de *E. mildbraedii* par Jang *et al* (2008) [122].



**203**

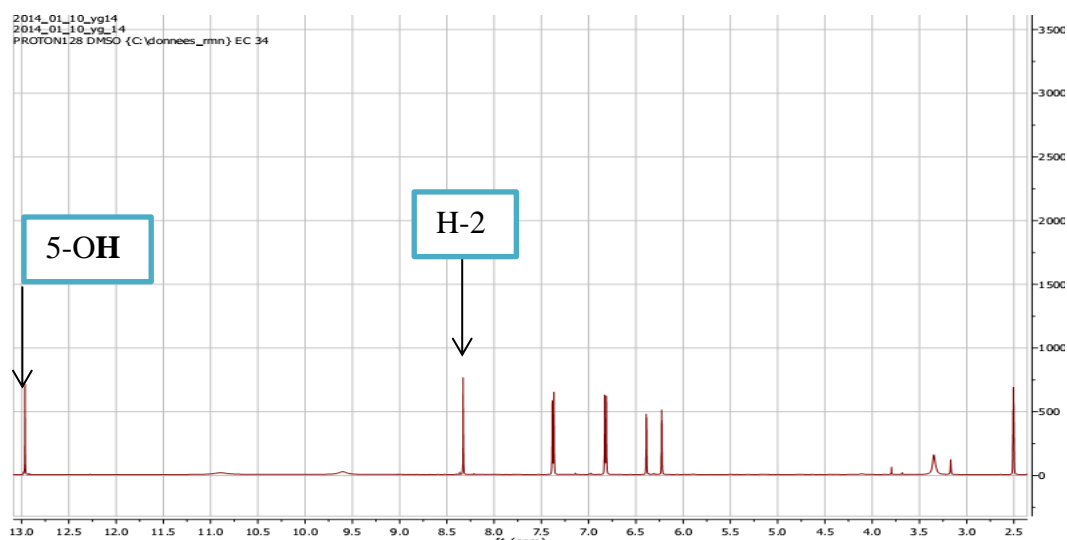
**Tableau 18** : Données spectrales de RMN <sup>1</sup>H et <sup>13</sup>C (500 et 125 MHz, CDCl<sub>3</sub>) du composé YG<sub>11</sub> en comparaison avec celles de la littérature

N° carbone	<sup>13</sup> C (δ <sub>C</sub> )	<sup>1</sup> H (δ <sub>H</sub> )	Données RMN <sup>1</sup> H et <sup>13</sup> C (400 et 100 MHz, CDCl <sub>3</sub> ) de la littérature [122]	
2	79,3 (d)	5,26 (1H, dd, <i>J</i> = 2,5 ; 10 Hz)	79,5 (d)	5,35 (1H, dd)
3	42,9 (t)	2,70 (1H, dd, <i>J</i> = 2,5 ; 5 Hz) 3,12 (1H, dd, <i>J</i> = 5 ; 15 Hz)	43,3 (t)	2,78 (1H, dd) 3,12 (1H, dd)
4	196,6 (s)		196,5 (s)	
5	163,3 (s)		163,6 (s)	
6	96,6 (d)	5,95 (1H, d, <i>J</i> = 1,6Hz)	96,8 (d)	5,98 (1H, d)
7	164,1 (s)		164,5 (s)	
8	95,8 (d)	5,61 (1H, d, <i>J</i> = 1,6Hz)	95,6 (d)	5,99 (1H, d)
9	165,2 (s)		164,6 (s)	
10	102,9 (s)		104,5 (s)	
1'	130,7 (s)		130,1 (s)	
2'	127,6 (d)	7,18 (1H, d, <i>J</i> = 2,2 Hz)	127,8 (d)	7,20 (1H, d)
3'	133,1 (s)		131,0 (s)	
4'	157,7 (s)		158,1 (s)	
5'	110,3 (d)	6,85 (1H, d, <i>J</i> = 8,5 Hz)	110,5 (d)	6,88 (1H, d)
6'	125,2 (d)	7,23 (1H, dd, <i>J</i> = 2,2 ; 8,5Hz)	125,3 (d)	7,26 (1H, dd)
1''	28,5 (t)	3,34 (2H, d, <i>J</i> = 7,3 Hz)	28,7 (t)	3,34 (2H, d)
2''	121,9 (d)	5,31 (1H, t, <i>J</i> = 2,5 Hz)	121,7 (d)	5,30 (1H, m)
3''	134,8 (s)		133,3 (s)	
4''	21,2 (q)	1,75 (3H, s)	26,0 (q)	1,75 (3H, s)
5''	17,9 (q)	1,72 (3H, s)	26,0 (q)	1,71 (3H, s)
1'''	55,8 (q)	3,83 (3H, s)	55,7 (q)	3,86 (3H, dd)

### II.1.3.1.5 Identification du composé YG<sub>14</sub> (genistéine)

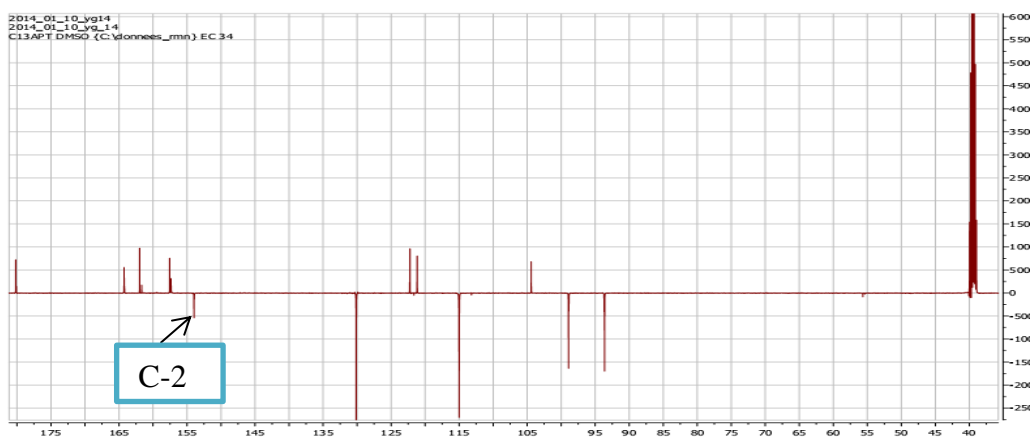
Le produit YG<sub>14</sub> est obtenu du bois des racines. Il cristallise sous forme de poudre beige. Il réagit positivement aux tests du chlorure ferrique caractéristique des composés phénoliques et à celui de la cyanhydrine caractéristique des flavonoïdes. Sa formule brute C<sub>15</sub>H<sub>10</sub>O<sub>5</sub>, correspondant à 11 insaturations, est déduite des données de ses différents spectres de RMN.

La présence sur son spectre de RMN <sup>1</sup>H (**Figure 17**) d'un signal à δ 8,33(H-2) et d'un autre à δ 12,96 nous permet de dire que YG<sub>14</sub> est un isoflavonoïde avec une chélation du proton de l'hydroxyle en position 5 par le carbonyle en position 4. En plus de ces signaux, d'autres sont observés à δ 6,39 (1H, d, *J* = 2,2 Hz) et 6,23 (1H, d, *J* = 2,2 Hz) opérant un couplage COSY <sup>1</sup>H-<sup>1</sup>H entre eux et à δ 7,38 (1H, dd, *J* = 8,5 Hz) et 6,82 (1H, dd, *J* = 8,5 Hz) opérant un couplage COSY <sup>1</sup>H-<sup>1</sup>H entre eux. Protons correspondant respectivement aux protons du cycle A et à ceux du cycle B. ces signaux nous permettent de dire que le cycle A est disubstitué alors que le cycle B est monosubstitué.



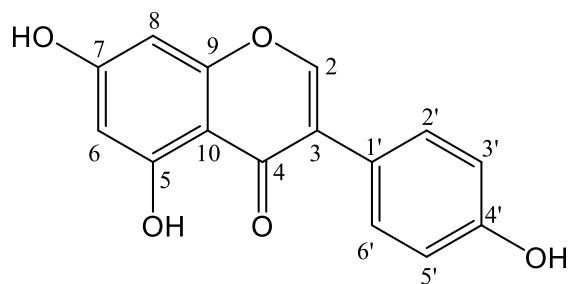
**Figure 17** : Spectre RMN <sup>1</sup>H (500 MHz, CD<sub>3</sub>OD) du composé YG<sub>14</sub>

Cette hypothèse de disubstitution du cycle A et de monosubstitution du cycle B est confirmée par la présence sur son spectre de RMN <sup>13</sup>C (**Figure 18**) de deux signaux intenses à δ 130,1 et 115,0 indiquant une symétrie sur le noyau B de ce composé. La présence également d'un méthine à δ 153,9 confirme qu'il s'agit d'un isoflavonoïde.



**Figure 18** : Spectre de RMN  $^{13}\text{C}$  en mode APT (125 MHz,  $\text{CD}_3\text{OD}$ ) du composé  $\text{YG}_{14}$

L'ensemble de toutes ces informations avec celles décrites dans la littérature nous ont permis d'attribuer à  $\text{YG}_{14}$  la structure **129** qui est celle de la genistéine isolée précédemment de *E. indica* par Nkengfack *et al* (2001) [93].



**129**

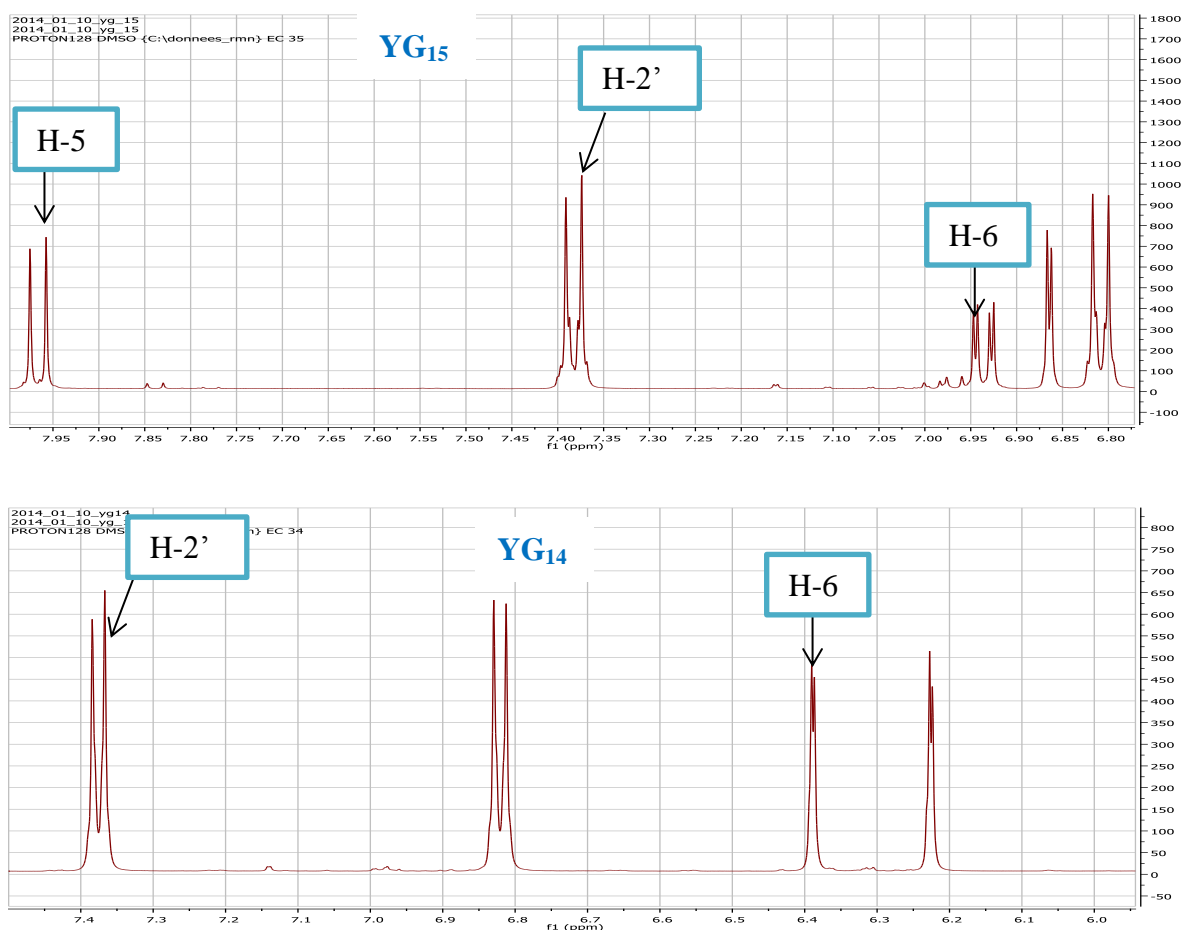
**Tableau 19** : Données spectrales de RMN  $^1\text{H}$  et  $^{13}\text{C}$  (500 et 125 MHz,  $\text{CD}_3\text{OD}$ ) et HMBC du composé  $\text{YG}_{14}$

N° carbone	$^{13}\text{C}$ ( $\delta_{\text{C}}$ )	$^1\text{H}$ ( $\delta_{\text{H}}$ )	HMBC
2	153,9 (d)	8,33 (1H, s)	3/4/9
3	122,2 (s)		
4	180,2 (s)		
5	161,9 (s)		
6	93,6 (d)	6,39 (1H, d, $J = 2,2$ Hz)	7/8/9/10
7	164,2 (s)		
8	98,4 (d)	6,23 (1H, d, $J = 2,2$ Hz)	4/5/6/7/10
9	157,6 (s)		
10	104,4 (s)		
1'	121,2 (s)		
2'	130,1 (d)	7,38 (1H, dd, $J = 8,5$ Hz)	3/4/3'/4'
3'	115,0 (d)	6,82 (1H, dd, $J = 8,5$ Hz)	3/2'/4'
4'	157,6 (s)		
5'	115,0 (d)	6,82 (1H, dd, $J = 8,5$ Hz)	1'/4'/6'
6'	130,1 (d)	7,38 (1H, dd, $J = 8,5$ Hz)	4/4'/5'

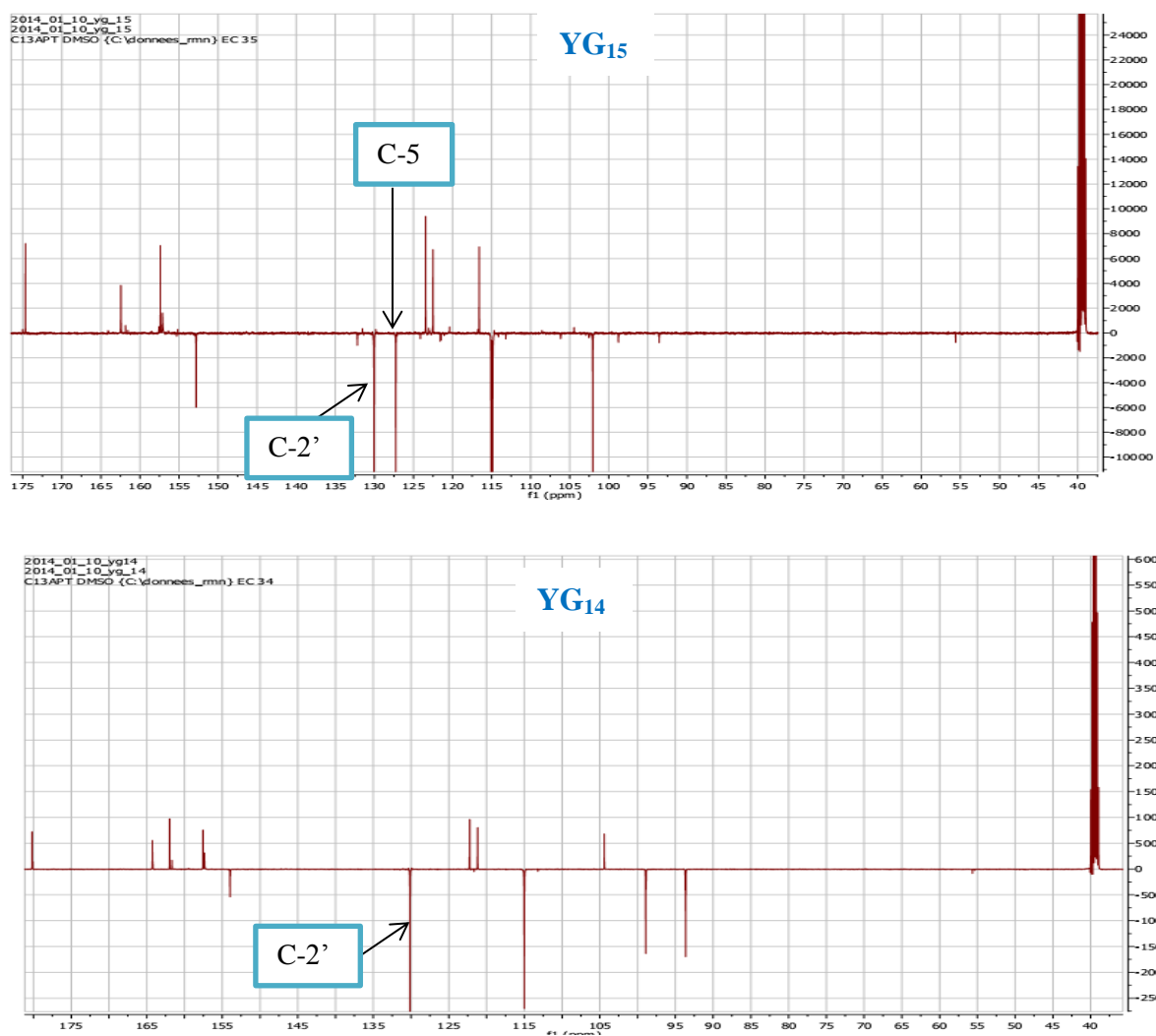
### II.1.3.1.6 Identification du composé YG<sub>15</sub> (diadzéine)

Le produit YG<sub>15</sub> est obtenu du bois des racines. Il cristallise sous forme de poudre beige. Il réagit positivement aux tests du chlorure ferrique caractéristique des composés phénoliques et à celui de la cyanhydrine caractéristique des flavonoïdes. Sa formule brute C<sub>15</sub>H<sub>10</sub>O<sub>4</sub>, correspondant à 11 insaturations, est déduite des données de ses différents spectres de RMN.

La présence sur son spectre de RMN <sup>1</sup>H (Figure 19) d'un signal à δ 8,29 nous permet de dire que YG<sub>14</sub> un isoflavonoïde. L'observation des données du composé YG<sub>15</sub> et celles du composé YG<sub>14</sub> permet de se rendre compte que ces deux composés sont presque identiques, sauf que l'on observe la présence d'un autre proton aromatique sur le spectre de RMN <sup>1</sup>H de YG<sub>15</sub> et que le signal à δ 12,96 est absent.

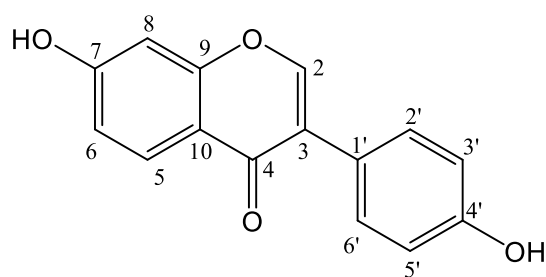


**Figure 19** : Comparaison du spectre RMN <sup>1</sup>H (500 MHz, CD<sub>3</sub>OD) du composé YG<sub>15</sub> à celui du composé YG<sub>14</sub>



**Figure 20** : Comparaison du spectre APT (125 MHz, CD<sub>3</sub>OD) du composé YG<sub>15</sub> à celui du composé YG<sub>14</sub>

Ces informations associées à celles de la littérature permettent d'attribuer à YG<sub>15</sub> la structure **204** qui est celle de la diadzéine isolé précédemment de *E. crista galli* par Flavia *et al* (2007) [123].



**204**

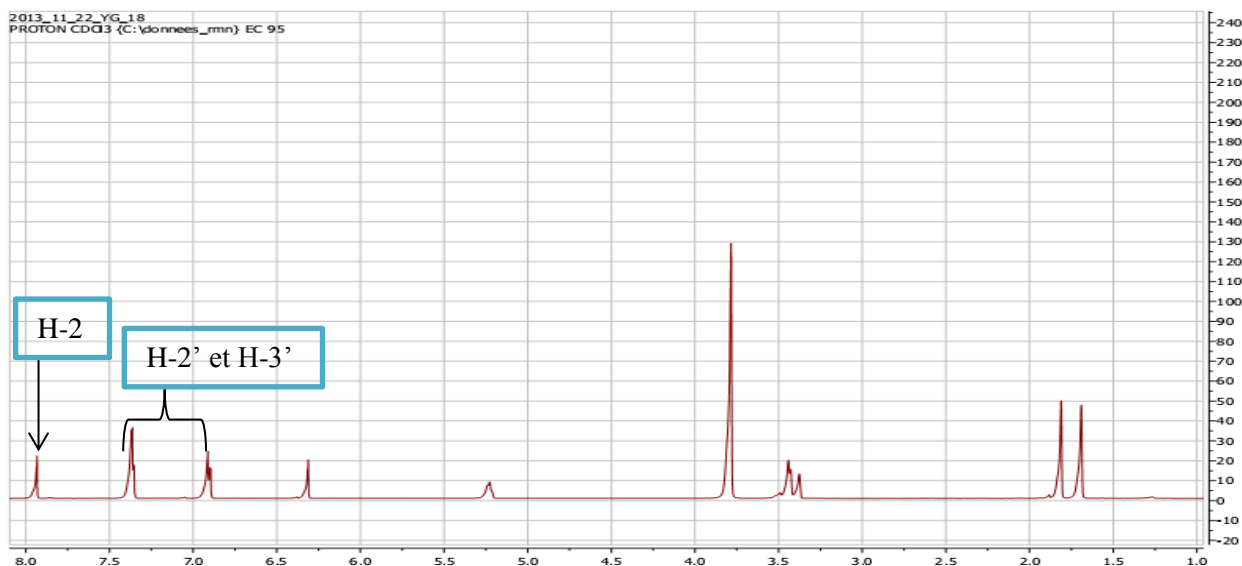
**Tableau 20 :** Données spectrales de RMN  $^1\text{H}$  et  $^{13}\text{C}$  (500 et 125 MHz,  $\text{CD}_3\text{OD}$  du composé  $\text{YG}_{15}$

N° carbone	$^{13}\text{C}$ ( $\delta$ in ppm)	$^1\text{H}$ ( $\delta$ in ppm)	HMBC
2	152,8 (d)	8,29 (1H, s)	3/4/9
3	123,4 (s)		
4	174,7 (s)		
5	127,3 (d)	7,95 (1H, d, $J = 5$ Hz)	7/9/4/8/6
6	114,9 (d)	6,96 (1H, d, $J = 5$ Hz ; 10 Hz)	7/8/9/10
7	162,4 (s)		
8	102,1 (d)	6,86 (1H, d, $J = 5$ Hz)	4/6/7/9
9	157,4 (s)		
10	116,6 (s)		
1'	122,5 (s)		
2'	130,1 (d)	7,38 (1H, dd, $J = 2,5 ; 5$ Hz)	3/4/3'/4'
3'	115,1 (d)	6,81 (1H, dd, $J = 5 ; 10$ Hz)	3/2'/4'
4'	157,4 (s)		
5'	115,1 (d)	6,81 (1H, dd, $J = 5 ; 10$ Hz)	1'/4'/6'
6'	130,1 (d)	7,38 (1H, dd, $J = 2,5 ; 5$ Hz)	4/4'/5'

#### II.1.3.1.7 Identification du composé $\text{YG}_{18}$ (4',5,7-trihydroxy-8-prénylisoflavone)

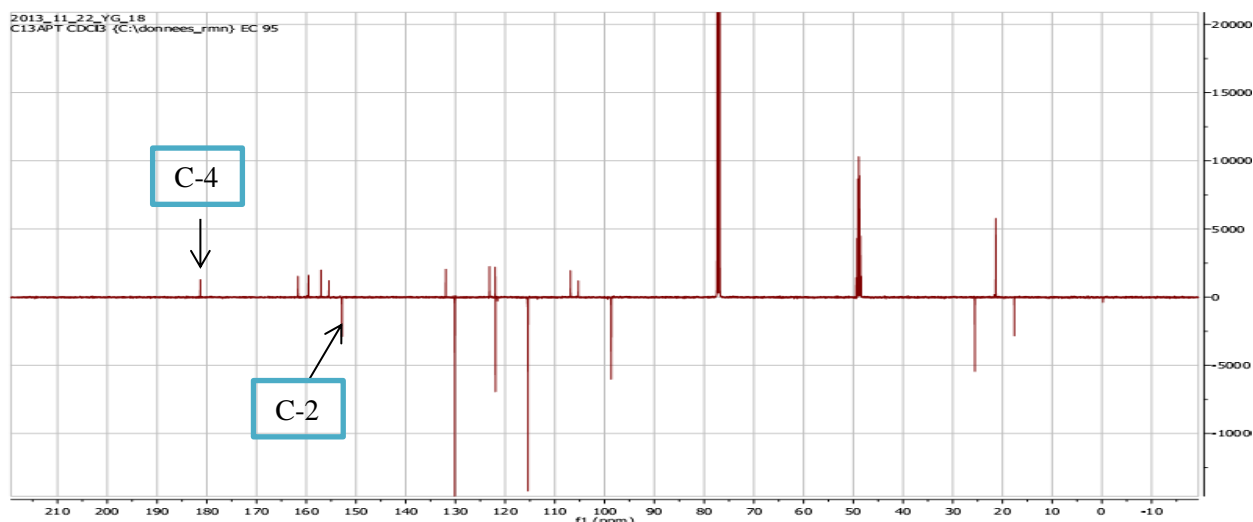
Le produit  $\text{YG}_{18}$  est isolé du bois des racines. Il est obtenu sous forme de poudre grisâtre. Il réagit positivement au test de la cyanhydrine caractéristique des flavonoïdes. L'analyse rigoureuse de ses données spectrales nous a permis de lui attribuer la formule brute  $\text{C}_{20}\text{H}_{18}\text{O}_5$  renfermant 12 insaturations.

Son spectre de RMN  $^1\text{H}$  (**Figure 21**) montre un signal particulier à  $\delta$  7,93 (H-2) qui nous permet de dire que  $\text{YG}_{18}$  est un isoflavonoïde, ayant les données presque similaires à celles de  $\text{YG}_{14}$ . En plus de ce signal caractéristique, on observe des signaux correspondant aux protons des noyaux aromatiques A et B à  $\delta$  6,31 (1H, s), 7,36 (1H, d,  $J = 8.0$  Hz), 6,91 (1H, d,  $J = 8.0$  Hz) : qui opère entre eux par un système AB. Le fait que l'autre signal aromatique apparait sous forme d'un singulet traduit une trisubstitué du cycle A. on note également la présence des signaux à  $\delta$  5,23 (1H, t,  $J = 5 ; 15$  Hz) ; 3,44 (2H, d,  $J = 5$  Hz) ; 1,81 (3H, s) et 1,61 (3H, s) correspondant respectivement au proton éthylénique, au proton du méthylène et aux protons des méthyles d'une unité de prényle.



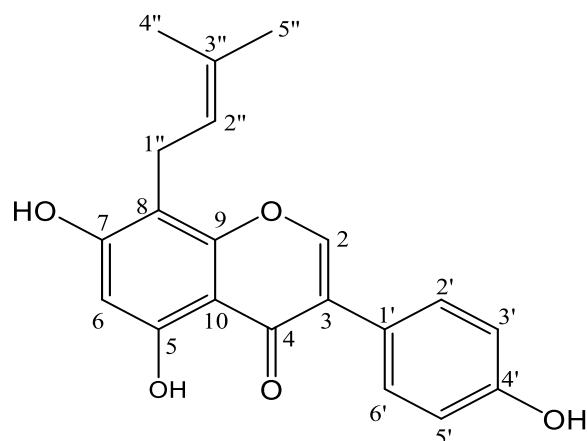
**Figure 21** : Spectre RMN  $^1\text{H}$  (500 MHz,  $\text{CDCl}_3\text{-CD}_3\text{OD}$ ) du composé  $\text{YG}_{18}$

Son spectre de RMN  $^{13}\text{C}$  (**Figure 22**) montre un carbone tertiaire (C-2) à  $\delta$  152,8 confirmant qu'il s'agit bien d'un isoflavonoïde. On observe également 2 carbones tertiaires intenses à  $\delta$  130,1 et 115,4 ppm confirmant la monosubstitution du cycle B. Les différents signaux des carbones de l'unité isoprénique et des carbones quaternaires fortement déblindés correspondants aux carbones aromatiques oxygénés sont également observés. L'interprétation de ces spectres nous laisse penser à une chélation en position 5 mais qui n'apparaît pas à cause de solvant utilisé pour l'analyse spectrale.



**Figure 22** : Spectre de RMN  $^{13}\text{C}$  en mode APT (125 MHz,  $\text{CDCl}_3\text{-CD}_3\text{OD}$ ) du composé  $\text{YG}_{18}$

Toutes ces données spectrales et les celles de la littérature nous ont permis d'attribuer à  $\text{YG}_{18}$  la structure **146** qui est celle de la 4',5,7-trihydroxy-8-prenylisoflavone isolée précédemment de *E. variegata* par Mohammed *et al.* (2010) [101].



**146**

**Tableau 21** : Données spectrales de RMN  $^1\text{H}$  et  $^{13}\text{C}$  (500 et 125 MHz,  $\text{CDCl}_3\text{-CD}_3\text{OD}$ ) du composé  $\text{YG}_{18}$  en comparaison avec celles de la littérature

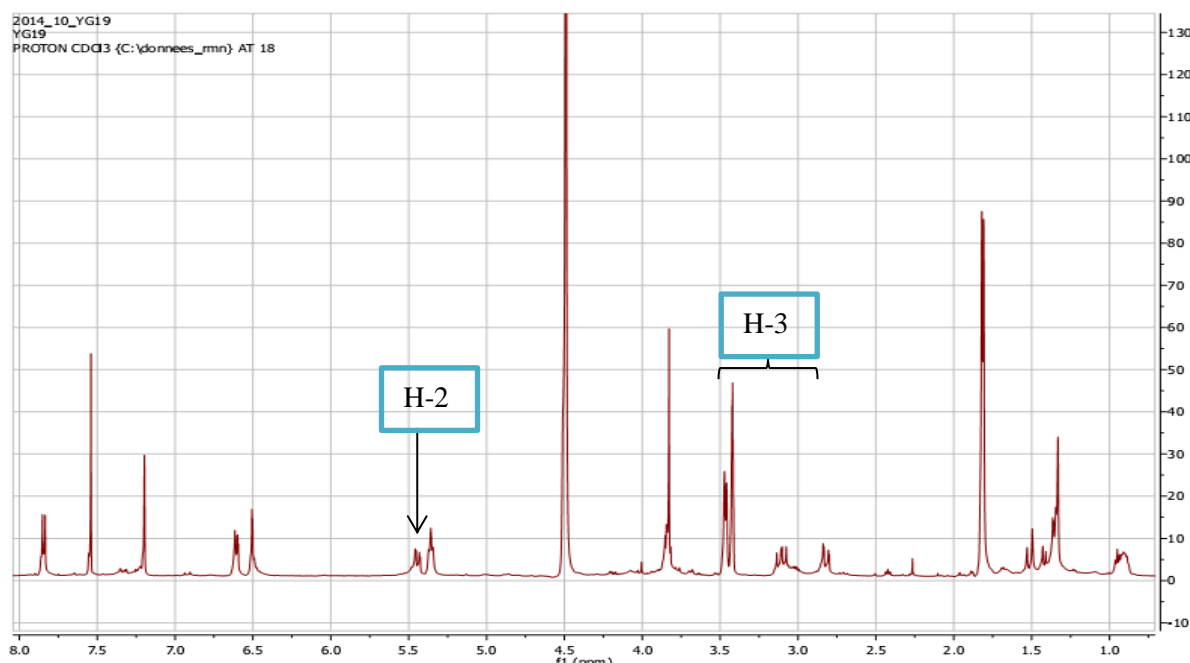
N° carbone	$\delta_{\text{C}}$ ppm	$\delta_{\text{H}}$ ppm	Données RMN $^1\text{H}$ (400 MHz, $\text{CDCl}_3$ de la littérature [101]
2	152,8 (d)	7,93 (1H, s)	7,71 (1H, s)
3	123,2 (s)		
4	181,3 (s)		
5	159,5 (s)		
6	98,7 (d)	6,31 (1H, s)	6,28 (1H, s)
7	161,6 (s)		
8	106,9 (s)		
9	155,4 (s)		
10	105,3 (s)		
1'	122,0 (s)		
2'	130,1 (d)	7,36 (1H, d, $J = 8.0$ Hz)	7,24 (1H, d)
3'	115,4 (d)	6,91 (1H, d, $J = 8.0$ Hz)	6,79 (1H, d)
4'	157,3 (s)		
5'	115,4 (d)	6,91 (1H, d, $J = 8.0$ Hz)	6,79 (1H, d)
6'	130,1 (d)	7,36 (1H, d, $J = 8.0$ Hz)	7,24 (1H, d)
1''	21,3 (t)	3,44 (2H, d, $J = 5$ Hz)	3,28 (2H, d)
2''	122,0 (d)	5,23 (1H, t, $J = 5 ; 15$ Hz)	5,17 (1H, t)
3''	131,9 (s)		
4''	17,6 (q)	1,81 (3H, s)	1,70 (3H, s)
5''	25,6 (q)	1,61 (3H, s)	1,59 (3H, s)



### II.1.3.1.8 Identification du composé YG<sub>19</sub> (abyssinone-IV-4'-methylether)

Le composé YG<sub>19</sub> est isolé des écorces des racines. Il cristallise sous forme de poudre blanche. Il répond positivement au test de la cyanhydrine caractéristique des flavonoïdes. Sa formule brute C<sub>26</sub>H<sub>30</sub>O<sub>4</sub>, correspondant à 12 insaturations, est déduite de l'analyse des données de ses différents spectres de RMN.

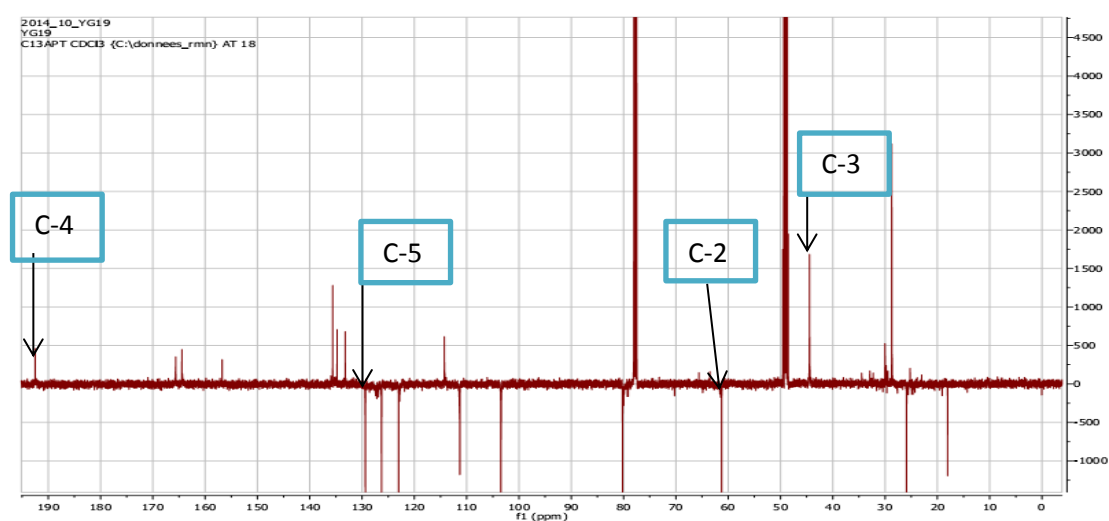
Son spectre de RMN <sup>1</sup>H (**Figure 23**) montre des signaux particuliers à δ 5,36 (1H, dd, *J* = 2,8 ; 13,2 Hz), 2,73 (1H, dd, *J* = 2,8 ; 17 Hz) et 3,74 (1H, d, *J* = 3,8 Hz) caractéristique des protons H-2 et H-3 du cycle C des flavanones [73]. YG<sub>19</sub> est donc une flavanone. En plus de ces signaux, on observe à δ 7,77 (1H, d, *J* = 8,5 Hz) ; 6,53 (1H, dd, *J* = 2,2 ; 8,5 Hz) ; 6,43 (1H, d, *J* = 2,2 Hz) et 7,13 (1H, s) des signaux qui correspondent respectivement, sur la base de leurs corrélations observées sur les spectres en 2D aux protons aromatiques du cycle A couplant dans un système ABX et ceux du cycle B, ce qui indique une monosubstitution sur le cycle A et une trisubstitution sur le cycle B. On observe également à δ 1,71 (3H, s), 1,72 (3H, s), 3,33 (2H, d, *J* = 6,9 Hz), 5,23 (1H, t, *J* = 10 Hz) et 3,71 (3H, s) des signaux qui correspondent respectivement aux protons des méthyles, de méthylène et au proton éthylénique de l'unité isoprénique et aux protons d'un groupement méthoxyle. Ce composé comporte donc deux unités isopréniques et un groupement méthoxyle.



**Figure 23** : Spectre RMN <sup>1</sup>H (500 MHz, CDCl<sub>3</sub>-CD<sub>3</sub>OD) du composé YG<sub>19</sub>

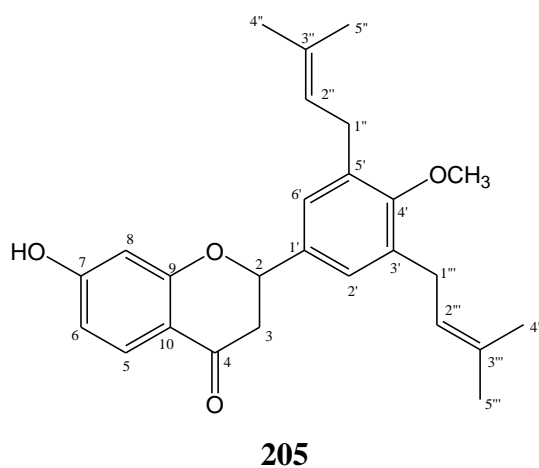
Sur son spectre de RMN <sup>13</sup>C (**Figure 24**) on observe à δ 79,3 et 44,1 des signaux caractéristiques qui permettent de confirmer que YG<sub>19</sub> est une flavanone. En plus de ces deux

signaux, ce spectre montre également 8 carbones quaternaires correspondant entre autre au carbonyle à  $\delta$  192,5 ; aux carbones liés aux oxygènes, aux carbones des noyaux aromatiques et de l'unité isoprényle ; 5 carbones tertiaires correspondant aux méthines des cycles A, B et de l'unité isoprénique. Il est à noter que l'intensité du méthine du cycle B et celui de l'isoprène nous permet de dire qu'il y'a une superposition pour ces deux signaux. Un carbone secondaire qui est celui du méthylène de l'unité isoprénique. Sa longueur nous indique également une superposition pour ce signal. Trois carbones primaires correspondant aux méthyles de l'unité isoprénique et au groupement méthoxyle. La valeur du méthyle du méthoxyle qui est supérieure à la valeur normale indique qu'il est substitué de part et d'autre sur ses positions *ortho* [119] ; d'où la présence de deux unités isopréniques.



**Figure 24** : Spectre RMN  $^{13}\text{C}$  : APT (125 MHz,  $\text{CDCl}_3\text{-CD}_3\text{OD}$ ) du composé  $\text{YG}_{19}$

L'ensemble de ces données ; les données de ses spectres 2D et les données de la littérature nous ont permis d'attribuer à  $\text{YG}_{19}$  la structure **205** qui est celle de l'abyssinone-IV-4'-methylether isolé précédemment de *E. mildbraedii* par Minkyun *et al* (2006) [124].



**Tableau 22** : Données spectrales de RMN  $^1\text{H}$  et  $^{13}\text{C}$  (500 et 125 MHz,  $\text{CDCl}_3\text{-CD}_3\text{OD}$ ) du composé  $\text{YG}_{19}$  en comparaison avec celles de la littérature

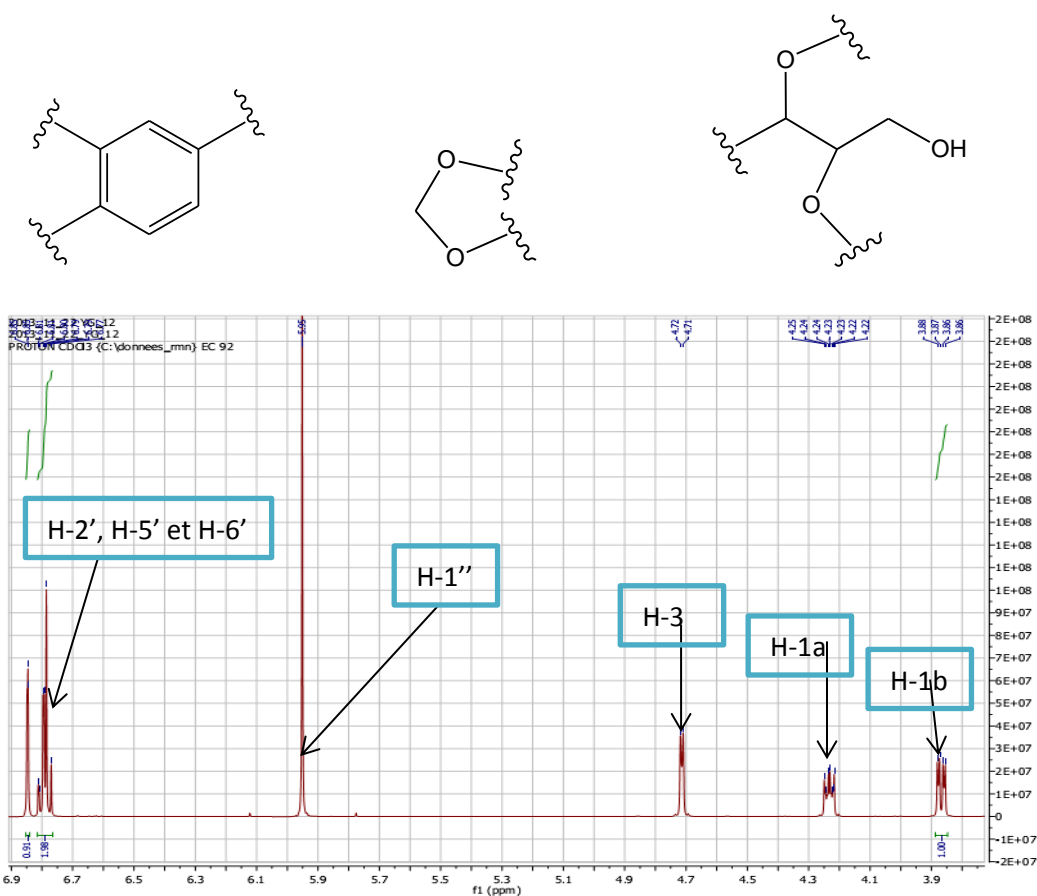
N° carbone	$^{13}\text{C}$ ( $\delta_{\text{C}}$ )	H ( $\delta_{\text{H}}$ )	Données RMN $^1\text{H}$ et $^{13}\text{C}$ (400 et 125 MHz, $\text{CDCl}_3$ ) de la littérature [124]	
2	79,3 (d)	5,36 (1H, dd, $J = 2,8 ; 13,2\text{Hz}$ )	80,2 (d)	5,38 (1H, dd)
3	44,1 (t)	3,74 (1H, dd, $J = 2,8 ; 17\text{ Hz}$ ) 2,73 (1H, dd, $J = 2,8 ; 17\text{ Hz}$ )	44,1 (t)	3,06 (1H, dd) 2,80 (1H, dd)
4	192,5 (s)		191,3 (s)	
5	128,9 (d)	7,77 (1H, d, $J = 8,5\text{ Hz}$ )	129,6 (d)	7,87 (1H, d)
6	110,8 (d)	6,53 (1H, dd, $J = 2,2 ; 8,5\text{Hz}$ )	110,6 (d)	6,54 (1H, d)
7	164,9 (s)		163,9 (s)	
8	102,7 (d)	6,43 (1H, d, $J = 2,2\text{ Hz}$ )	103,7 (d)	6,47 (1H, d)
9	163,9 (s)		162,8 (s)	
10	113,6 (s)		115,4 (s)	
1'	134,2 (s)		134,4 (s)	
2'	125,5 (d)	7,13 (1H, s)	126,1 (d)	7,12 (1H, s)
3'	135,2 (s)		135,5 (s)	
4'	156,2 (s)		156,8 (s)	
5'	135,2 (s)		135,5 (s)	
6'	125,5 (d)	7,13 (1H, s)	126,1 (d)	7,12 (1H, s)
1''	28,4 (t)	3,33 (2H, d, $J = 6,9\text{ Hz}$ )	28,6 (t)	3,40 (2H, d)
2''	122,3 (d)	5,23 (1H, m)	122,9 (d)	5,30 (1H, m)
3''	132,4 (s)		133,1 (s)	
4''	25,6 (q)	1,72 (3H, s)	26,0 (q)	1,76 (3H, s)
5''	17,3 (q)	1,71 (3H, s)	18,1 (q)	1,74 (3H, s)
1'''	28,4 (t)	3,33 (2H, d, $J = 6,9\text{ Hz}$ )	28,6 (t)	3,40 (2H, d)
2'''	122,3 (d)	5,23 (1H, m)	122,9 (d)	5,30 (1H, m)
3'''	132,4 (s)		133,1 (s)	
4'''	25,6 (q)	1,72 (3H, s)	26,0 (q)	1,76 (3H, s)
5'''	17,3 (q)	1,71 (3H, s)	18,1 (q)	1,74 (3H, s)
4'-OMe	60,8 (q)	3,71 (3H, s)	61,1 (q)	3,76 (s)

## II.1.3.2 Les autres métabolites secondaires

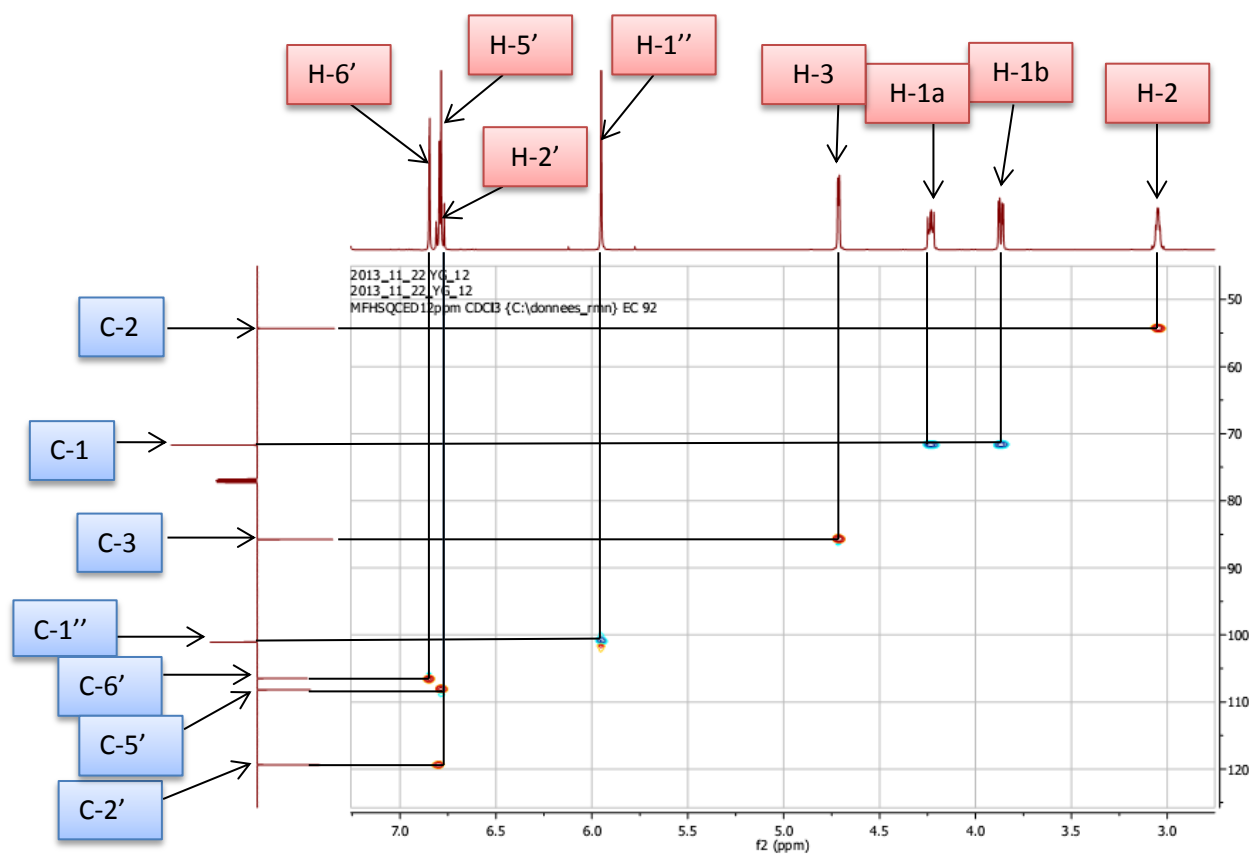
### II.1.3.2.1 Identification du composé YG<sub>12</sub> (3-(3',4'-méthylènedioxyphényl)-2,3-époxypropanole)

Le produit YG<sub>12</sub> est obtenu du bois des racines. Il cristallise sous forme d'une poudre blanche. Sa formule brute C<sub>10</sub>H<sub>10</sub>O<sub>4</sub>, correspondant à 6 insaturations, est déduite de l'analyse des données de ses différents spectres de RMN et de celles de son spectre de masse ESI-TOF.

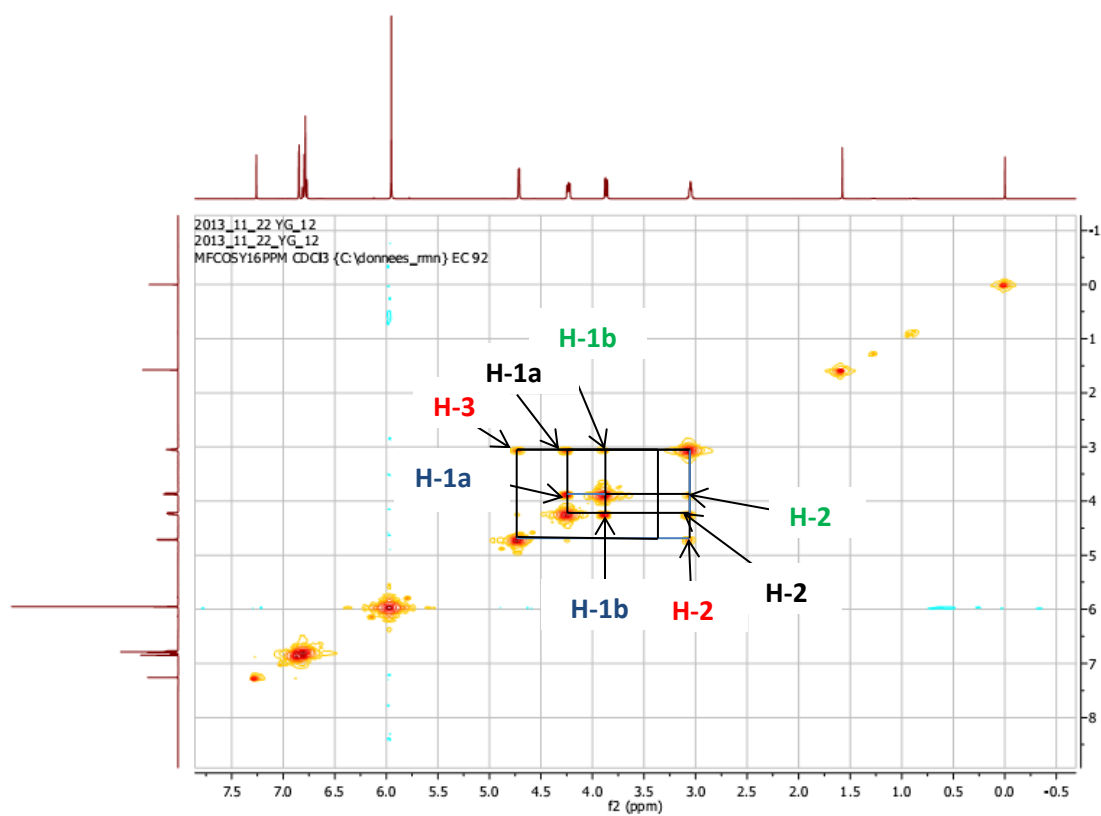
Son spectre de RMN <sup>1</sup>H (**Figure 25**) montre des signaux à δ 6,77 (1H, s, H-5'), 6,81 (1H, d, *J* = 1,6 Hz ; H-2') et 6,85 (1H, d, *J* = 1,6 Hz, H-6') qui sont des signaux aromatiques qui, d'après le spectre COSY <sup>1</sup>H-<sup>1</sup>H (**Figure 27**) corrélient par un système ABX ; indiquant ainsi que ce cycle aromatique est trisubstitué. On observe également un signal intense à δ 5,95 (2H, s, H-1'') qui correspond au signal des protons d'un dioxyméthylène. On observe aussi à δ 3,05 (1H, q, H-2) ; 4,27 (1H, dd, *J* = 3,8 ; 9,1 Hz) H-1a) ; 3,87 (1H, dd, *J* = 3,8 ; 9,1 Hz, H-1b), et 4,71 (1H, d, *J* = 4,4 Hz, H-3) des signaux qui opèrent des couplages sur le spectre COSY <sup>1</sup>H-<sup>1</sup>H correspondant à une unité aliphatique constituée de 3 carbones : deux oxyméthines et un oxyméthylène. Nous avons donc pour ce composé les sous structures suivantes :



**Figure 25:** Spectre RMN <sup>1</sup>H (500 MHz, CDCl<sub>3</sub>) du composé YG<sub>12</sub>

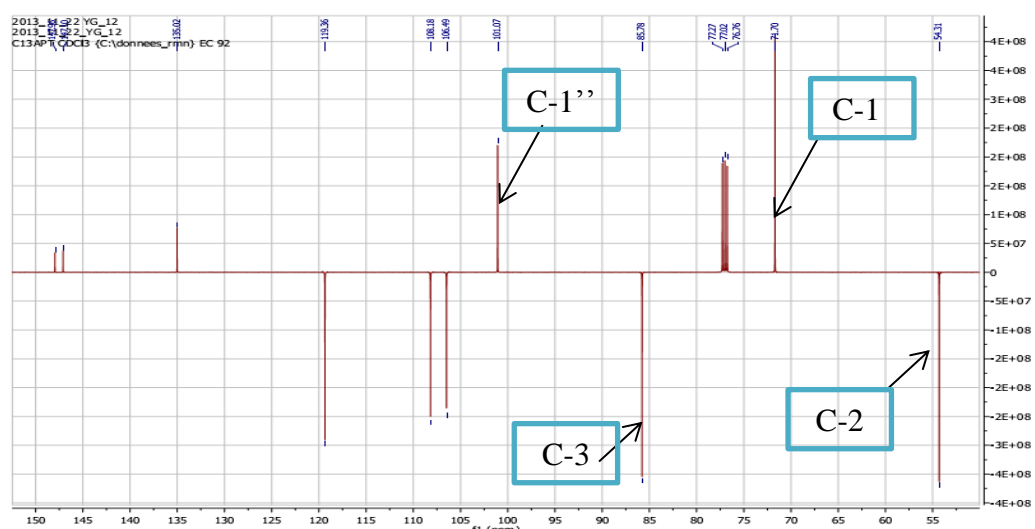


**Figure 26** : Spectre HSQC ( $^1\text{H}$  : 500 MHz,  $^{13}\text{C}$  : 125 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ) du composé YG<sub>12</sub>

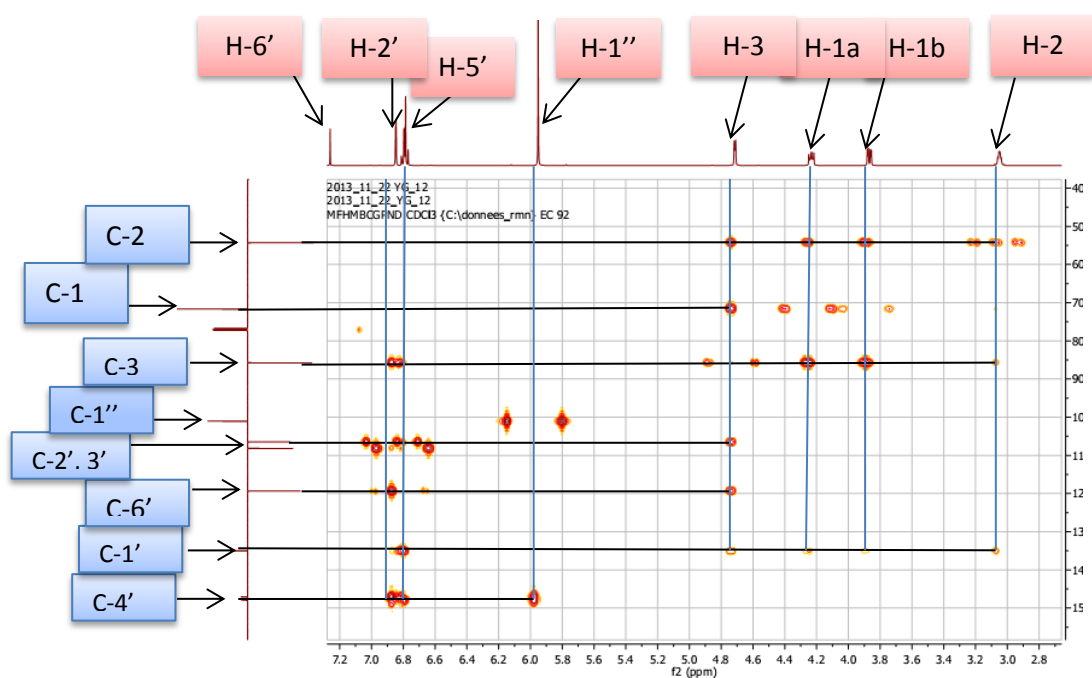


**Figure 27** : Spectre COSY  $^1\text{H}$ - $^1\text{H}$  (500 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ) du composé YG<sub>12</sub>

Sur son spectre de RMN  $^{13}\text{C}$  (**Figure 28**), on observe des signaux caractéristiques respectivement à  $\delta$  101,1 correspondant au carbone d'un dioxyméthylène ; à  $\delta$  147,1 et 147,5 suggérant que nous avons affaire à est un benzodioxyméthylène. En plus de ces signaux, on observe 2 carbones d'oxyméthines à  $\delta$  54,3 ; 85,8 et un carbone secondaire fortement déblindé d'oxyméthylène à  $\delta$  71,7 ce qui confirme le caractère fortement oxygéné de la chaîne aliphatique qui serait directement liée au noyau aromatique. On observe également des signaux à  $\delta$  106,2 ; 108,5 ; 119,4 et 135,0 qui correspondent respectivement aux carbones des méthines aromatiques et au carbone quaternaire qui porterai la chaîne aliphatique.

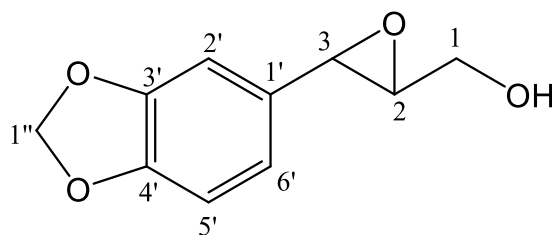


**Figure 28** : Spectre RMN  $^{13}\text{C}$  en mode APT (125 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ) du composé YG<sub>12</sub>



**Figure 29** : Spectre HMBC ( $^1\text{H}$  : 500 MHz,  $^{13}\text{C}$  : 125 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ) du composé YG<sub>12</sub>

Les corrélations observées sur son spectre HMBC (**Figure 29**) entre H-1'' (5,95 ppm)/C-4' (147,5 ppm), H-3 (4,71 ppm)/C-1' (135,0 ppm), C-6' (119,4 ppm) et C-2' (108,5 ppm), et les différents protons de la chaîne aliphatique avec les carbones qui les portent et les données de la littérature ont permis d'attribuer à YG<sub>12</sub> la structure **206** avec pour nom systématique : le 3-(3',4'-méthylènedioxyphényl)-2,3-époxypropanole, qui a été précédemment isolée de *Artemisia vulgaris* L. par Xenia *et al.* (2000) [125] et tout juste suggéré comme structure par ces derniers. Il est donc ici isolé de la super famille des Légumineuses pour la première fois et totalement décrit à l'aide de ses données spectrales.



**206**

**Tableau 23** : Données spectrales de RMN <sup>1</sup>H (500 MHz, CDCl<sub>3</sub>), RMN <sup>13</sup>C (125 MHz, CDCl<sub>3</sub>) et HMBC du composé YG<sub>12</sub>

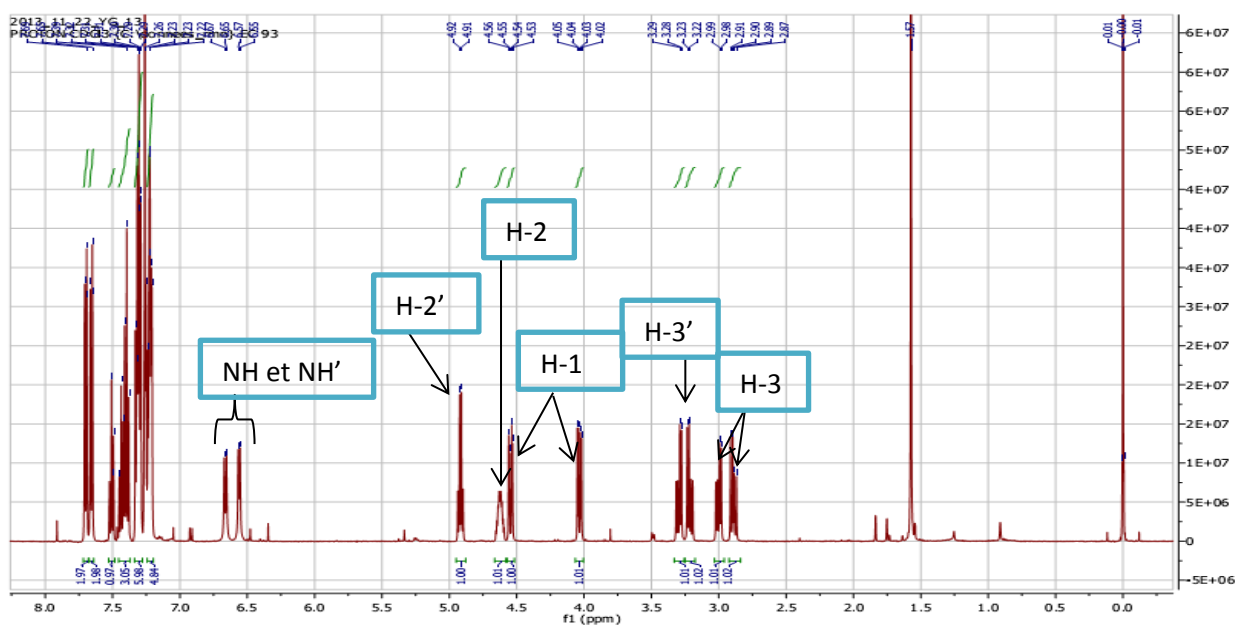
N° carbone	δ <sub>C</sub> ppm	δ <sub>H</sub> ppm	HMBC
1a	71,7 (t)	4,27 (1H, dd, <i>J</i> = 3,8 ; 9,1 Hz)	2/3/1'
b		3,87 (1H, dd, <i>J</i> = 3,8 ; 9,1 Hz)	2/3/1'
2	54,3 (d)	3,05 (1H, q)	1/3/1'
3	85,8 (d)	4,71 (1H, d, <i>J</i> = 4,4 Hz)	1/2/1'/5'/6'
1'	135,0 (s)		
2'	108,5 (d)	6,81 (1H, d, <i>J</i> = 1,3 Hz)	3/1'/6'
3'	147,1 (s)		
4'	147,5 (s)		
5'	106,2 (d)	6,77 (1H, s)	1'/4'
6'	119,4 (s)	6,85 (1H, d, <i>J</i> = 1,6 Hz)	1/2/5'
1''	101,1 (t)	5,95 (2H, s)	3'/4'

### II.1.3.2.2 Identification du composé YG<sub>13</sub> (asperphenamate)

Le composé YG<sub>13</sub> a été obtenu du bois des racines ; il cristallise sous forme de poudre blanche. Son spectre de masse sous ionisation électrospray laisse apparaître son pic de l'ion moléculaire à 508,6; valeur qui, combinée aux autres données spectrales nous permettent de lui attribuer la formule C<sub>32</sub>H<sub>30</sub>O<sub>4</sub>N<sub>2</sub> soit 18 insaturations.

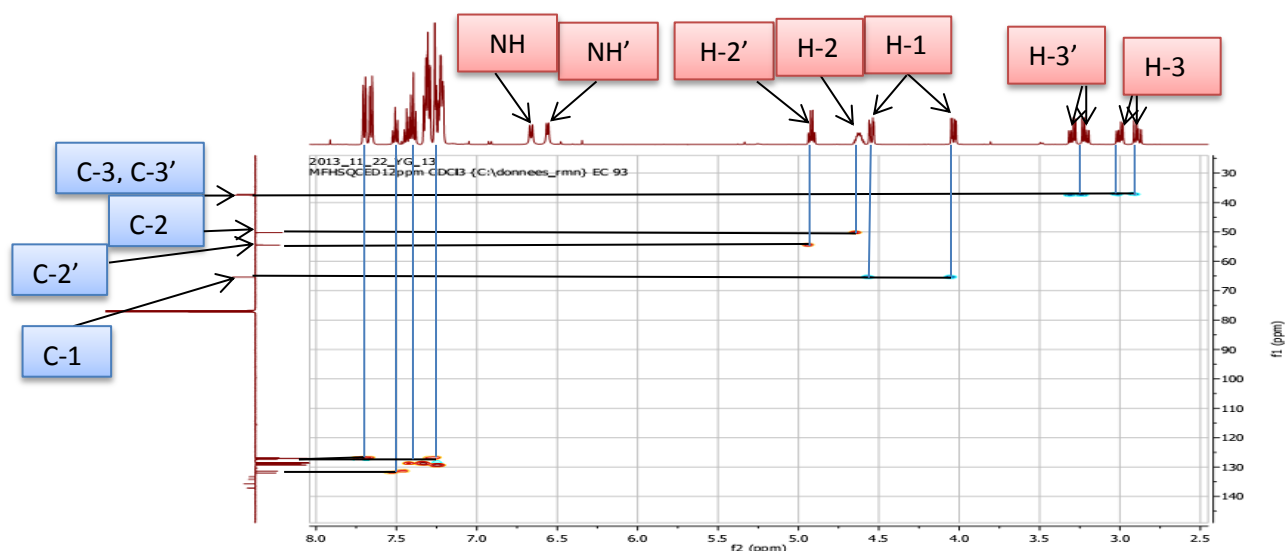
La présence sur son spectre de RMN <sup>1</sup>H (**Figure 30**) d'une série de quatre signaux à δ 2,91 (1H, dd, *J* = 8,2 ; 13,8 Hz, H-3a), 2,99 (1H, dd, *J* = 6,4; 13,8 Hz, H-3b), 3,21 (1H, dd, *J* = 7,3 ; 13,8 Hz, H-3'a) et 3,29 (1H, dd, *J* = 6,4; 13,8 Hz, H-3'b) ; de deux multiplets à δ 4,63 (1H, m, H-2) et 4,92 (1H, q, *J* = 6,6 Hz, H-2') corrélant tous partiellement entre eux sur le spectre COSY <sup>1</sup>H-<sup>1</sup>H (**Figure 32**) nous permet de penser que YG<sub>13</sub> est un composé quasi symétrique. Les intégrations de la zone aromatique entre 7,21 et 7,71 ppm de ce même spectre suggèrent la présence de 20 protons aromatiques.

La présence de deux signaux à δ 6,56 (1H, d, *J* = 6,6 Hz) et 6,65 (1H, d, *J* = 8,5 Hz) n'apparaissant pas sur le spectre HSQC (**Figure 31**) mais effectuant des corrélations en COSY <sup>1</sup>H-<sup>1</sup>H avec une partie de chacun des signaux aliphatiques énumérés plus haut et opérants également des couplages d'après le spectre HMBC (**Figure 34**) permet d'affirmer que ces signaux sont ceux des protons liés à un atome d'azote d'une fonction amide. Cette dualité de signaux similaire implique la présence de deux fonctions amides dans la molécule. En plus, la présence de deux signaux à δ 4,04 (1H, dd, *J* = 4,4 ; 11,3 Hz, H-1a) et 4,54 ppm (1H, dd, *J* = 3,2 ; 11,3 Hz, H-1b) opérant des couplages en COSY <sup>1</sup>H-<sup>1</sup>H et HMBC avec une partie de la molécule appuie l'hypothèse selon laquelle YG<sub>13</sub> est quasi symétrique.

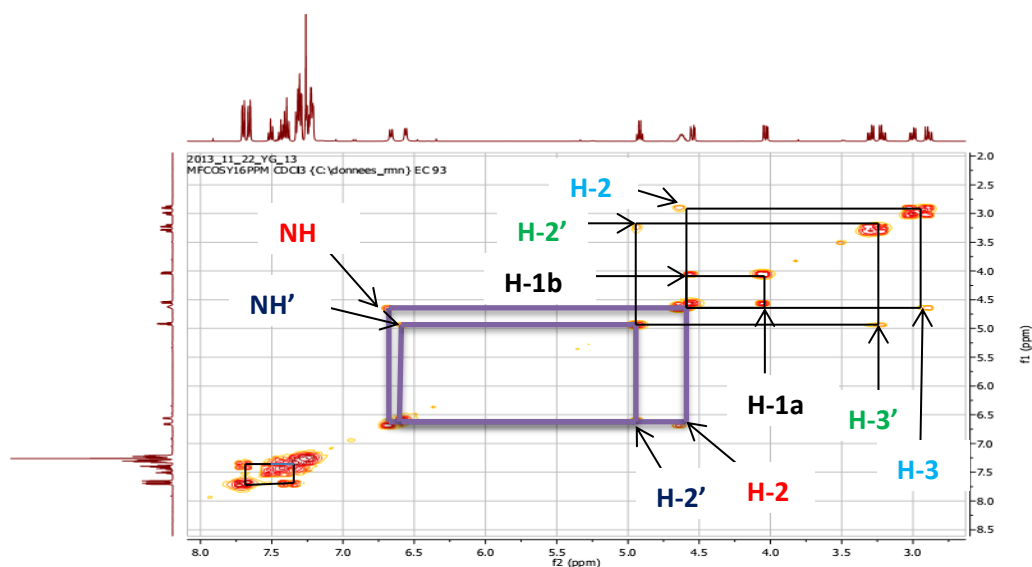


**Figure 30** : Spectre de RMN <sup>1</sup>H (500 MHz, CDCl<sub>3</sub>) du composé YG<sub>13</sub>



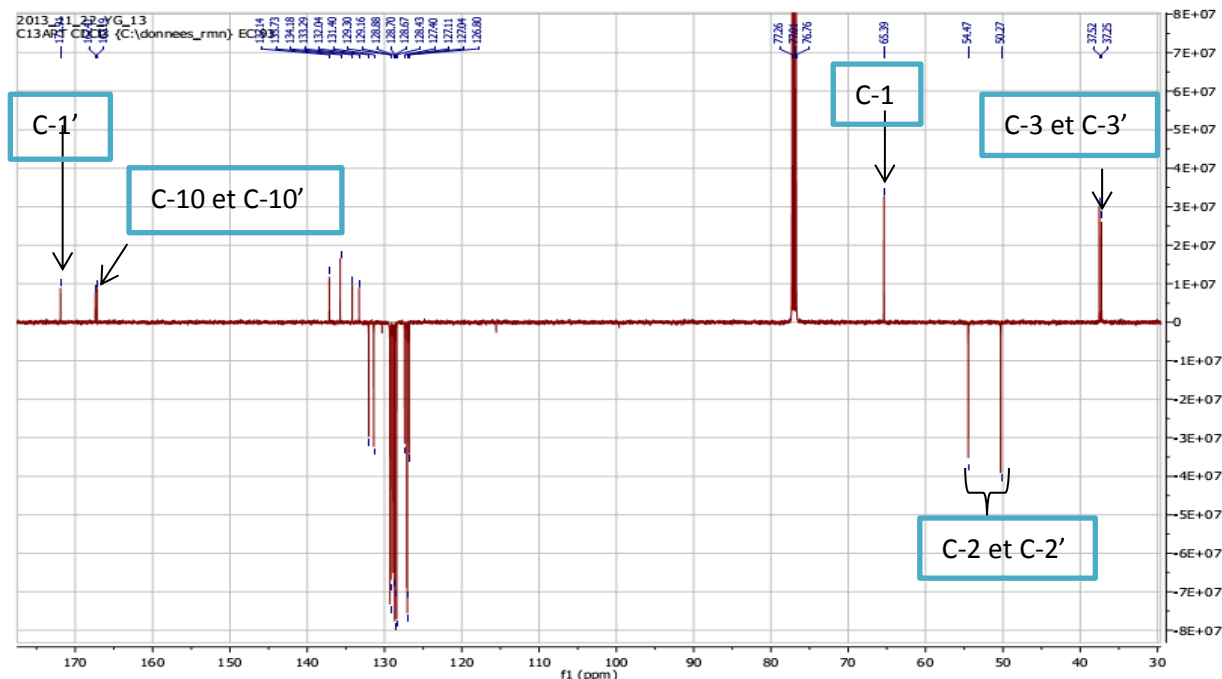


**Figure 31:** Spectre de HSQC ( $^1\text{H}$  : 500 MHz,  $^{13}\text{C}$  : 125 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ) du composé  $\text{YG}_{13}$

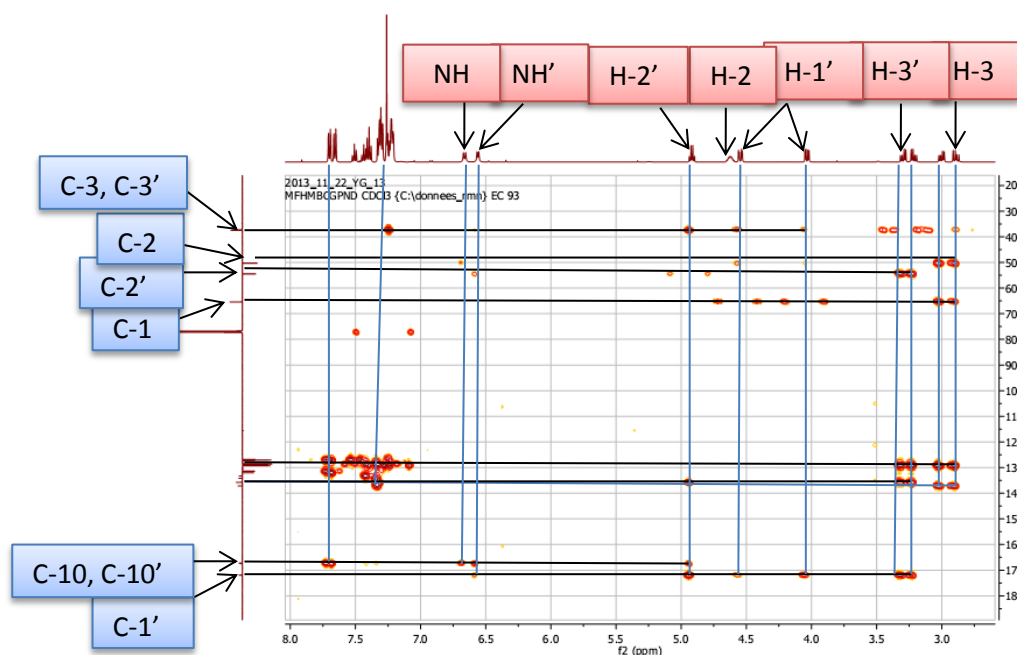


**Figure 32 :** Spectre de COSY  $^1\text{H}$ - $^1\text{H}$  (500 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ) du composé  $\text{YG}_{13}$

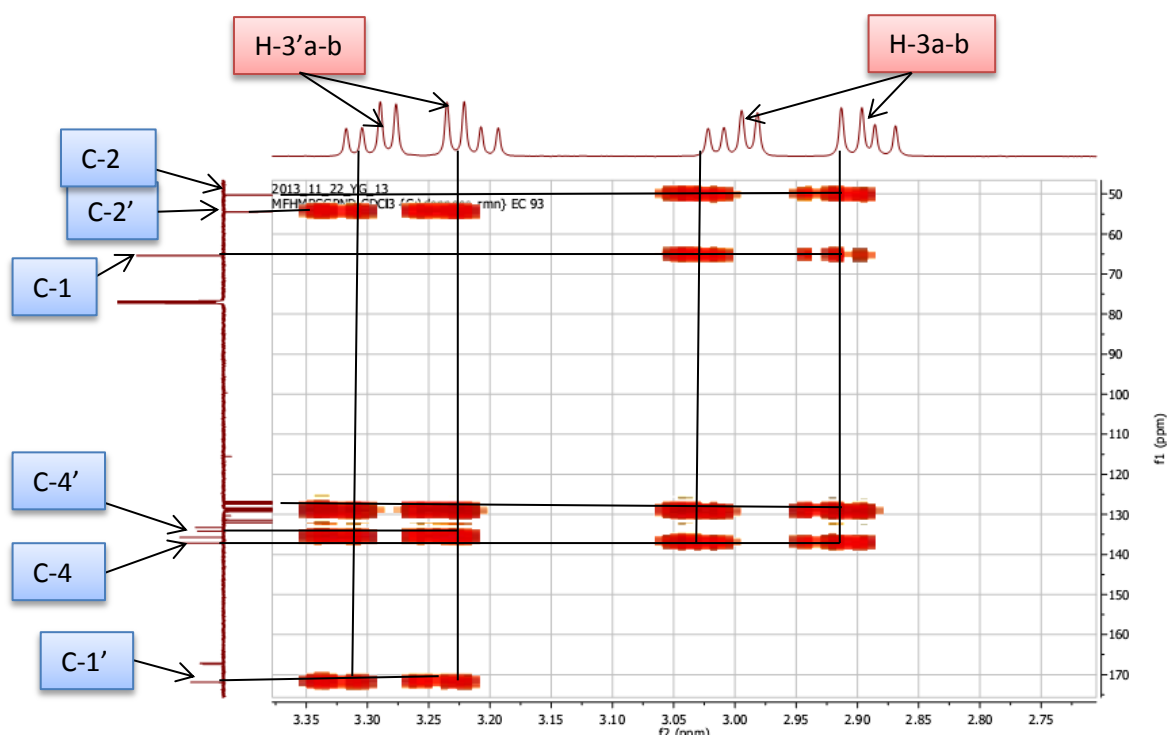
Son spectre de RMN  $^{13}\text{C}$  (**Figure 33**) présente des signaux caractéristiques à  $\delta$  167,2 ; 167,4 et 171,9 correspondant respectivement aux carbonyles des fonctions amides et à celui d'un ester ; on note également la présence à  $\delta$  37,2 ; 37,5 et 65,4 correspondant respectivement à deux méthylènes normaux et un oxyméthylène proche d'un carbonyle d'ester ; à  $\delta$  50,3 et 54,5 deux carbones de méthines déblindés par un groupement attracteur par mésomérie du sans doute à leur proximité avec des carbonyles ; et entre 137,1 et 127,0 ppm, une série de méthines aromatiques et de carbones quaternaires aromatiques.



**Figure 33** : Spectre de RMN  $^{13}\text{C}$  : APT (125 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ) du composé  $\text{YG}_{13}$   
 Plusieurs corrélations importantes sont observées sur son spectre HMBC (**Figure 34**) notamment entre les protons à  $\delta$  3,29 ; 3,21 ; 4,63 et le carbonyle de l'ester à 171,9 ppm ; entre le proton à  $\delta$  6,56 et le carbonyle de l'amide à  $\delta$  167,4 ppm et entre le proton à  $\delta$  6,65 et le carbonyle de l'amide à  $\delta$  167,2 ; entre les protons à  $\delta$  3,29 et 3,21 et le carbone à 135,6 ppm ; les protons à  $\delta$  2,91 et 2,99 et les carbones à  $\delta$  65,5 et 137,1 ; et entre le proton à 4,04 ppm et les carbones à  $\delta$  50,3 et 37,2. Corrélations appuyant l'hypothèse de deux blocs dans la molécule.

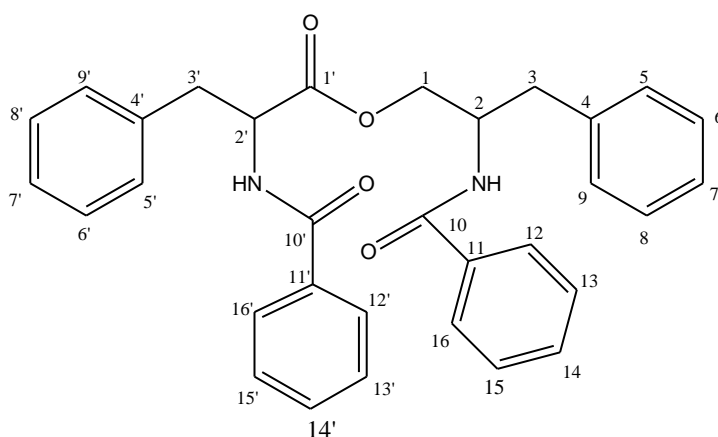


**Figure 34** : Spectre de HMBC ( $^1\text{H}$  : 500 MHz,  $^{13}\text{C}$  : 125 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ) du composé  $\text{YG}_{13}$



**Figure 34a** : Spectre de HMBC élargi ( $^1\text{H}$  : 500 MHz,  $^{13}\text{C}$  : 125 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ) de  $\text{YG}_{13}$

Toutes ces données spectrales et les informations présentes dans la littérature nous ont permis d'attribuer à  $\text{YG}_{13}$  la structure **207** qui est celle de l'asperphenamate, isolé pour la première fois de *Aspergillus flavus* par Clark *et al.* en 1977 [126] ; également isolé de *Piptadenia gonoacantha* par Mário *et al* (2010) [127], mais isolé pour la première fois du genre *Erythrina* au cours de ce travail.



**207**

**Tableau 24** : Données spectrales de RMN  $^1\text{H}$  (500 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ), RMN  $^{13}\text{C}$  (125 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ) et HMBC du composé  $\text{YG}_{13}$

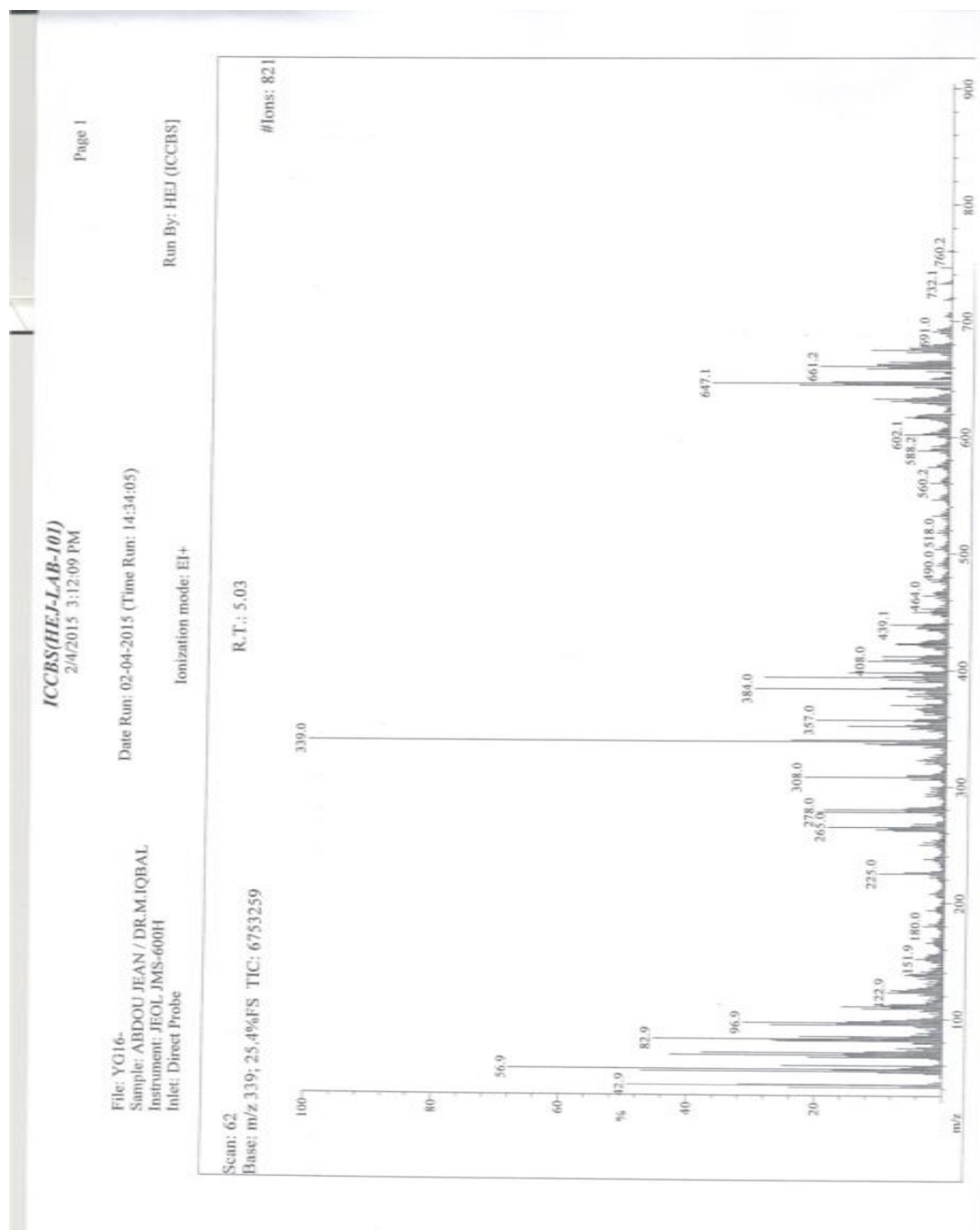
N° carbone	$\delta_{\text{C}}$ ppm (125 MHz)	$\delta_{\text{H}}$ ppm (500 MHz)	HMBC
1a	65,4 (t)	4,04 (1H, dd, $J = 11,3 ; 4,4$ Hz)	1'/2/3
b		4,54 (1H, dd, $J = 11,3 ; 3,2$ Hz)	1'/2/3
2	50,3 (d)	4,63 (1H, m)	4/10
3a	37,2 (t)	2,91 (1H, dd, $J = 13,8 ; 8,2$ Hz)	1/2/4/5
b		2,99 (1H, dd, $J = 13,8 ; 6,4$ Hz)	1/2/4/5
4	137,1 (s)		
5	129,3 (d)	7,48 (1H, s)	
6	127,0 (d)	7,21 (1H, m)	
7	126,8 (d)	7,31 (1H, m)	
8	127 (d)	7,21 (1H, m)	
9	129,3 (d)	7,48 (1H, s)	
10	167,2 (s)		
11	134,2 (s)		
12	127,4 (d)	7,66 (1H, dd, $J = 8,8 ; 1,2$ Hz)	10/13/14
13	129,2 (d)	7,33 (1H, m)	
14	131,4 (s)	7,45 (1H, tt, $J = 7,5 ; 1,3$ Hz)	12
15	129,2 (d)	7,33 (1H, m)	
16	127,4 (d)	7,66 (1H, dd, $J = 8,8 ; 1,2$ Hz)	10/14/15

**Tableau 24 suite** : Données spectrales RMN  $^1\text{H}$  (500 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ), RMN  $^{13}\text{C}$  (125 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ) et HMBC du composé  $\text{YG}_{13}$

N° carbone	$\delta_{\text{C}}$ ppm (125 MHz)	$\delta_{\text{H}}$ ppm (500 MHz)	HMBC
1'	171,9 (s)		
2'	54,5 (d)	4,92 (1H, q, $J = 6,6$ Hz)	1'/3'/4'/10'
3'a	37,5 (t)	3,21 (1H, dd, $J = 13,8 ; 7,3$ Hz)	1'/5'/6'
b		3,29 (1H, dd, $J = 13,8 ; 6,3$ Hz)	1'/2'/5'
4'	135,7 (s)		
5'	128,9 (d)	7,25 (1H, m)	
6'	128,7 (d)	7,25 (1H, m)	
7'	127 (d)	7,30 (1H, m)	
8'	128,7 (d)	7,25 (1H, m)	
9'	128,9 (d)	7,25 (1H, m)	
10'	167,4 (s)		
11'	133,3 (s)		
12'	128,4 (d)	7,71 (1H, dd, $J = 8,2 ; 1,2$ Hz)	10'/14'/15'
13'	127,1 (d)	7,42 (1H, tt, $J = 7,5 ; 1,2$ Hz)	
14'	132,4 (d)	7,50 (1H, tt, $J = 7,8 ; 1,2$ Hz)	12'
15'	127,1 (d)	7,42 (1H, tt, $J = 7,8 ; 1,3$ Hz)	
16'	128,4 (d)	7,71 (1H, d, $J = 0,9$ Hz)	10'/13'/14'
N-H		6,65 (1H, d, $J = 8,5$ Hz)	
N-H'		6,56 (1H, d, $J = 6,6$ Hz)	

### II.1.3.2.3 Elucidation du composé YG<sub>16</sub> (droogmansiamide)

Le composé YG<sub>16</sub> a été isolé du bois des racines. Il précipite sous forme de poudre blanche dans le mélange hex-AE 30%. Il fond entre 140-141 °C. Sa formule brute C<sub>40</sub>H<sub>78</sub>NO<sub>5</sub> correspondant à 2 insaturations est déduite des données des spectres de RMN, du spectre de masse en impact électronique (**Figure 35**) et à haute résolution (**Figure 35a**) montrant l'ion moléculaire à  $m/z$  653.5894.



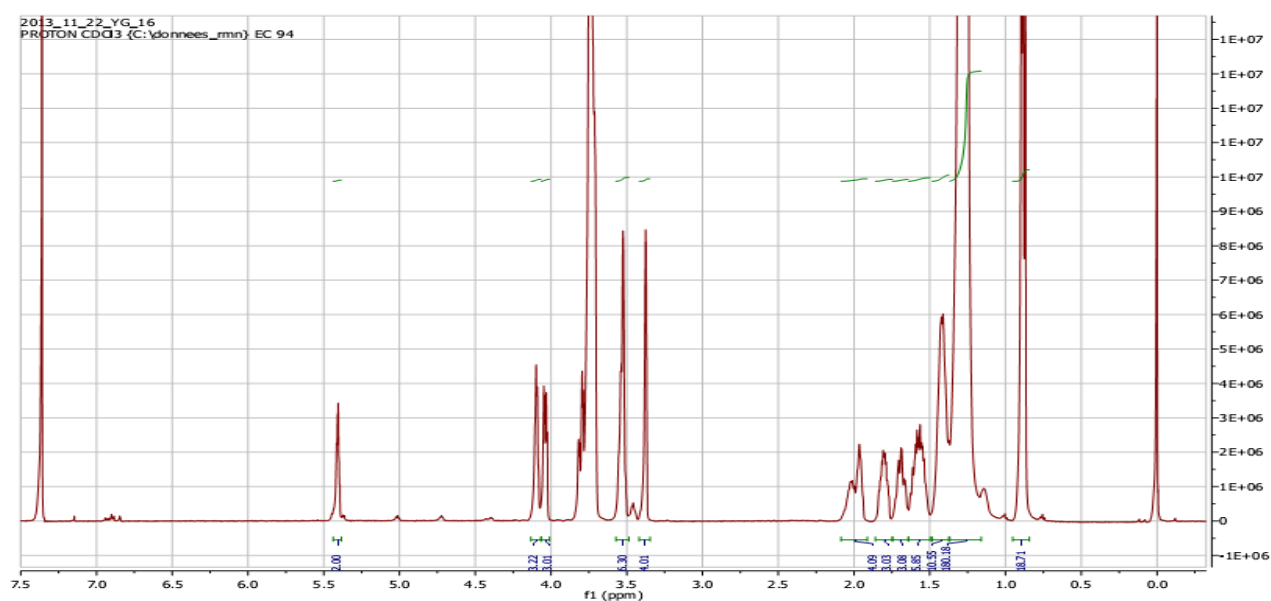
**Figure 35** : Spectre de masse en Impact Electronique du composé YG<sub>16</sub>

Mass	Relative Intensity	Theoretical Mass	Delta [ppm]	Delta [mmu]	RDB	Composition
		633.6060	12.2	7.8	3.0	C <sub>41</sub> H <sub>79</sub> O <sub>3</sub> N <sub>1</sub>
		634.6138	3.2	2.0	2.5	C <sub>41</sub> H <sub>79</sub> O <sub>3</sub> N <sub>1</sub>
634.6158	3.6	634.6264	-16.6	-10.5	2.0	C <sub>42</sub> H <sub>80</sub> O <sub>3</sub>
		634.6053	16.7	10.6	7.0	C <sub>45</sub> H <sub>79</sub> O <sub>1</sub>
635.6065	2.1	635.6005	9.5	6.0	7.0	C <sub>44</sub> H <sub>77</sub> O <sub>1</sub> N <sub>1</sub>
		635.6131	-10.3	-6.6	6.5	C <sub>45</sub> H <sub>79</sub> O <sub>1</sub>
		635.5978	13.7	8.7	2.5	C <sub>41</sub> H <sub>79</sub> O <sub>1</sub>
636.6007	1.1	636.6057	-7.7	-4.9	2.0	C <sub>41</sub> H <sub>80</sub> O <sub>1</sub>
		636.6083	-11.9	-7.6	6.5	C <sub>44</sub> H <sub>79</sub> O <sub>1</sub> N <sub>1</sub>
		636.5931	12.0	7.7	2.5	C <sub>40</sub> H <sub>78</sub> O <sub>1</sub> N <sub>1</sub>
637.6097	1.2	637.6135	-6.0	-3.8	1.5	C <sub>41</sub> H <sub>81</sub> O <sub>1</sub>
		637.6162	-10.2	-6.5	6.0	C <sub>44</sub> H <sub>79</sub> O <sub>1</sub> N <sub>1</sub>
		637.6009	13.7	8.7	2.0	C <sub>40</sub> H <sub>79</sub> O <sub>1</sub> N <sub>1</sub>
638.6201	0.6	638.6213	-1.9	-1.2	1.0	C <sub>41</sub> H <sub>82</sub> O <sub>1</sub>
		638.6240	-6.1	-3.9	5.5	C <sub>44</sub> H <sub>80</sub> O <sub>1</sub> N <sub>1</sub>
		638.6087	17.8	11.4	1.5	C <sub>40</sub> H <sub>80</sub> O <sub>1</sub> N <sub>1</sub>
639.6094	0.5	639.6080	2.2	1.4	5.5	C <sub>44</sub> H <sub>79</sub> O <sub>1</sub> N <sub>1</sub>
		639.6166	-11.2	-7.1	1.0	C <sub>40</sub> H <sub>81</sub> O <sub>1</sub> N <sub>1</sub>
641.6108	0.3	641.6111	-0.4	-0.3	5.0	C <sub>43</sub> H <sub>79</sub> O <sub>1</sub> N <sub>1</sub>
		641.6084	3.7	2.4	0.5	C <sub>40</sub> H <sub>81</sub> O <sub>5</sub>
		641.6025	12.9	8.3	9.5	C <sub>47</sub> H <sub>77</sub>
642.6085	0.6	642.6104	-2.9	-1.8	9.0	C <sub>39</sub> H <sub>80</sub> O <sub>1</sub> N <sub>1</sub>
		642.6036	7.6	4.9	0.0	C <sub>40</sub> H <sub>82</sub> O <sub>5</sub>
		642.6162	-12.0	-7.7	9.0	C <sub>44</sub> H <sub>77</sub> N <sub>1</sub>
643.6073	1.5	643.6056	2.6	1.7	0.0	C <sub>39</sub> H <sub>81</sub> O <sub>5</sub> N <sub>1</sub>
		643.6115	-6.5	-4.2	4.5	C <sub>43</sub> H <sub>79</sub> O <sub>3</sub>
		643.6029	6.8	5.3	8.0	C <sub>47</sub> H <sub>80</sub>
644.6207	1.9	644.6260	-8.2	-5.3	8.5	C <sub>46</sub> H <sub>78</sub> N <sub>1</sub>
		644.6134	11.3	7.3	4.0	C <sub>43</sub> H <sub>80</sub> O <sub>3</sub>
		644.6107	15.4	9.9	3.5	C <sub>43</sub> H <sub>81</sub> O <sub>3</sub>
645.6129	6.0	645.6186	-8.8	-5.7	4.0	C <sub>42</sub> H <sub>79</sub> O <sub>3</sub> N <sub>1</sub>
		645.6060	10.6	6.9	8.0	C <sub>46</sub> H <sub>79</sub> N <sub>1</sub>
		645.6213	-13.0	-8.4	3.5	C <sub>42</sub> H <sub>80</sub> O <sub>3</sub> N <sub>1</sub>
646.6097	4.7	646.6138	-6.4	-4.2	8.0	C <sub>46</sub> H <sub>79</sub> O <sub>1</sub>
		646.6053	6.8	4.4	3.0	C <sub>42</sub> H <sub>81</sub> O <sub>3</sub> N <sub>1</sub>
647.6183	11.7	647.6216	-5.1	-3.3	7.5	C <sub>46</sub> H <sub>79</sub> O <sub>1</sub>
		647.6131	8.1	5.2	7.0	C <sub>46</sub> H <sub>80</sub> O <sub>1</sub>
648.6149	5.8	648.6209	-9.2	-6.0	7.5	C <sub>45</sub> H <sub>78</sub> O <sub>1</sub> N <sub>1</sub>
		648.6083	10.2	6.6	3.0	C <sub>42</sub> H <sub>80</sub> O <sub>4</sub>
		648.6057	14.3	9.3	2.5	C <sub>42</sub> H <sub>81</sub> O <sub>4</sub>
649.6121	3.2	649.6135	-2.1	-1.4	7.0	C <sub>45</sub> H <sub>79</sub> O <sub>1</sub> N <sub>1</sub>
		649.6162	-6.2	-4.0	3.0	C <sub>41</sub> H <sub>79</sub> O <sub>1</sub> N <sub>1</sub>
		649.6009	17.3	11.2	7.0	C <sub>41</sub> H <sub>78</sub> O <sub>2</sub>
650.6029	1.4	650.6002	4.2	2.7	2.5	C <sub>45</sub> H <sub>80</sub> O <sub>1</sub> N <sub>1</sub>
		650.6087	-8.9	-5.8	6.5	C <sub>41</sub> H <sub>79</sub> O <sub>2</sub>
651.6093	1.7	651.6080	2.0	1.3	2.0	C <sub>45</sub> H <sub>81</sub> O <sub>1</sub> N <sub>1</sub>
		651.6166	-11.1	-7.2	6.5	C <sub>44</sub> H <sub>78</sub> O <sub>1</sub> N <sub>1</sub>
652.6022	1.3	652.6033	-1.5	-1.0	2.0	C <sub>41</sub> H <sub>80</sub> O <sub>5</sub>
		652.6006	2.6	1.7	11.0	C <sub>48</sub> H <sub>76</sub>
		652.5947	11.6	7.5	6.5	C <sub>47</sub> H <sub>75</sub> N <sub>1</sub>
653.5894	0.3	653.5900	-0.9	-0.6	2.1	C <sub>44</sub> H <sub>77</sub> O <sub>3</sub>
		653.5873	3.2	2.1	2.0	C <sub>40</sub> H <sub>79</sub> O <sub>5</sub> N <sub>1</sub>
		653.5958	-9.8	-6.4	10.5	C <sub>47</sub> H <sub>77</sub>
653.6009	0.3	653.6025	-2.5	-1.7	2.0	C <sub>40</sub> H <sub>79</sub> O <sub>5</sub> N <sub>1</sub>
		653.5958	7.7	5.0	1.5	C <sub>41</sub> H <sub>81</sub> O <sub>5</sub>
656.6266	0.2	653.6084	-11.5	-7.5	9.0	C <sub>48</sub> H <sub>80</sub>
		656.6260	0.9	0.6	0.0	C <sub>41</sub> H <sub>84</sub> O <sub>5</sub>
		656.6319	-8.1	-5.3	0.5	C <sub>46</sub> H <sub>82</sub> O <sub>5</sub> N <sub>1</sub>
657.5939	0.7	656.6193	11.1	7.3	1.0	C <sub>39</sub> H <sub>79</sub> O <sub>6</sub> N <sub>1</sub>
		657.5907	4.8	3.1	9.5	C <sub>47</sub> H <sub>77</sub> O <sub>1</sub> N <sub>1</sub>
		657.5974	-5.4	-3.6	10.0	C <sub>46</sub> H <sub>79</sub> O <sub>1</sub> N <sub>1</sub>
658.6153	0.7	657.5849	13.7	9.0	4.5	C <sub>43</sub> H <sub>80</sub> O <sub>3</sub> N <sub>1</sub>
		658.6138	2.2	1.5	0.0	C <sub>40</sub> H <sub>82</sub> O <sub>6</sub>
		658.6111	6.3	4.1	9.0	C <sub>47</sub> H <sub>79</sub> O <sub>1</sub>
		658.6053	15.2	10.0	8.5	C <sub>47</sub> H <sub>79</sub> O <sub>1</sub>
659.6164	2.4	659.6131	5.1	3.4	4.0	C <sub>43</sub> H <sub>81</sub> O <sub>1</sub> N <sub>1</sub>
		659.6216	-7.9	-5.2	0.0	C <sub>43</sub> H <sub>81</sub> O <sub>1</sub> N <sub>1</sub>
		659.6064	15.2	10.1	3.5	C <sub>43</sub> H <sub>82</sub> O <sub>1</sub> N <sub>1</sub>
660.6270	1.7	660.6295	-3.8	-2.5	8.0	C <sub>47</sub> H <sub>80</sub> O <sub>1</sub>
		660.6209	9.2	6.1		

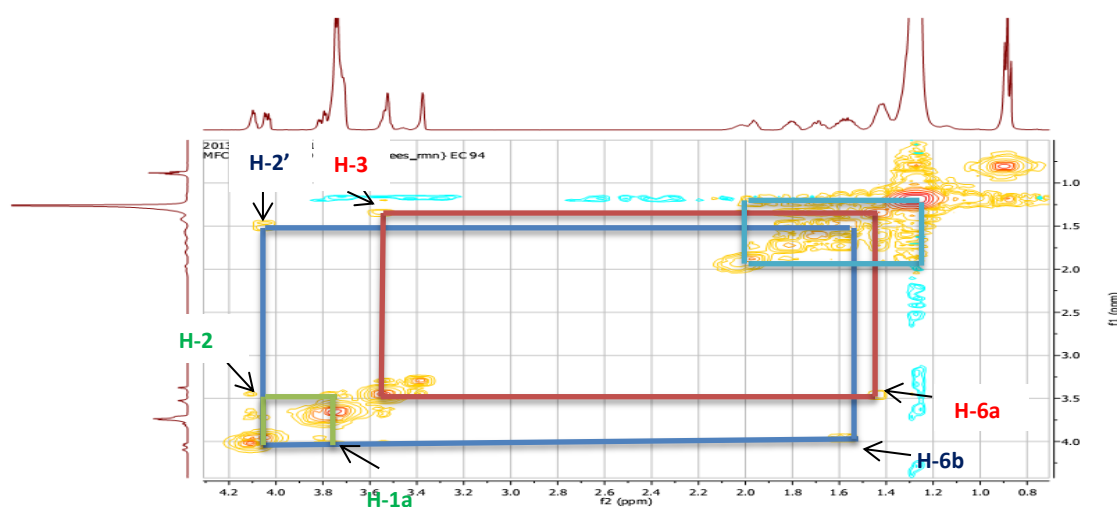
**Figure 35a** : Données HR du spectre de masse en Impact Electronique du composé YG<sub>16</sub>

Son spectre de RMN <sup>1</sup>H (**Figure 36**) présente un triplé intense à δ 0,88 (6H, t, J = 6,68 Hz, H-24; H-16') attribuable aux protons des deux méthyles terminaux de la chaîne aliphatique. Sur ce même spectre, on observe également un singulet large de plusieurs groupements méthylène à δ 1,27 (64 H, 32 CH<sub>2</sub>) ; les signaux à δ 1,42 (2H, m, H-14) et 2,01 (2H, m, H-15' ; H-23) sont attribuables aux protons de méthylènes proches des méthyles, à ceux des méthylènes déblindés soit par leur proximité à une double liaison éthylénique, et soit par d'autres méthylènes fortement déblindés. Ces signaux permettent de dire que YG<sub>16</sub> est un composé constitué d'une longue chaîne aliphatique. En plus de ces signaux, on observe des signaux caractéristique à δ 4,04 (1H, dd, J = 3,51 ; 8,16 Hz, H-2'); 3,53 (1H, dd, J = 2,38;

7,03 Hz, H-4) et 3,53 (1H, m, H-3) correspondant tous d'après l'analyse du spectre HSQC (**Figure 38**) à des protons d'oxyméthines, mais dont le premier est déblindé par un carbonyle ; à  $\delta$  3,72 (1H, d,  $J = 4,64$  Hz, H-1a) et 3,80 (1H, dd,  $J = 4,64 ; 12,17$  Hz, H-1b) correspondant d'après le même spectre aux protons d'un oxyméthylène ; à  $\delta$  4,10 (1H, q,  $J = 4,14$  Hz, H-2) correspondant à un proton méthine fortement déblindé et à  $\delta$  5,41 (2H, br,  $J = 5 ; 15$  Hz, H-19 et H-20) correspondant aux protons d'une double liaison éthylénique. Ces signaux nous permettent de dire que YG<sub>16</sub> est fortement oxygéné, possède une double liaison éthylénique et pourrait donc être une céramide dont le proton de l'amide n'apparaît pas sans doute à cause du solvant utilisé pour l'analyse.

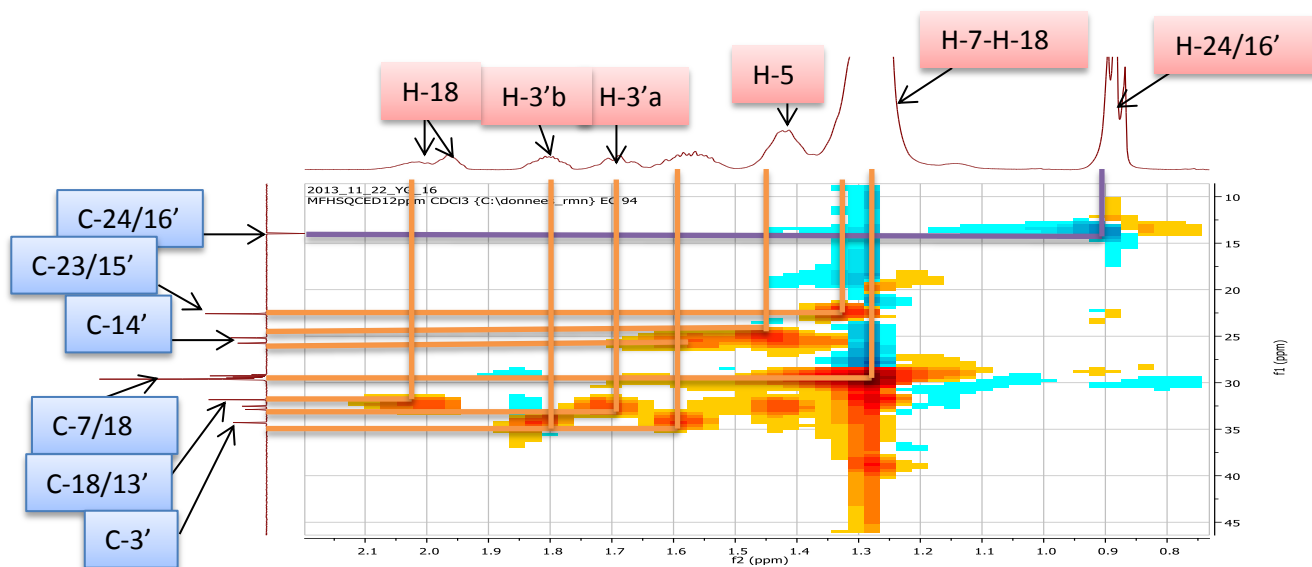


**Figure 36** : Spectre RMN <sup>1</sup>H (500 MHz, CDCl<sub>3</sub>-CD<sub>3</sub>OD) du composé YG<sub>16</sub>

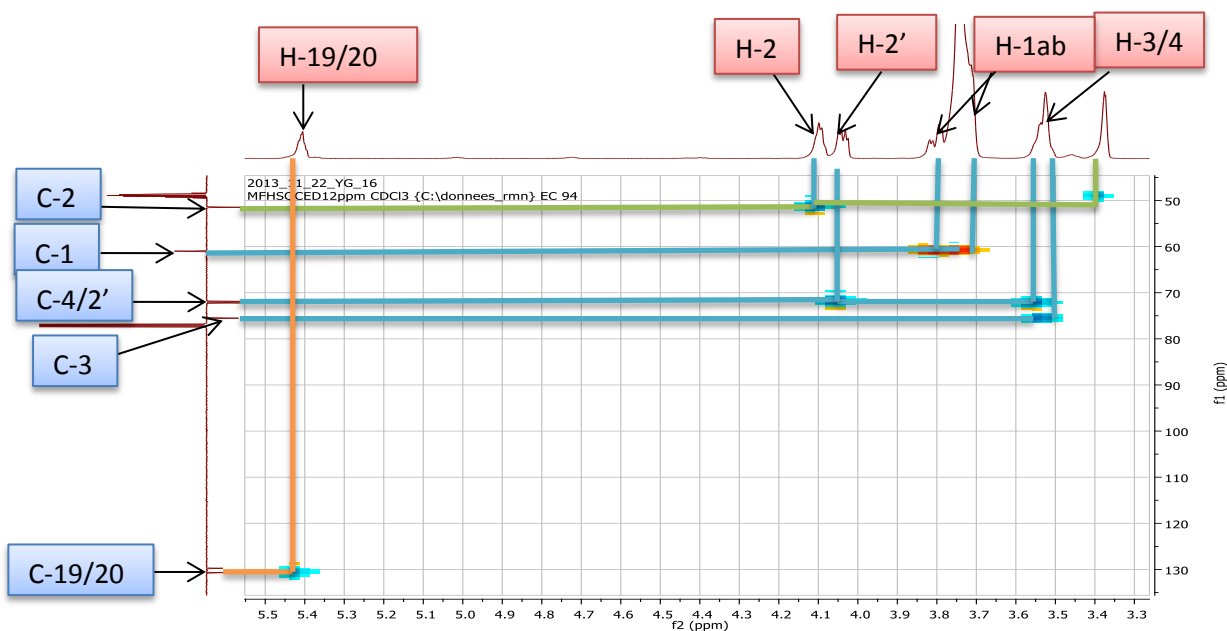


**Figure 37** : Spectre COSY <sup>1</sup>H-<sup>1</sup>H (500 MHz, CDCl<sub>3</sub>-CD<sub>3</sub>OD) du composé YG<sub>16</sub>





**Figure 38:** Spectre HSQC ( $^1\text{H}$  : 500 MHz,  $^{13}\text{C}$  : 125 MHz,  $\text{CDCl}_3\text{-CD}_3\text{OD}$ ) de  $\text{YG}_{16}$



**Figure 38a :** Spectre HSQC élargi ( $^1\text{H}$  : 500 MHz,  $^{13}\text{C}$  : 125 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ) de  $\text{YG}_{16}$

Sur son spectre de RMN  $^{13}\text{C}$  en mode APT (**Figure 39**), nous observons entre autre un carbone quaternaire à  $\delta$  175,6 correspondant au carbonyle d'une amide appuyant de ce fait l'hypothèse selon laquelle ce composé est une céramide ; 6 carbones tertiaires entre  $\delta$  51,5 et 130,6 correspondant respectivement au méthine en position 2 des sphingolipides, aux oxyméthines et aux carbones éthyléniques (129,7 et 130,6 ppm); 32 carbones secondaires parmi lesquels ceux à  $\delta$  61,0 ; 34,3 ; 32,9 ; 32,5 ; 32,5 ; 31,8 ; 25,8 ; 25,2 et 22,6 correspondant respectivement à l'oxyméthylène en bout de chaîne, aux méthylènes déblindés

par la double liaison d'une part, et ceux directement proches des oxyméthines d'autre part et deux carbones primaires superposés à  $\delta$  13,9 correspondant aux méthyles en bout de chaîne.

Toutes ces données sont en accord avec celles des *trans* céramides décrites dans la littérature qui sont d'une part caractérisées par la constante de couplage du proton de la double liaison (12-17 Hz) et les déplacements chimiques des carbones des méthylènes allyliques compris dans la zone de 32,2-34,4 ppm d'autre part [109 et 128]. Les corrélations observées sur les spectres HMBC (Figure 40), HSQC (Figure 38) et COSY  $^1\text{H}$ - $^1\text{H}$  (Figure 37) nous ont permis de positionner les différents oxyméthines.

La position de la double liaison et la longueur des chaînes latérales ont été déterminées par le spectre de masse en IE ; ainsi, le fragment à  $m/z = 225$  a permis de déterminer la longueur de la chaîne supérieure ; celui à  $m/z = 339$  la longueur de la chaîne inférieure et ceux à  $m/z = 83$  et  $m/z = 97$  la position de la double liaison comme décrit dans la littérature [109]. Il est à noter que le fragment qui nous a permis de justifier notre structure est celui à  $m/z = 439$  car plusieurs fragments de ce composé sont communs à plusieurs céramides. Le schéma 12 présente les différentes fragmentations de ce composé.

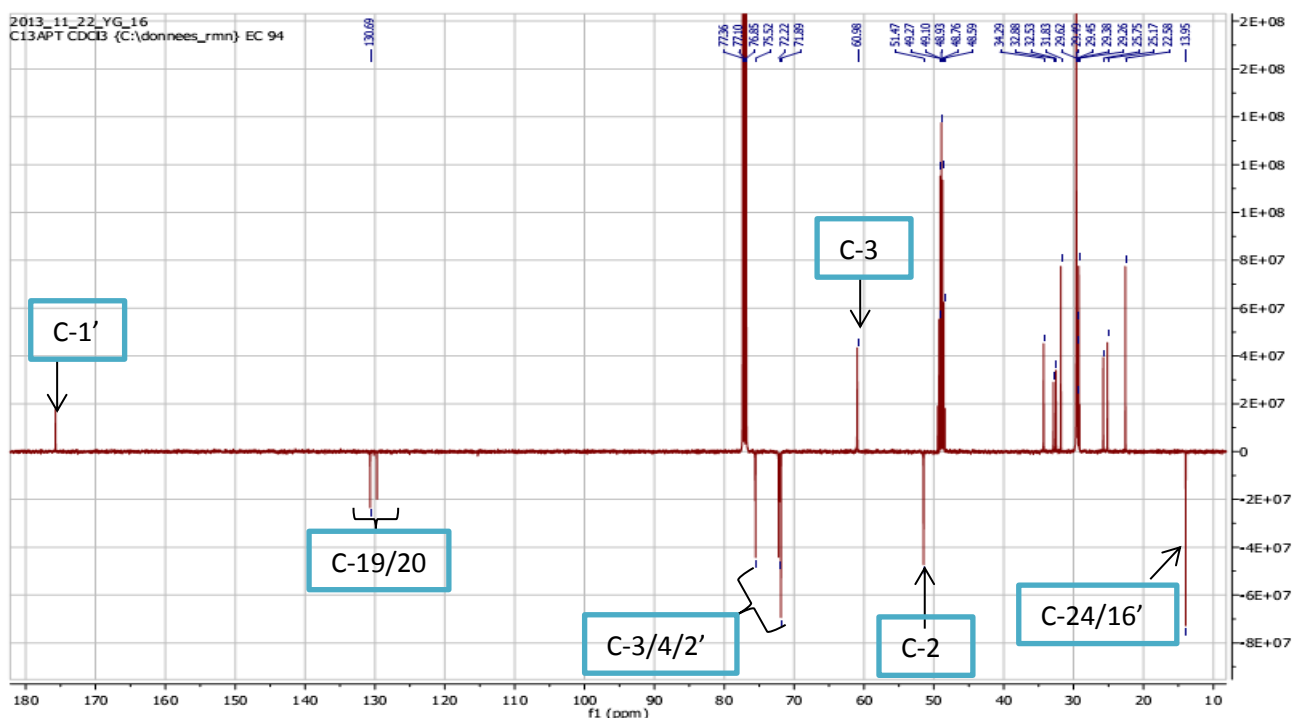


Figure 39: Spectre RMN  $^{13}\text{C}$  en mode APT (125 MHz,  $\text{CDCl}_3$ - $\text{CD}_3\text{OD}$ ) du composé  $\text{YG}_{16}$

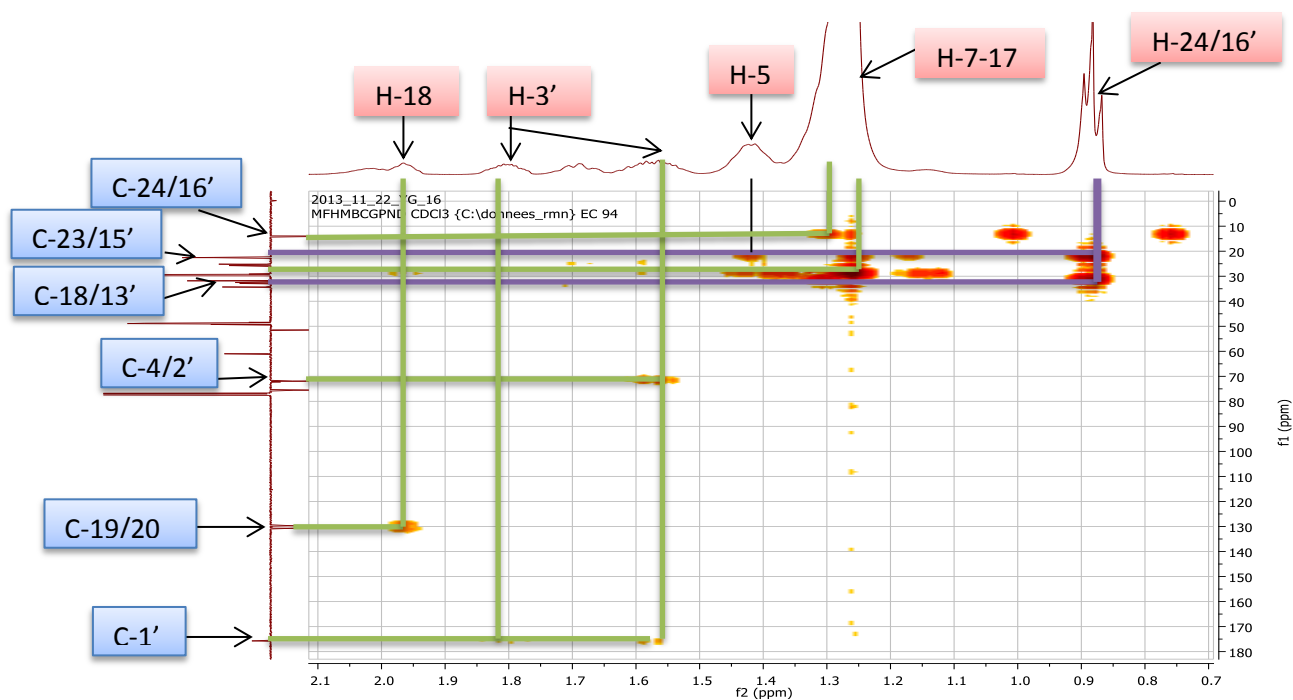


Figure 40 : Spectre HMBC élargi ( $^1\text{H}$  : 500 MHz,  $^{13}\text{C}$  : 125 MHz,  $\text{CDCl}_3\text{-CD}_3\text{OD}$ ) de YG<sub>16</sub>

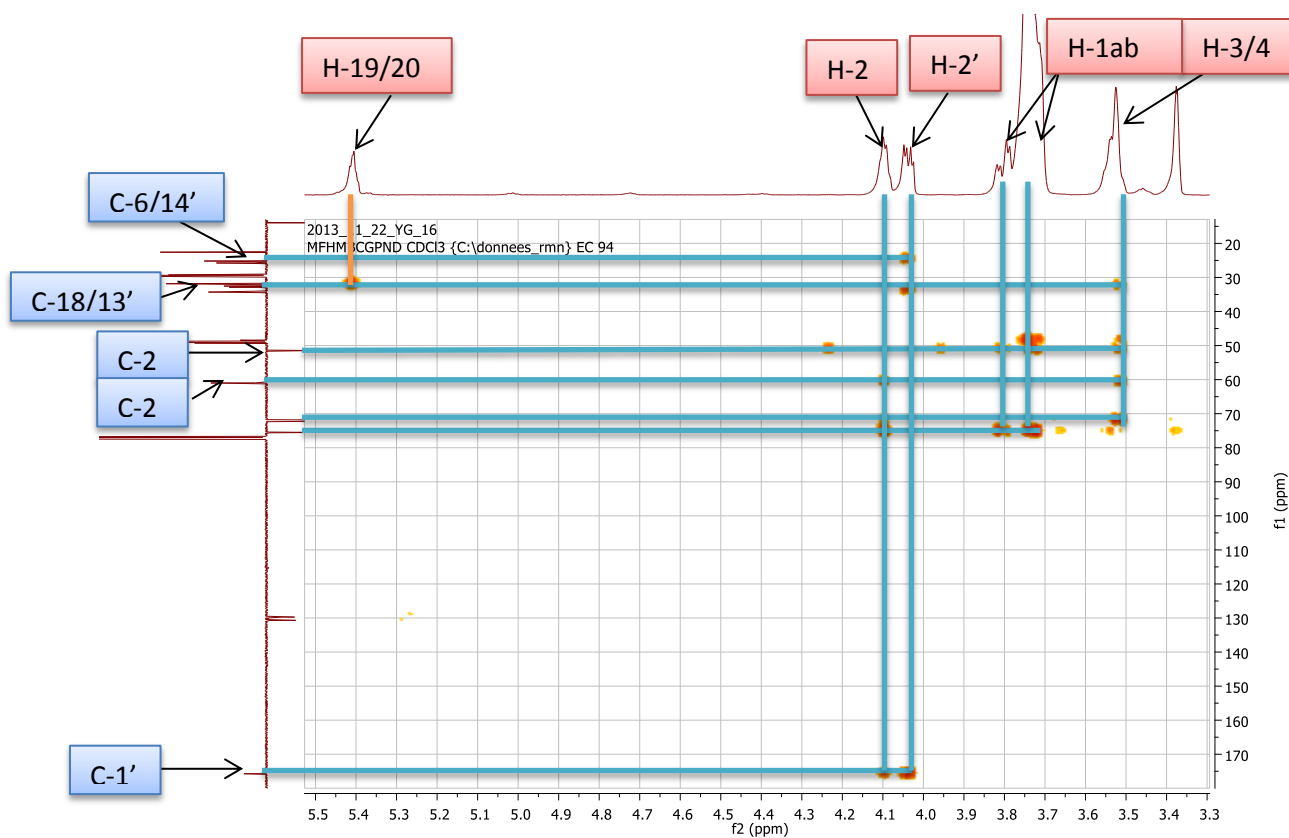
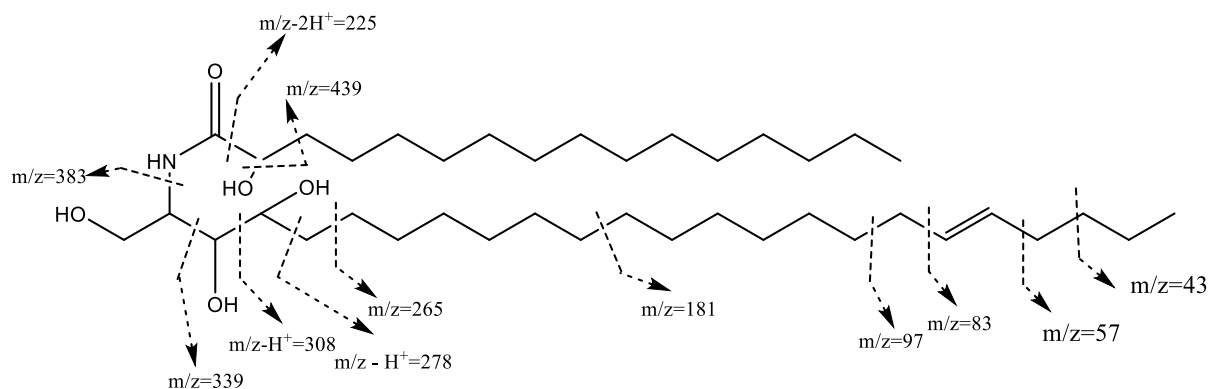
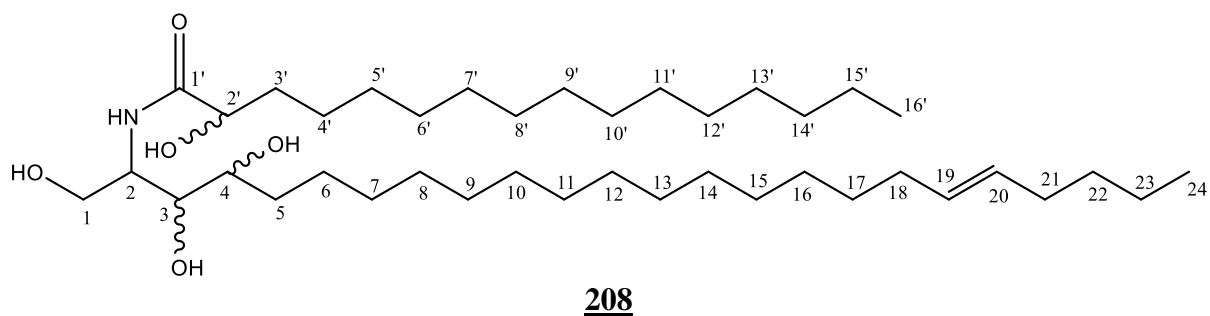


Figure 40a : Spectre HMBC ( $^1\text{H}$  : 500 MHz,  $^{13}\text{C}$  : 125 MHz,  $\text{CDCl}_3\text{-CD}_3\text{OD}$ ) de YG<sub>16</sub>



**Schéma 10** : Différentes fragmentations du composé YG<sub>16</sub>

L'ensemble de toutes ces données spectrales combinées à celles décrites dans la littérature nous ont donc permis d'attribuer à YG<sub>16</sub> la structure **208** qui est une céramide de nom 1,3,4-trihydroxy-2-(2'-hydroxyicosanoylamino)-19*E*-docosène isolé et caractérisé ici pour la première fois et à qui nous avons donné le nom de **droogmansiamide**.

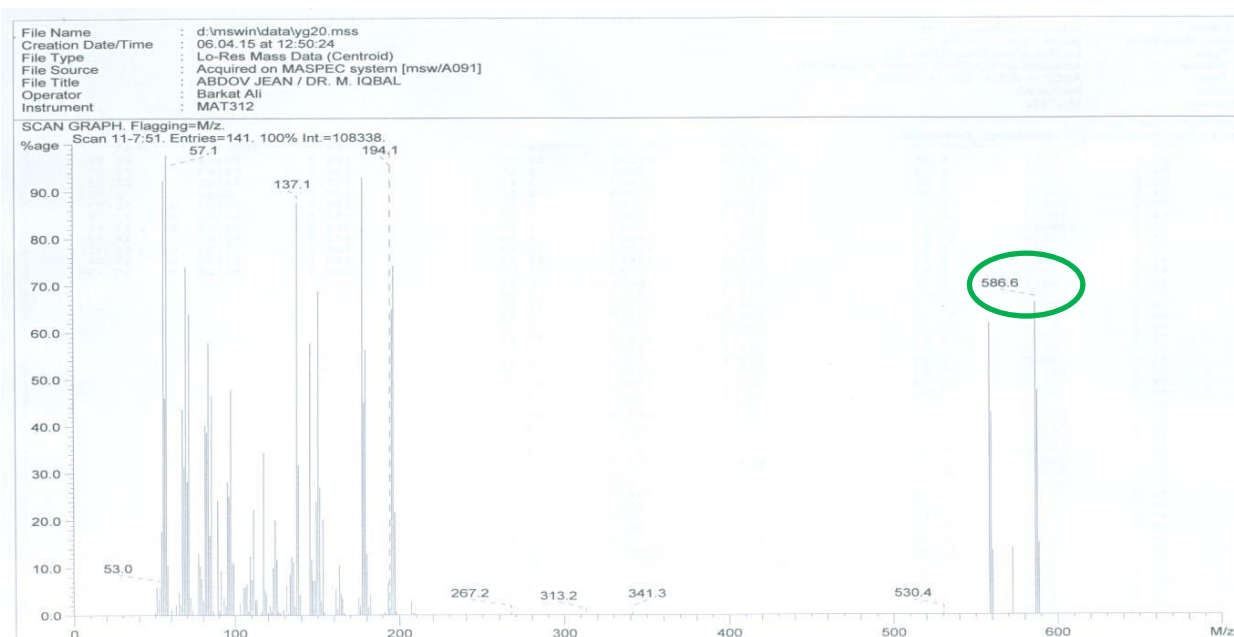


**Tableau 25** : Données spectrales de RMN  $^1\text{H}$  (500 MHz,  $\text{CDCl}_3\text{-CD}_3\text{OD}$ ), RMN  $^{13}\text{C}$  (125 MHz,  $\text{CDCl}_3\text{-CD}_3\text{OD}$ ) et HMBC du composé  $\text{YG}_{16}$

N° carbone	$\delta_{\text{C}}$ ppm (125 MHz)	$\delta_{\text{H}}$ ppm (500 MHz)	HMBC
1	61,0 (t)	3,80 (1H, dd, $J = 4,64 ; 12,17$ Hz) 3,72 (1H, d, $J = 4,64$ Hz)	2/3
2	51,5 (d)	4,10 (1H, q, $J = 4,14$ Hz)	1/3/4/1'
3	75,5 (d)	3,54 (1H, m)	1/2/4/5
4	72,2 (d)	3,53 (1H, dd, $J = 2,38 ; 7,03$ Hz)	2/3/1
5	32,9 (t)	1,42 (2H, m)	12/11
6	25,8 (t)	1,51 (1H, m) 1,42 (1H, m)	
7	29,8 (t)		
8-10	29,5 (t)	1,27 (2H, m)	
11	29,7 (t)		
12-17	29,6 (t)		
18	31,8 (t)	1,27 (2H, m)	
19	130,6 (d)	5,41 (1H, t, $J = 5 ; 15$ Hz)	21
20	129,7 (d)	5,41 (1H, t, $J = 5 ; 15$ Hz)	21
21	32,5 (d)	2,01 (2H, m)	15/16
22	32,9 (t)	1,69 (2H, m)	
23	22,6 (t)	1,26 (2H, m)	
24	13,9 (q)	0,88 (3H, t, $J = 6,68$ Hz)	17/18/21
1'	175,9 (s)		
2'	71,9 (d)	4,04 (1H, dd ; $J = 3,51 ; 8,16$ Hz)	1'/3'/14'
3'	34,3 (t)	1,69 (1H, m) 1,81 (1H, m)	1'/2'/14'
4'	29,6 (t)		
5'	29,3 (t)		
6'-7'	29,5 (t)	1,26 (18, m)	
8'-9'	29,6 (t)		
10'-12'	29,7 (t)		
13'	31,8 (t)	1,26 (2H, m)	
14'	25,2 (t)	1,42 (2H, m)	
15'	22,6 (t)	1,26 (1H, m)	
16'	13,9 (q)	0,88 (3H, t, $J = 6,68$ Hz)	15'/14'/13'/12'

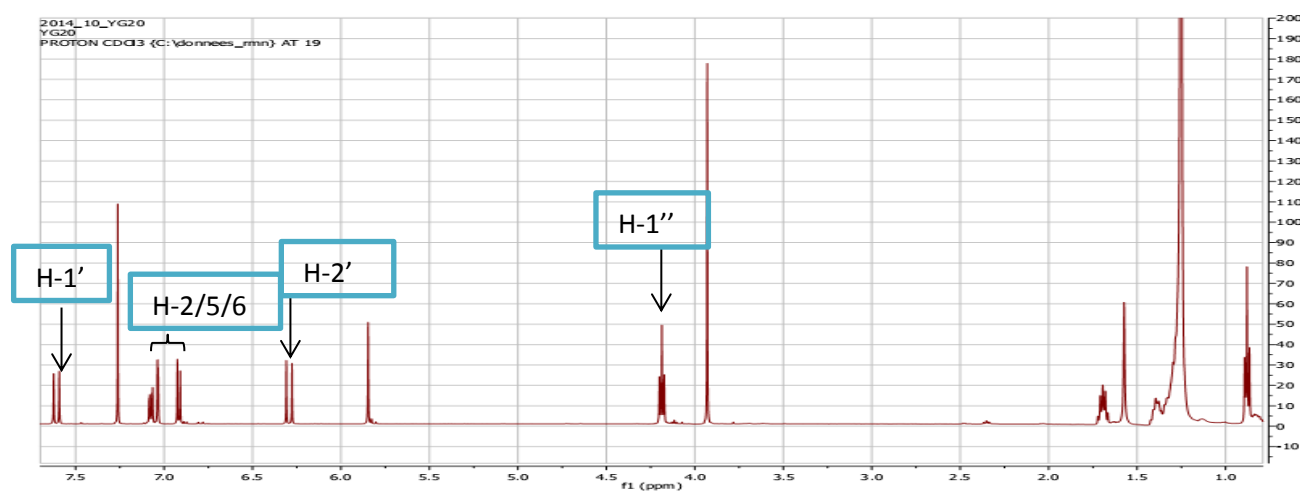
#### II.1.3.2.4 Identification du composé $\text{YG}_{20}$ (érythrinasinate A)

Le composé  $\text{YG}_{20}$  est obtenu des écorces du tronc. Il cristallise sous forme de poudre blanche ; son spectre de masse en IE laisse apparaître le pic de l'ion moléculaire à  $m/z = 586,6$  ; ce qui permet avec l'analyse des autres données spectrales de lui attribuer la formule brute  $\text{C}_{38}\text{H}_{66}\text{O}_4$  contenant 6 insaturations.



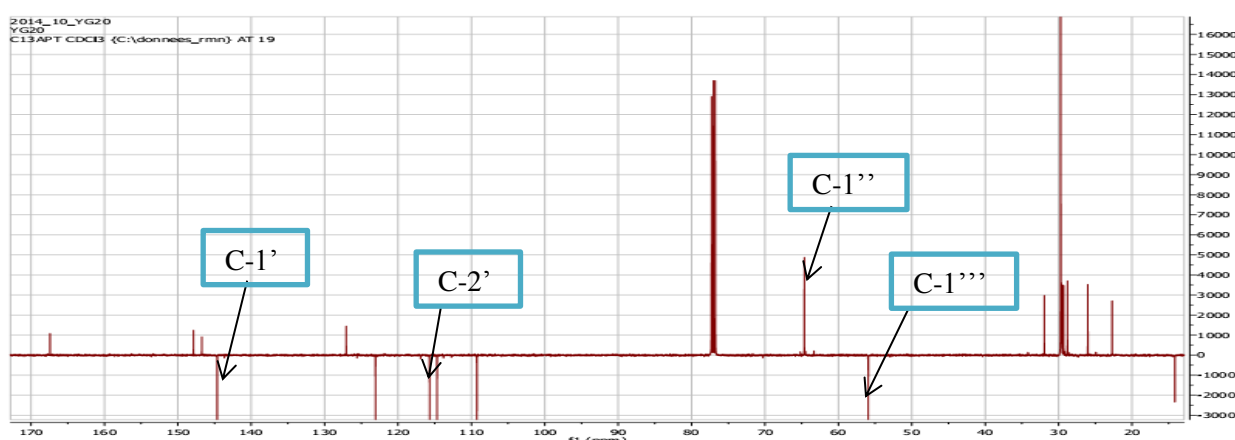
**Figure 41** : Spectre de masse en Impact Electronique du composé YG<sub>20</sub>

Son spectre de RMN <sup>1</sup>H (**Figure 42**) présente des signaux à δ 7,61 (1H, d, *J* = 15,8 Hz) ; 7,07 (1H, dd, *J* = 1,6 ; 8,2 Hz) ; 7,03 (1H, d, *J* = 1,6 Hz) ; 6,93 (1H, d, *J* = 8,2 Hz) et 6,29 (1H, d, *J* = 15,8 Hz) correspondant, vu leurs constantes de couplage, aux protons aromatiques couplant dans un système ABX et des protons éthyléniques *trans*. On observe également à δ 4,23 (2H, *t*, *J* = 5 ; 15 Hz) ; 1,71 (2H, *m*) et à δ 0,88 (3H, *t*, *J* = 5 ; 10 Hz) des signaux correspondant respectivement aux protons d'un oxyméthylène, aux protons méthyléniques d'une longue chaîne aliphatique et aux protons de méthyles. Les corrélations observées sur les spectres en 2D (COSY, HSQC et HMBC) nous permettent de penser qu'il s'agit d'un composé aromatique avec une partie aliphatique.



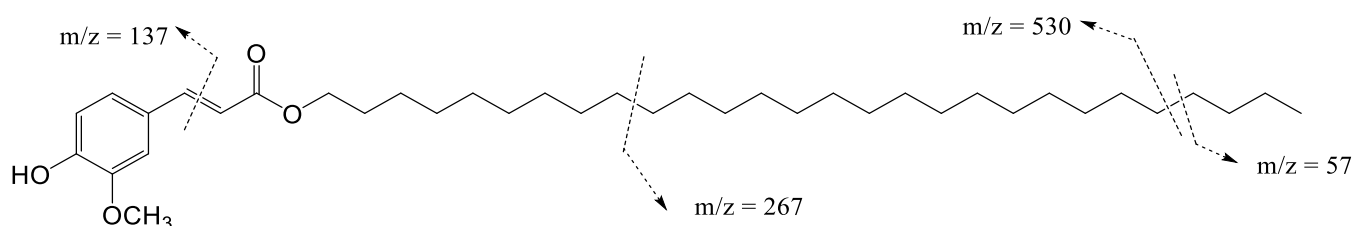
**Figure 42** : Spectre RMN <sup>1</sup>H (500 MHz, MeOD-CDCl<sub>3</sub>) du composé YG<sub>20</sub>

Son spectre de RMN  $^{13}\text{C}$  (**Figure 43**) présente 4 carbones quaternaires à  $\delta$  167,3 ; 147,9 ; 146,7 et 127,1 correspondant respectivement au carbonyle d'un ester blindé par effet mésomère, aux carbones du noyau aromatique oxygénés et au carbone quaternaire normal d'un noyau aromatique ; 5 carbones tertiaires correspondant aux méthines éthyléniques et aromatiques ; 27 carbones secondaires parmi lesquels les celui à  $\delta$  64,6 correspondant au carbone d'un oxyméthylène ; et les autres aux méthylènes normaux d'une chaîne aliphatique et 2 carbones primaires à  $\delta$  55,9 et 14,2 correspondant respectivement au carbone d'un méthoxyle et d'un méthyle. Ces données nous permettent de dire que ce composé est une cinnamate.

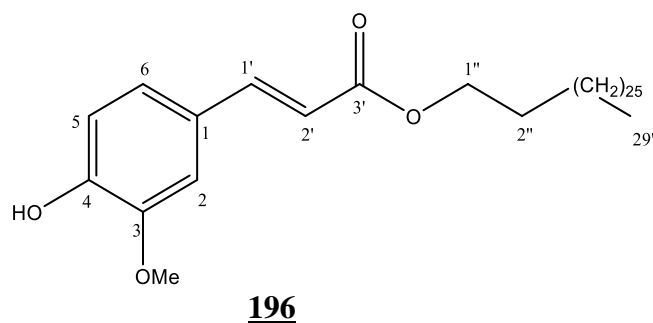


**Figure 43** : Spectre RMN  $^{13}\text{C}$  (125 MHz, MeOD- $\text{CDCl}_3$ ) du composé YG<sub>20</sub>

La longueur de la chaîne a été déterminée par l'identification des fragments observés sur son spectre de masse en IE (**Schéma 11**). Toutes ces données spectrales et celles de la littérature nous ont permis de lui attribuer la structure **196** correspondant à l'érythrininate A isolé de plusieurs espèces des *Erythrina* [74, 84].



**Schéma 11** : Différentes fragmentations du composé YG<sub>20</sub>



**Tableau 26** : Données RMN  $^1\text{H}$  et  $^{13}\text{C}$  (500 et 125 MHz,  $\text{CDCl}_3\text{-CD}_3\text{OD}$ ) et HMBC du composé  $\text{YG}_{20}$

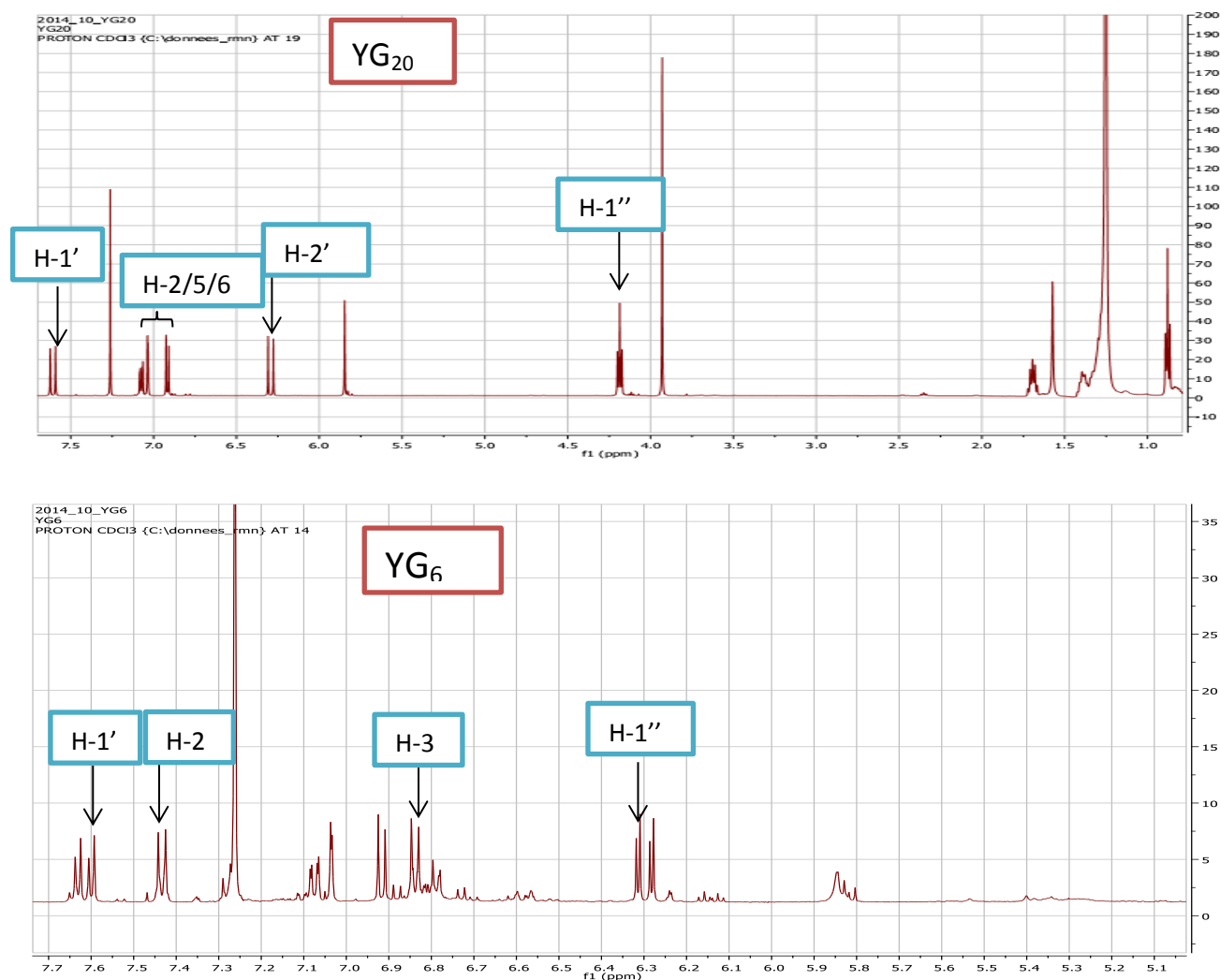
N <sup>o</sup> carbone	$^{13}\text{C}$ ( $\delta$ in ppm)	H ( $\delta$ in ppm)
1	127,1 (s)	
2	115,7 (d)	6,29 (1H, d, $J = 15,8$ Hz)
3	146,7 (s)	
4	147,9 (s)	
5	114,7 (d)	6,93 (1H, d, $J = 8,2$ Hz)
6	123,1 (d)	7,07 (1H, dd, $J = 1,6 ; 8,2$ Hz)
1'	144,6 (d)	7,61 (1H, d, $J = 15,8$ Hz)
2'	109,2 (d)	7,03 (1H, d, $J = 1,6$ Hz)
3'	167,5 (s)	
1''	64,6 (t)	4,23 (2H, t, $J = 5 ; 15$ Hz)
2''	29,3 (t)	1,25 (2H, m)
3''	26,0 (t)	1,71 (2H, m)
4''-28''	29,7 (t)	1,25 (2H, m)
29''	31,8 (t)	1,27 (2H, m)
30''	22,7 (t)	1,57 (2H, m)
31''	14,2 (q)	0,88 (3H, t, $J = 5 ; 10$ Hz)

#### II.1.3.2.5 Identification du composé $\text{YG}_6$ (érythrinasinat B)

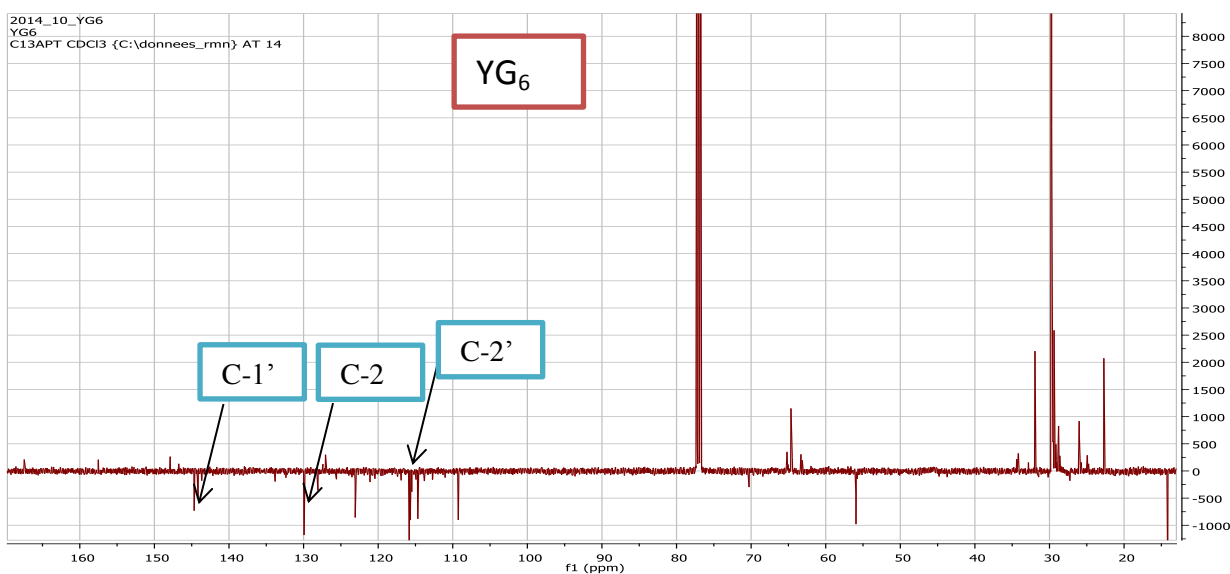
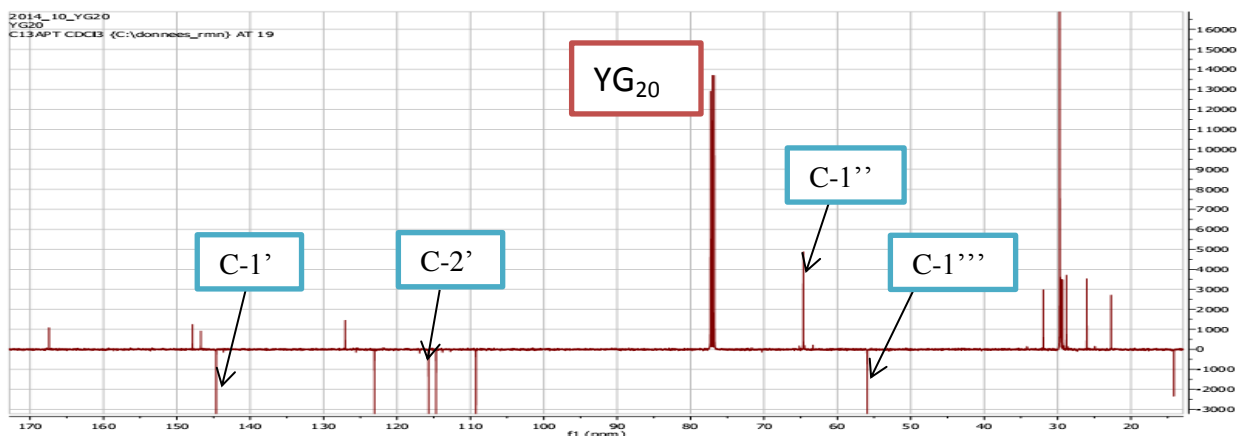
Le composé  $\text{YG}_6$  cristallise sous forme de poudre blanche ; son spectre de masse en IE laisse apparaître le pic de l'ion moléculaire à  $m/z = 584,6$ . L'analyse de ses différents spectres nous permet de dire que ce composé est en fait un mélange de deux cinnamates. La comparaison de son spectre de RMN  $^1\text{H}$  (**Figure 44**) avec celui de  $\text{YG}_{20}$  montre leur superposabilité à la différence de la présence sur son spectre d'un signal à  $\delta 7,44$  (1H, d,  $J = 10$  Hz) correspondant



à un proton du noyau aromatique qui indique que le produit du mélange est monosubstitué contrairement à YG<sub>20</sub>. Hypothèse confirmée par la présence sur son spectre RMN <sup>13</sup>C (Figure 45) d'un signal à 129,9 ppm correspondant à un signal de carbone du noyau aromatique.

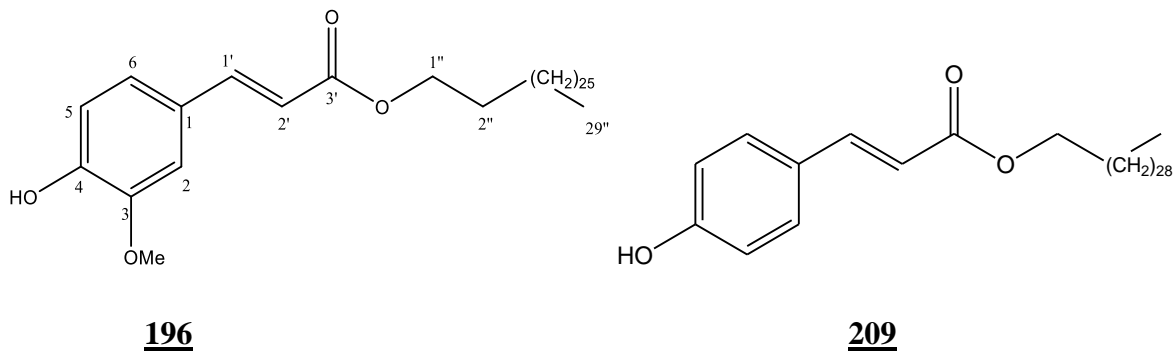


**Figure 44** : Comparaison spectre RMN <sup>1</sup>H (500 MHz, CDCl<sub>3</sub>) des composés YG<sub>6</sub> et YG<sub>20</sub>



**Figure 45** : Comparaison des spectres RMN  $^{13}\text{C}$  (125 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ) des composés  $\text{YG}_6$  et  $\text{YG}_{20}$

L'analyse de toutes ces informations et celles de la littérature nous permettent de dire que  $\text{YG}_6$  est en fait un mélange de l'érythrininate A et de l'érythrininate B **209**, isolé pour la première fois par Wandji en 1987 d'*Erythrina senegalensis* [129].



**Tableau 27** : Données spectrales RMN  $^1\text{H}$  (500 MHz,  $\text{CDCl}_3\text{-CD}_3\text{OD}$ ) et RMN  $^{13}\text{C}$  (125 MHz,  $\text{CDCl}_3\text{-CD}_3\text{OD}$ ) des composés  $\text{YG}_{20}$  et  $\text{YG}_6$

$\text{YG}_{20}$			$\text{YG}_6$		
N° carbone	$^{13}\text{C}$ ( $\delta$ in ppm)	H ( $\delta$ in ppm)	N° carbone	$^{13}\text{C}$ ( $\delta$ in ppm)	H ( $\delta$ in ppm)
1	127,1 (s)		1	127,1 (s)	
2	109,2 (d)	7,03 (1H, d, $J = 5$ Hz)	2	129,9 (d)	7,44 (1H, d, $J = 10$ Hz)
3	146,7 (s)		3	115,8 (d)	6,84 (1H, d, $J = 10$ Hz)
4	147,9 (s)		4	157,5 (s)	
5	114,7 (d)	6,93 (1H, d, $J = 8,2$ Hz)	5	115,8 (d)	6,84 (1H, d, $J = 10$ Hz)
6	123,1 (d)	7,07 (1H, dd, $J = 8,2$ et 1,6 Hz)	6	129,9 (d)	7,44 (1H, d, $J = 10$ Hz)
1'	144,6 (d)	7,61 (1H, d, $J = 15,8$ Hz)	1'	144,1 (d)	7,63 (1H, d, $J = 15,8$ Hz)
2'	115,7 (d)	6,29 (1H, d, $J = 15,8$ Hz)	2'	115,9 (d)	6,30 (1H, d, $J = 15,8$ Hz)
3'	167,5 (s)		3'	167,4 (s)	
1''	64,6 (t)	4,23 (2H, t, $J = 5$ Hz)	1''	64,6 (t)	4,23 (2H, t, $J = 5$ Hz)
2''	29,3 (t)	1,25 (2H, m)	2''	29,3 (t)	1,25 (2H, m)
3''	26,0 (t)	1,71 (2H, m)	3''	26,0 (t)	1,71 (2H, m)
4''-28''	29,6 (t)	1,25 (2H, m)	4''-28''	29,6 (t)	1,25 (2H, m)
29''	31,8 (t)	1,27 (2H, m)	29''	31,8 (t)	1,27 (2H, m)
30''	22,7 (t)	1,57 (2H, m)	30''	22,7 (t)	1,57 (2H, m)
31''	14,2 (q)	0,88 (3H, t, $J = 5 ; 10$ Hz)	31''	14,2 (q)	0,88 (3H, t, $J = 5 ; 10$ Hz)

#### II.1.3.2.5 Identification du composé $\text{YG}_1$

Le produit  $\text{YG}_1$  est obtenu sous forme de paillettes brillantes dans les fractions obtenues à l'hexane. L'analyse rigoureuse de toutes ses données spectrales nous a permis de lui attribuer la formule  $\text{C}_{25}\text{H}_{52}\text{O}$ . Il n'a aucune insaturation.

Son spectre de RMN  $^{13}\text{C}$  mode APT (**Figure 46**) présente clairement un carbone primaire à  $\delta$  14,1 indiquant un groupement méthyle en bout de chaîne ; une série de carbones secondaires entre 29,4 et 29,8 ppm indiquant que ce composé est une longue chaîne aliphatique ; un oxyméthylène à  $\delta$  63,5 indiquant la présence d'un hydroxyle dans le composé ; 4 carbones secondaires spécifiques à  $\delta$  22,5 ; 25,7 ; 31,9 et 32,8 correspondant aux méthylènes proches



**Tableau 28** : Données spectrales RMN  $^1\text{H}$  (400 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ) et RMN  $^{13}\text{C}$  (100 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ) du composé  $\text{YG}_1$

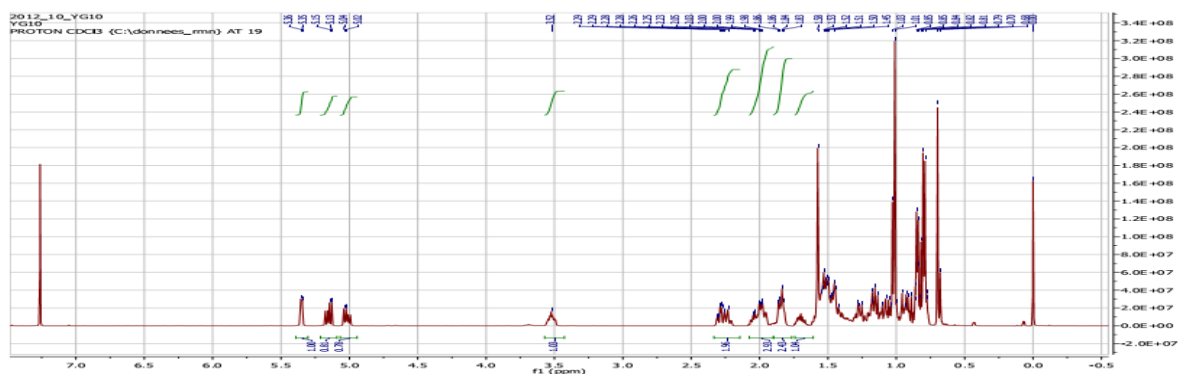
N° carbone	$^{13}\text{C}$ ( $\delta$ in ppm)	H ( $\delta$ in ppm)
1	63,5 (t)	3,65 (2H, t, $J = 5$ Hz)
2	32,8 (t)	1,56 (2H, m)
3	25,7 (t)	1,33 (2H, m)
4	29,4	1,25 (2H, m)
5	29,7	1,25 (2H, m)
6	29,7	1,25 (2H, m)
7-9	29,6	1,25 (2H, m)
10-16	29,3	1,25 (2H, m)
17	29,7	1,25 (2H, m)
18	29,4	1,25 (2H, m)
19	29,7	1,25 (2H, m)
20	29,7	1,25 (2H, m)
21	29,8	1,25 (2H, m)
22	29,8	1,25 (2H, m)
23	31,9	1,25 (2H, m)
24	22,5	1,33 (2H, m)
25	14,1	0,88 (3H, t, $J = 5 ; 10$ Hz)

### II.1.3.3 Les stéroïdes

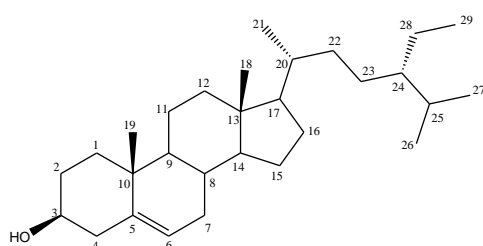
#### II.1.3.3.1 Identification des composés $\text{YG}_{10}$ et $\text{YG}_{10}'$

$\text{YG}_{10}$  est obtenu sous forme de poudre blanche qui répond positif au test de Libermann Buchard en donnant une coloration bleue caractéristique des stérols.

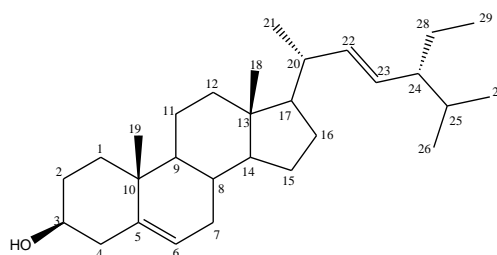
Le spectre de RMN  $^1\text{H}$  (**Figure 49**) de ce composé présente entre 0,68 et 1,10 ppm les signaux de plusieurs groupements méthyles. Les deux signaux sous forme de multiplets observés à  $\delta$  3,52 et 5,35 sont attribuables respectivement au proton H-3 géminé à un groupement hydroxyle, et au proton oléfinique H-6. Deux autres signaux, attribuables respectivement aux protons oléfiniques en position H-22 et H-23 apparaissent à  $\delta$  5,03 et à 5,13. Les informations spectrales et les informations de la littérature nous permettent de dire que ce composé est un mélange commun de deux stéroïdes : le  $\beta$ -sitostérol et le stigmastérol.



**Figure 48** : Spectre RMN  $^1\text{H}$  (500 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ) des composés  $\text{YG}_{10}$  et  $\text{YG}_{10}$ .



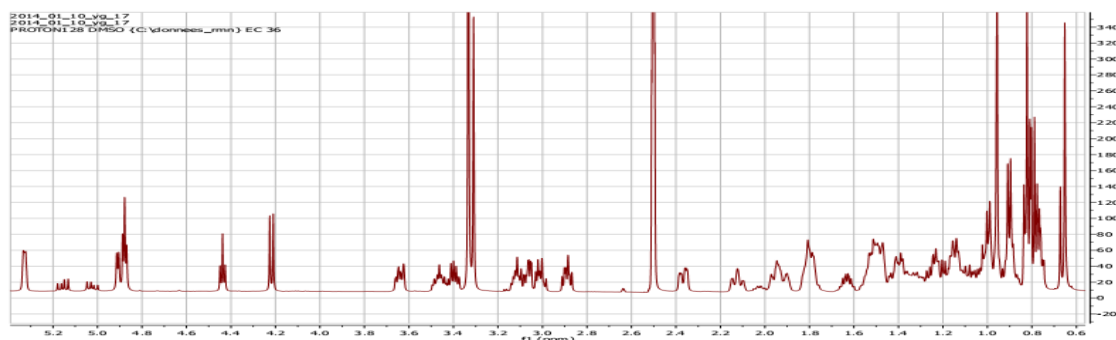
**211**



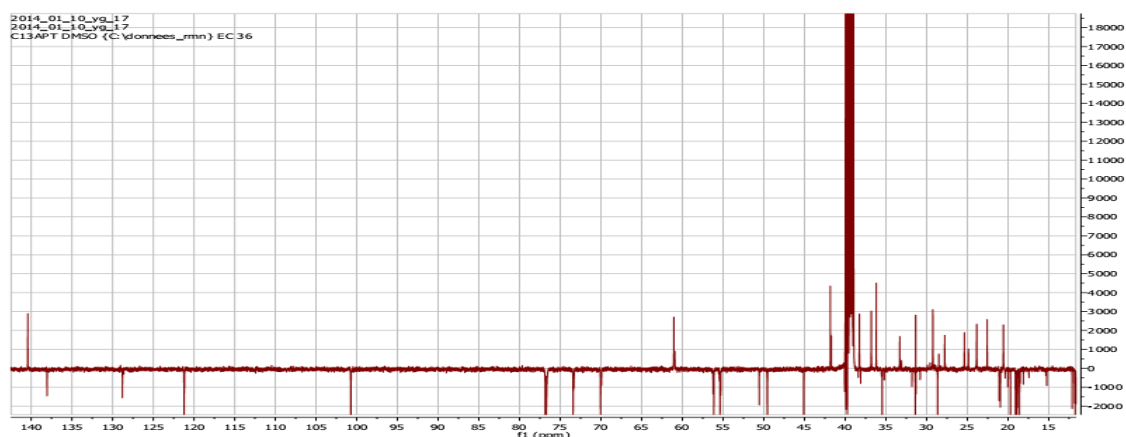
**212**

### II.1.3.3.2 Identification des composés $\text{YG}_9$ et $\text{YG}_9$

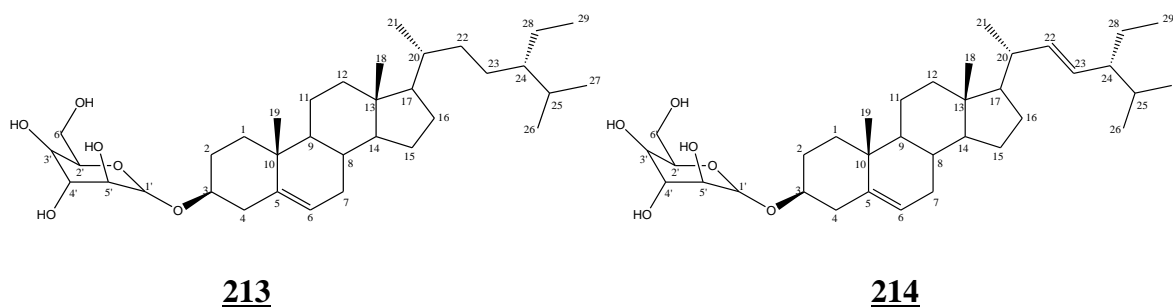
Le composé  $\text{YG}_9$  est obtenu sous forme de produit amorphe gris. L'analyse de son spectre de RMN  $^1\text{H}$  (**Figure 49**) permet de se rendre compte que son ce spectre est superposable à celui de  $\text{YG}_{10}$  à la différence que des signaux son présent entre 3,00-4,00 ppm. Ce qui permet de dire  $\text{YG}_9$  est la forme osidique de  $\text{YG}_{10}$ ; hypothèse qui est confirmée par la présence sur le même spectre du signal  $\delta$  4,11 (1H, d,  $J = 5$  Hz) qui correspond au proton porté par le carbone anomérique du glucose, carbone lui-même apparaissant à  $\delta$  104,4 sur son spectre de RMN  $^{13}\text{C}$  (**Figure 49**). Toutes ces données avec celles de la littérature nous permettent donc de dire que le composé  $\text{YG}_9$  n'est rien d'autre que le mélange de glucoside du  $\beta$ -sitostérol et du stigmastérol largement répandu dans les plantes supérieures.



**Figure 49** : Spectre RMN  $^1\text{H}$  (500 MHz,  $\text{DMSO-d}$ ) des composés  $\text{YG}_9$  et  $\text{YG}_9$ .



**Figure 50** : Spectre RMN  $^{13}\text{C}$  : APT (125 MHz, DMSO-d) des composés YG<sub>9</sub> et YG<sub>9'</sub>



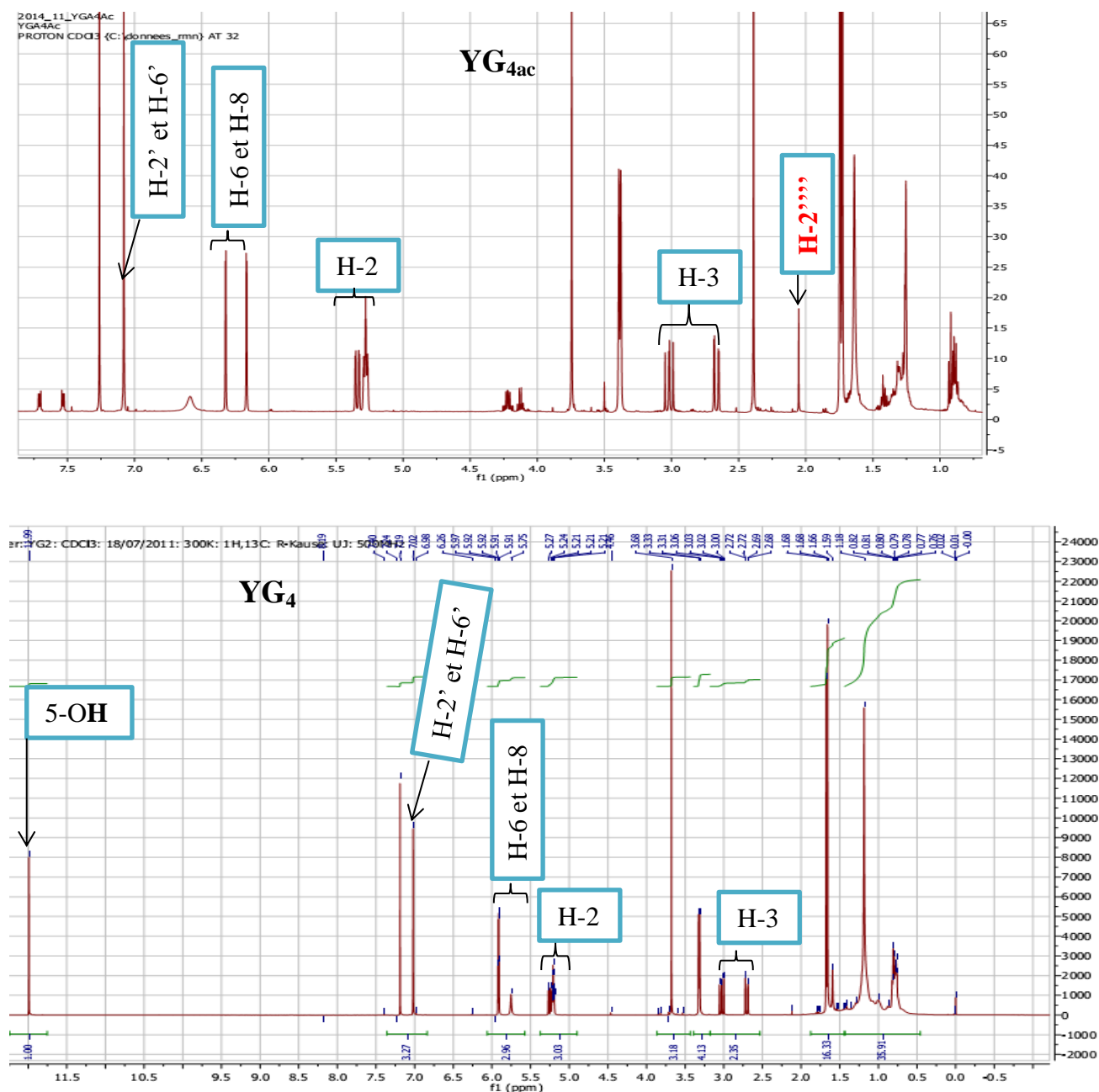
## II.2 Produit issu de transformation

Un des aspects de notre travail portait également sur un essai de transformation chimique des métabolites secondaires obtenus. Les réactions chimiques exigeant une grande quantité de produits, seul le produit abondant a subi une réaction. Dans cette partie nous présenterons le résultat de l'acétylation réalisé sur YG<sub>4</sub>. La présence de deux hydroxyles libres dans sa structure, nous a donné l'idée de les transformer en acétyle afin de voir si ce groupement pouvait booster son activité.

Pour le faire, dans un tube à essai, 20 mg de YG<sub>4</sub> ont été dissout dans 2 ml d'anhydride acétique et 2 ml de pyridine ont été ajoutées au milieu réactionnel. L'ensemble a été laissé à l'obscurité pendant 48 heures. Après la réaction, quelques gouttes d'acide chlorhydrique ont été ajoutées au mélange puis la solution a été suspendue dans du chlorure de méthylène plusieurs fois. La phase organique recueillie a été concentrée à l'aide de l'évaporateur rotatif puis une CCM comparative a été réalisée entre la phase organique concentrée et le produit de départ. Pour obtenir le produit acétylé (YG<sub>4ac</sub>), une chromatographie sur colonne avec un système isocratique a été réalisée.

Le produit YG<sub>4ac</sub> cristallise sous forme de poudre blanche soluble dans le chloroforme. Une analyse comparative entre ses spectres et ceux de YG<sub>4</sub> a été réalisée. De celle-ci, il ressort que, sur son spectre de RMN  $^1\text{H}$  (**Figure 51**), les signaux sont superposables sauf l'apparition

dans celui du produit acétylé d'un signal à  $\delta$  2,39 (3H, s) qui correspond aux protons d'un méthyle lié au carbonyle d'un ester. Ce qui, avec la présence du signal à  $\delta$  12,05, indiquant la présence d'un hydroxyle chélaté permet d'émettre l'hypothèse selon laquelle la réaction n'a eu lieu que sur un seul site.

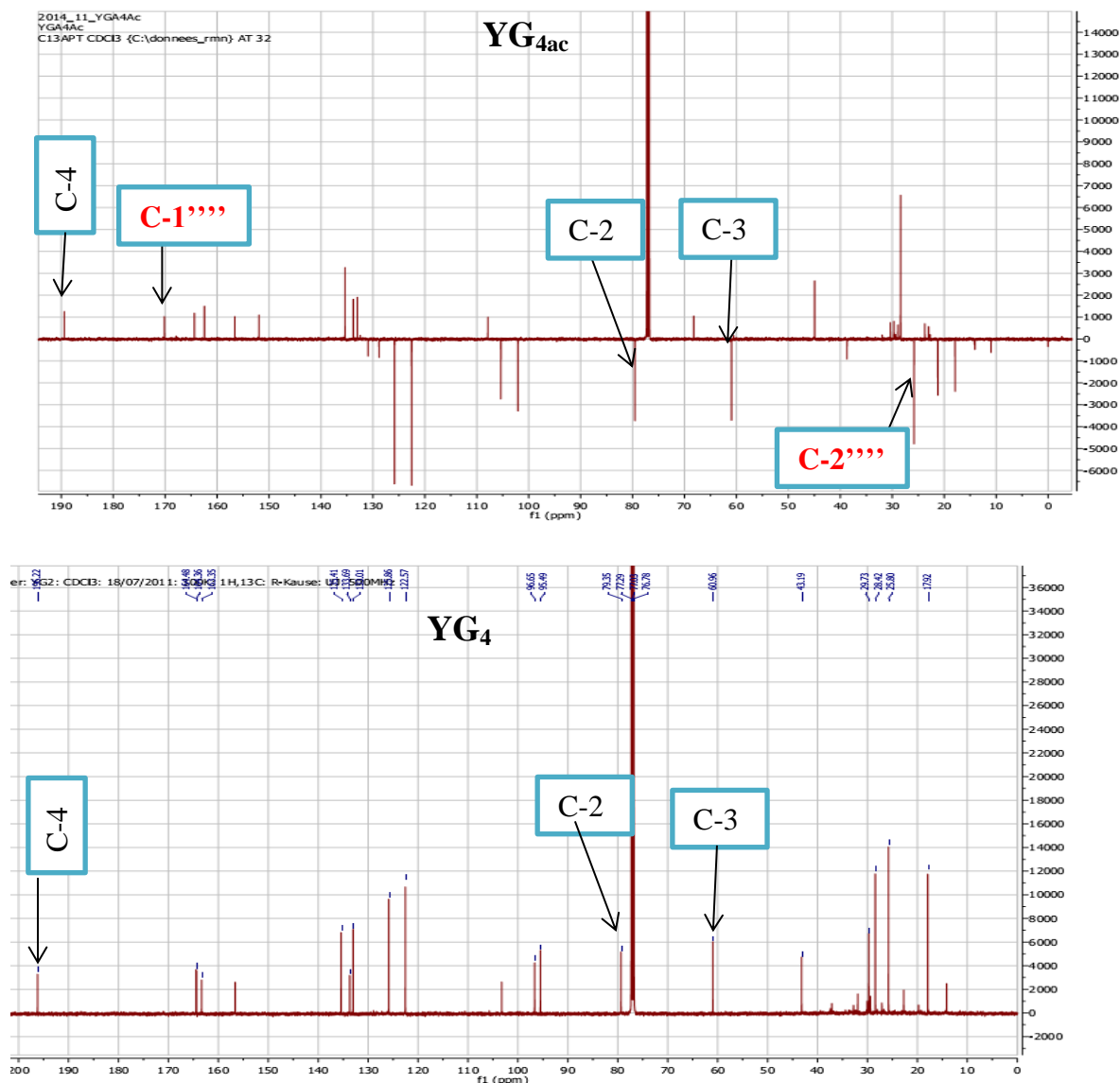


**Figure 51** : Comparaison du spectre RMN <sup>1</sup>H (500 MHz, CDCl<sub>3</sub>) du composé YG<sub>4ac</sub> à celui du composé YG<sub>4</sub> (400 MHz, CDCl<sub>3</sub>)

L'analyse des spectres de RMN <sup>13</sup>C (**Figure 52**) comme celle des spectres de RMN <sup>1</sup>H montre une large similarité sauf la présence de deux signaux à  $\delta$  20,9 et à  $\delta$  170,1 correspondant respectivement au carbone du méthyle de la fonction acétyle et au carbonyle de

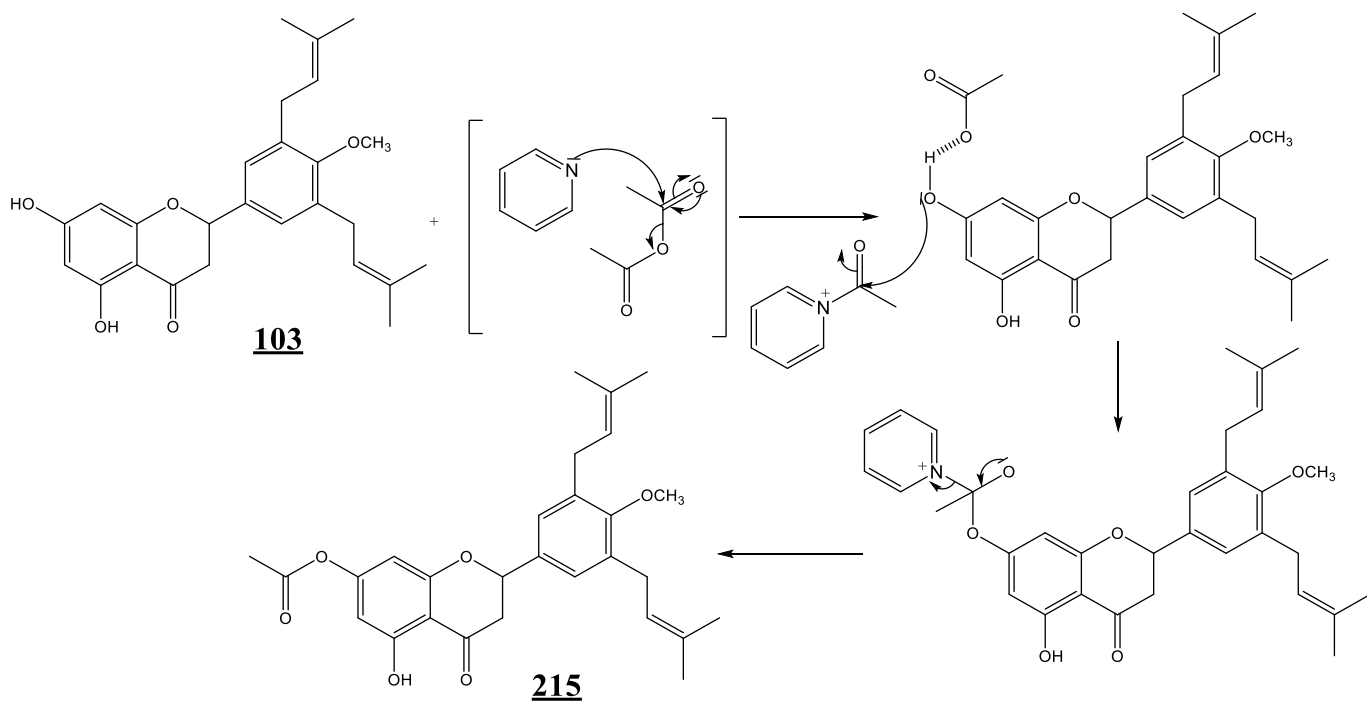


l'ester. Ce qui, avec l'analyse des autres données spectrales, confirme l'hypothèse selon laquelle un seul site (position 7 de départ) a réagi.



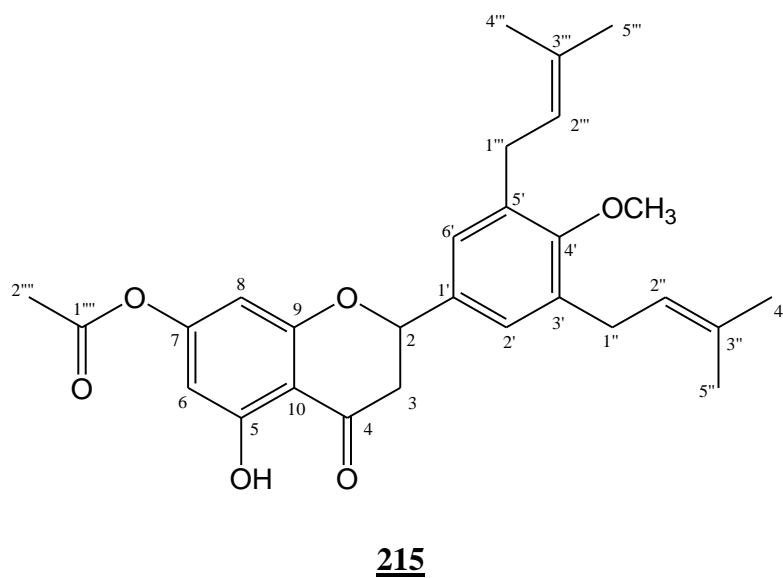
**Figure 52** : Comparaison du spectre RMN <sup>13</sup>C et APT 125 MHz, CDCl<sub>3</sub>) du composé YG<sub>4ac</sub> à celui du composé YG<sub>4</sub> (100 MHz, CDCl<sub>3</sub>)

Nous remarquons donc que malgré le temps plus long de réaction, le site en position 5 sujet à la chélation du carbonyle en 4 n'a pas réagi ce qui nous permet donc de dire que la chélation empêche un site de réagir et pourrait également servir pour une orientation de la réaction. Le schéma 16 propose un mécanisme pour la réaction qui a eu lieu.



**Schéma 12** : Mécanisme réactionnel de l'acétylation de l'abyssinone V-4'-methylether

Cette réaction a donné lieu au produit **215** qui a déjà été synthétisé dans l'industrie pharmaceutique et qui est doué de plusieurs propriétés biologiques.



**Tableau 29 :** Données spectrales de RMN  $^1\text{H}$  (500 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ) et RMN  $^{13}\text{C}$  (125 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ) du composé  $\text{YG}_{4\text{ac}}$

N° carbone	$\delta_{\text{C}}$ (ppm)	$\delta_{\text{H}}$ (ppm)
2	79,5 (d)	5,34 (1H, dd, $J = 5 ; 10$ Hz)
3	45,1 (t)	2,66 (1H, dd, $J = 5 ; 15$ Hz) 3,01 (1H, dd, $J = 5 ; 15$ Hz)
4	189,7 (s)	
5	164,2 (s)	
6	105,2 (d)	6,32 (1H, d, $J = 2,5$ Hz)
7	152,6 (s)	
8	101,9 (d)	6,16 (1H, d, $J = 2,5$ Hz)
9	162,5 (s)	
10	107,9 (s)	
1'	132,7 (s)	
2'	125,8 (d)	7,08 (1H, s)
3'	135,5 (s)	
4'	156,4 (s)	
5'	133,7 (s)	
6'	125,8 (d)	7,08 (1H, s)
1''	28,6 (t)	3,39 (2H, d, $J = 7,3$ Hz)
2''	122,5 (d)	5,28 (1H, t)
3''	133,0 (s)	
4''	25,8 (q)	1,65 (1H, s)
5''	17,9 (q)	1,74 (3H, s)
1'''	28,6 (t)	3,39 (2H, d, $J = 7,3$ Hz)
2'''	122,5 (d)	5,28 (1H, t, $J = 6,5$ Hz)
3'''	133,0 (s)	
4'''	25,8 (q)	1,65 (1H, s)
5'''	17,9 (q)	1,74 (3H, s)
4'-OMe	61,5 (q)	3,74 (3H, s)
1''''	170,1 (s)	
2''''	20,9 (q)	2,39 (3H, s)
5-OH		12,05 (1H, s)

## II.3 RESULTATS ET DISCUSSION DES TESTS BIOLOGIQUES.

La connaissance des activités biologiques des métabolites secondaires connus ou nouveaux est très important sur le plan phytochimique et biologiques. De ce fait, la troisième partie de notre travail porte sur l'étude des potentialités biologiques des extraits et de quelques métabolites secondaires isolés. L'implication du stress oxydatif et des inflammations dans la plupart des pathologies nous a amené à nous intéresser aux potentialités antioxydantes des extraits et produits isolés, à l'activité antiinflammatoire et anticonvulsivante de l'abyssinone V-4'-méthyléther (YG<sub>4</sub>), produit majoritaire de cette plante et à l'activité anxiolytique de la phaséolidine (YG<sub>7</sub>).

### II.3.1 Activité antioxydante des extraits et de quelques produits isolés.

La potentialité antioxydante d'un produit dépendant de plusieurs mécanismes à savoir son pouvoir chélateur et sa facilité à céder son proton entre autres, nous avons utilisé la méthode au DPPH (habileté radicalaire) selon le protocole décrit par Nyaa *et al.* [130] mais avec quelques modification et la méthode FRAP selon le protocole de Oyaizu (1986) [131] (pouvoir chélateur) pour mettre en évidence cette activité. Le tableau 30 présente les résultats obtenus de ces analyses pour les extraits et produits testés.

**Tableau 30** : Résultats des tests antioxydants sur quelques extraits et métabolites

<b>Echantillon</b>	<b>DPPH CI<sub>50</sub> (mg/ml)</b>	<b>FRAP Eq ±σ (mgAAE/mg)</b>
Acide Ascorbique	0,063	---
YG <sub>4</sub>	14,32	37,43 ± 1,03
YG <sub>5</sub>	1,31	95,81 ± 5,63
YG <sub>7</sub>	1,30	226,14 ± 7,88
YG <sub>19</sub>	2,18	----
YG <sub>12</sub>	3,31	21,33 ± 1,08
YG <sub>13</sub>	3,14	13,72 ± 2,19
YG <sub>15</sub>	1,96	24,29 ± 1,69
YG <sub>18</sub>	3,41	16,94 ± 0,79
ExAEER	1,30	74.33 ± 1.41
ExAEET	1,62	----
ExMER	3,70	-----
ExMBR	4,33	8,33 ± 0,76

De ce tableau, il ressort que quelques-uns des métabolites secondaires testés ont une activité modérée. Pour certains, les deux activités sont liées ; c'est le cas de YG<sub>7</sub> qui, parmi tous les composés testés présente les meilleures activités. Ce qui pourrait se justifier par le fait qu'il soit le seul composé ayant un groupement hydroxyle libre sur le cycle B ; or la littérature

soutient l'idée selon laquelle les hydroxyles libres de ce cycle sont responsables de cette activité et bien d'autres chez les flavonoïdes. L'observation de ces résultats nous permet également d'affirmer que YG<sub>7</sub> pourrait être le composé responsable de cette activité dans l'ExAEER car la valeur plus basse de cet extrait pour le DPPH pourrait se justifier par un effet synergique qui n'aurait pas d'influence pour le test par chélation. De même, la comparaison des résultats obtenus pour les composés YG<sub>12</sub> et YG<sub>13</sub> nous permet de nous rendre compte que en fonction du phénomène impliqué, l'activité peut varier d'un composé à l'autre. Ceci pourrait s'expliquer vu le fait que le FRAP est influencé par la présence des groupements chélateurs qui dans le processus au DPPH n'interviennent obligatoirement pas dans la réaction. Les résultats obtenus pour YG<sub>4</sub>, produit abondant de la plante sont en conformité avec la littérature. Pour les extraits, l'extrait à l'acétate d'éthyle des écorces des racines a montré la plus bonne activité par rapport aux autres, ce qui peut se justifier au regard des classes de composés obtenu de ce dernier. Nous pouvons donc dire que le fait que le genre *Erythrina* est connu pour son abondance en flavonoïdes prénylés fait que très peu de ses métabolites ont une très bonne activité antioxydante car il a été démontré que ce groupement fonctionnel a une grande influence sur cette activité.

### **II.3.2 Activité antiinflammatoire de l'abyssinone V-4'-méthyléther.**

La mise en évidence *in vivo* de la potentialité antiinflammatoire a été réalisée sur le composé abondant de cette plante (abyssinone V-4'-méthyléther) car aucune information n'était encore disponible dans la littérature sur cette activité. Pour le faire, sa potentialité à inhiber l'œdème de la patte induit par la carragénine, l'œdème de l'oreille induit par le xylène et le granulome induit par les pellets de coton chez les rats a été évaluée.

#### **II.3.2.1 Effet de l'abyssinone V-4'-méthyléther sur l'œdème de la patte induit par la carragénine chez les rats**

Le tableau 31 présente l'effet de l'abyssinone V-4'-méthyléther sur l'œdème de la patte induit par la carragénine chez les souris selon la méthode de Winter *et al.* [131]. Ce tableau montre que ce composé produit une inhibition dose-dépendante de l'œdème de la patte induit par la carragénine chez le rat. La dose la plus active étant de 10 mg/kg. Les animaux non traités (témoin négatif) présentent un pic du diamètre de la patte ( $2,2 \pm 0,07$ ) 2 heures après injection de la carragénine. Par contre chez les animaux traités à YG<sub>4</sub>, ce pic est de  $0,2 \pm 0,08$  mm,  $0,2 \pm 0,1$  et  $0,16 \pm 0,08$  mm respectivement pour les doses de 2,5 mg/kg ; 5 mg/kg et 10mg/kg une heure pour les deux première et deux heures après induction de l'œdème. Par ailleurs, chez les sujets traités au dexaméthasone (5mg/kg), elle est de  $0,26 \pm 0,05$  mm 1 heure après injection de la carragénine.

A la dose de 10 mg/kg de YG<sub>4</sub>, le pourcentage d'inhibition maximal est de 90 % à la 2<sup>ème</sup> heure. Cette inhibition est significative (p<0,01) comparé au groupe contrôle négatif. Par contre à la dose de 2,5 mg/kg, l'inhibition significative (p<0,05) commence dès la 2 h après injection de la carragénine (50%). Par ailleurs, chez le groupe traité au dexaméthasone (10 mg/kg), l'inhibition n'est pas statistiquement significative.

**Tableau 31** : Effet de l'abyssinone V-4'-méthyléther sur l'œdème de la patte induit par la carragénine chez le rat

Groupe	Dose (mg/kg)	Circonférence de la patte après injection de la carragénine en cm (% inhibition)				
		1h	2h	3h	4h	5h
Témoin négatif	ED	0,26±0,04	0,22±0,02	0,32±0,03	0,14±0,02	0,21±0,03
	2,5	0,21±0,02	0,17±0,03	0,25±0,04	0,11±0,03	0,14±0,02
		(19,23)	(23,73)	(21,88)	(21,43)	(33,33)
Abyssinone V-4'-méthyl ether	5	0,20±0,03	0,16±0,02	0,24±0,02	0,10±0,01	0,12±0,02
		(23,08)	(27,27)	(25,00)	(28,57)	(42±86)
	10	0,14±0,02	0,12±0,04	0,14±0,03	0,07±0,03	0,06±0,04
		(46,45)	(45,45)	(56,25)	(50,00)	(71,43)
Dexaméthasone	2,5	0,15±0,04	0,13±0,03	0,17±0,04	0,07±0,03	0,08±0,03
		(42,31)	(40,90)	(46,88)	(50,00)	(61,90)

- Chaque valeur représente la moyenne ± ESM (n=5). Les valeurs entre parenthèses représentent le pourcentage d'inhibition.
- \*P<0,05, \*\*p<0,01, différences significatives par rapport au témoin négatif.

### II.3.2.2 Effet de l'abyssinone V-4'-méthyléther sur l'œdème de l'oreille induit par le xylène chez les souris

Le tableau 32 présente l'effet de l'abyssinone V-4'-méthyléther sur l'œdème de l'oreille induit par le xylène chez les souris selon la méthode décrite par Young *et al* (1989) [133]. Le prétraitement des animaux à l'abyssinone V-4'-méthyléther entraîne une inhibition dose-dépendante de l'œdème de l'oreille induit par le xylène. Cette inhibition est statistiquement significative (p<0,01) comparé au groupe témoin négatif. Le pourcentage moyen d'inhibition est de 62,65% chez les souris traitées à la dose de 10 mg/kg du produit et de 36,73 % pour la dose de 5 mg/kg. On observe également une inhibition (59,08 %) significative (p<0,01) de l'œdème chez les animaux ayant reçu le dexaméthasone (2,5 mg/kg) comparé au groupe témoin négatif.

**Tableau 32** : Effet de l'abyssinone V-4'-méthyléther sur l'œdème de l'oreille induit par le xylène

Groupe	Doses (mg/kg)	Cedème de l'oreille (mg)	Inhibition (%)
<b>Témoin négatif</b>	ED	9,80±0,60	-
<b>Abyssinone V-4' méthyl éther</b>	2,5	7,60±0,54*	22,45
	5	6,20±0,64*	36,73
	<b>10</b>	<b>3,60±0,53*</b>	<b>62,65</b>
<b>Dexaméthasone</b>	<b>2,5</b>	<b>4,01±0,36*</b>	<b>59,08</b>

- Chaque valeur représente la moyenne ± ESM (n=5). Les valeurs en % représentent le pourcentage d'inhibition.
- \*P<0,05, différence significative par rapport au témoin négatif.

### II.3.2.3 Effet de l'abyssinone V- 4'-méthyléther sur le granulome induit par les pellets de coton chez les rats

Le tableau 33 résume l'effet antiinflammatoire de l'abyssinone V-4'-méthyléther sur l'inflammation chronique induite par les pellets de coton chez les rats selon la méthode décrite par Winter et Porter en 1957 [134]. L'implantation des pellets de coton par voie sous cutanée chez les rats a entraîné la formation du granulome au bout d'une semaine. Le poids moyen du granulome est de 48,6±0,72 mg chez le groupe contrôle négatif. En revanche, le prétraitement des animaux à l'abyssinone V-4'-méthyléther a entraîné une inhibition significative (p<0,001) du granulome inflammatoire comparé au groupe non traité (témoin négatif). Il est de 28,6±1,02 mg chez les animaux traités à la dose de 5 mg/kg, 29±1,07 à la dose de 2,5 mg/kg et de 28,8±1,07 chez ceux traités à la dose de 10 mg/kg de l'extrait ; ce qui correspond à un pourcentage d'inhibition de 26,0%, 29,21% et de 61,32% respectivement. Chez le groupe traité au dexaméthasone (2,5mg/kg), ce poids moyen du granulome est de 15,2±0,72 mg. Le pourcentage d'inhibition du granulome (68,72%) provoquée par le dexaméthasone (5 mg/kg) est plus importante que celle provoquée par les deux doses de l'abyssinone V-4'-methylether et est significatif comparé au groupe non traité (témoin négatif).

**Tableau 33** : Effet de l'abyssinone V-4'-méthyleéher sur le granulome induit par les pellets de coton chez les rats.

Groupe	Doses (mg/kg)	Masse de granulome (mg)	Inhibition (%)
<b>Témoin négatif</b>	ED	48,60±0,86	-
<b>Abyssinone V-4'- méthyléther</b>	2,5	29,21±0,74	39,91
	5	26,0±0,65	42,26
	<b>10</b>	<b>18,80±1,02</b>	<b>61,32</b>
<b>Dexaméthasone</b>	<b>2,5</b>	<b>15,20±0,72</b>	<b>68,72</b>

- Chaque valeur représente la moyenne ± ESM (n=5). Les valeurs en % représentent le pourcentage d'inhibition.
- \*\*\*P<0,001, différence très significative par rapport au témoin négatif.

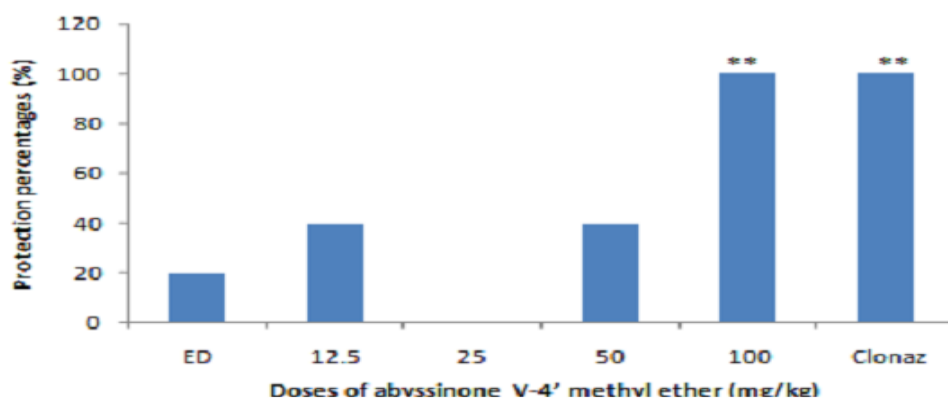
Ces différents résultats obtenus sur plusieurs modèles d'inflammation nous permettent de dire que l'abyssinone V-4'-méthyléther a une potentialité antiinflammatoire intéressante et qui pourrait se généraliser aux autres phénomènes d'inflammation car, l'induction de l'œdème par le xylène et par la carragénine sont les méthodes de référence pour la détermination du potentiel antiinflammatoire (inflammation aigüe) d'une substance. Les travaux de Njamen *et al* en 2003 et 2004 [135, 136] ; Talla *et al.* en 2003 [92], effectués sur quelques flavonoïdes isolés d'*E. mildbraedii*, *E. sigmoidea* et *E. addisionae* ont également montré que ces produits avaient une très bonne potentialité antiinflammatoire.

### II.3.3 Activité anticonvulsivante de l'abyssinone V-4'-méthyléther.

L'utilisation en médecine traditionnelle des plantes du genre *Erythrina* contre les épilepsies et le rôle que les troubles cérébraux jouent dans la production des EAO nous a amené à réaliser cette activité. L'abyssinone V-4'-méthyléther a donc également été testé *in vivo* pour sa potentialité anticonvulsivante. A notre connaissance, ce composé n'avait pas encore été testé pour cette activité. Pour le faire, l'épilepsie a été induite aux souris expérimentales par le pentylènetétrazol (PTZ), la picrotoxine (PIC) et la pilocarpine (PILO) respectivement.

#### II.3.3.1 Test au pentylènetétrazol (PTZ)

Cette étude a été effectuée suivant la méthode de Wamil *et al* [137]. Il ressort de cette étude qu'à la dose de 100 mg/kg, l'abyssinone protège des convulsions toutes les souris du lot.

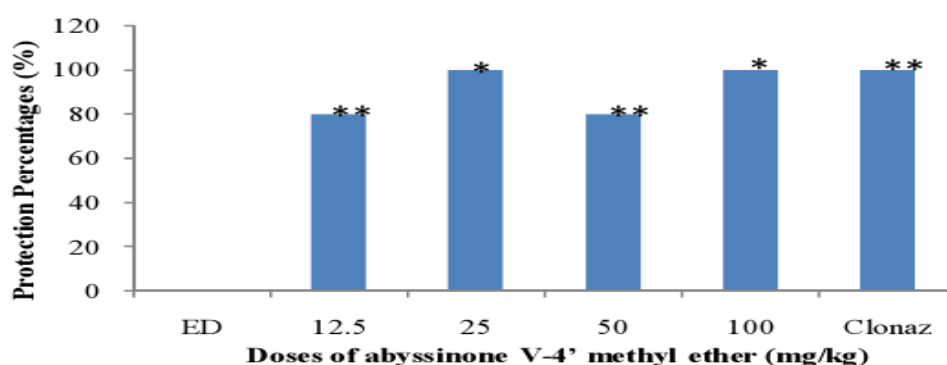


**Figure 53** : Effet de l'abyssinone V-4'-méthyléther sur la convulsion induite chez les souris par la PTZ



### II.3.3.2 Test à la picrotoxine (PIC)

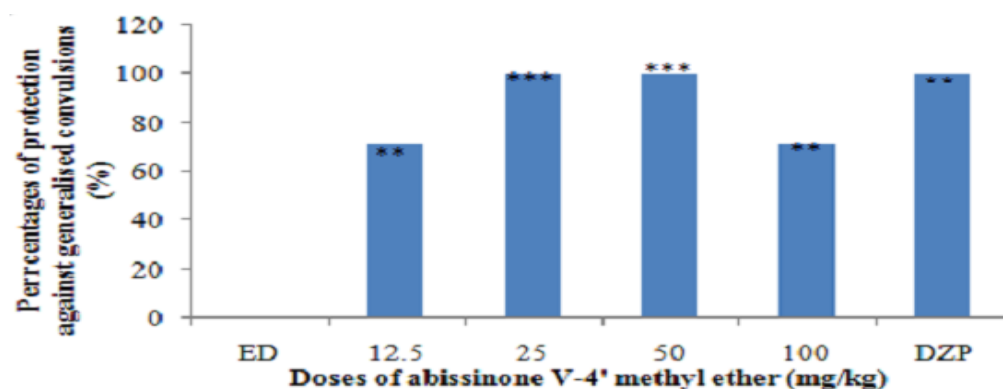
Cette étude a été effectuée suivant la méthode de Lehmann *et al* [138]. Il ressort de cette étude qu'aux doses de 25 et 100 mg/kg, ce composé protège des convulsions toutes les souris des lots respectifs ; et aux doses de 12,5 et 50 mg il protège des convulsions 80% des souris des lots respectifs.



**Figure 54** : Effet de l'abyssinone V-4'-méthyléther sur la convulsion induite chez les souris par la PIC

### II.3.3.3 Test à la pilocarpine (PILO)

Cette étude a été effectuée suivant la méthode de Henrik *et al* [139]. Il ressort de cette étude qu'aux doses de 25 et 50 mg/kg le composé testé protège des convulsions toutes les souris des lots respectifs.



**Figure 55** : Effet de l'abyssinone V-4'-méthyléther sur la convulsion induite chez les souris par la PILO

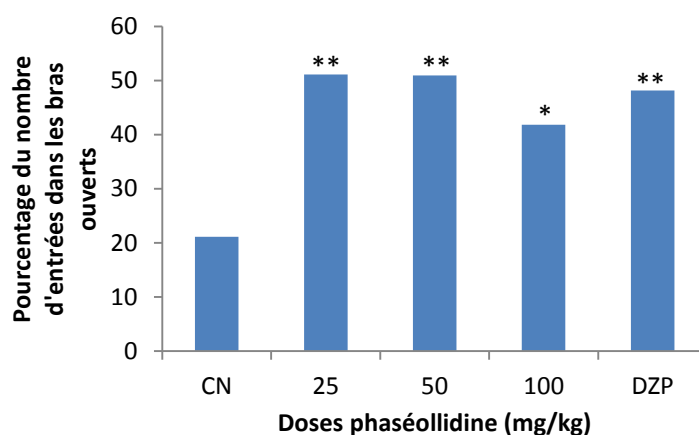
### II.3.4 Activité anxiolytique de la phaséolidine.

L'anxiété étant un état favorisant la production des EAO, la phaséolidine, produit le plus antioxydant des métabolites isolés au cours de ce travail a été testé *in vivo* pour sa potentialité anxiolytique. A notre connaissance, ce composé n'a pas encore été testé pour cette activité. Pour le faire, le test du labyrinthe en croix surélevé, le test de la planche à trous et le test de l'arène ouverte ont été réalisés sur des souris expérimentales.

#### II.3.4.1 Test du Labyrinthe en croix surélevé

Cette étude a été effectuée suivant la méthode de Rodgers *et al.*, 1997 [140]. Plusieurs paramètres ont été relevés. C'est ainsi que :

- En ce qui concerne les effets de la phaséolidine sur le pourcentage du nombre d'entrées dans les bras ouverts ; les doses 25 mg/kg, 50 mg/kg et 100 mg/Kg de la phaséolidine et le Diazépam, augmentent le pourcentage du nombre d'entrées dans les bras ouverts. Le pourcentage du nombre d'entrées dans les bras ouverts est de 51,11 pour la dose 25 mg/kg, de 50,98 pour la dose 50 mg/kg et de 41,81 pour la dose 100 mg/kg de la phaséolidine. Cette valeur est de 48,14 pour le groupe témoin positif.

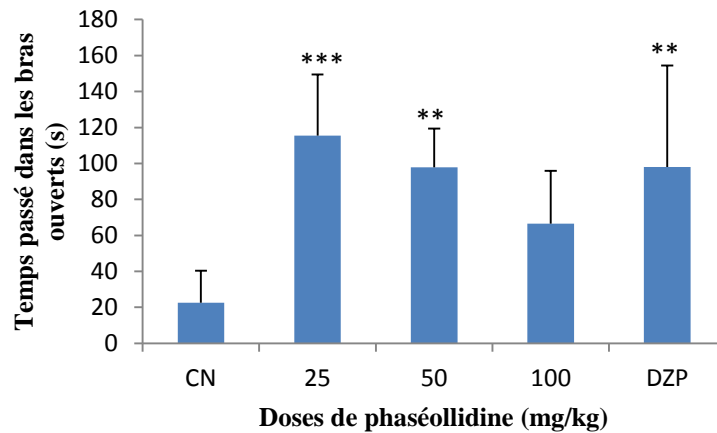


\*Chacune des barres représente le pourcentage. n=5, \*\*p ≤ 0.01, \*p ≤ 0,05 différence significative. TN : témoin négatif constitué des souris ayant reçu l'eau distillée, DZP : témoin positif constitué des souris ayant reçu le Diazépam (3 mg/kg).  
(% =  $\frac{M(\text{entrées bras ouverts}) \times 100}{M(\text{entrées bras fermés}) + M(\text{entrées bras ouverts})}$ ) où M = moyenne nombre d'entrées bras ouverts et Mt = moyenne nombre d'entrées bras fermés + nombre d'entrées bras ouverts.

**Figure 56 :** Effets de la phaséolidine sur le pourcentage du nombre d'entrées dans les bras ouverts.

- En ce qui concerne les effets de la phaséolidine sur le temps passé par les souris dans les bras ouverts du labyrinthe ; Les doses 25 mg/kg et 50 mg/kg de la phaséolidine et le Diazépam, augmentent le temps passé par les souris dans les bras ouverts du labyrinthe par rapport au témoin négatif. Le temps passé dans les bras ouverts passe de

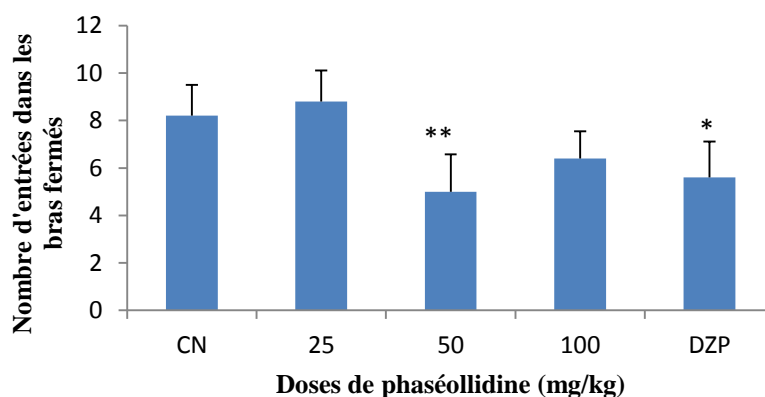
115,4 ± 34,03 à 97,8 ± 21,64 pour les doses 25 mg/kg et 50 mg/kg de la phaséollidine. Cette valeur est de 98 ± 56,41 pour le témoin positif.



\*Chacune des barres représente la moyenne ± ESM. n=5, \*\*\*p ≤ 0.001, \*\*p ≤ 0,01 différence significative par rapport au contrôle négatif. TN : témoin négatif constitué des souris ayant reçu l'eau distillée, DZP : témoin positif constitué des souris ayant reçu le Diazépam (3 mg/kg).

**Figure 57:** Effets de la phaséollidine sur le temps passé par les souris dans les bras ouverts du labyrinthe.

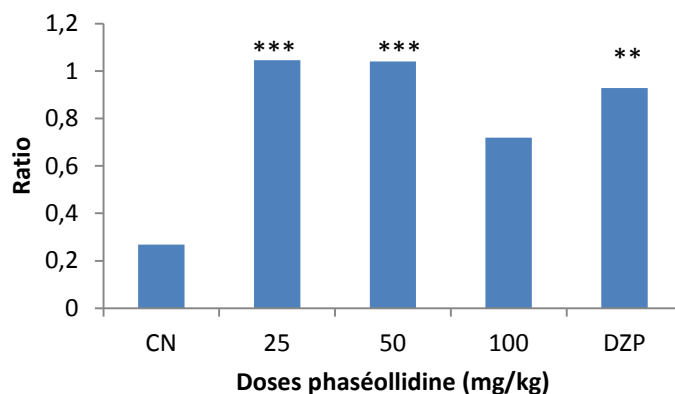
- En ce qui concerne les effets de la phaséollidine sur le nombre d'entrées des souris dans les bras fermés du labyrinthe ; La dose 50 mg/kg de la phaséollidine et le Diazépam (3 mg/kg), diminuent le nombre d'entrées dans les bras fermés du labyrinthe par rapport au témoin négatif. Le nombre d'entrées dans les bras fermés est de 5 ± 1,58 pour la dose 50 mg/kg de la phaséollidine. Cette valeur est de 5,6 ± 1,51 pour le témoin positif.



\*Chacune des barres représente la moyenne ± ESM. n=5, \*\*p ≤ 0,01, \*p ≤ 0,05 différence significative par rapport au témoin négatif. TN : témoin négatif constitué des souris ayant reçu de l'eau distillée, DZP : témoin positif constitué des souris ayant reçu le Diazépam (3 mg/kg).

**Figure 58 :** Effets de la phaséollidine sur le nombre d'entrées des souris dans les bras fermés du labyrinthe

- Pour ce qui est du ratio nombre d'entrées bras ouverts sur nombre d'entrées bras fermés ; les doses 25 mg/kg et 50 mg/kg de la phaséollidine et le Diazépam augmentent le ratio nombre d'entrées bras ouverts sur nombre d'entrées bras fermés. Le ratio est de 1,04 pour la dose 25 mg/kg et 1,04 pour la dose 50 mg/kg de la phaséollidine. Cette valeur est de 0,92 pour le témoin positif.

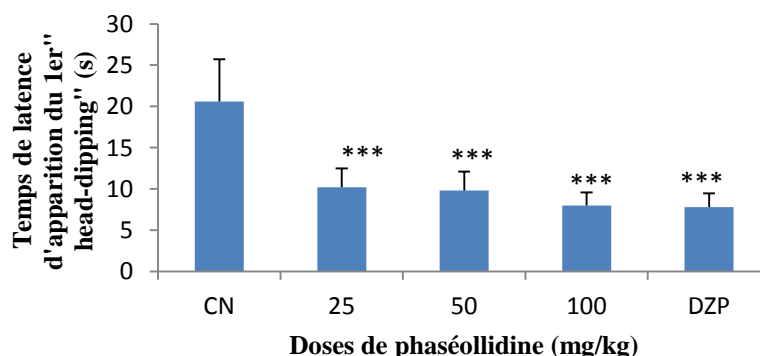


**Figure 59:** Ratio du nombre d'entrées dans les bras ouverts sur le nombre d'entrées dans les bras fermés

#### II.3.4.2 Test de la Planche à trous

Pour cette étude, la méthode de Takeda *et al.*, 1998 [141] a été utilisée ; plusieurs paramètres ont été évalués. C'est ainsi que :

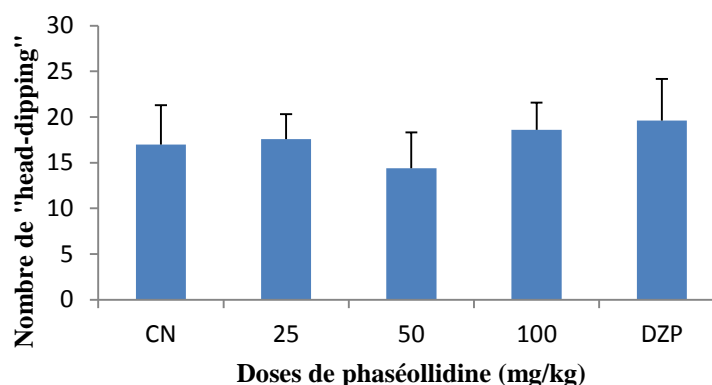
- Pour ce qui est des effets de la phaséollidine sur le temps de latence d'apparition du 1<sup>er</sup> "head-dipping" ; les doses 25 mg/kg, 50 mg/kg et 100 mg/kg de la phaséollidine et le Diazépam diminuent le temps de latence d'apparition du 1<sup>er</sup> "head-dipping". Le temps de latence d'apparition du 1<sup>er</sup> "head-dipping" est de  $10,2 \pm 2,28$  pour la dose 25 mg/kg, de  $9,8 \pm 2,28$  pour la dose 50 mg/kg, et de  $8 \pm 1,58$  pour la dose 100 mg/kg de la phaséollidine. Cette valeur est de  $7,8 \pm 1,92$  pour le témoin positif.



\*Chacune des barres représente la moyenne  $\pm$  ESM. n=5, \*\*\*p  $\leq$  0.001 différence significative par rapport au témoin négatif. TN : témoin négatif constitué des souris ayant reçu l'eau distillée, DZP : témoin positif constitué des souris ayant reçu le Diazépam (0.5 mg/kg).

**Figure 60:** Effets de la phaséollidine sur le temps de latence d'apparition du 1<sup>er</sup> "head-dipping"

- Pour ce qui est des effets de la phaséolidine sur le nombre de "crossing" ; Les doses 25 mg/kg et 100 mg/kg de la phaséolidine augmentent le nombre de "crossing" par rapport au témoin négatif. Le nombre de "crossing" est de  $42,2 \pm 10,30$  pour la dose 25 mg/kg et de  $60 \pm 9,05$  pour la dose 100 mg/kg de la phaséolidine.

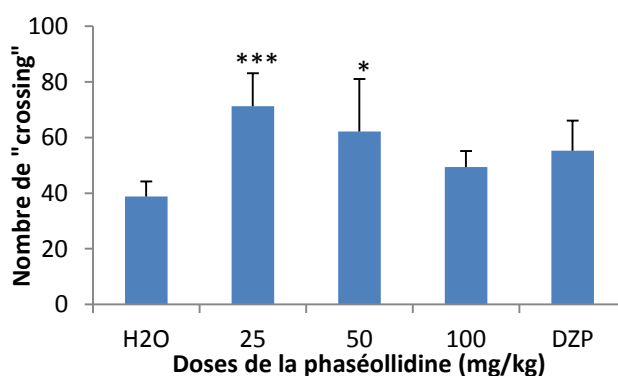


\*Chacune des barres représente la moyenne  $\pm$  ESM. n=5, TN : témoin négatif constitué des souris ayant reçu l'eau distillée, DZP : témoin positif constitué des souris ayant reçu le Diazépam (0.5 mg/kg).

**Figure 61** : Effets de la phaséolidine sur le nombre de "crossing"

### II.3.4.3 Test de l'Arène ouverte

Cette étude a été réalisée suivant la méthode de Royce 1977 [142]. Il ressort après observation des animaux que : Les doses 25 mg/kg et 50 mg/kg de la phaséolidine, augmentent le nombre de "crossing" par rapport au témoin négatif. Le nombre de "crossing" est de  $71,2 \pm 11,84$  pour la dose 25 mg/kg et de  $62,2 \pm 18,83$  pour la dose 50 mg/kg de la phaséolidine.



\*Chacune des barres représente la moyenne  $\pm$  ESM. n=5, \*\*\* $p \leq 0,001$ , \* $p \leq 0,05$  différence significative par rapport au témoin négatif. TN : témoin négatif constitué des souris ayant reçu l'eau distillée, DZP : témoin positif constitué des souris ayant reçu le Diazépam (0.3 mg/kg).

**Figure 62** : Effets de la phaséolidine sur le nombre de "crossing"

La phaséolidine possède d'après ces résultats un potentiel anxiolytique intéressant.

Les résultats de ces différents tests montrent et confirment que le genre *Erythrina* est une source potentielle de métabolites secondaires variés. *Erythrina droogmansiana* contient des métabolites secondaires possédant des propriétés nécessaires pour lutter contre et même prévenir le développement du stress oxydant poussé. Cette plante pourrait donc être explorée pour la production de phytomédicament et même de tisane. Ces différents résultats sont également en accord avec les informations présentes dans la littérature quant aux usages des plantes du genre *Erythrina* (traitement des plaies, des ulcères de l'estomac et de la eau, les abcès, le mal de dents, les problèmes d'épilepsie....) en médecine traditionnelle [45].

## **CONCLUSION GENERALE ET PERSPECTIVES**

## CONCLUSION GENERALE

Le but de ce travail était de contribuer à l'étude phytochimique et biologique d'*Erythrina droogmansiana* (Fabaceae) plante médicinale traditionnelle ; plante qui a été sélectionnée sur la base des études chimiotaxonomiques et ethnobotaniques.

Au terme ce travail qui avait deux grands aspects, nous avons sur le plan phytochimique en utilisant les techniques chromatographiques (CC, CCM préparative) isolé, identifié et caractérisé 18 composés issus des extraits au méthanol et à l'acétate d'éthyle des écorces du tronc, des écorces des racines et du bois des racines. Ces produits appartiennent à six classes de substances naturelles :

- Huit flavonoïdes tous connus parmi lesquels : trois flavanones, abyssinone V-4'-methylether **103** ; 4'-Méthoxylicoflavanone **203** et l'abyssinone-IV-4'-methylether **205** ; deux ptérocarpanes, l'érythrabyssine **202** et la phaséollidine **68** et trois isoflavones, la genistéine **129** ; la diadézéine **204** et la 4',5,7-trihydroxy-8-prenylisoflavone **146** ,
- Deux cinnamates connus, l'érythrinasinate A **196** et l'érythrinasinate B **209**,
- Un époxyde, le 3-(3',4'-méthylènedioxyphényl)-2,3-époxypropanole **206** isolé de cette famille pour la première fois et ici entièrement décrit.
- Une sphingolipide, la droogmansiamide **208** isolé et caractérisée ici pour la première fois,
- Un amide, l'asperphenamate **207** isolé pour la première fois de ce genre,
- Un alcool gras, pentacosan-1-ol **210**,
- Quatre stérols, le  $\beta$ -sitostérol **211** et son glucoside **213**, le stigmastérol **212** et son glucoside **214**,
- Une saponine est en cours d'élucidation.

La détermination de toutes ces structures a été possible par l'interprétation de leurs données spectroscopiques (UV, IR et RMN uni et bidimensionnelle), spectrométrie de masse (IE et ESI) en partie avec les informations présentes dans la littérature. L'abyssinone-V-4'-methylether **103** et le 3-(3',4'-méthylènedioxyphényl)-2,3-époxypropanole **206** ont subi une acétylation dans le but de confirmer leur structure d'une part et d'optimiser leur potentialité biologique d'autre part. à l'issue de ces réactions, nous avons obtenu de l'abyssinone-V-4'-methylether **103** son dérivé acétylé **215** qui est un produit déjà synthétisé en pharmacie et du 3-(3',4'-méthylènedioxyphényl)-2,3-époxypropanole un mélange complexe.



Sur le plan biologique, les différents extraits, sept des flavonoïdes isolés, l'époxyde **206** et l'asperphénamate **207** ont été testés pour leurs potentialités antioxydantes par les méthodes aux DPPH et FRAP. De ces tests, il ressortait que les écorces des racines sont la partie la plus riche en métabolites antioxydants et que la phaséollidine **68** est la molécule responsable de cette activité dans la plante avec un potentiel modéré. L'abyssinone-V-4'-méthylether **103** produit majoritaire a été testé *in vivo* sur des rats pour son potentiel à inhiber l'œdème de la patte induit par la carragénine, l'œdème de l'oreille induit par le xylène et le granulome induit par les pellets de coton. De cette étude, il ressortait que pour chaque phénomène étudié, ce produit avait une bonne potentialité ce qui pourrait faire de lui un bon candidat pour drogue antiinflammatoire. Le même produit a été étudié pour ses potentialités anticonvulsivantes. Il ressort donc que pour tous les modèles étudiés, l'abyssinone V-4'-méthyléther a un bon pouvoir anticonvulsivant. La phaséollidine **68** a été évaluée pour son pouvoir anxiolytique. Il ressort de ce test que la phaséollidine a une bonne potentialité anxiolytique.

De cette étude, il ressort que *Erythrina droogmansiana* est riche en métabolites secondaires doués d'activités pouvant être utiles pour la lutte contre les maladies liées aux stress oxydatif telle que l'anxiété et même certain cancers liés aux inflammations chroniques. Ces résultats sont en accord avec les usages traditionnels des plantes de ce genre [45].

Dans la suite de nos travaux, nous comptons :

- Achever l'élucidation structurale de la saponine,
- Faire une étude sur la relation structure-activités biologiques,
- Evaluer la toxicité de l'extrait à l'acétate d'éthyle des écorces des racines et des composés YG<sub>4</sub> et YG<sub>7</sub>.
- Faire un essai de mise sur pieds d'un MTA antiinflammatoire, anticonvulsivant et anxiolytique à partir de l'extrait à l'acétate d'éthyle des écorces des racines.

## **Chapitre 3 : PARTIE EXPERIMENTALE**

## **Chapitre 3 : PARTIE EXPERIMENTALE**

### **III.1 GENERALITES**

Les points de fusion ont été pris avec un appareil électronique de marque Electrothermal IA9000 Series.

Les masses ont été mesurées sur une balance électronique de type Explorer OHAUS.

Les spectres de masse ont été enregistrés à l'aide des spectromètres de masse de marque JEOL MSRoute pour la technique à Impact Electronique, et MS UCL direct injection pour l'électrospray.

Les spectres de Résonance Magnétique Nucléaire du Proton (RMN  $^1\text{H}$ ) et du carbone (RMN  $^{13}\text{C}$ ) ont été enregistrés sur des appareils de marque Brüker 500 MHz (RMN  $^1\text{H}$ ) et 125 MHz (RMN  $^{13}\text{C}$ ) ; 400 MHz (RMN  $^1\text{H}$ ) et 100 MHz (RMN  $^{13}\text{C}$ ). Les échantillons ont été dissouts à l'aide de solvants deutérié tels : le méthanol, le chloroforme, le diméthyl sulfoxyde et l'eau. La référence utilisée était le tétraméthylsilane (TMS).

Les expériences COSY, HSQC, HMBC, NOE et APT ont été effectuées avec des séquences d'impulsions usuelles.

Les déplacements chimiques ont été exprimés en partie par million ( $\delta$  ; ppm) et les constantes de couplage en Hertz (J ; Hz).

Les densités optiques lors des dosages ont été lues à l'aide d'un spectrophotomètre de marque APADA V-1100.

Les chromatographies sur colonnes ont été réalisées dans des colonnes en verre de diamètre varié. Les phases stationnaires qui ont été utilisées étaient : le sable activé pour le dégrossissement, la silice (Meck, 70-230 mesh) pour les purifications, le Séphadex LH 20 pour la chromatographie par exclusion de taille. Les différentes fractions recueillies ont été concentrées à l'aide des évaporateurs rotatifs de marque Büchi et Heidolph.

Les chromatographies sur couche mince ont été réalisées sur des plaques préfabriquées en Aluminium et en plastique de dimensions 20x20 cm<sup>2</sup> recouverte de silice de type GF<sub>254</sub> Merck.

Les taches ont été révélées à l'aide d'une lampe UV 254 et 365 nm et au moyen de l'acide sulfurique 30% suivi d'un chauffage à l'étuve. L'iode a également été utilisé comme révélateur.

## **III.2 MATERIEL VEGETAL**

Les différentes parties de *Erythrina droogmansiana* T. Durand (écorces du tronc, écorces des racines, bois des racines et feuilles) ont été récoltées à Nkomekoui dans la Région du Centre (Cameroun) en août 2010 par un botaniste de l'Herbier National du Cameroun. L'identification a été faite dans cet Herbier par comparaison à un échantillon authentique (4261/SRFK).

## **III.3 EXTRACTION, ISOLEMENT ET PURIFICATION DES COMPOSES D'ERYTHRINA DROOGMANSIANA**

### **III.3.1 Extraction**

Les écorces des racines, les écorces du tronc et le bois des racines ont été découpés en petits morceaux, séchés puis broyés. Nous avons donc obtenu respectivement : 1,35 Kg de poudre d'écorces des racines, 1 Kg de poudre d'écorces du tronc, 1,10 Kg de poudre du bois de racine et 0,9 Kg de poudre de feuille. Les poudres obtenues ont subi des extractions par macération simple à température ambiante. L'extraction pour chaque poudre excepté celle du bois des racines s'est d'abord faite à l'acétate d'éthyle pendant 72 heures trois fois. L'extrait obtenu a été concentré à sec à l'aide d'un évaporateur rotatif. Le résidu de poudre séché a été extrait au méthanol pendant 72 heures trois fois. A l'issue des différentes extractions nous avons obtenu 225 g d'extrait à l'AE des écorces des racines, 125 g d'extrait à l'AE des écorces du tronc, 185 g d'extrait méthanolique des écorces des racines et 100g d'extrait méthanolique des écorces du tronc. L'extraction de la poudre des feuilles et de la poudre du bois des racines s'est faite en utilisant les percolateurs. Cette extraction était successive partant de l'hexane au méthanol en passant par l'acétate d'éthyle pour les feuilles et uniquement au méthanol pour la poudre du bois des racines.

### **III.3.2 Isolement et purification des composés**

#### **III.3.2.1 Isolement et purification des composés des écorces des racines**

##### **III.3.2.1.1 Extrait à l'acétate d'éthyle**

175 g ont été fixés sur 100 g de gel de silice gros grain, puis chromatographié sur une colonne de dégrossissement. La colonne a été éluée avec un système de solvant hexane, Hex/AE, AE/MeOH de polarité croissante. Ceci nous a permis de recueillir 164 fractions de 400 ml regroupées en plusieurs séries sur la base de la CCM tel que présenté dans le tableau suivant :

**Tableau 34** : Chromatogramme de l'extrait à l'acétate d'éthyle des écorces des racines d'*Erythrina droogmansiana* sur la silice gros grain

Systèmes d'élution	Fractions	Série	Observations
Hexane 100%	1 à 8	S <sub>1</sub> *	Mélange de 8 composés
Hex 95/AE 5%	9 à 31		
Hex 90/AE 10%	32 à 52	S <sub>2</sub> *	Mélange de 6 composés
Hex 80/AE 20%	53 à 73		
Hex 75/AE 25%	74 à 88	S <sub>3</sub>	Mélange complexe de composés YG <sub>10</sub>
Hex 70/AE 30%	89 à 102		
Hex 60/AE 40%	103 à 119		
Hex 55/AE 45%	120 à 131	S <sub>4</sub>	Trainée
Hex 50/AE 50%	132 à 142		
Hex 30/AE 70%	143 à 155		
AE 100%	156 à 164		

\*Pour les fractions retenues pour traitement

### III.3.2.1.1.1 Traitement de la série 1

La série 1 est chromatographiée sur colonne de gel de silice (Merck, 70-230 mesh) et éluée avec le mélange hexane, hexane/acétate d'éthyle et acétate d'éthyle méthanol. 177 fractions ont été recueillies et regroupées en plusieurs séries sur la base de la CCM tel que présenté dans le tableau suivant :

**Tableau 35** : Chromatogramme de la série N°1 (1 à 31) sur colonne de gel de silice

Système d'élution	Fractions	Séries	Observations
Hexane 100%	1 à 12	S' <sub>1</sub>	RAS
Hex98/AE2%	13 à 21	S' <sub>2</sub>	Mélange de 3 composés avec YG <sub>1</sub>
Hex95/AE5%	22 à 34	S' <sub>3</sub>	Mélange de deux composés avec YG <sub>10</sub>
Hex93/AE7%	35 à 52	S' <sub>4</sub> (35-40)	Mélange de deux composés avec YG <sub>4</sub>
		S' <sub>5</sub> (41-48)	Mélange de deux composés avec YG <sub>6</sub>
		S' <sub>6</sub> (49-52)	Mélange de 2 composés YG <sub>19</sub> et YG <sub>5</sub>

Hex90/AE10%	53 à 79	S' <sub>7</sub> (53-62)	Mélange de deux composés avec YG <sub>5</sub>
		S' <sub>8</sub>	Mélange de trois composés
Hex85/AE15%	80 à 100	S' <sub>9</sub>	Mélange huileux complexe
Hex80/AE20%	101 à 121	S' <sub>10</sub>	Mélange complexe de 3 composés superposés
Hex75/AE25%	122 à 133	S' <sub>11</sub>	Mélange de 4 composés plus trainée
Hex65/AE35%	134 à 154	S' <sub>12</sub>	Trainée
Hex55/AE45%	155 à 167	S' <sub>13</sub>	Trainée
Hex45/AE55%	168 à 177	S' <sub>14</sub>	Trainée

La série S'<sub>2</sub> laissée au repos sur la paille cristallise après quelques heures. Les paillettes blanches qui se forment sont filtrées et lavées plusieurs fois à l'hexane pour donner YG<sub>1</sub> (20 mg). De la même façon, S'<sub>3</sub>, S'<sub>4</sub>, S'<sub>5</sub> et S'<sub>7</sub>, laissées au repos cristallisent pour donner respectivement après lavage à des systèmes de solvants (hexane-acétate d'éthyle) à des proportions variant de 1 à 10 % en acétate d'éthyle, YG<sub>10</sub> (15 mg), YG<sub>4</sub> (780 mg), YG<sub>6</sub> (7 mg) et YG<sub>5</sub> (30 mg).

La sous série S'<sub>6</sub>, traitée de la même manière que précédemment permet d'obtenir une poudre beige qui est un mélange complexe de deux composés.

Le traitement des autres séries s'est avéré difficile vue que les composés qui s'y trouvaient se dégradent au fur et mesure du traitement ; elles ont donc été abandonnées.

La poudre obtenue de S'<sub>6</sub> a subi une CCM préparative mais les quantités obtenues étaient très faibles. Après plusieurs CCM analytiques sur cette poudre, une chromatographie sur colonne avec un système isocratique (Hex-AE 5%) pour obtenir YG<sub>19</sub> produit majoritaire du mélange. Selon le tableau suivant.

**Tableau 36** : Tentative de purification de 200 mg de la poudre beige par CC avec 30 g de gel de silice

Systèmes d'élution	Fractions	Séries	Observations
Hex93/AE 5%	1 -44	S <sup>2</sup> <sub>1</sub>	Mélange de deux composés avec YG <sub>19</sub>

### III.3.2.1.1.2 Traitement de la série 2

La série S<sub>2</sub> est chromatographiée sur colonne de gel de silice (Merck, 70-230 mesh) et éluee avec le mélange hexane, hexane/acétate d'éthyle et acétate d'éthyle/méthanol. 128 fractions ont été recueillies et regroupées en plusieurs séries sur la base de la CCM tel que présenté dans le tableau suivant :

**Tableau 37** : Chromatogramme de la série N° 2 sur colonne de gel de silice

Systèmes d'élution	Fractions	Séries	observations
Hexane 100%	1 à 15	S <sup>3</sup> <sub>1</sub>	RAS
Hex 95/AE 5%	17 à 27	S <sup>3</sup> <sub>2</sub>	Mélange de 2 composés avec YG <sub>1</sub> (trace)
Hex 90/AE 10%	28 à 40	S <sup>3</sup> <sub>3</sub>	Mélange de 3 composés avec YG <sub>4</sub> en trace et YG <sub>10</sub>
Hex 85/AE 15%	41 à 62	S <sup>3</sup> <sub>4</sub> (41-62)	Mélange de 4 composés
Hex 80/AE 20%	62 à 85	S <sup>3</sup> <sub>5</sub>	Mélange complexe de 2 composés superposés
Hex 70/AE 30%	86 à 96	S <sup>3</sup> <sub>6</sub>	Mélange complexe de 2 composés superposés
Hex 60/AE 40%	97-106	S <sup>3</sup> <sub>7</sub>	Mélange de 3 composés sous forme de trainée
Hex 20/AE 80%	107 à 117	S <sup>3</sup> <sub>8</sub>	Longue trainée
AE 70/MeOH 30%	118 à 128	S <sup>3</sup> <sub>9</sub>	Trainée avec YG <sub>9</sub>

YG<sub>1</sub>, YG<sub>4</sub>, YG<sub>10</sub> et YG<sub>9</sub> sont obtenus après filtration et lavage des cristaux qui apparaissent dans leurs fractions respectives.

### III.3.2.1.1.2.1 Traitement de la série S<sup>3</sup><sub>4</sub>

La série S<sup>3</sup><sub>4</sub> qui présente deux produits majoritaires est traitée par chromatographie sur colonne de gel de silice. Le système d'élution utilisé était constitué du mélange de solvant hexane/acétate d'éthyle. Le tableau suivant présente les détails de l'élution.

**Tableau 38** : Chromatogramme de la série S<sup>3</sup><sub>4</sub> (41-62) sur colonne de gel de silice

Systèmes d'élution	Fractions	Séries	Observations
Hex 95/AE 05%	1 à 16	S <sup>4</sup> <sub>1</sub>	Mélange de 2 composés avec un majoritaire
Hex 90/AE 10%	17 à 29		
Hex 85/AE 15%	30 à 36	S <sup>4</sup> <sub>2</sub>	Mélange complexe de 2 composés
Hex 80/AE 20%	37 à 43		
Hex 70/AE 30%	44 à 54		

La sous série S<sup>4</sup><sub>1</sub> est ensuite traitée sur une colonne de Sephadex LH-20 ; ce qui conduit à l'obtention de YG<sub>7</sub>. Le tableau suivant donne le détail de ce traitement.

**Tableau 39** : Traitement de la sous série S<sup>4</sup><sub>1</sub> sur colonne de Sephadex

Système	Fraction	Série	Observation
MeOH 100%	1 à 12	S <sup>5</sup> <sub>1</sub>	Mélange de 2 composés
		S <sup>5</sup> <sub>2</sub>	YG <sub>7</sub>

La série S<sup>5</sup><sub>2</sub> laissé sur la paillasse s'évapore pour donner YG<sub>7</sub> sous forme pâte amorphe marron.

### III.3.2.1.2 Extrait méthanolique

65g de l'extrait méthanolique a été fixé sur 60 g de silice gros grain, puis chromatographié sur une colonne de dégrossissement. La colonne a été éluée avec un système de solvant hexane, Hex/AE et AE/MeOH de polarité croissante. Ceci nous a permis de recueillir 119 fractions de 150 ml regroupées en plusieurs séries sur la base de la CCM tel que présenté dans le tableau suivant :



**Tableau 40** : Chromatogramme de l'extrait méthanolique des écorces des racines de *Erythrina droogmansiana* sur colonne de silice gros grain

Systèmes d'élution	Fractions	Séries	Observations
Hexane 100%	1 à 2	R <sub>M1</sub>	Mélange de 6 composés
Hex 50/AE 50%	3 à 17		
AE 100%	18 à 33	R <sub>M2</sub>	Mélange de 3 composés
AE 95/MeOH 05%	34 à 42	R <sub>M3</sub>	Mélanges de 2 composés masqués dans une trainée
AE 90/MeOH 10%	43 à 55		
AE 80/MeOH 20%	56 à 68	R <sub>M4</sub>	Longue trainée
AE 70/MeOH 30%	69 à 78		
AE 50/MeOH 50%	79 à 90		
AE 30/MeOH 70%	91 à 104	R <sub>M5</sub>	Longue trainée
MeOH 100%	105 à 119		

Le fait que les cristaux obtenus des séries R<sub>M2</sub>, R<sub>M3</sub>, R<sub>M4</sub> et R<sub>M5</sub> se dénaturent à la lumière a fait que ses séries ont été abandonnées après traitement.

### III.3.2.1.2.1 Traitement de la série RM<sub>1</sub>

La série R<sub>M1</sub> (12g) est chromatographiée sur colonne de gel de silice (Merck, 70-230 mesh) et éluée avec le mélange hexane, hexane/acétate d'éthyle et acétate d'éthyle/méthanol. 177 fractions ont été recueillies et regroupées en plusieurs séries sur la base de la CCM tel que présenté dans le tableau suivant :

**Tableau 41** : Chromatogramme de la série R<sub>M1</sub> (12g) sur colonne de gel de silice

Système d'élution	Fractions	Séries	Observations
Hexane 100%	1 à 10	R' <sub>M1</sub>	RAS
Hex 95/AE 5%	11 à 35	R' <sub>M2</sub>	Mélange de 3 composés avec YG <sub>1</sub> et YG <sub>10</sub> en trace
Hex 90/AE 10%	36 à 53	R' <sub>M3</sub>	Mélange de 4 composés avec des trace de YG <sub>4</sub>
Hex 85/AE 15%	54 à 70	R' <sub>M4</sub>	Mélange de 3 composés avec YG <sub>18</sub>

Hex 80/AE 20%	71 à 87	R' <sub>M5</sub>	Mélange complexe de 3 composés avec cristaux en trace
Hex 70/AE 30%	88 à 100		
Hex 50/AE 50%	101 à 117	R' <sub>M6</sub>	Mélange de 3 composés avec trainée
Hex 30/AE 70%	118 à 130		
AE 100%	268 à 286	R' <sub>M7</sub>	Longue trainée
AE 90/MeOH 10%	287 à 300		

### III.3.2.2 Isolement et purification des composés de l'extrait à l'acétate d'éthyle des écorces du tronc

50 g de l'extrait à l'acétate d'éthyle des écorces du tronc a été fixé sur 70 g de silice (Merck, 70-230 mesh). Une colonne de 1 m de hauteur a été montée en utilisant 150 g de silice et élué avec le mélange hexane, hexane/acétate d'éthyle et acétate d'éthyle/méthanol. Des fractions de 250 ml ont été recueillies, évaporées et regroupées sur la base de leur profil chromatographique sur CCM analytique comme détaillé dans le chromatogramme suivant :

**Tableau 42:** Chromatogramme de l'extrait à l'acétate d'éthyle des écorces du tronc sur colonne de gel de silice

Systèmes d'éluion	Fractions	Séries	Observations
H/A100%	1-6	T <sub>1</sub>	RAS
Hex 95/AE 5%	7-19	T <sub>2</sub>	Mélange de 3 composés avec <b>YG<sub>1</sub></b> et <b>YG<sub>10</sub></b>
Hex 90/AE 10%	20-28	T <sub>3</sub>	Mélange de 3 composés avec <b>YG<sub>20</sub></b> et <b>YG<sub>4</sub></b>
Hex 85/AE 15%	29-35	T <sub>4</sub>	Mélange de 2 composés
Hex 75/AE 25%	36-48	T <sub>5</sub>	Mélange complexes de 3 composés
Hex 65/AE 35%	49-60		
Hex 50/AE 50%	61-70	T <sub>6</sub>	Mélange de 4 composés
AE 100%	71-90	T <sub>7</sub>	Trainée + <b>YG<sub>9</sub></b>

Les composés YG<sub>1</sub>, YG<sub>2</sub>, YG<sub>20</sub>, YG<sub>4</sub> et YG<sub>9</sub> sont obtenus après lavages à l'aide de l'hexane et du mélange entre l'hexane et l'acétate d'éthyle dans des proportions allant de 1 à 10%.

#### III.3.2.2.1 Traitement de la série T<sub>4</sub>

La série T<sub>4</sub> qui présente deux produits est traitée par chromatographie sur colonne de gel de silice. Le système d'éluion utilisé était isocratique et de polarité Hex 95/AE 5%.

**Tableau 43** : Chromatogramme de la série T<sub>4</sub> sur colonne de gel de silice

Systèmes d'élution	Fractions	Séries	Observations
Hex 95/AE 5%	1 à 20	T' <sub>4</sub>	mélange de deux composés
		T'' <sub>4</sub>	Un composé YG <sub>11</sub>

### III.3.2.3 Traitement de l'extrait à l'acétate d'éthyle des feuilles

Cet extrait a été traité par chromatographies sur colonne. Les faibles quantités et l'abondance de chlorophylles nous a poussé à l'écartier. Toutefois, YG<sub>10</sub> a pu être isolé après lavage de la fraction où il avait cristallisé.

### III.3.2.4 Traitement de l'extrait au méthanol du bois des racines

50 g de l'extrait au méthanol du bois des racines a été chromatographié sur colonne de gel de silice (Merck, 70-230 mesh) et élué avec le mélange hexane, hexane/acétate d'éthyle et acétate d'éthyle/méthanol et méthanol. 144 fractions ont été recueillies et regroupées en plusieurs séries sur la base de la CCM tel que présenté dans le tableau suivant :

**Tableau 44** : Chromatogramme du dégrossissement de l'extrait méthanolique du bois des racines sur colonne de gel de silice

Systèmes d'élution	Fractions	Séries	Observations
Hex100%	1 -13	B <sub>1</sub>	RAS
Hex 95/AE 5%	14 -21	B <sub>2</sub>	Mélange de 4 composés avec YG <sub>10</sub>
Hex 90/AE 10%	22 -38		
Hex 85/AE 15%	39 -52	B <sub>3</sub>	Mélange de 3 composés avec YG <sub>12</sub>
Hex 75/AE 25%	53 -68	B <sub>4</sub>	Mélange de 3 composés avec YG <sub>13</sub>
Hex 65/AE 35%	69 -83	B <sub>5</sub>	Mélange de 4 composés avec YG <sub>14</sub>
Hex 50/AE 50%	84 -100	B <sub>6</sub>	Mélange de 3 composés avec YG <sub>15</sub>
Hex 70/AE 30%	101 -116	B <sub>7</sub>	Mélange de 4 composés avec YG <sub>16</sub> et YG <sub>17</sub>
AE 100%	117 -130	B <sub>8</sub>	Longue trainée avec YG <sub>21</sub>
AE 90/MeOH 10%	131 -144		

Les fractions B<sub>3</sub>, B<sub>4</sub>, B<sub>5</sub>, B<sub>6</sub>, et B<sub>7</sub> laissées au repos sur la paillasse cristallisent ; après filtration à l'aide du papier filtre wattman les produits solides obtenus sont lavés à l'aide des

solvants et mélange de solvant appropriés pour donner YG<sub>12</sub>, YG<sub>13</sub>, YG<sub>14</sub>, YG<sub>15</sub>, YG<sub>16</sub> et YG<sub>9</sub>.

YG<sub>21</sub> cristallise dans le ballon pendant l'évaporation de la fraction. Il est donc directement filtré puis lavés à l'aide du mélange méthanol/acétate d'éthyle.

#### III.3.2.4.1 Traitement de la série B<sub>4</sub>

Le résidu de la série B<sub>4</sub> est traité par chromatographie de colonne sur gel de silice (Merck, 70-230 mesh), pour donner 56 fractions comme résumé dans le tableau suivant.

**Tableau 45** : Chromatogramme de la colonne de purification de B<sub>4</sub> sur gel de silice

Systèmes d'élution	Fractions	Séries	Observations
Hex 90/AE 10%	1 -15	B' <sub>1</sub>	Mélange de 2 composés avec YG <sub>13</sub>
Hex 85 /AE 15%	16-40	B' <sub>2</sub>	Mélange de 2 composés avec YG <sub>18</sub>
Hex 75/AE 25%	41-56	B' <sub>3</sub>	Mélange de 3 composés

B'<sub>1</sub> et B'<sub>2</sub> laissées au repos cristallisent. Après filtration et lavage au solvant approprié obtenir YG<sub>13</sub> et YG<sub>18</sub> sont obtenu respectivement.

### III.4 CARACTERISTIQUES PHYSICOCHIMIQUES DES COMPOSES ISOLES

- **YG<sub>4</sub>**: abyssinone V-4'-methylether **103**

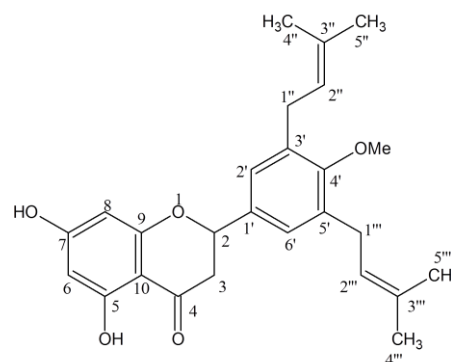
Aspect physique : aiguille blanche

Test de la cyanhydrine : Positif

RMN <sup>1</sup>H (400 MHz, CDCl<sub>3</sub>) et RMN <sup>13</sup>C (100MHz, CDCl<sub>3</sub>) voir tableau 15.

SM-EI *m/z* [M]<sup>+</sup> 422,2

SM-EI-HR *m/z*: Calc. pour C<sub>26</sub>H<sub>30</sub>O<sub>5</sub>. 422,2094



**103**

- **YG<sub>5</sub>**: Erythrabyssine **202**

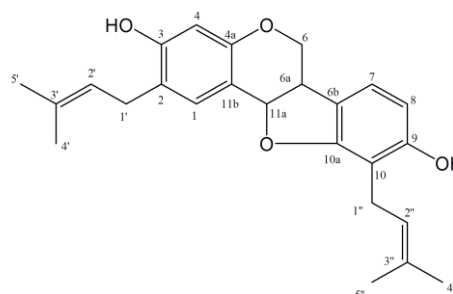
Aspect physique : poudre beige

Test au chlorure ferrique : positif

RMN <sup>1</sup>H (500 MHz, CDCl<sub>3</sub>) et RMN <sup>13</sup>C (125MHz, CDCl<sub>3</sub>) voir tableau 16.

SM-EI *m/z* [M]<sup>+</sup> 392,2

SM-EI-HR *m/z*: Calc. pour C<sub>25</sub>H<sub>28</sub>O<sub>4</sub>. 392,48742



**202**

- **YG<sub>7</sub>**: Phaséolidine **68**

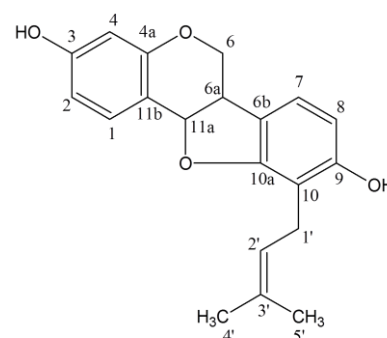
Aspect physique : poudre amorphe

Test à la cyanhydrine : positif

RMN <sup>1</sup>H (500 MHz, CDCl<sub>3</sub>) et RMN <sup>13</sup>C (125MHz, CDCl<sub>3</sub>) voir tableau 17.

SM-EI *m/z* [M]<sup>+</sup> 324,3

SM-HR *m/z*: Calc. pour C<sub>20</sub>H<sub>20</sub>O<sub>4</sub>. 324,3704



**68**

- **YG<sub>11</sub>**: 4'-Methoxylicoflavanone **203**

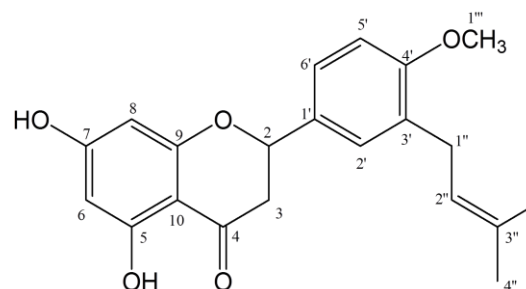
Aspect physique : poudre amorphe

Test à la cyanhydrine : positif

RMN <sup>1</sup>H (500 MHz, CDCl<sub>3</sub>) et RMN <sup>13</sup>C (125MHz, CDCl<sub>3</sub>) voir tableau 18.

SM-EI *m/z* [M]<sup>+</sup> 354,4

SM-HR *m/z* : Calc. pour C<sub>21</sub>H<sub>22</sub>O<sub>5</sub>. 354,39638



**203**

- **YG<sub>14</sub>** : genistéine **129**

Aspect physique : poudre amorphe

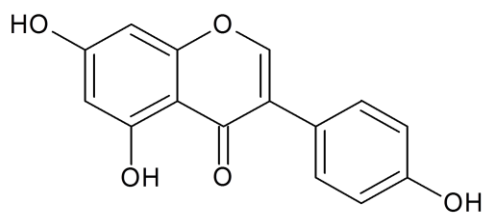
Test à la cyanhydrine : positif

RMN <sup>1</sup>H (500 MHz, CDCl<sub>3</sub>-CD<sub>3</sub>OD) et RMN <sup>13</sup>C

(125 MHz, CDCl<sub>3</sub>-CD<sub>3</sub>OD) voir tableau 19.

SM-EI *m/z* [M]<sup>+</sup> 270,3

SM-HR *m/z*: Calc. pour C<sub>15</sub>H<sub>10</sub>O<sub>5</sub>. 270,2369



**129**

- **YG<sub>15</sub>** : diadézéine **204**

Aspect physique : poudre blanche

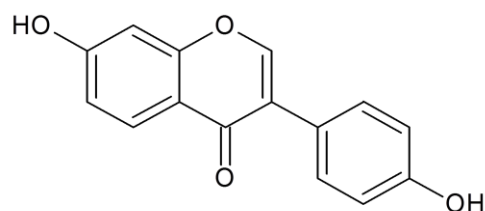
Test à la cyanhydrine : positif

RMN <sup>1</sup>H (500 MHz, CDCl<sub>3</sub>-CD<sub>3</sub>OD) et RMN <sup>13</sup>C

(125MHz CDCl<sub>3</sub>-CD<sub>3</sub>OD) voir tableau 20.

SM-EI *m/z* [M]<sup>+</sup> 254,2

SM-HR *m/z*: Calc. pour C<sub>15</sub>H<sub>10</sub>O<sub>4</sub>. 254,2375



**204**

- **YG<sub>18</sub>** : 4',5,7-trihydroxy-8-prenylisoflavone **146**

Aspect physique : poudre beige

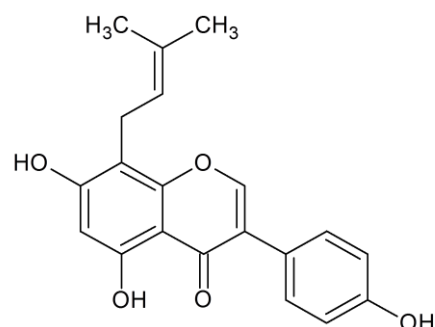
Test à la cyanhydrine : positif

RMN <sup>1</sup>H (500 MHz, CDCl<sub>3</sub>-CD<sub>3</sub>OD) et RMN <sup>13</sup>C

(125 MHz, CDCl<sub>3</sub>-CD<sub>3</sub>OD) voir tableau 21.

SM-EI *m/z* [M]<sup>+</sup> 338,3

SM-HR *m/z*: Calc. pour C<sub>20</sub>H<sub>18</sub>O<sub>5</sub>. 338,35392



**146**

- **YG<sub>19</sub>** : abyssinone-IV-4'-methylether **205**

Aspect physique : poudre blanche

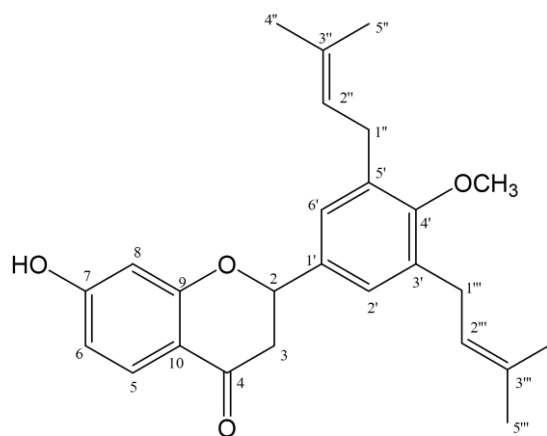
Test au chlorure ferrique : positif

RMN <sup>1</sup>H (500 MHz, CDCl<sub>3</sub>-CD<sub>3</sub>OD) et RMN <sup>13</sup>C

(125 MHz, CDCl<sub>3</sub>-CD<sub>3</sub>OD) voir tableau 22.

SM-EI *m/z* [M]<sup>+</sup> 406,5

SM-HR *m/z*: Calc. pour C<sub>26</sub>H<sub>30</sub>O<sub>4</sub>. 406,5141



**205**

- **YG<sub>12</sub>** : 3-(3',4'-méthylènedioxyphényl)-2,3-époxypropanole **206**

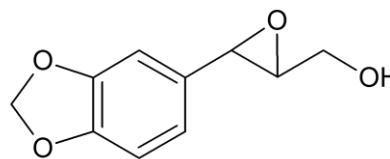
Aspect physique : poudre blanche

RMN <sup>1</sup>H (500 MHz, CDCl<sub>3</sub>) et RMN <sup>13</sup>C (125 MHz,

CDCl<sub>3</sub>) voir tableau 23.

SM-ESI-TOF *m/z* [M+3Na+4H] 267,06471

SM-HR *m/z*: Calc. pour C<sub>10</sub>H<sub>10</sub>O<sub>4</sub>. 194,184



**206**

- **YG<sub>13</sub>** : asperphenamate **207**

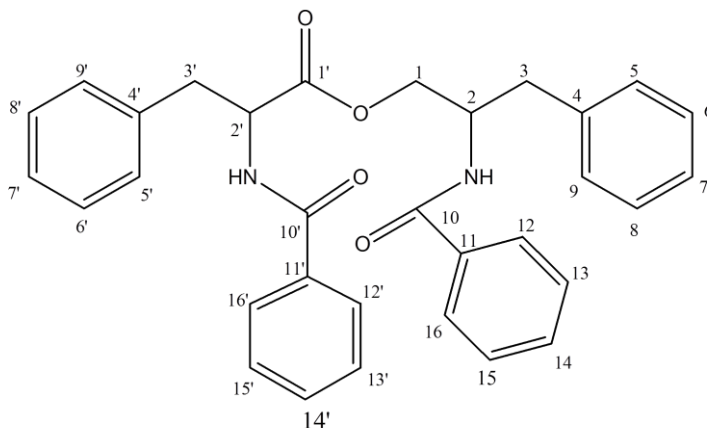
Aspect physique : poudre blanche

RMN <sup>1</sup>H (500 MHz, CDCl<sub>3</sub>) et RMN <sup>13</sup>C

(125 MHz, CDCl<sub>3</sub>) voir tableau 24.

SM-ESI-TOF *m/z* [M+Na] 531,6

SM-HR *m/z*: Calc. pour C<sub>32</sub>H<sub>30</sub>O<sub>4</sub>N<sub>2</sub>. 508,5916



**207**

- **YG<sub>16</sub>** : droogmansiamide **208**

Aspect physique : poudre blanche

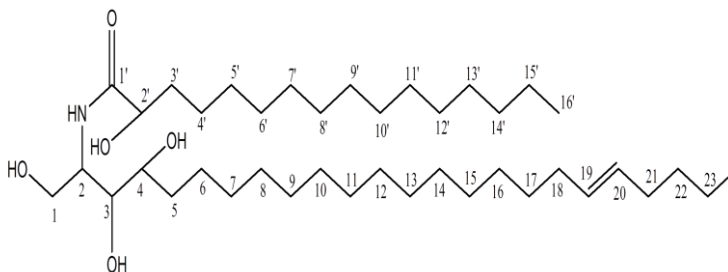
RMN <sup>1</sup>H (500 MHz, CDCl<sub>3</sub>-CD<sub>3</sub>OD) et

RMN <sup>13</sup>C (125 MHz, CDCl<sub>3</sub>-CD<sub>3</sub>OD)

voir tableau 25.

SM-EI *m/z* [M]<sup>+</sup> 653,5

SM-HR *m/z*: Calc. pour C<sub>40</sub>H<sub>78</sub>NO<sub>5</sub>. 653.5894



**208**

- **YG<sub>20</sub>** : Erythrasinate A **196**

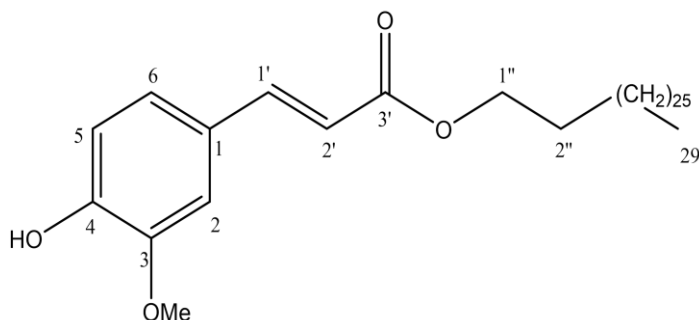
Aspect physique : poudre blanche

RMN <sup>1</sup>H (500 MHz, CDCl<sub>3</sub>) et RMN <sup>13</sup>C

(125 MHz, CDCl<sub>3</sub>) voir tableau 26.

SM-EI *m/z* [M]<sup>+</sup> 586,6

SM-HR *m/z*: Calc. pour C<sub>38</sub>H<sub>66</sub>O<sub>4</sub>. 586,562



**196**

- **YG<sub>6</sub>** : Erythrasinate B **209**

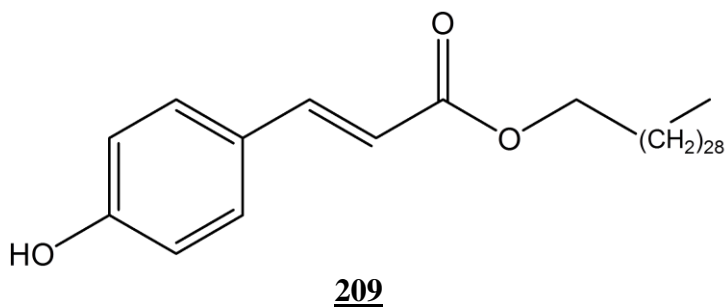
Aspect physique : poudre blanche

RMN <sup>1</sup>H (500 MHz, CDCl<sub>3</sub>) et RMN <sup>13</sup>C

(125 MHz, CDCl<sub>3</sub>) voir tableau 27.

SM-EI *m/z* [M]<sup>+</sup> 584,6

SM-HR *m/z*: Calc. pour C<sub>39</sub>H<sub>68</sub>O<sub>3</sub>. 584,6924

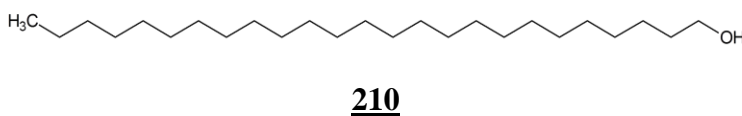


- **YG<sub>1</sub>** : pentacosan-1-ol **210**

Aspect physique : poudre blanche.

SM-EI *m/z* [M]<sup>+</sup> 368,6

SM-HR *m/z*: Calc. pour C<sub>25</sub>H<sub>52</sub>O. 368,6795





## III.5 TESTS BIOLOGIQUES

### III.5.1 Détermination de l'activité antioxydante

L'activité antioxydante des différents extraits a été déterminée quantitativement par la méthode au DPPH et celle du FRAP.

#### III.5.1.1 Méthode au DPPH

L'activité anti-radicalaire des extraits et des produits purs a été déterminée quantitativement par la méthode du DPPH [130].

#### Préparation des solutions mères d'extraits à tester

Pour les métabolites secondaires purs, des solutions ayant des concentrations allant de 0,0325mg/ml à 1mg/ml ont été préparées. Pour le faire, le produit pesé a été dissout dans le méthanol. Pour les extraits, en fonction du prétest, nous avons de la même manière préparé des solutions mères de 3 mg/ml. Ces solutions mères ont été diluées pour obtenir pour chaque extrait cinq concentrations allant de 0,5 à 3 mg/ml.

#### Manipulation :

Elle consiste en la détermination des pourcentages de décoloration du DPPH (%D) et des concentrations équivalentes à 50% de décoloration du DPPH (CE<sub>50</sub>).

Nous avons disposé de deux cuves spectrophotométriques qui ont été traitées comme suit :

- ✓ Dans la cuve témoin, il a été introduit 2 ml de la solution de DPPH préparée à la concentration de 30 mg/l et la DO a été directement lue à 517 nm ;
- ✓ Dans la cuve d'essai, il a été successivement introduit : 1,9 ml de la solution méthanolique de DPPH (30 mg/l) et 100µl de solution mère d'échantillon à tester. La solution obtenue a été mise à l'obscurité pendant 30 min. La décroissance de la DO à 517 nm a été lue au spectrophotomètre.

Les pouvoirs de décoloration (%D) ont été calculés en utilisant la formule :

$$\%D = \frac{(DO_{\text{témoin}} - DO_{\text{essai}}) \times 100}{DO_{\text{témoin}}}$$

L'acide ascorbique a été utilisé comme molécule de référence. Les pourcentages de décoloration du DPPH ont été utilisés pour tracer des courbes des quelles les équations ont été générées. Ces équations nous ont permis de calculer la concentration qui décolore 50% pour chaque échantillon. Trois répétitions ont été effectuées par échantillon et par concentration.

### **III.5.1.2 Méthode du FRAP**

Le pouvoir chélateur des différents extraits et produits purs a été évalué en déterminant leur habilité à réduire le fer (III) en fer (II) [131]. En bref, dans un tube à essai, 1 ml de chaque extrait a été mélangé avec 2,5 ml d'une solution tampon, phosphate (0,2 M, PH 6,6) et 2,5 ml de solution de l'hexacyanoferrate de potassium [ $K_3Fe(CN)_6$ ] à 1%. Le tout a été incubé pendant 30 minutes à 50°C dans un bain-marie. Ensuite, 2,5 ml d'acide trichloro-acétique 10% ont été ajoutés et le mélange centrifugé pendant 10 minutes à l'aide d'une centrifugeuse. Puis, 2,5 ml du surnageant ont été prélevés et mélangés à 2,5 ml d'eau distillée et 0,5 ml d'une solution aqueuse de  $FeCl_3$  (0,1%). L'absorbance a été lue à 700 nm. Une courbe d'étalonnage a été tracée à partir de la droite obtenue avec l'acide ascorbique utilisé comme référence à différentes concentrations. Le pouvoir réducteur total a été exprimé en équivalent d'acide ascorbique (mg d'acide ascorbique/g de poudre).

### **III.5.2 Evaluation des propriétés anti-inflammatoires de l'abyssinone v-4'-methylether**

#### **III.5.2.1 Œdème de la patte induit par la carragénine**

Les animaux expérimentaux ont été acclimatés pendant 72 heures et mis à jeun pendant 18 heures avec accès libre à l'eau comme boisson.

##### **III.5.2.1.1 Principe et technique**

La méthode utilisée est celle antérieurement décrite par Winter *et al.* [132]. L'injection de la carragénine sous l'aponévrose plantaire de la patte postérieure des souris entraîne l'apparition d'un œdème dans la région métatarsienne. L'intensité de cet œdème, qui atteint son maximum de développement en 5 heures, est évaluée grâce à l'augmentation du volume de la patte (par rapport au volume initial). L'administration préventive par voie orale d'un produit anti-inflammatoire réduit de façon significative le développement de l'œdème.

La technique consiste à mesurer les variations volumiques ( $V_n$ ) de la patte au cours du temps ( $T_n$ ) et à comparer le développement de l'œdème chez les animaux témoins et traités. Pour chaque souris, le volume initial ( $V_0$ ) de la patte arrière droite a été mesuré, puis les différents traitements à l'aide d'une sonde à gavage ont été administrés.

##### **III.5.2.1.2 Protocole expérimental**

Les souris ont été réparties au hasard en cinq (5) groupes homogènes de six (6) souris chacun.

L'administration des différentes solutions a été faite comme suit :

Groupe I : groupe témoin positif a reçu le dexaméthasone (5 mg/Kg de poids corporel);

Groupe II : groupe témoin négatif a reçu l'eau distillée;

Groupe III : groupe test a reçu l'abyssinone-V-4'-méthyléther (2,5 mg/kg de poids corporel) ;  
Groupe IV : groupe test a reçu l'abyssinone-V-4'-methylether (5mg/Kg de poids corporel) ;  
Groupe V : groupe test a reçu l'abyssinone-V-4'-methylether (10mg/Kg de poids corporel).

Une heure après gavage, 0,1 ml de la solution de la carragénine a été injectée dans la patte gauche mesurée des souris, sous le coussinet plantaire. Les souris ont ensuite été remises en cage en attendant les différentes mesures à effectuer à 0, 1, 2, 3, 4, 5 et 6 heures [143].

### III.5.2.1.3 Evaluation de l'activité anti-inflammatoire

Pour l'évaluation de l'activité anti-inflammatoire, le volume de la patte a été exprimé dans le temps. Ainsi, pour chaque groupe, la moyenne  $\pm$  l'erreur standard du volume de la patte a été calculée et comparée au volume initial.

Les variations du diamètre de la patte ont été calculées par la formule Dt-D0 et le pourcentage d'inhibition a été calculé selon la formule suivante :

$$\% i = \frac{(Dt - Do)_{\text{témoin}} - (Dt - Do)_{\text{essai}}}{(Dt - Do)_{\text{témoin}}} \times 100$$

Avec:

Do : Diamètre initial de la patte ;

Dt : Diamètre de la patte au temps *t* après induction de l'œdème ;

% i : pourcentage d'inhibition [144].

### III.5.2.2 Œdème de l'oreille induite par le xylène

#### III.5.2.2.1 Principe et technique

La méthode qui est utilisée est celle décrite par Young *et al* (1989) [133]. L'application locale d'une solution de xylène sur l'oreille des souris entraîne l'apparition d'un œdème. L'administration d'une substance anti-inflammatoire à titre préventif, réduit significativement l'évolution de ce dernier.

La technique consiste à comparer le développement de l'œdème entre l'oreille droite et l'oreille gauche de chaque animal après application d'une goutte de xylène sur les surfaces interne et externe de l'oreille droite de l'animal.

#### III.5.2.2.2 Protocole expérimental

Les animaux sont repartis en 5 groupes de 6 souris chacun. Les différents groupes ont été traités comme suit:

Une heure après, que l'inflammation a été induite par application locale du Xylène (20µl/oreille) sur les faces postérieure et antérieure de l'oreille droite de chaque souris.

L'oreille gauche étant considérée comme témoin reçoit le dexaméthasone. Deux heures après l'application du xylène, les souris sont sacrifiées et les deux oreilles ont été prélevées. Une section circulaire de 9 mm de diamètre a été prélevée à l'aide d'un perce-bouchon sur chaque oreille. [145, 146].

### III.5.2.2.3 Evaluation de l'activité anti-inflammatoire

Les disques des oreilles ont été pesés. L'inflammation induite par le xylène s'évalue par l'augmentation du poids de l'oreille (disque de 9 mm) chez les souris traitées au xylène par rapport aux non traitées. Ce rapport est appelé index de l'œdème [147]. La différence du poids entre la section de l'oreille droite et gauche est considérée comme le volume de l'œdème.

Le calcul du pourcentage d'inhibition sera effectué comme suit :

$$\% i = \frac{(Od - Og)\text{témoin} - (Od - Og)\text{essai}}{(Od - Og)\text{témoin}} \times 100$$

Avec :

- Od : poids section oreille droite ;
- Og : poids section oreille gauche [145].

### III.5.2.3 Formation du granulome induite par les pellets de coton

Les animaux expérimentaux ont été acclimatés pendant 72 heures et mis à jeun pendant 18 heures avec accès libre à l'eau de boisson.

#### III.5.2.3.1 Principe et technique

La méthode utilisée est celle décrite par Winter et Porter (1957) [134]. L'introduction d'un pellet de coton stérilisé sous la peau d'un rat entraîne la formation d'un granulome dont l'augmentation de son poids est significativement réduite lorsqu'on administre à l'animal une substance possédant des propriétés anti-inflammatoires.

La technique consiste à comparer le tissu du granulome formé chez les animaux témoins et essais.

#### III.5.2.3.2 Protocole expérimental

Les pellets de coton coupée en petits morceaux, de poids environ 10 mg, sont stérilisés dans une étuve à 120°C pendant 2h [148] et implantés, sous légère anesthésie à l'éther (par inhalation), dans les deux régions axillaires de chaque rat par une simple incision sous la peau. Après implantation des pellets de coton stérilisés, les animaux ont été traités tous les jours (administration des différentes drogues une fois par jour) pendant une semaine.

Après implantation, les rats ont été répartis au hasard en 5 groupes (Groupe I, II, III, IV et V) de 6 rats chacun [148] et ont reçu quotidiennement (pendant 7 jours), par voie orale à l'aide d'une sonde à gavage, les solutions préparées, comme suit :

Groupe I : groupe témoin positif a reçu le dexaméthasone (5 mg/Kg de poids corporel);

Groupe II : groupe témoin négatif a reçu l'eau distillée;

Groupe III : groupe test a reçu l'abyssinone V-4'-méthylether (2,5 mg/kg de poids corporel) ;

Groupe IV : groupe test a reçu l'abyssinone V-4'-méthylether (5 mg/Kg de poids corporel) ;

Groupe V : groupe test a reçu l'abyssinone V-4'-méthylether (10 mg/Kg de poids corporel).

Au 8<sup>e</sup> jour, les animaux ont été sacrifiés par inhalation de l'éther. Une légère incision a été faite au niveau des régions axillaires et les pellets de coton ont été enlevés. Ces pellets de coton humides ont été séchés à l'étuve à 50 °C pendant 20 heures puis pesés. L'augmentation du poids sec des pellets de coton a été considérée comme la formation du granulome. Tout changement du poids corporel des animaux du premier au dernier jour de l'expérience a également été enregistré.

### III.5.2.3.3 Evaluation de l'effet anti-inflammatoire

L'effet anti-inflammatoire est évalué par le degré d'inhibition de la formation du granulome chez les rats étudiés. Le poids transudatif, la formation du granulome et le pourcentage d'inhibition des tests ont été évalués. Les résultats ont été exprimés comme la différence entre le poids sec du coton avant et après implantation [149]. Le pourcentage d'inhibition (P) du granulome a été calculé selon la formule :

$$\% i = \frac{A - B}{A} \times 100$$

Avec :

A = poids sec des pellets chez les animaux témoins négatifs

B = poids sec des pellets chez les animaux traités.

### III.5.3 Evaluation de la potentialité anticonvulsivante du composé YG<sub>4</sub> (abyssinone V-4'-méthylether)

#### III.5.3.1 Test à la pentylènetétrazol (PTZ) Wamil *et al.*, 1994 [137]

Ce test a été effectué sur des souris. Les souris testées ont été divisées en 6 groupes de 5 souris et ont été soumises à divers traitements. Le groupe I (témoin négatif) a été traité à l'eau distillée. Les groupes II-V (groupe test) ont été traités aux différentes (4) doses de l'abyssinone. Le groupe VI ayant reçu le clonazepam (0,1 mg/kg, ip) a été utilisé comme témoin positif. La crise clonique a été induite aux souris par une injection intrapéritonéale (ip) de 70 mg/kg PTZ. L'effet protecteur des substances administrées était mesuré une heure après

l'injection du PTZ. Les animaux qui ne convulsaient pas après 10 min d'observation étaient considérés comme protégés [150].

#### **III.5.4.2 Test à la picrotoxine (PIC) Lehmann *et al.*, 1998 [138]**

Ce test a également été réalisé sur des souris. Les souris testées ont été divisées en 6 groupes de 5 souris et traité comme plus haut. Toutefois, le groupe témoin positif a reçu 0,4 mg/kg de clonazepam par injection. Les crises cloniques ont été induites chez les souris par injection de 70 mg/kg PIC. Les souris ont été observées pendant 15 minutes. L'effet protecteur des substances a été évalué une (1) heure après l'induction de la PIC. Les animaux qui ne convulsaient pas après ce temps étaient considérés comme protégés.

#### **III.5.4.3 Test à la pilocarpine (PILO) Henrik *et al.*, 2003 [139]**

Ce test a également été réalisé sur des souris. Les souris testées ont été divisées en 6 groupes de 7 souris qui ont été traités. Le groupe I (témoin négatif) a été traité à l'eau distillée. Les groupes II à V (groupe test) ont été traités aux différentes doses de l'abyssinone. Le groupe VI (témoin positif) a été traité à 0,3 mg/kg de diazepam. La convulsion générale a été induite par injection de 375 mg/kg de la picocarpine. La scopolamine a été administrée par injection de 1 mg/kg quinze minutes après différents traitement et 45 min après injection de la PILO. Les animaux qui n'ont pas convulsé et ne sont pas morts après 24 heures d'observation ont été considérés comme protégés.

### **III.5.4. Evaluation des propriétés anxiolytiques du composé YG<sub>7</sub> (phaséolidine)**

L'expérimentation a été réalisée sur des souris blanches du genre *Mus musculus* Swiss de la famille des Muridae. Elles ont été fournies par le Laboratoire National Vétérinaire (LANAVET) de Garoua, et ont été par la suite, entretenues et nourries. Les souris pesaient entre 24 et 26 g avec une marge de plus ou moins 2 grammes et étaient âgées d'environ 2 mois. Pour cela, le test du labyrinthe en croix surélevé, le test de la planche à trous et le test de l'arène ouverte ont été réalisés.

#### **III.5.4.1 Test du Labyrinthe en croix surélevé ou "Elevated Plus-Maze" test (Rodgers *et al.*, 1997) [140]**

L'anxiété des animaux est évaluée par le test du labyrinthe en croix surélevé. Il est fondé sur l'aversion innée des rongeurs pour les espaces ouverts et éclairés, le vide et la nouveauté [151-152]. L'anxiété des animaux augmentant au fur et à mesure des expériences, chaque animal ne passe donc qu'une fois dans ce test. L'expérience a portée sur cinq lots de souris comportant cinq souris chacun. Les souris ont été conduites au laboratoire quarante-

huit heures avant le test pour besoin d'acclimatation. Le lot témoin positif a reçu du diazépam à la dose 3 mg/kg par voie intrapéritonéale, le lot témoin négatif a reçu de l'eau distillée par gavage et les trois lots restant ont reçu respectivement les différentes doses de la phaséolidine, 25 mg/kg, 50 mg/kg et 100 mg/kg par voie orale. Après chaque traitement, les souris ont été remises dans leurs cages; l'intervalle d'administration entre deux lots étant de 30 minutes. Une heure après administration, chaque souris a été placée dans la zone centrale du labyrinthe, la tête orientée vers un bras ouvert, et laissée libre d'explorer le labyrinthe pendant 5 minutes. Pendant les 5 minutes d'observation, nous avons relevé le nombre de visites et le temps passé dans les bras ouverts, le nombre de visites et le temps passé dans les bras fermés, le nombre de "rearing" (la souris se dresse en position verticale, en appui sur ses membres postérieurs et les membres antérieurs sont posés sur le rebord du dispositif), le nombre de "grooming" (la souris se met en boule et se nettoie), le nombre de "head-dipping" (la souris se penche et passe sa tête par-dessus le rebord d'un bras ouvert du labyrinthe) et le nombre d'étirements.

#### **III.5.4.2. Test de la Planche à Trous ou "Hole-Board" test (Takeda *et al.*, 1998) [141]**

Cinq lots formés de cinq souris chacun ont été repartis. Deux lots témoins dont le témoin positif qui a reçu du diazépam à la dose 0,5 mg/kg par voie intra-péritonéale et le témoin négatif qui a reçu de l'eau distillée par gavage ainsi que, trois lots ayant reçu respectivement les trois doses 25 mg/kg, 50 mg/kg et 100 mg/kg de la phaséolidine par gavage. Après chaque traitement, les souris ont été remises dans leurs cages et un intervalle de trente minutes environ a été respecté entre l'administration de deux lots consécutifs. Les souris ont été au préalable, emmenées au laboratoire 72 heures avant le test pour s'acclimater. Une heure après administration, chaque souris a été placée dans la zone centrale, et laissée libre d'explorer la surface pendant 5 minutes. Lors de l'observation, des paramètres tels que le temps de latence avant l'apparition du 1<sup>er</sup> "head-dipping", le nombre de "head-dipping" (la souris se penche et passe sa tête par un des trous du dispositif), le nombre de "rearing" (la souris se dresse en position verticale, en appui sur ses membres postérieurs et les membres antérieurs sont posés sur le rebord du dispositif), le nombre de "crossing" (la souris traverse des lignes lors de l'exploration de la surface) et le nombre de "grooming" (la souris se met en boule et se nettoie) ont été relevés.

### **III.5.4.3. Test de l'Arène Ouverte ou "Open-Field" test (Royce R, 1977) [142]**

Les rongeurs ont tendance à éviter les espaces éclairé et ouvert. Lorsqu'ils sont placés dans l'enceinte lumineuse de l'arène, les rats et les souris préfèrent se déplacer au niveau de la périphérie contre les remparts du dispositif. L'activité dans l'arène représente pour cette raison, une mesure valide du comportement anxieux chez les animaux de laboratoire [153]. Pour l'expérimentation, vingt-cinq souris ont été réparties en cinq lots homogènes. Deux lots témoins dont le témoin positif qui a reçu du diazépam à la dose 0,3 mg/kg par voie intrapéritonéale et le témoin négatif qui a reçu de l'eau distillée par gavage ainsi que, trois lots correspondants aux trois doses (25 mg/kg, 50 mg/kg et 100 mg/kg) respectives de la phaséolidine administrée par gavage. Après chaque traitement, les souris ont été remises dans leurs cages et un intervalle de trente minutes environ a été respecté entre l'administration de deux lots consécutifs. Les souris ont été emmenées au laboratoire 24 heures avant l'expérimentation pour s'acclimater. Une heure après administration, chaque souris a été placée dans la zone centrale de l'arène, et laissée libre de l'explorer pendant 5 minutes. Pendant l'observation, des paramètres tels que le temps passé au centre, le nombre de "rearing" (la souris se dresse en position verticale, en appui sur ses membres postérieurs et les membres antérieurs sont posés sur le rebord du dispositif), le nombre de "crossing" (la souris traverse des lignes lors de l'exploration de la surface) et le nombre de "grooming" (la souris se met en boule et se nettoie) ont été relevés).

### **III.5.4.4 Analyse statistique des résultats**

L'analyse statistique des résultats a été faite à l'aide de l'analyse de variance (ANOVA) suivie du test de comparaison multiple de Student-Newman-Keuls, à l'aide du logiciel *Statgraphics*. Les valeurs de  $p < 0,05$  ont été considérées comme statistiquement significatives.



## REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

- [1]-Haleng J, Pincemail J, Defraigne JO, Charlier C, Chapelle JP. Le stress oxydatif. *Rev Med Liege* 2007; 62: 628-638.
- [2]-Abdou DA. Contribution à l'étude du développement d'un aliment fonctionnel à base des épices du Cameroun : caractérisation physico-chimique et fonctionnelle. Thèse de Doctorat. Institut National Polytechnique de Lorraine, 281p. France. 2009.
- [3]-Rousselet MC, Vignaud JM, Hofman P et Chatelet FP. Inflammation et pathologie inflammatoire. *AFECAP*. 2005. 75p.
- [4]-OMS : Maladies non transmissibles. Genève, le 1 Juin 2018. <http://www.who.int/fr/news-room/fact-sheets/detail/noncommunicable-diseases>
- [5]-OMS : Plan d'action 2008-2013 pour la Stratégie mondiale de lutte contre les maladies non transmissibles. Organisation Mondiale de la Santé. Genève, Suisse. 2008.
- [6]-Ana GL, Eva G, Ana V, Mauricio AR, José AM. Flavonoids as anti-inflammatory agents: Implications in cancer and cardiovascular disease. *Inflamm. Res.* 2009; 58: 537-552.
- [7]-Gerschman R, Nye GD, Dwyer SW, Fenn WO. Oxygen poisoning and X – irradiation: a mechanism in common. *Nutrition*. 2001; 17: 162-165.
- [8]-Harman D. Aging: a theory based on free radical and radiation chemistry. *J. Gerontol*, 1956; 11: 298-300.
- [9]-McCord JM, Fridovich I. Superoxide dismutase. An enzymic function for erythrocyte (hemocuprein). *J. Biol. Chem*, 1969; 244: 6049-6055.
- [10]-Reinke LA, Janzen EG. Detection of spin adducts in blood after administration of carbon tetrachloride to rats. *Chem. Biol. Interact.* 1991; 78: 155-165.
- [11]-Bolli R, Jeroudi MO, Patel BS, et al. Direct evidence that oxygen-derived free radicals contribute to postischemic myocardial dysfunction in the intact dog. *Proc. Natl. Acad. Sci USA*. 1989; 86: 4695-4699.
- [12]-Pincemail J, Defraigne JO, Franssen C, et al. Evidence of *in vivo* free radical generation by spin trapping with alpha-phenyl N-tert-butyl nitron during ischemia/reperfusion in rabbit kidneys. *Free. Radic. Res. Commun.* 1990; 9: 181-186.
- [13]-Coghlan JG, Flitter WD, Holley AE, et al. Detection of free radicals and cholesterol hydroperoxides in blood taken from the coronary sinus of man during percutaneous transluminal coronary angioplasty. *Free. Radic. Res. Commun.* 1991; 14: 409-417.
- [14]-Tortolani AJ, Powell SR, Misik V, et al. Detection of alkoxyl and carbon-centered free radicals in coronary sinus blood from patients undergoing elective cardioplegia. *Free. Rad. Biol. Med.* 1994 ; 14 : 421-426.

- [15]-Quillien J-F. Recherche Européenne sur l'ESB. Institut National de la Recherche Agronomique, France. 2002.
- [16]-Halliwell B, Gutteridge JMC. Free radicals in Biology and Medicine. 3<sup>rd</sup> Ed. Oxford University Press. 1999.
- [17]-De Goursac C. Le stress oxydant. Actualité IMAAGe (Anti-âge). 2006. pc. 4.
- [18]-Alain Favier. Le stress oxydant : Intérêt conceptuel et expérimental dans la compréhension des mécanismes des maladies et potentiel thérapeutique. *Mécanismes biochimiques*. 2003. 8p.
- [19]-Sohal RS, Mockett R.J, Orr WC. Mechanisms of aging: an appraisal of the oxidative stress hypothesis, *Free Rad. Biol. Med.* 2002; 33: 575-586.
- [20]-Montagnier L, Olivier R, Pasquier C. Oxidative stress in cancer, AIDS and neurodegenerative diseases. *New York: Marcel Dekker*. 1998. p. 447-462.
- [21]-Halliwell B, Gutteridge JMC. Oxygen toxicity, oxygen radicals, transition metals and diseases. *Biochem. J.* 1984 ; 219 : 1-4.
- [22]-Pincemail J et Defraigne J. Le coenzyme Q10 ou ubiquinone : un antioxydant particulier. *Vaisseaux, Cœur, Poumons*. 2003 ; 8: 55- 60.
- [23]-Kortenska VD, Yanishlieva NV, Kasaikina OT, Totzeva IR, Boneva MI, Russina IF. Phenol antioxydant efficiency in various lipid substrates containing hydroxyl compounds. *Eur. J. Lipid. Scien. Technol.* 2002; 104: 513-519.
- [24]-Ito N, Fukushima S, Hagiwara A, Shibata M, Ogiso T. Carcinogenicity of butylated hydroxyanisole in F344 rats. *J. Nation. Can. Inst.* 1983; 70: 343-347.
- [25]-Branen AL. Toxicology and biochemistry of butylated hydroxyl anisole and butylated hydroxyl toluene. *J. Amer. Oil Chem. Soc.* 1975; 52:59-63.
- [26]-Dziezak J D. Preservatives: Antioxidants. *Food Technol.* 1986; 40: 94-102.
- [27]-Yagi K. Rapid method for evaluation of autoxidation and antioxidants. *Agric. Biol. Chem*, 1970; 34 : 142-145.
- [28]-Demanze C, Karliskind A. Analyses des antioxydants dans les corps gras alimentaires. N° 28, APRIA, Actualités Scientifiques et techniques en agro-industrielles. 1980. p.127.
- [29]-Harborne JB, Mabry TJ. The flavonoid advances in research. New York: Cambridge University Press. 1982. 126p.
- [30]-Kamil JYVA, Jeon YJ, Shahidi F. Antioxidative activity of chitosans of different viscosity in cooked comminuted flesh of herring (*Clupea harengus*). *Food Chem.* 2002; 79: 69-77.

- [31]-Eymard S. Mise en évidence et suivi de l'oxydation des lipides au cours de la conservation et de la transformation du chinchard (*Trachurus trachurus*) : choix des procédés. Thèse de Doctorat. IFREMER de Nantes. 2003. 217p.
- [32]- Frankel EN. Lipid oxidation. Dundee, UK: The oily Press. 1998. 303p.
- [33]-Kansci G, Genot C, Meynier A, Gandemer G. The antioxidant activity of carnosine and its consequences on the volatile profiles of liposomes during iron/ascorbate induced phospholipid oxidation. *Food Chem.* 1997; 60: 165-175.
- [34]-Benbrook CM. Accroître la teneur en antioxydants des aliments grâce à l'agriculture et à la transformation alimentaire biologiques : Rapport sur l'état des connaissances scientifiques. *The Organic Center.* 2005. 87p.
- [35]-Brandt K, Christensen LP, Hansen-Moller J, Hansen SL, Haraldsdottir J, Jespersen L, Purup S, Kharazmi A, Barkhot V, Frokiaer H, Kobaek-Larsen M. Health promoting compounds in vegetables and fruits: a systematic approach for identifying plant components with impact on human health. *Trends Food Sci Technol.* 2004; 15: 384-393.
- [36]-Middleton EJr. Effect of plant flavonoids on immune and inflammatory cell function. *Adv. Exp. Med. Biol.* 1998; 439: 175-182.
- [37]-Tropicak Legumes: Resources for the future. Washington DC: National Academic of Sciences. 1979. p. 1-10.
- [38]-Chadefaud M et Emberger L. Traité de botanique (systématique) : les végétaux vasculaires, Tome 2. Paris VI<sup>e</sup> : Masson et C<sup>ie</sup>. 1960. Pages consultées : 1393-1416.
- [39]-Kerharo J et Bouquet A. Plantes médicinales toxiques de la côte d'Ivoire-Haute-Volta. Vigot Frères, Paris. 1950. 295p.
- [40]-Pillay CCN, Jäger AK, Mulholland DA, Van Standen J. Cyclooxygenase inhibiting and anti-bacterial activities of South African *Erythrina* species, *J. Ethno. Pharmacol.* 2001; 74: 231-237.
- [41]-Leetouzey R. Notice de la carte phytogéographique du Cameroun au 1/500 000. Paris. 1987.
- [42]-Palgrave KC. Arbres de l'Afrique australe, edn 2. Editeurs De Struik, le Cap, Johannesburg. 1997.
- [43]-Leistner OA. Usines de graines de l'Afrique australe : familles et genres. Strelizia 10. Institut Botanique, National. Pretoria. 2000.
- [44]-NAPRALERT (Internet database, March 29, 2004), Ethnopharmacology, Biological Activity and Phytochemical Information on genus *Erythrina*. [5b] Atindehou K K, Schmidt C, Brun R, Kone MW, Traore D. *J. Ethnopharmacol.* 2004; 90: 221-227.
- [45]-Majinda RTR, Cornelius CWW, Bernard FJ. Bioactive non-alkaloidal constituents from the genus *Erythrina*. *Nat. Prod. Chem.* 2005; 32: 821-853.

- [46]-Hodek P, Trefil P, Stiborova M. Flavonoids-potent and versatile biologically active compounds interacting with cytochromes P450. *Chem. Biol. Interact.* 2002; 139: 1-21.
- [47]-Effendi L, Yajun Y, Koffas MAG. Functional expression of a P450 flavonoid hydroxylase for the biosynthesis of plant-specific hydroxylated flavonoids in *Escherichia coli*. *Metab. Engin.* 2006; 8: 172-181.
- [48]-Pietta PG. *Flavonoids as antioxidants*. *J. Nat. Prod.* 2000; 63: 1035-1042.
- [49]-Bruneton J. Pharmacognosie, phytochimie, plantes médicinales. 3<sup>ème</sup> édition. 1999. 569p.
- [50]-Cushnie TPT and Lamb AJ. Antimicrobial activity of flavonoids. *Intern. J. Antimicrob. Agen.* 2005; 26: 343-356.
- [51]-Klejduš B, Dagmar VS, Vlatstimil K. identification of isoflavone conjugates in red clover (*Trifolium pratense*) by liquid chromatography-mass spectrometry after two dimensional solid phase extraction. *Anal. Chim. Acta.* 2001; 450: 81-97.
- [52]-Hyo-Kyoung K, Yun-Hee J, II-Sun B, Jeong-Hwan L, Min JP, Young-Soo C, Jong-II C, Jeong-Kook K. Polymorphism and expression of isoflavones synthase genes from *Soybean cultivars*. *Mol. Cells.* 2005; 19: 67-73.
- [53]-Mann J. Secondary metabolism, Eds clarendon press, oxford. 1987.
- [54]-Edwin H. Shikimic acid, metabolism and metabolites, eds John Wiley and Sons. 1993.
- [55]-Gayon PR. Les composés phénoliques des végétaux, eds Dunod, Paris. 1968.
- [56]-Richter G. Métabolisme des végétaux, physiologie et biochimie. eds press polytechniques et universitaire romandes, Lausanne, 1993.
- [57]-Harborne JB. The Flavonoids advances in research since 1986, eds Chapman and Hall. 1988.
- [58]-Heimeur N, Idrissi LM, Amine SM. Les Polyphénols de *Pyrus mamorensis* (Rosaceae). *Rev Bio. Bio. Tech.* 2004; 1: 37-42.
- [59]-Dixon RA, Harrison MJ. Activation, structure, and organization of genes involved in microbial defense in plants. *Adv. Genet.* 1990; 28:165-234.
- [60]-Middleton & Teramura, 1993, Harborne et al., 1976, Brouillard & Cheminat, 1988, Harborne, 1986.
- [61]-Rice-Evans CA, Miller NJ, Paganga G. Structure-antioxidant activity relationships of flavonoids and phenolic acids. *Free Rad. Biol. Med.* 1996; 20:933-956.
- [62]-Amellal M, Bronner C, Briancon F, Haag M, Anton R, Landry Y. Inhibition of mast cell histamine release by flavonoids and bioflavonoids. *Planta med.* 1985; 51: 16-20.

- [63]-Bracke M, Vyncke B, Opdenakker G, Foidart JM, De Pestel G, Mareel M. Effect of catechins and *Citrus* flavonoids on invasion *in vitro*. *Clin. Exp. Metast.* 1991; 9:13-25.
- [64]-Komori A, Yatsunami J, Okabe S, Abe S, Hara K, Suganuma M, Kim SJ, Fujiki H. Anticarcinogenic activity of green tea polyphenols. *Jap. J. Clin. Oncol.* 1993; 23: 186-190.
- [65]-Scambia G, Ranelletti FO, Benedetti PP *et al.* Synergistic antiproliferative activity of quercetin and cis-diamine dichloroplatinium on ovarian cancer cell growth. *Anti-Cancer Drugs.* 1990; 1: 45-48.
- [66]-Landolfi R, Mower RL, Steiner M. Modification of platelet function and arachidonic acid metabolism by bioflavonoids. *Biochem. Pharmacol.* 1984; 33: 1525-1530.
- [67]-Chaudhry PS, Cabrera J, Juliani HR, Varna SD. Inhibition of human lens aldose reductase by flavonoids, *Bio. Chem. Pharmacol.* 1993; 32:1995-1998.
- [68]-Hertog MG, Feskens EJ, Hollman PC, Katan MB, Kromhout D. Dietary antioxidant flavonoids and risk of coronary heart disease. *The Zutphen Elderly Study, Lancet.* 1993; 342: 1007-1011.
- [69]-Chu SC, Hsieh YS, Lin JY. Inhibitory effects of flavonoids on Moloney murine leukemia virus reverse transcriptase activity. *J. Nat. Prod.* 1992; 55: 179-183.
- [70]-El-Gammal AA, Mansour RM. Antimicrobial activities of some flavonoid compounds. *Zentr Mikrobiol.* 1986; 141: 561-565.
- [71]-Vardamides JC. Thèse de Doctorat de 3<sup>e</sup> cycle. Université de Yaoundé, Cameroun. 1997
- [72]-Watjen W, Kulawik A, Suckow-Schiniker AK, Chovolou Y, Rohrig R, Ruhl S, Kampkotter A, Addae-Kyereme J, Wright CW, Passreiter CM. Pterocarpan phaseollin and neorauteinol isolated from *Erythrina addisoniae* induce apoptotic cell death accompanied by inhibition of ERK phosphorylation. *Toxicology.* 2007; 242: 71-79.
- [73]-Yenesew A, Midiwo JO, Miessner M, Heydenreich M, Peter MG. Two prenylated flavanones from stem bark of *Erythrina burttii*. *Phytochemistry.* 1998; 48: 1439-1443.
- [74]-Phongsak I, Thitima R, Souwalak P, Apichart S. Fuscacarpan A-C, new pterocarpan from the stems of *Erythrina fusca*, *Fitoterapia.* 2010; 81: 518-523.
- [75]-Khaomek K., Ruangrunsi N, Saifah E, Sriubolmas N, Ichino C, Kiyohara H, Yamada H. A new pterocarpan from *Erythrina fusca*. *Heterocycles.* 2004; 63: 879-884.
- [76]-Tanaka H, Hirata M, Etoh H, Sako M, Sato M, Murata J, Murata H, Darnaedi D, Fukai T. Four new isoflavonoids and a new 2-arybenzofuran from the roots of *Erythrina indica*. *Phytochemistry.* 2003; 60: 2767-2773.
- [77]-Dao TT, Nguyen PH, Thuong PT, Kang KW, Na M, Ndinteh DT, Mbafor JT, Oh WK. Pterocarpan with inhibitory effects on protein tyrosine phosphatase 1B from *Erythrina lysistemon* Hutch. *Phytochemistry.* 2009; 70: 2053-2057.
- [78]-El-Marsy S, Amer ME, Abdel-kader MS, Zaatout HH. Prenylated flavonoids of *Erythrina lysistemon* grown in Egypt. *Phytochemistry.* 2002; 60: 783-787.

- [79]-Tanaka H, Oh-Uchi T, Etoh H, Sako M, Sato M, Fukai T, Tateishi Y. An arybenzofuran and four isoflavonoids from the roots of *Erythrina poeppigiana*. *Phytochemistry*. 2003; 63: 597-602.
- [80]-Tanaka H, Oh-Uchi T, Etoh H, Shimizu H, Tateishi Y. Isoflavonoids from roots of *Erythrina poeppigiana*. *Phytochemistry*. 2002; 60: 789-794.
- [81]-Yenesew A, Midiwo JO, Heydenreich M, Schanzenbach D, Peter M.G. Two isoflavanones from the stem bark of *Erythrina sacleuxii*. *Phytochemistry*. 1998; 55: 457-459.
- [82]-Rukachaisirikul T, Innok P, Aroonreck N, Boonamnuaylap W, Limrangsun S, Boonyon C, Woonjina U, Suksamram A. Antibacterial pterocarpanes from *Erythrina subumbrans*. *J. Ethn. pharmacol.* 2007; 110: 171-175.
- [83]-Tanaka H, Oh-Uchi T, Etoh H, Sako M, Asai F, Fukai T, Sato M, Murata J, Tateishi Y. Isoflavonoids from roots of *Erythrina zeyheri*. *Phytochemistry*. 2003; 64: 753-758.
- [84]-Nkengfack AE, Vouffo TW, Vardamides JC, Kouam J, Fomum ZT, Meyer M, Stener O. Phenolic metabolites from *Erythrina* species. *Phytochemistry*. 1997; 46: 573-578.
- [85]-Watjen W, Suckow-Schiniker AK, Rohrig R, Kulawik A, Addae-Kyereme J, Wright CW, Passreiter CM. Prenylated flavonoid derivatives from the bark of *Erythrina addisoniae*. *J. Nat. Prod.* 2008; 71: 735-738.
- [86]-Yenesew A, Induli M, Derese S, Midiwo JO, Heydenreich M, Peter GM, Akala H, Wangui J, Liyala P, Waters NC. Anti-plasmodial flavonoids from the stem bark of *Erythrina abyssinica*. *Phytochemistry*. 2004; 65: 3029-3032.
- [87]-Ciu L, Thoung PT, Hyun SL, Ndinteh DT, Mbafor JT, Fomum ZT, Oh WK. Flavonoids from stem bark of *Erythrina abyssinica*. *Bioorg. Med. Chem.* 2008; 16: 10356-10362.
- [88]-Yenesew A, Irungu B, Derese S, Midowa JO, Heydenreich M, Peter MG. Two prenylated flavonoids from the stem bark of *Erythrina burtii*. *Phytochemistry*. 2003; 63 445-448.
- [89]-Cornelius CWW, Majinda RRT. A new isoflavanone from stem bark of *Erythrina latissima*. *Fitoterapia*. 2000; 71: 400-405.
- [90]-Chacha M, Bojase-Moleta G, Majinda RRT. Antimicrobial radical scavenging flavonoids from stem wood of *Erythrina latissimi*. *Phytochemistry*. 2005 ; 66: 99-104.
- [91]-Da-Cunha EVL, Dias C, Barbosa-Filho JM, Gray AI. Eryvellutinone, an isoflavanone from the stem bark of *Erythrina vellutina*. *Phytochemistry*. 1996 ; 43: 1371-1373
- [92]-Talla E, Njamen D, Mbafor JT, Fomum ZT, Kamanyi A, Mbanya JC, Giner RM, Recio MC, Manez S, Rios JL. Warrangalone, the isoflavonoid anti-inflammatory principle of *Erythrina addissoniae* stem bark. *J. Nat. Prod.* 2003; 66: 891-893.
- [93]-Nkengfack AE, Azebaze AGB, Waffo AK., Fomum ZT, Meyer M, Van Heerden FR. Cytotoxic isoflavones from *Erythrina indica*. *Phytochemistry*. 2001; 58: 1113-1120.
- [94]-Waffo AK, Azebaze AGB, Nkengfack AE, Fomum ZT, Meyer M, Bodo B, Van Heerden FR. Indicanines B and C, two isoflavonoid derivatives from the root bark of *Erythrina indica*. *Phytochemistry*. 2000; 53: 981-985.

- [95]-Yadava RD and Reddy KIS. A novel prenylated flavone glycoside from the seeds of *Erythrina indica*. *Fitoterapia*. 1999; 70: 357-360.
- [96]-Yenesew A, Midiwo JO, Heydenreich M, Schanzenbach D, Peter M.G. Two isoflavanones from the stem bark of *Erythrina sacleuxii*. *Phytochemistry*. 2000; 55: 457-459.
- [97]-Oh WK, Lee HS, Ahn SC, Ahn JS, Mbafor JT, Wandji J, Fomum ZT, Chang HK. Prenylated isoflavonoids from *Erythrina senegalensis*. *Phytochemistry*. 1999; 51: 1147-1150.
- [98]-Wandji J, Awanchiri SS, Fomum ZT, Tillequin F, Libot F. Isoflavones and alkaloids from the stem bark and seeds of *Erythrina senegalensis*. *Phytochemistry*. 1995; 39: 677-681.
- [99]-Waffo KAF, Coombes PH, Mulholland DA, Nkengfack AE, Fomum ZT. Flavones and isoflavones from the West African Fabaceae *Erythrina vogelii*. *Phytochemistry*. 2006; 67: 459-463.
- [100]-Quieroz, EF, Atindehou KK, Terreaux C, Antus S, Hotettmann K. Prenylated isoflavonoids from root bark of *Erythrina vogelii*. *J. Nat. Prod.* 2002; 65: 403-406.
- [101]-Mohammed ZR, Mohammad SR, Abul K, Aslam H, Mohammad AR. Bioactive isoflavones from *Erythrina variegata* L. *Turk. J. Pharm. Sci.* 2010; 7: 21-28.
- [102]-Tanaka H, Tanaka T, Hosoya A, Kitade Y, Etoh H. An isoflavan from *Erythrina x bidwillii*. *Phytochemistry*. 1998; 47: 1397-1400.
- [103]-Nkengfack AE, Vardamides JC, Fomum ZT, Meyer M. Prenylated isoflavone from *Erythrina eriotricha*. *Phytochemistry*. 1995; 40: 1803-1808.
- [104]-Tanaka H, Tanaka T, Hosoya A, Kitade Y, Etoh H. Three isoflavanones from *Erythrina orientalis*. *Phytochemistry*. 1998; 48: 355-357.
- [105]-Yenesew A, Midiwo JO, Guchu M, Heydenreich M, Peter GM. Three isoflav-3-enes and a 2-arylbenzofuran from the root bark of *Erythrina burtii*. *Phytochemistry*. 2002; 59: 337-341.
- [106]-Fahy E, Subramaniam S, Brown HA, Glass CK., Merrill AH, Raetz CR, Russell DW, Seyama Y, Shaw W, Mee GV, Vannieuwenhze MS, White SH, Witztum JL, Dennis EA. A comprehensive classification system for lipids. *J. Lip. Res.* 2005; 46: 839-861.
- [107]-CBB développement, des céramides biotechnologiques [en ligne], [www.cbb-developpement.com/00/1997.htm](http://www.cbb-developpement.com/00/1997.htm) (page consultée en Avril 2015).
- [108]- The lipid library, ceramides : structure, occurrence, biosynthesis and analysis [en ligne]. [www.lipidlibrary.co.uk/lipids/ceramide/file.pdf](http://www.lipidlibrary.co.uk/lipids/ceramide/file.pdf) (page consultée en Avril 2015).
- [109]-Tazoo D, Krohn K, Hidayot H., Kouam SF, Dongo E. Laportoside A and Laportamide A: A new cerebroside and a new ceramide from leaves of *Laportea ovalifolia*. *Z. Naturf.* 2007; 62b: 1208-1212.
- [110]-Takahiro I, Tatsufimi O, Yosuke, M. A new ceramide and cerebroside from the starfish *Arterias amurenis* Lütken and their plant-growth promotion activities. *J. Nat. Prod.* 2006; 69: 1080-1082.

- [111]-Tsaassi BV, Hussein H, Tamboue H, Dongo E, Kouam FS, Krohn K. Pycnanuloside: a new Cerebroside from bark of *Pycnanthus angolensis*. *Nat. Prod. com.* 2010; 5: 1795-1798.
- [112]-Long chain or sphingoid base, sphingolipids, glycolipids [en ligne], [www.lipidlibrary.co.uk/lipid/icb/index.htm](http://www.lipidlibrary.co.uk/lipid/icb/index.htm) (page consultée en Avril 2015).
- [113]-Yasumori Y, Yuu S, Massao K, A new ceramide from *Ramaria botrytis* (pers.) Ricken. *J. Nat. Med.* 2007; 61: 205-207.
- [114]-Oueslati MH, Mighri Z, Jannet H.B, Abreu PM. New ceramides from *Rantherium suaveolens*. *Com. Lip.* 2005; 40: 1075-1079.
- [115]-Muhammad SA, Syed AI, Shakeel A, Emil L. A new germacranolide and a new ceramide from *Salvia nubicola* (Lamiaceae), *Z. Naturf.* 2007; 62b:1333-1338.
- [116]-Meffo BY, Krohn K, Hussain H, Dongo E, Schulz B, Hu Q, Tithoniaquinone A and Tithoniamide B : a new anthraquinone and a new ceramide from leaves of *Tithonia diversifolia*. *Z. Naturf.* 2006; 61b: 78-82.
- [117]-Meffo BY, Krohn K, Hussain H, Dongo E, Schulz B, Hu Q. Tithoniamarin and Tithoniamide: a structurally unique isocoumarin dimer and a new ceramide from *Tithonia diversifolia*. *J. Nat. Prod. Res.* 2006; 20: 842-849.
- [118]-Mbafor JT, Ndom JC, Fomum ZT. Triterpenoids saponins from *Erythrina sigmoidea*. *Phytochemistry.* 1996; 44: 1151-1155.
- [119]-Panichpol K and Waterman PG. *Phytochemistry.* 1978; 17: 1363.
- [120]- Tanaka T, Tanaka T, Etoh h. Two pterocarpanes from *Erythrina orientalis*. *Phytochemistry.* 1998; 47: 475-477.
- [121]- Tanaka T, Tanaka T, Etoh h. Three pterocarpanes from *Erythrina crista-galli*. *Phytochemistry.* 1997; 45: 835-838.
- [122]- Jang J, Na M, Thuong PT, Njamen D, Mbafor TJ, Fomum TZ, Woo ER, Oh WK. Prenylated flavonoids with PTP1B inhibitory activity from root bark of *Erythrina mildbraedii*. *Chem. Pharm. Bull.* 2008; 56: 85-88.
- [123]-Flavia R, Maria LC, Daniela W, Fernando R, Timm A, Virginia M. Antimicrobial isoflavonoids from *Erythrina crista-galli* infected with *Phomopsis sp.* *Z. Naturforsch.* 2007; 164-168.
- [124]-MinKyun N, JunPil J, Njamen D, Mbafor JT, Fomum ZT, Kim BY, Oh WK, Ahn JS. Protein Tyrosine Phosphate-1 B activity of isoprenylated flavonoids isolated from *Erythrina mildbraedii*. *J. Nat. Prod.* 2006; 69 : 1572-1576.
- [125]-Xenia TT, Florecita de Guzman TVF, Anna MA. Phytochemical analysis and hemodynamic actions of *Artemisia vulgaris* L. *Clin. Hemor. Microcircul.* 2000; 23:167-175.
- [126]-Clark AM, Hufford CD, Robertson LW. Two metabolites from *Aspergillus flavipes*. *Lloydia.* 1977; 40: 146-151.



- [127]-Mário GC, Maritza ARC. Francisco EACJ, Acácio GC. Chemical constituents of *Piptadenia gonoacantha* (Mart.) J.F. Macbr (paujacaré). *Acad. Bras. Ciênc.* 2010; 82: 561-567...
- [128]- Kakam ZA, Hidayat H, Dongo E, Kouam SF, Schulz B, Krohn K. Cameroemide A: a new ceramide from *Helichrysum cameroonense*. *Journ. Asian. Nat. Prod. Res.* 2010; 12:629-633.
- [129]-Wandji J. Contribution à l'étude chimique des plantes médicinales : *Erythrina senegalensis* (Fabaceae). Thèse de Doctorat 3<sup>ème</sup> cycle. Université de Yaoundé, Cameroun. 1987. 173p
- [130]-Nyaa TLB, Barboni L, Tapondjou L, Tamokou J-D, Kuate J-R, Tane P, Park HJ. NMR assignment and antimicrobial/antioxidant activities of 1 $\beta$ -hydroxyeuscaphic acid from seeds of *Butyrospermum parkii*. *Nat Prod Sci.* 2009; 15:76-82.
- [131]-Oyaizu M. Studies of products of browning reaction antioxidative activities of products of browning reaction prepared from glucosamine. *Jap J Nutr.* 1986; 44: 307-315.
- [132]-Winter CA, Risley EA, Nuss GW, Carrageenin-induced oedema in hind paw of the rat as an assay for anti-inflammatory drugs. *Proceed. Soc. Exp. Biol. Med.* 1962; 111: 544 -547.
- [133]-Young JM, De Young LM, Cutaneous models of inflammation for the evaluation of topical and systemic pharmacological agents, In: Spector J and Back N [Eds.], *Pharmacological Methods in the Control of inflammation.* Liss: New York. 1989. p. 215-231.
- [134]-Winter CA. et Porter CC. Effects of alterations in side chain upon anti-inflammatory and liver glycogen activities of hydrocortisone esters. *J. Am. Pharm. Assoc. Sci.* 1957; 46: 515-519.
- [135]-Njamen D, Talla E, Mbafor JT, Fomum ZT, Kamanyi A, Mbanya JC, Cerda-Nicolas M, Giner MR, Recio CM, Rios JL, Anti-inflammatory activity of erycristagallin, a pterocarpene from *Erythrina midbraedii*. *Eu.r .J Pharmacol.* 2003; 468: 67-74.
- [136]-Njamen D, Mbafor JT, Fomum ZT, Kamanyi A, Mbanya JC, Recio MC, Giner RM, Manez S, Rios JL, Anti-inflammatory activities of two flavanones, sigmoidin A and sigmoidin B, from *Erythrina sigmoidea*. *Planta Med.* 2004; 70: 104-107.
- [137]-Wamil AW, Schmutz M, Portet C, Feldman KF, Michael JMcl. Effect of oxcarbamazepine and 10-hydrocarbamazepine on action potential firing and generalised seizure. *E. J. of Pharmacolgy.* 1994; 271: 301-308.
- [138]-Lehmann J, Hutchison A, Mc Pherson S.E, Mondadori C, Schmutz M, Sinton CM, Tsai C, Murphy DE, Steel DJ, Williams M, Cheney DL, Wood PL. CGS 19755, a selective and competitive N- methyl-D-aspartate excitatory amino acid receptor antagonist. *J Pharmacol Exper Therap.* 1988; 246: 65-75.
- [139]-Henrik K, Alain M, Renee G, Jocelyne VG, Doru-Georg M. Electrophysiological, neurochemical and regional effects of levetiracetam in the rat pilocarpine model of temporal lobe epilepsy. *J British Epile Asso.* 2003; 12: 92-100.

- [140]-Rodgers RJ, Cao BJ, Dalvi A, Holmes A. Animal models of anxiety: an ethological perspective. *Braz J Med Biol Res.* 1997; 30: 289-304.
- [114]-Takeda M et Matsumiya T. Changes in head-dipping behavior in the hole-board test reflect the anxiogenic and/or anxiolytic state in mice. *Eur. J. Pharmacol.* 1998; 350:21-29.
- [142]-Royce R. On the construct validity of open-field measures. *Psychological Bulletin.* 1977; 84: 1098-1106.
- [143]-Yaro AH, Magaji MG, Danjuma NM, Malami S, Isah A. Studies on Analgesic and Anti-Inflammatory Activities of *Cissampelos mucronata* Linn A. *Intern. J. Pur. Appl. scien.* 2008; 3: 111-117.
- [144]-Wu Y, Tian-Shan W, Tang-Zhou Y, Baa-Chang C, Analgesic and anti-inflammatory properties of brucine N-oxide extracted from seeds of *Strychnos nuxvomica*. *J. Ethnopharmacol.* 2003; 8: 205-214.
- [145]-Adeyemi OO, Omoniyi K, Yemetan LA. Inhibition of chemically induced inflammation and pain by orally and topically administered leaf extract of *Mannihot esculenta* Crantz in rodents. *J. Ethnopharmacol.* 2008; 119: 6-11.
- [146]-Mariana D, Jose G, Avila AN, Carlos LC. Anti-inflammatory activity of *Penstemon gentianoides* and *Penstemon campanulatus*. *Pharm. Biol.* 2011; 49:118–124.
- [147]-Romay C, Ledon N, Gonzalez R. Further studies on anti-inflammatory activity of phycocyanin in some animal models of inflammation. *Inflam. Rese.* 1998; 47: 334-338.
- [148]-Balasubramanian T, Tapan KC, Mahananda S, Sundar LM. Anti-inflammatory effect of *Stereospermum suaveolens* ethanol extract in rats. *Pharm. Biol.* 2010; 48: 318-323.
- [149]-Lucimara Q, Moreira FCV, Lidiane O, Danielle FD, Ana LAS, Marcelo AS, Renato P, Geraldo AS, Alexandre G-P. Anti-inflammatory effect of extract and fractions from the leaves of *Byrsonima intermedia* A. Juss. in rats. *J. Ethnopharmacol.* 2011; 138: 610-615.
- [150]-Ngo Bum E, Nkantchoua GN, Njikam N, Taiwe GS, Ngoupaye GT, Pelanken MM, Nanga, Maidawa F, Rakotonirina A, Rakotonirina SV. Anticonvulsivant and sedative activity of leaves of *Senna spectabilis* in Mice. *Inter J Pharmacol.* 2010; 6: 123-128.
- [151]-Handley S et Mithani S. Effects of alpha-adrenoceptor agonists and antagonists in a maze exploration model of 'fear'-motivated behaviour. *Naunyn Schmiedebergs Arch Pharmacol.* 1984; 327:1-5.
- [152]-Pellow S, Chopin P, File S, Briley M. Validation of open: closed arm entries in an elevated plus-maze as a measure of anxiety in the rat. *J Neurosci Meth.* 1985; 14:149-67.
- [153]-Tronche C. Effets d'un stress aigu sur le rappel mnésique : approches comportementale et endocrinienne chez la souris jeune et âgée. Thèse de doctorat de l'Université Bordeaux I; Ecole doctorale : Sciences de la vie et de la santé; Spécialité Neurosciences. 2009. 205p.

# **PUBLICATIONS**

## Chemical constituents from *Erythrina droogmansiana* (Fabaceae), radical scavenging and antibacterial potential of some extracts and compounds

Talla Emmanuel<sup>1\*</sup>, Yaya Gbaweng Abel Joël<sup>2,3</sup>, Mokale Kognou Aristide Laurel<sup>1</sup>, Abdou Jean Pierre<sup>2,3</sup>, Tchinda Alembert<sup>3</sup>, Michel Frédéric<sup>4</sup>, Mbafor Tanyi Joseph<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Department of chemistry, Faculty of Sciences, University of Ngaoundere, P.O.Box 454, Ngaoundere, (CAMEROON)

<sup>2</sup>Department of Organic Chemistry, Faculty of Sciences, University of Yaounde 1, P.O.Box 812, Yaounde, (CAMEROON)

<sup>3</sup>Centre for Research on Medicinal Plants and Traditional Medicine (CRPMT), Institute of Medical Research and Medicinal Plant Studies (IMPM), P.O. Box 6163, Yaounde, (CAMEROON)

<sup>4</sup>Université de Liège, Laboratoire de Pharmacognosie, Centre Interfacultaire de Recherche sur le Médicament (CIRM), Département de Pharmacie, Université de Liège, B36, B-4000, Liège, (BELGIUM)

E-mail: tallae2000@yahoo.fr

### ABSTRACT

A new ceramide, droogmansiamide (1), was isolated from methanolic extract of roots wood of *Erythrina droogmansiana*, with eight known compounds namely 3-(3',4'-methylenedioxyphenyl)-2,3-epoxypropanol (2), erythrinasin A (3), erythrinasin B (4), abyssinone-IV-4'-methylether (5), erythrabyssin (6), phaseollidin (7), 4'-methoxylicoflavanone (8) and abyssinone-V-4'-methylether (9) respectively from methanolic extract of roots wood and EtOAc extract of roots bark of the same plant. Their structures were elucidated using spectroscopic methods (MS, NMR and IR) and by comparison with some data found in literature. Free radical scavenging (DPPH) and antibacterial potentials of extracts and compounds were also evaluated in this work. For radical scavenging, results showed that it is phaseollidin (7) which is responsible of radical scavenging potential in the ethyl acetate extract of roots barks with value of 1.31 mg/ml; for antibacterial, one of the tested compounds abyssinone-IV-4'-methylether (5) exhibited antibacterial activities against two strains: *Providencia stuartii* ATCC 29916 and *Enterobacter aerogenes* ATCC 13048 with MIC values of 25µg/ml.  
© 2016 Trade Science Inc. - INDIA

### KEYWORDS

*Erythrina droogmansiana*;  
Ceramide;  
Radical scavenging;  
Antibacterial.

### INTRODUCTION

The genus *Erythrina* (Leguminosae) has more than 110 species<sup>[1]</sup>, growing in tropical regions of America, Africa and Asia. Pharmacological and phy-

tochemical studies have been carried out on more than 80 species of this genus. These numerous studies have revealed that members of this genus are rich in a variety of secondary metabolites which are mostly phenolic and alkaloids<sup>[2]</sup>. In the same way,

most of the compounds isolated from *Erythrina* species showed antimicrobial, anti-inflammatory, antiplasmodial, antioxidant and anticancer activities<sup>[2]</sup>. In this work, we reported isolation and structural elucidation of a new ceramide (1) alongside eight known compounds: 3-(3',4'-methylenedioxyphenyl)-2,3-epoxypropanol (2)<sup>[3]</sup>, erythrinasin A (3)<sup>[4]</sup>, erythrinasin B (4)<sup>[5]</sup>, abyssinone-IV-4'-methylether (5)<sup>[6]</sup>, erythrabysin (6)<sup>[7]</sup>, phaseollidin (7)<sup>[8]</sup>, 4'-methoxylicoflavanone (8)<sup>[9]</sup> and abyssinone-V-4'-methylether (9)<sup>[10]</sup> from methanolic extract of roots wood and EtOAc extract of roots bark of *E. droogmansiana*. In addition, radical scavenging potential of methanolic, ethyl acetate extracts and of compounds 2, 5, 6, 7, 9 using DPPH as free radical, and antibacterial activity using Mueller Hinton Broth (MHB) by micro-dilution method<sup>[11]</sup> of compounds 1, 2 and 5 were also evaluated.

## EXPERIMENTAL

### General experimental procedure

Bruker spectrometer with tetramethylsilane (TMS) as standard (<sup>1</sup>H NMR (500 MHz) and <sup>13</sup>C NMR (125 MHz)). Mass spectra (EI-MS) were performed on a JEOL MSRoute spectrometer. TLC was made out on pre-coated silica gel on aluminum sheets. Silica gel (E. Merck, 230-400 mesh) and Sephadex LH-20 were used for column chromatography. Optical density was read using an APADA V-1100 spectrophotometer; Electro-thermal 9100 apparatus was used for the melting point.

### Plant material

The plant (roots barks and roots wood) was collected (stem bark and root bark) and identified with the help of a botanist of the National Herbarium of Cameroon by comparison to a known specimen deposited in the fore mentioned Herbarium under voucher number No.4261/SRFK. Extraction and isolation

Extraction of roots barks powder of the plant was carried out by maceration at room temperature for at least 48 hours with solvent renewal in order of increasing polarity (ethyl acetate and methanol)

while the roots wood was percolated.

For roots wood, the concentrated crude methanol extract (60 g) obtained after evaporation of solvent was subjected to silica gel column chromatography using eluting solvents system hexane-EtOAc and EtOAc-MeOH with increasing polarity to give 5 fractions (S<sub>1</sub>-S<sub>5</sub>) which were regrouped based on their TLC profiles. During elution of the main column, compounds 1 (30 mg) and 2 (15 mg) were obtained at hexane-EtOAc (65:35) and (90:10) respectively.

For root bark, 100 g of ethyl acetate extract was subjected to column chromatography, using a gradient solvent system of hexane, hexane-EtOAc, EtOAc-MeOH in increasing polarity to give 7 fractions (S<sub>1</sub>-S<sub>7</sub>) regrouped on the basis of TLC. S<sub>2</sub> (25g) was separated by successive column chromatography using hexane, hexane-EtOAc. This operation led to the isolation of compounds 3 (22 mg), 4 (15 mg), 5 (25 mg) and 6 (35 mg) 9 (200 mg) at hexane-EtOAc (95:05); hexane-EtOAc (90:10) and hexane-EtOAc (85:15) respectively. The purification of the fraction S<sub>3</sub> (1g) obtained at Hexane-EtOAc (90:10) from the main column, through Sephadex LH 20 CC yielded 7 (80 mg) and 8 (35 mg).

### Droogmansiamide (1)

White amorphous powder.

MP: 140-143°C

UV (MeOH-CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>): λ<sub>max</sub> (nm) (log ε): 217 (1.99).

IR (KBr): 3736, 3334, 3219, 2920, 2850, 1620, 1541, 1465, 680 cm<sup>-1</sup>

<sup>1</sup>H NMR, <sup>13</sup>C NMR and HMBC: TABLE 1.

HR-EI-MS: 653.5894 (100) (calcd. 653.5893 for C<sub>40</sub>H<sub>79</sub>NO<sub>5</sub>, [M]<sup>+</sup>).

### Biological activities

#### Free radical scavenging assay

The DPPH assay was carried out as described by Nyaa<sup>[12]</sup> with slight modifications. Briefly, a volume of 100 μl of solution (extract or compound) was added to 1.9 ml of a methanolic solution of DPPH (50 mg/L). The absorbance of the reaction mixture was then recorded at 517 nm after 30 minutes in darkness. The assay was carried out in triplicate.

## Full Paper

The percentage inhibition was calculated using the formula:

$$IC_{50} = \frac{(DO_{dpph} - DO_{sample}) \times 100}{DO_{dpph}}$$

The concentration of the extract or compound that exhibits 50% of discoloration (IC<sub>50</sub>) was estimated.

### Antibacterial assay

#### Microorganisms

Compounds were tested against a panel of microorganism including seven bacterial strains (*Enterobacter aerogenes* ATCC 13048, *Enterococcus faecalis* ATCC 10541, *Klebsiella pneumonia* ATCC 11296, *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853, *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 01, *Providencia stuartii* ATCC 29916 and *Staphylococcus aureus* ATCC 25922) and six isolates (*Escherichia coli*, *Shigella flexneri*, *Salmonella paratyphi A*, *Salmonella paratyphi B*, *Klebsiella pneumonia* and *Staphylococcus aureus*). The isolates (microorganisms) were obtained from Centre Pasteur of Yaounde, Cameroon, while the reference strains were obtained from American Type Culture Collection (ATCC). The strains and isolates were grown at 35°C and maintained on nutrient agar. The bacterial cell suspension was prepared at  $1.5 \times 10^8$  colony forming units per mL (CFU/ml) following the McFarland 0.5 turbidity standard.

#### Broth micro-dilution method

Minimum inhibitory concentrations (MICs) were determined using Mueller Hinton Broth (MHB) by micro dilution method<sup>[11]</sup>. A twofold serial dilution of the compounds (100–0.005 µg/ml) was performed in a total volume of 200 µl/well. A negative control (5%, v/v aqueous DMSO, medium and inoculum) and positive control (5%, v/v aqueous DMSO, medium, inoculum and water-soluble antibiotics) were included. Each well of 96-well sterile microplate received the test substance at the different concentrations and bacterial suspension (100 µl) in MHB. The plates were covered and incubated at 35°C for 18 h. Bacterial growth was monitored colorimetrically using *p*-iodonitrotetrazolium chloride (INT). Viable bacteria change the yellow dye of *p*-

iodonitrotetrazolium violet to a pink color. MIC values are recorded as the lowest concentration of the substance that completely inhibited bacterial growth that is, the solution in the well remained clear after incubation with INT. Minimum bactericidal concentrations (MBCs) were determined by plating 10 µl from each negative well and from the positive growth control on Mueller Hinton Agar. MBCs were defined as the lowest concentration yielding negative subcultures. The experiments were performed in triplicate. Amoxicillin, ciprofloxacin and gentamicin at the concentration ranging between 128 and 0.062 µg/ml served as positive control.

## RESULTS AND DISCUSSION

Methanolic extract of the roots wood and ethyl acetate extracts of barks of roots of *E. droogmansiana* were subjected to many VLC on silica gel. This treatment led to the isolation of nine compounds of various classes (Figure 1). The structures of these compounds were elucidated using spectroscopic methods (MS, NMR and IR) and by comparison with some data found in the literature. 2D NMR techniques (COSY, HSQC and HMBC) were also used.

Droogmansiamide (1) was obtained as white powder. The analysis of its spectra particularly the HR-EI-MS ( $m/z = 653.5894$ ) and NMR corresponds to the molecular formula  $C_{40}H_{79}NO_5$  comprising two insaturations.

The <sup>1</sup>H NMR spectrum indicated five characteristic signals of oxymethylene, oxymethines and methines related to nitrogen protons respectively at 3.8 (1H, dd,  $J = 5.5$  and  $10.5$  Hz, H-1a); 3.72 (1H, d,  $J = 4.5$  and  $10.5$  Hz, H-1b); 3.54 (1H, m, H-3); 3.53 (1H, dd,  $J = 2.5$  and  $5.5$  Hz, H-4), 4.04 (1H, dd,  $J = 3.6$  and  $7.2$  Hz, H-2') and 4.10 (1H, q,  $J = 4.5$  Hz, H-2). The same spectrum also showed at 5.41 (2H, m, H-19) a olefinic proton signal; at 0.88 (6H, t,  $J = 6.8$  Hz, H-23 and H-16') a signal corresponding to methyl protons and several methylene protons between 1.27 and 1.36 ppm. This foregoing information suggests that the droogmansiamide could be a sphingolipid. The <sup>13</sup>C NMR spectrum indicated characteristic signals at 175.9 ppm corresponding to the

TABLE 1 : <sup>1</sup>H (500 MHz), <sup>13</sup>C (125 MHz) NMR and HMBC data of compound 1 in CDCl<sub>3</sub>-MeOH

Position	$\delta_C$ (in ppm)	$\delta_H$ (in ppm)	HMBC
1a	61.0	3.80 (dd, $J = 5.5$ and $10.5$ Hz)	2/3
b		3.72 (d, $J = 4.5$ and $10.5$ Hz)	
2	51.5	4.10 (d, $J = 4.5$ Hz)	1/3/4/1'
3		3.54 br	1/2/4/5
4	72.2	3.53 (dd, $J = 2.5$ and $5.5$ Hz)	2/3/1
5	32.9		1.42
6	25.8	1.51 (ov)	
7		1.42 (ov)	
8-10	29.8	1.27 (ov)	
11	29.5	1.27 (ov)	
12-17	29.7	1.27 (ov)	
18	29.6	1.27 (ov)	
19	31.8	1.27 (ov)	
20	130.6	5.41 (m)	21
21	129.7	5.41 (ov)	21
22	32.5	2.01 (ov)	15/16
23	32.9	1.69 (ov)	
24	22.6	1.26 (ov)	
1'	13.9	0.88 (t, $J = 6.8$ Hz)	17/18/21
2'	175.9		
3'	71.9	4.04 (dd, $J = 3.6$ and $7.2$ Hz)	1'/3'/14'
4'	34.3	1.69 (ov)	1'/2'/14'
5'		1.81 (ov)	
6'-7'	29.6	1.26 (ov)	
8'-9'	29.3	1.26 (ov)	
10'-12'	29.5	1.26 (ov)	
13'	29.6	1.26 (ov)	
14'	29.7	1.26 (ov)	
15'	31.8	1.26 (ov)	
16'	25.2	1.42 (ov)	
	22.6	1.26 (ov)	
	13.9	0.88 (t, $J = 6.8$ Hz)	15'/14'/13'/12'

amide carbonyl, at 75.6; 72.3 and 71.9 ppm corresponding to oxymethines carbons, at 61.1 ppm corresponding to oxymethylene carbon at 51.6 ppm corresponding to a methine attached to nitrogen atom and at 130.7 and 129.7 of olefinic carbons. All the signals described above are characteristic of sphingolipids or more particularly of a ceramide (TABLE 1).

The HMBC spectrum showed the correlation (Figure 3: HMBC correlations) between H-19, H-24 and C-21 which indicate that olefinic proton and methyl protons are close. The length of the fatty chain

was determined by the characteristic ions peaks (Figure 2: fragmentation peak) at:  $m/z$  339  $[\text{CH}_3(\text{CH}_2)_{17}(\text{CH})_2(\text{CHOH})_2]^+$ , 383  $[\text{CH}_3(\text{CH}_2)_{17}(\text{CH})_2(\text{CHOH})_2\text{CHCH}_2\text{OH}]^+$ , 439  $[\text{CH}_3(\text{CH}_2)_{17}(\text{CH})_2(\text{CHOH})_3\text{CONHCHCH}_2\text{OH}]^+$  and 225  $[\text{CH}_3(\text{CH}_2)_{13}(\text{CHOH})]^+$ . This spectra also confirmed the position of the double bond by ion peak at  $m/z = 83$   $[\text{CH}_3(\text{CH}_2)_3(\text{CH})_2]$ . *Trans* bound was shown to be *trans* due to the presence of signals at 31.8 and 32.5 with are characteristic of *trans* ceramide<sup>[13-14]</sup>. The fragment at  $m/z = 439$  which is not common to several ceramides confirmed the pro-

## Full Paper

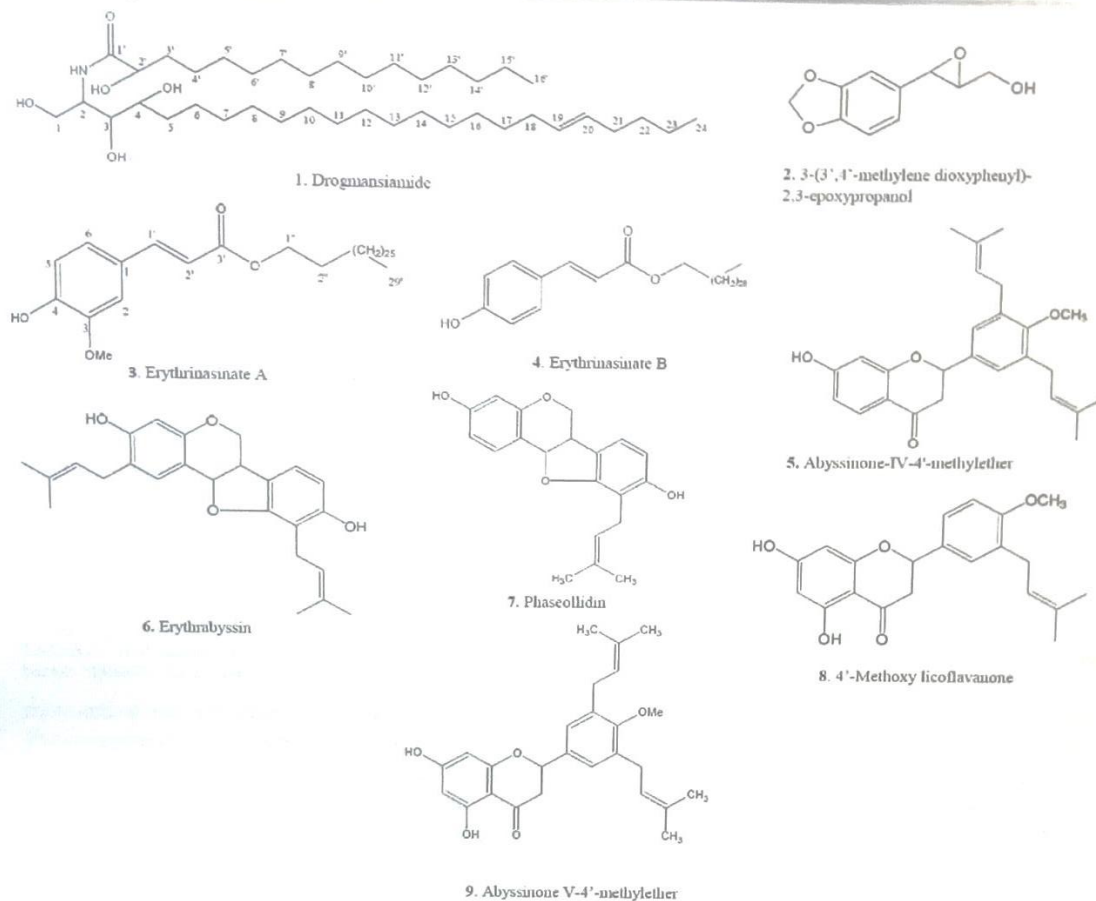
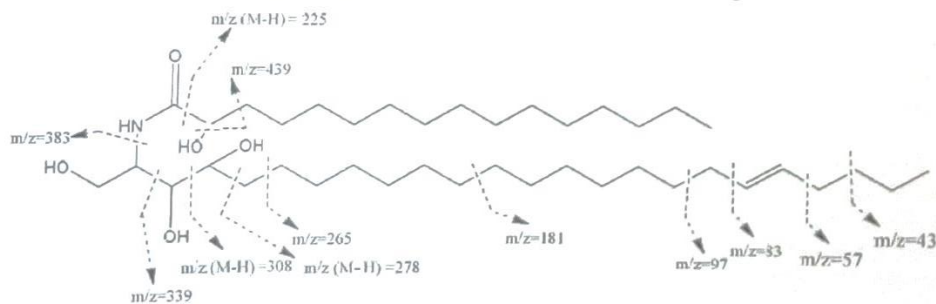
Figure 1 : Structures of compounds isolated from *Erythrina droogmansiana*

Figure 2 : Fragmentations of compound 1

posed. The structures of the other isolated compounds were established by comparison of their spectral data with those reported in literature.

The free radical scavenging potential of ethyl

acetate extracts, methanolic extracts of roots barks and of stem barks, and of some isolated compounds (2, 5, 6, 7 and 9) was evaluated (TABLE 2). For extracts, ethyl acetate extract of roots barks was the



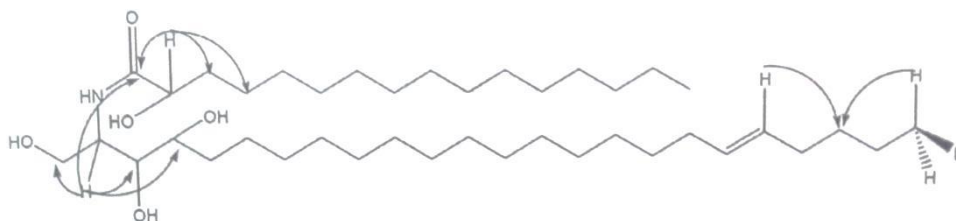


Figure 3 : HMBC correlations

TABLE 2 : Free radical scavenging data

Samples	CD <sub>50</sub> (mg/ml)
Ascorbic Acid	0,063
EAE <sub>x</sub> RB	1,30
EAE <sub>x</sub> SB	1,62
ME <sub>x</sub> RB	3,70
ME <sub>x</sub> SB	4,33
Compound 2	3,31
Compound 5	2,18
Compound 6	1,31
Compound 7	1,30
Compound 9	14,32

EAE<sub>x</sub>RB: ethyl acetate extract of roots bark; EAE<sub>x</sub>SB: ethyl acetate extract of stem barks; ME<sub>x</sub>RB: methanolic extract of roots barks; ME<sub>x</sub>SB: methanolic extract of stem barks

most active with discoloration value of 1.30 mg/ml. For compounds, compound 7 is the most active with discoloration value of 1.31 mg/ml and its value is near of the value of its extract. Due to the fact that it has synergy in extract, we could say that compound 7 is the one which is the more responsible of this moderate free radical scavenging in the plant.

Compounds 1, 2 and 5 were tested for their antibacterial activity. Their MIC and MBC are shown in TABLES 3. Compounds 1 and 2 did not exhibit antibacterial activity against the tested bacteria. Compound 5 which showed activity, inhibited the tested bacteria with MICs ranging from 25-50 µg/ml for the isolates and Gram-negative, 25-100 µg/ml for the strains and Gram-positive. *E. aerogenes* ATCC 13048, *P. stuartii* ATCC 29916 and *S. aureus* were the most sensitive (MIC = 25 µg/ml). *E. faecalis* ATCC 10541 was the least sensitive (MIC = 100 µg/ml). The reference antibiotic compound ciprofloxacin exerted a higher inhibition on the tested bacterial (MIC = 0.125-128 µg/ml) than the compounds. However, the inhibitory activity of compound 5 against *E. aerogenes* ATCC 13048 and *P.*

*stuartii* ATCC 29916 (MIC = 25 µg/ml) was better than that of ciprofloxacin (MIC = 32-128 µg/ml). The activity of pure compound was classified as significant when (MIC < 10 µg/ml), as moderate when (10 < MIC ≤ 100 µg/ml) and as weak when (MIC > 100 µg/ml)<sup>[15]</sup>. Compound 5 showed a moderate inhibitory activity against the bacteria tested. The MBC/MIC ratio for all the tested bacteria varied between one (1) and four (4) for the compound 5. According to Marmonier (1990)<sup>[16]</sup>, pure compounds exerted two types of activities: a bacteriostatic (MBC/MIC ≥ 4) and bactericidal activity (MBC/MIC ≤ 4).

Flavonoids have been reported to possess antibacterial properties<sup>[17-18]</sup>. MIC values of this class of secondary metabolites showed that Gram-negative and Gram-positive bacteria had a comparable susceptibility. This suggests that its mode of action is not related to the cell wall composition. Flavonoids may play a role in intercalation or hydrogen bonding with the stacking of nucleic acid bases and that this may explain the inhibitory action on DNA and RNA synthesis<sup>[19]</sup>. Flavonoids can also

## Full Paper

TABLE 3 : MIC and MBC ( $\mu\text{g/ml}$ ) of compounds

Bacteria	Parameters	Compounds			Reference Antibiotic
		1	2	5	Ciprofloxacin
<b>Gram-negative</b>					
E. coli	MIC	—	—	—	1
	MBC	—	—	—	1
	MBC/MIC	—	—	—	1
E. aerogenes ATCC13048	MIC	—	—	25	32
	MBC	—	—	50	32
	MBC/MIC	—	—	2	1
K. pneumonia ATCC 11296	MIC	—	—	—	1
	MBC	—	—	—	1
	MBC/MIC	—	—	—	1
K. pneumonia	MIC	—	—	—	0.25
	MBC	—	—	—	0.25
	MBC/MIC	—	—	—	1
P. stuartii ATCC 29916	MIC	—	—	25	128
	MBC	—	—	100	128
	MBC/MIC	—	—	4	1
P. aeruginosa ATCC 27853	MIC	—	—	—	1
	MBC	—	—	—	16
	MBC/MIC	—	—	—	16
P. aeruginosa ATCC01	MIC	—	—	—	1
	MBC	—	—	—	32
	MBC/MIC	—	—	—	32
S. flexneri	MIC	—	—	50	0.25
	MBC	—	—	—	1
	MBC/MIC	—	—	—	4
S. paratyphi A	MIC	—	—	50	0.125
	MBC	—	—	—	0.5
	MBC/MIC	—	—	—	4
S. paratyphi B	MIC	—	—	50	0.5
	MBC	—	—	—	2
	MBC/MIC	—	—	—	4
<b>Gram-positive</b>					
E. faecalis ATCC 10541	MIC	—	—	100	4
	MBC	—	—	—	16
	MBC/MIC	—	—	—	4
S. aureus ATCC 25922	MIC	—	—	50	8
	MBC	—	—	—	16
	MBC/MIC	—	—	—	2
S. aureus	MIC	—	—	25	8
	MBC	—	—	100	8
	MBC/MIC	—	—	4	1

— >100  $\mu\text{g/ml}$  for the compounds and >128  $\mu\text{g/ml}$  for the reference antibiotic

## Full Paper

reduce membrane fluidity of bacterial cells<sup>[20]</sup> and interfere with energy metabolism<sup>[21]</sup>.

## CONCLUSION

The present study showed that *Erythrina* genus is a rich in various classes of secondary metabolites. This study also showed that as literature mentioned it, flavonoids have much biological potential such as antimicrobial. It is for the first time to isolate ceramide skeleton on *Erythrina* genus.

## ACKNOWLEDGEMENTS

The authors are grateful to the "Fonds National de la Recherche Scientifique (FNRS) Belge" for a fellowship to TTA in the Laboratory of Pharmacognosy, University of Liege, Belgium and to the Third World Academy of Sciences (TWAS) for a fellowship offered to AJP at the Laboratory of Natural Product ISBN Karachi Pakistan.

## REFERENCES

- [1] C.C.N.Pillay, A.K.Jäger, D.A.Mulholland, Van Standen; Cyclooxygenase inhibiting and anti-bacterial activities of South African *Erythrina* species, *J.Ethno.Pharmacol.*, **74**, 231-237 (2001).
- [2] R.T.R.Majinda, C.W.W.Cornelius, F.J.Bernard; Bioactive non-alkaloidal constituents from the genus *Erythrina*. *Nat.Prod.Chem.*, **32**, 821-853 (2005).
- [3] T.T.Xenia, T.V.F.Florencia de Guzman, M.A.Anna; Phytochemical analysis and hemodynamic actions of *Artemisia vulgaris* L.Clin.Hemor, *Microcircul.*, **23**, 167-175 (2000).
- [4] I.Phongsak, R.Thitima, P.Souwalak, S.Apichart; A.C.Fuscacarpans, New pterocarpans from the stems of *Erythrina fusca* *Fitoterapia*, **81**, 518-523 (2010).
- [5] J.Wandji; Contribution to the phytochemical study of one medicinal plant : *Erythrina senegalensis* (Fabaceae) 3<sup>rd</sup> cycle Doctorate Thesis, Yaoundé-Cameroun, **88** (1987).
- [6] N.Minkyun, J.Junpil, D.Njamen, J.T.Mbafor, Z.T.Fomum, B.Y.Kim, W.K.Oh, J.S.Ahn; Protein tyrosine phosphate-1 B activity of isoprenylated flavonoids isolated from *Erythrina mildbraedii*, *J.Nat.Prod.*, **69**, 1572-1576 (2006).
- [7] T.Rukachaisirikul, P.Innok, N.Aroonreck, W.Boonamnuaylap, S.Limrangsun, C.Boonyon, U.Woonjina, Suksamram; Antibacterial pterocarpans from *Erythrina subumbrans*, *J.Ethno.Pharm.*, **110**, 171-175 (2007).
- [8] W.Watjen, A.Kulawik, A.K.Suckow Schiniker, Y.Chovolou, R.Roh-Rig, S.Ruhl, A.Kampkotter, J.Addae-Kyereme, C.W.Wright, C.M.Passreiter; Pterocarpansphaseollin and neorautenol isolated from *Erythrina addisoniae* induce apoptotic cell death accompanied by inhibition of ERK phosphorylation, *Toxicology*, **242**, 71-79 (2007).
- [9] K.Sunil, S.P.Anup, A.K.Saxena, R.A. Vishwakarma, A.Ali, S.Bhushan; The anticancer potential of flavonoids isolated from stem bark of *Erythrina suberosa* through induction of apoptosis and inhibition of STAT signaling pathway in human leukemia HL-60 cells, *Chemico-Biology Interact*, **205**, 128-137 (2013).
- [10] A.Yenesew, J.O.Midiwo, M.Miessner, M.Heydenreich, M.G.Peter; Two prenylated flavonones from stem bark of *Erythrina burtti* *Phytochemistry*, **48**, 1439-1443 (1998).
- [11] F.Salie, P.F.K.Eagles, H.M.J.Leng; Preliminary antimicrobial screening of four South African Asteraceae species. *J.Ethnopharmacol.*, **52**, 27-33 (1996).
- [12] T.L.B.Nyaa, L.Barboni, L.Tapondjou, J.D.Tamokou, J.R.Kuiate, P.Tane, H.J.Park; NMR assignment and antimicrobial/antioxidant activities of 1 $\beta$ -hydroxyeuscaphic acid from seeds of *Butyrospermumparkii*, *Nat.Prod.Sci.*, **15**, 76-82 (2009).
- [13] D.Tazoo, K.Krohn, H.Hussain, S.F.Kouam, E.Dongo; A new cerebroside and new ceramide from leaves of *Laportea ovalifolia*, *Z, Naturforsch*, **62b**, 1208-1212 (2007).
- [14] Z.A.Kakam, H.Hidayat, E.Dongo, S.F.Kouam, B.Schulz, K.Krohn; Camerooemide A: a new ceramide from *Helichrysum cameroonense* *Journ.Asian.Nat.Prod.Res.*, **12**, 629-633 (2010).
- [15] V.Kuete; Potential of cameroonian plants and derived products against microbial infections: A Review, *Planta Medica*, 932-943 (2010).
- [16] A.A.Marmonier; Introduction aux techniques d'étude des antibiotiques, *Bactériologie medicale, Techniques usuelles*, Ed.Doin, Paris, 227-236 (1990).
- [17] T.P.T.Cushnie, A.J.Lamb; Antimicrobial activity of flavonoids, *Int.J.Antimicrob.Agen.*, **26**, 343-356 (2005).



## Antioxidant Activity of Compounds Isolated from the Root Woods of *Erythrina droogmansiana*

AJG Yaya<sup>1</sup>, RD Feumba<sup>2</sup>, T Emmanuel<sup>3\*</sup>, AT Tchinda<sup>1</sup>, M Fredérich<sup>5</sup>, J Oben<sup>6</sup>, JT Mbafor<sup>4</sup>

<sup>1</sup>Centre for Research on Medicinal Plants and Traditional Medicine (CRPMT), Institute of Medical Research and Medicinal Plants Studies (IMPM), P.O. Box 6163, Yaounde, Cameroon

<sup>2</sup>Centre for Research on Food and Nutrition (CRAN), Institute of Medical Research and Medicinal Plants Studies (IMPM), P.O. Box 6163, Yaounde, Cameroon

<sup>3</sup>Department of Chemistry, Faculty of Science, University of Ngaoundere, P.O. Box 454, Ngaoundere, Cameroon

<sup>4</sup>Department of Organic Chemistry, Faculty of Science, University of Yaounde I, P.O. Box 812, Yaounde, Cameroon

<sup>5</sup>Université de Liège, Laboratoire de Pharmacognosie, Centre Interfacultaire de Recherche sur le Médicament (CIRM), Département de Pharmacie, Université de Liège, B36, B-4000, Liège, Belgium

<sup>6</sup>Department of Biochemistry, Faculty of Science, University of Yaounde I, P.O. Box, 812, Yaounde, Cameroon

### ABSTRACT

The aim of this study was to isolate, to characterize secondary metabolites from methanolic extract of the root woods of *Erythrina droogmansiana* and to assess the antioxidant activity of the crude extract and isolated compounds. The phytochemical study led to the isolation of 3-(3',4'-methylenedioxyphenyl)-2,3-epoxypropanol (1), asperphenamate (2) and three flavonoids namely genistein, diadzein and 4',5,7-trihydroxy-8-prenylisoflavone. These compounds were characterized using their <sup>1</sup>H NMR, <sup>13</sup>C NMR, HMBC, HSQC, COSY, mass spectral and the literature. To evaluate antioxidant activity of crude extract and isolated compounds, the radical scavenging (DPPH) and Ferric Reducing Ability Power (FRAP) were performed using ascorbic acid as standard. Compounds 1 and 2 showed moderate radical scavenging potential with IC<sub>50</sub> value of 3.14 and 3.31 mg/ml respectively, and moderate reducing power ability with value of 0.14±0.01 mgAAE/mg and 0.21±0.01 mgAAE/mg respectively. The more active compound was genistein (3) with IC<sub>50</sub> value of 1.96 mg/ml for the DPPH radical scavenging potential and 0.24±0.02 mgAAE/mg for its ability to reduce iron.

**Keywords:** *Erythrina droogmansiana*, isolation, asperphenamate, 3-(3',4'-methylenedioxyphenyl)-2,3-epoxypropanol, antioxidant activities.

### INTRODUCTION

The oxidative damage caused by reactive oxygen species (ROS) on lipids, proteins and nucleic acids may trigger various chronic diseases, such as coronary heart disease, cancer and ageing. [1-3] Epidemiological studies have demonstrated an inverse association between intake of fruits and vegetables and mortality from age-related diseases, such as coronary heart disease and cancer, which may be attributed to their antioxidant activity. [4-6] The fact that some synthetic antioxidants, such as BHT and BHA, need to be replaced with natural antioxidants, as they were found to be toxic and carcinogenic in animal Models. [7-8] Thus, it is important to identify new sources of safe and inexpensive antioxidants of natural origin.

The *Erythrina* genus is known as a source of various secondary metabolites with an abundance of flavonoids and alkaloids [9], but less is known on their biological activities. Some compounds isolated from several species of *Erythrina* have been reported to possess antiparasitodal [10], antimicrobial [11], radical scavenging [12] and anti-inflammatory [13-14] activities. *E. droogmansiana* is a tree of about 25 m height, widely distributed in Cameroon, Democratic Republic of Congo and Gabon. [15] To the best of our knowledge, this is the first report on the phytochemistry and antioxidant activity of *E. droogmansiana*. This study led to the isolation for the first time in this genus of 3-(3',4'-methylenedioxyphenyl)-2,3-epoxypropanol and asperphenamate with three flavonoids previously isolated from others *Erythrina* species.

### MATERIALS AND METHODS

#### General experimental procedures

<sup>1</sup>H NMR (500 MHz) and <sup>13</sup>C NMR (125 MHz) spectra were recorded on a Bruker spectrometer with trimethylsilane

\*Corresponding author: Mr. T Emmanuel,  
Department of Chemistry, Faculty of Science, University of  
Ngaoundere, P.O. Box 454, Ngaoundere, Cameroon;  
Tel.: +00 237 7486 3715; E-mail: tallae2000@yahoo.fr

(TMS) as standard. ESI-HRMS analyses were performed on a LTQ-Orbitrap XL hybrid mass spectrometer. TLC was carried out on coated silica gel on aluminum sheets. Silica gel (E. Merck, 230-400) was used for column chromatography. Optical density was read using an APADA V-1100 spectrophotometer.

#### Plant material

The plant (roots wood), selected on the basis of chemotaxonomy surveys, was collected at Nkomkoui (Centre Region of Cameroon) and identified by Mr. Nana Victor, a botanist of the National Herbarium Yaoundé (Cameroon), to voucher number No. 4261/SRFK.

#### Extraction and isolation

Powder of the air-dried roots wood (1.2 Kg) was macerated at room temperature for 48 hours with methanol and evaporated using a Rotavapor apparatus at 40°C. The concentrated crude methanol extract (60 g) obtained after evaporation of solvent was subjected to silica gel chromatography column using a gradient of hexane-EtOAc and EtOAc-MeOH with increasing polarity to give 5 series of fractions (S1-S5) which were regrouped based on their TLC profile. During elution of the main column, 3-(3',4'-methylenedioxyphenyl)-2,3-epoxypropanol (1, 45 mg)<sup>[16]</sup>, asperphenamate (2, 12 mg)<sup>[17]</sup>, genistein (3, 65 mg)<sup>[18]</sup> and daidzein (4, 12 mg)<sup>[19]</sup> were obtained with hexane-EtOAc (9:1, 8.5:2.5, 6.5:3.5 and 5:5), respectively. S1 (5 g) was subjected to a Si gel CC using the mixture of hexane and ethyl acetate of increasing polarity to give asperphenamate (2, 5 mg) and 4',5,7-trihydroxy-8-prenylisoflavone (5, 10 mg)<sup>[20]</sup> at hexane-EtOAc (8.5:1.5).

#### Determination of antioxidant activity

The antioxidant activity of MExRW and four isolated compounds was assessed through the evaluation of the radical scavenging activity and reducing power. Solutions of pure compounds (1 mg/mL) and crude extract (3 mg/mL) used for these tests were obtained by dissolving samples in methanol.

#### Evaluation of radical scavenging activity

The DPPH assay was carried out as described by Nyaa<sup>[21]</sup> with slight modifications. Briefly, a volume of 100µl of solution (extract or compound) was added to 1.9 ml of a methanolic solution of DPPH (50 mg/L). The absorbance of the reaction mixture was then recorded at 517 nm after 30 minutes in darkness. The assay was carried out in triplicate. The percentage inhibition was calculated using the formula:

$$\text{IC}_{50} = \frac{\text{Absorbance of DPPH} - \text{Absorbance of Sample}}{\text{Absorbance of DPPH}} \times 100$$

The concentration of the extract or compound that exhibits 50% inhibition (IC<sub>50</sub>) was estimated.

#### Evaluation of reducing power

The reducing power of MEXRW and its chemical constituents was evaluated by determining their ability to reduce iron (III) to iron (II) as described by Oyaizu.<sup>[22]</sup> Briefly, an aliquot of 1 mL of sample solution (extract or compound) was mixed with 2.5 mL phosphate buffer (0.2 M, pH 6.6) and 2.5 mL of a 1% potassium hexacyanoferrate [K<sub>3</sub>Fe(CN)<sub>6</sub>] solution. After 30 min of incubation at 50°C, 2.5 mL of a 10% trichloroacetic acid solution were added and the mixture was subjected to centrifugation at 3000 rpm for 10 min. Finally, 2.5 mL of the collected supernatant was mixed with distilled water (2.5 mL) and 0.5 mL of a solution of FeCl<sub>3</sub> (0.1%). After reading the absorbance at 700 nm, the

reducing power was expressed as mg of ascorbic acid per mg of sample (mgAAE/mg).

## RESULTS AND DISCUSSION

### Phytochemistry study

Compound 1 was obtained as white powder. The presence in its <sup>1</sup>H NMR spectrum of an ABX system with signals at δ 6.77 (s, H-2'), at δ 6.80 (d, J = 1.3 Hz, H-5') and 6.85 (d, J = 1.6 Hz, H-6') suggested that this compound is a trisubstituted benzenic compound. The singlet at δ<sub>H</sub> 5.95 (2H, s) suggested the presence of a methylenedioxy group. Apart from the above signals, others were observed at δ 3.05 (q, H-3), 3.87 (dd, J = 9.1, 3.8 Hz, H-1a), 4.23 (m, H-1b) and 4.71 (d, J = 4.4 Hz, H-3). The <sup>1</sup>H-<sup>1</sup>H COSY spectrum showed clearly the connectivities H<sub>2</sub>-3/H-2/H-1 attesting the presence of a propyl group. The HMBC spectrum showed the correlation between H-1, H-2 and C-4 indicating the attachment of the propyl group at C-4 of the aromatic ring. In the <sup>13</sup>C NMR spectrum, the signal at δ 101.1 confirmed the presence of the methylenedioxy group. Signals at δ 147.1 (C-4') and 147.5 (C-3') indicate that compound 1 is a benzodioxymethylene derivative. The signals at δ<sub>C</sub> 85.8 (C-3), 71.7 (C-1), 54.3 (C-2) are predictive of the C-2/C-3 epoxide and the oxymethylene group (C-1). The HMBC spectrum also showed correlations between the protons at δ<sub>H</sub> 5.95 (2H, s) and the carbons at δ<sub>C</sub> 147.1 and 147.5 in agreement with the existence of the benzomethylenedioxy group. On the basis of all the NMR data, compound 1 was identified as 3-(3',4'-methylenedioxyphenyl)-2,3-epoxypropanol previously isolated from *Artemisia vulgaris* L. However, it was not described. Only the <sup>13</sup>C NMR data of carbons 1, 2 and 3 were given.<sup>[81]</sup> This is therefore the first report of that compound in the *Erythrina* genus and its full description.

Compound 2 was isolated as a white powder. Its mass spectrum showed a molecular ion peak at *m/z* 507.22571 corresponding to the molecular formula C<sub>32</sub>H<sub>30</sub>O<sub>4</sub>N<sub>2</sub>. The presence in its <sup>1</sup>H NMR spectrum (Table 2) of four series of doublets at δ<sub>H</sub> 2.91 (dd, J = 13.8, 8.2 Hz, H-17a), 2.99 (dd, J = 13.8, 6.4 Hz, H-17b), 3.21 (1H, dd, J = 13.8, 7.3 Hz, H-10a) and 3.29 (dd, J = 13.8, 6.3 Hz, H-10b); and of two multiplets at 4.92 (q, J = 6.6 Hz, H-3) and at 4.63 (m, H-7) showed that compound 2 is a quasi-symmetrical molecule. Integration of signals between δ<sub>H</sub> 7.21 and 7.71 suggested the presence of 20 aromatics protons from four different phenyls groups in this compound. The presence of two signals at δ<sub>H</sub> 6.56 (d, H-2), and at 6.65 (d, H-8) which are not present in the HSQC spectrum but showing COSY and HMBC correlations (Table 2) suggested the presence of two secondary amide groups. In the same spectrum, the presence of another series of two doublets at δ<sub>H</sub> 4.04 (dd, J = 11.3, 4.4, H-6a) and at 4.54 (dd, J = 11.3, 3.2, H-6b) confirmed the quasi-symmetrical nature of this compound. In its <sup>13</sup>C NMR spectrum, the presence of three signals at 167.2, 167.4 and 171.9 suggested that three carbonyl groups were present. The presence of three methylene groups respectively at δ<sub>C</sub> 37.2 (C-17), 37.5 (C-10) and 65.4 (C-6) suggested that the latter is close to the carbonyl ester. Correlations observed in the COSY spectrum between H-17a (δ<sub>H</sub> 2.91) and H-7 (δ<sub>H</sub> 4.63), H-17b (δ<sub>H</sub> 2.99) and H-7 (δ<sub>H</sub> 4.29), H-10a (δ<sub>H</sub> 3.2) and H-3 (δ<sub>H</sub> 4.92), H-10b (δ<sub>H</sub> 3.29) and H-3 (δ<sub>H</sub> 4.92) and H-7 (δ<sub>H</sub> 4.63) and methylene protons H-6a (δ<sub>H</sub> 4.04) and H-6b (δ<sub>H</sub> 4.54) showed the difference between the two parts of the molecule. HMBC correlations observed between H-10a (δ<sub>H</sub> 3.29), H-10b (δ<sub>H</sub> 3.21), H-3 (δ<sub>H</sub> 4.63) and C-4 (δ<sub>C</sub> 171.9); between H-2 (δ<sub>H</sub>

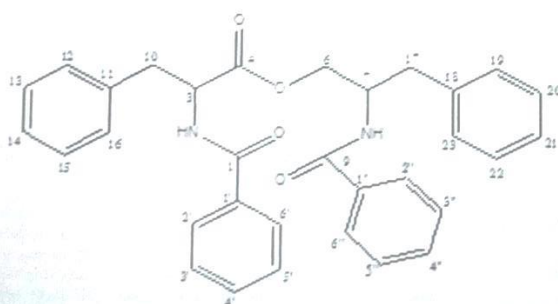
6.56) and C-1 ( $\delta_C$  167.4) and C-4; and between H-8 ( $\delta_H$  6.65) and C-9 ( $\delta_C$  167.2) enabled the construction of the central part of the molecule which comprises two amides and one carbonyl ester groups. Moreover, correlations between H-6a ( $\delta_H$  4.04) and C-4, C-7 ( $\delta_C$  50.3), C-17 ( $\delta_C$  37.2) confirmed the quasidimeric nature of compound with the two moieties connected to the ester group (C-4). All these NMR data and those of literature led to the conclusion that compound 2 is asperphenamate which was firstly isolated from *Aspergillus flavus* [23], and then from *Piptadenia gonoacantha* [17] and here isolated for the first time in *Erythrina* genus. The others compounds isolated from MEXRW were genistein (3) previously isolated from *E. indica* [10], daidzein (4) from *E. crista-galli* [11] and 4', 5, 7-trihydroxy-8-prenylisoflavone (5) from *E. variegata*. [12]

Table 1:  $^{13}C$  NMR (125 MHz) and  $^1H$  NMR (500 MHz) data of 3-(3',4'-methylenedioxyphenyl)-2,3-epoxypropanol (1) in  $CDCl_3$

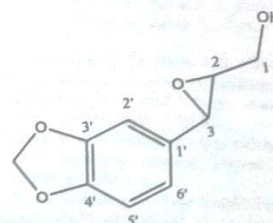
N° carbone	$\delta_C$ (mult.)	$\delta_H$ (mult., J in Hz)	HMBC	COSY
1a	71.7 (t)	4.23 (m)	C-1', C-2, C-3	1b, 2
b	54.3 (d)	3.87 (dd 9.1, 3.8)	C-1, C-1', C-2	1a, 2
2	85.8 (d)	3.05 (q)	C-1, C-1', C-3	1a, 1b, 3
3	85.8 (d)	4.71 (d, 4.4)	C-1, C-1', C-2, C-2' C-6'	2
1'	135.0 (s)	-	-	-
2'	108.5 (d)	6.80 (d, 1.3)	C-1', C-2', C-3	6'
3'	147.1 (s)	-	-	-
4'	147.5 (s)	-	-	-
5'	106.2 (d)	6.77 (s)	C-1', C-5'	-
6'	119.4 (d)	6.85 (d, 1.6)	C-3, C-3', C-4'	2'
-CH <sub>2</sub> -O	101.1 (t)	5.95 (s)	C-4', C-5'	-

Table 2:  $^{13}C$ - and  $^1H$ -NMR data of compound 2 in  $CDCl_3$

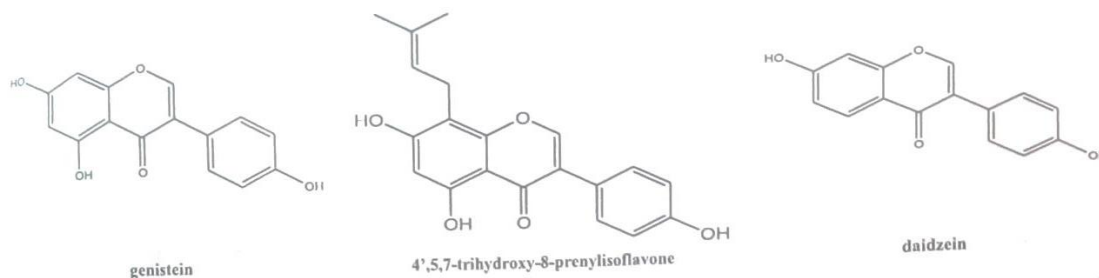
N° carbone	$\delta_C$ (mult.)	$\delta_H$ (mult., J in Hz)	HMBC	COSY
1	167.4 (s)	-	-	-
3	54.5 (d)	4.92 (q, 6.6)	C-1, C-4, C-10, C-11	2, 10a, 10b
4	171.9 (s)	-	-	-
6a	65.4 (t)	4.54 (dd 11.3, 3.2)	C-4, C-7, C-17	6b, 7
b	50.3 (d)	4.04 (dd 11.3, 4.4)	C-4, C-7, C-17	6a, 7
7	167.2 (s)	4.63 (m)	C-9, C-18	6a, 6b, 8, 17a, 17b
9	167.2 (s)	-	-	-
10a	37.5 (t)	3.29 (dd 13.8, 6.3)	C-3, C-4, C-12	2, 10b
b	37.5 (t)	3.21 (dd 13.8, 7.3)	C-3, C-4, C-12	2, 10a
11	135.7 (s)	-	-	-
12	128.9 (d)	7.25 (ov)	-	13
13	128.7 (d)	7.25 (ov)	-	12, 14
14	127 (d)	7.29 (ov)	-	13, 15
15	128.7 (d)	7.25 (ov)	-	14, 16
16	128.9 (d)	7.25 (ov)	-	15
17a	37.2 (t)	2.99 (dd 13.8, 6.4)	C-6, C-7, C-18, C-19	8, 17b
b	37.2 (t)	2.91 (dd 13.8, 8.2)	C-6, C-7, C-18, C-19	8, 17a
18	137.1 (s)	-	-	-
19	129.3 (d)	7.48 (s)	-	20
20	127 (d)	7.21 (ov)	-	19, 21
21	126.8 (d)	7.31 (ov)	-	20, 22
22	127 (d)	7.21 (ov)	-	21, 23
23	129.3 (d)	7.48 (s)	-	22
1'	133.3 (s)	-	-	-
2'	128.4 (d)	7.71 (d, 0.9)	C-1, C-3', C-4'	3'
3'	127.1 (d)	7.43 (tt 7.8, 1.3)	-	2', 4'
4'	132.4 (d)	7.50 (tt 7.8, 1.2)	-	3', 5'
5'	127.1 (d)	7.43 (tt 7.5, 1.3)	-	4', 6'
6'	128.4 (d)	7.71 (dd 8.2, 1.2)	C-1, C-4', C-5'	5'
1''	134.2 (s)	-	-	-
2''	127.4 (d)	7.66 (dd, 8.8, 1.3)	C-3'', C-4'', C-9	3''
3''	129.2 (d)	7.33 (ov)	-	2'', 4''
4''	131.4 (s)	7.43 (tt 7.5, 1.3)	-	3'', 5''
5''	129.2 (d)	7.33 (ov)	-	4'', 6''
6''	127.4 (d)	7.66 (dd, 8.8, 1.3)	C-4'', C-5'', C-9	5''



asperphenamate



3-(3',4'-methylenedioxyphenyl)-2,3-epoxypropanol



**Antioxidant activity**

Antioxidant activities of MEXRW and of compounds 1-3 and 5 were assessed using the DPPH scavenging antiradical and ferric reduction power methods. As reported in Table 3, MEXRW exhibited moderately a DPPH free radical scavenging activity with an IC<sub>50</sub> of 4.32 mg/ml. genistein 3 is the more active among the compounds isolated from this extract with IC<sub>50</sub> of 1.96 mg/ml. Table 3 also represents the reducing power of MEXRW and the isolated compounds. It can be noticed that as for reducing power, compound 3 possesses the highest reducing power with a value of 0.24 ± 0.02 mgAAE/mg and it is followed by compound 2 (0.21 ± 0.01 mgAAE/mg). It is worthy to mention that compound 1 is more powerful in reducing power than compound 1 and that is reverse concerning radical scavenging activity. The reducing power is based on the ability of some products to create bonds with a metal. The little difference observed between the activity of compounds 1 and 3 could be due to the fact that compound 1 contains more oxygen atoms compared to compound 3. The isolation of 3-(3',4'-methylenedioxyphenyl)-2,3-epoxypropanol (1) and of asperphenamate (2) for the first time in the genus *Erythrina* shows that *Erythrina* plants are rich in various secondary metabolites.

Table 3: Antioxidant activities of MEXRW and its isolated compounds

Samples	DPPH radical scavenging activity (IC <sub>50</sub> in mg/ml)	FRAP (mgAAE/mg)
Compound 1	3.31	0.21 ± 0.01
Compound 2	3.14	0.14 ± 0.02
Compound 3	1.96	0.24 ± 0.02
Compound 4	3.41	0.17 ± 0.01
MEXRW	4.32	0.08 ± 0.01
Ascorbic acid	0.06	-

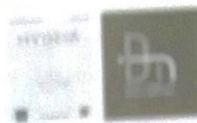
**ACKNOWLEDGEMENTS**

The authors are grateful to the "Fonds National de la Recherche Scientifique (FNRS) Belge" for a fellowship to ATT at the Laboratory of Pharmacognosy, University of Liege, Belgium.

**REFERENCES**

- Hua-Bin L, Ka-Wing C, Chi-Chun W, King-Wai F, Feng C, Yue J. Evaluation of antioxidant capacity and total phenolic content of different fractions of selected microalgae. *Food Chem.* 2007; 102: 771-776.
- Finkel T, Holbrook NJ. Oxidants, oxidative stress and the biology of ageing. *Nature* 2000; 408: 239-247.
- Madhavi DL, Deshpande SS, Salunkhe DK. *Food antioxidants: Technological, toxicological. Health persp.* 1996. New York: Marcel Dekker.
- Eber-Hardt MV, Lee CY, Liu RH. Antioxidant activity of fresh apples. *Nature* 2000; 405: 903-904.
- Gey KF. The antioxidant hypothesis of cardiovascular disease: epidemiology and mechanisms. *Bioch Soc Trans.* 1990; 18: 1041-1045.

- Willet WC. Micronutrients and cancer risk. *Amer J Clin Nutri.* 1991; 53: 265S-269S.
- Ito N, Hirose M, Fukushima S, Tsuda H, Shirai T, Tatematsu M. Studies on antioxidants: Their carcinogenic and modifying effects on chemical carcinogenesis. *Food Chem Toxicol.* 1986; 24: 1071-1082.
- Safer AM, Al-Nughamish AJ. Hepatotoxicity induced by the antioxidant food additive butylated hydroxyl toluene (BHT) in rats: An electron microscopical study. *Histol Histopath.* 1999; 14: 391-406.
- Majinda RTR, Comelius CWW, Bernard FJ. Bioactive non-alkaloidal constituents from the genus *Erythrina*. *Studies in Natural Products Chemistry* 2005; 32: 821-853.
- Yenesew A, Induli M, Derese S, Midiwo JO, Heydenreich M, Peter MG, Akala H, Wangui J, Liyala P, Waters MC. Antiplasmodial flavonoids from the stem bark of *Erythrina abyssinica*. *Phytochemistry* 2004; 65: 3029-3032.
- Chacha M, Gomostang BM, Majinda RRT. Antimicrobial and radical scavenging flavonoids from the stem wood of *Erythrina latissima*. *Phytochemistry* 2005; 66: 99-104.
- Rukachaisirikul T, Innok P, Aroonreck N, Boonamnuaylap W, Limrangsun S, Boonyon C, Woonjina U, Suksamran A. Antibacterial pterocarpanes from *Erythrina subumbrans*. *J Ethnopharmacol.* 2007; 110: 171-175.
- Sokeng SD, Talla E, Jeweldai V, Yaya AJG, Koube J, Dongmo F, Goulime M, Mbafor JT. Anti-inflammatory effect of abyssinone V-4'-methylether on acute and chronic inflammation models. *Hygea. J. Drugs. Med.* 2013; 5: 121-128.
- Njamen D, Talla E, Mbafor JT, Fomum ZT, Kamanyi A, Mbanya JC, Cerdà-Nicilas M, Giner RM, Recio MC, Rios JL. Anti-inflammatory activity of erycristagallin, a pterocarpene from *Erythrina mildbraedii*. *Europ J Pharmacol.* 2003; 468: 67-74.
- Harris DJM. The vascular plants of the Dzanga-Sangha reserve, Central African Republic. National Botanic Garden of Belgium. 2002.
- Xenia TT, Florecita de Guzman TVF, Anna Ma. Phytochemical analysis and hemodynamic actions of *Artemisia vulgaris* L. *Clin Hemor Microcircul.* 2000; 23:167-175.
- Mário GC, Maritza ARC, Francisco EACJ, Acácio GC. Chemical constituents of *Piptadenia gonoacantha* (Mart.) J.F. Macbr (paujacaré). *Acad Bras Ciênc* 2010; 82: 561-567.
- Nkengfack AE, Azebaze AGB, Waffo AK, Fomum ZT, Meyer M, van Heeden FR. Cytotoxic isoflavones from *Erythrina indica*. *Phytochemistry* 2001; 58: 1113-1120.
- Flavia R, Maria LC, Daniela W, Fernando R, Timm A, Virginia M. Antimicrobials isoflavonoids from *Erythrina crista-galli* infected with *Phomopsis* sp. *Z. Naturforsch.* 2007; 164-168.
- Mohammed ZR, Rahman MS, Kaiser A, Hossain A, Rashid MA. Bioactive isoflavones from *Erythrina variegata*. *L. Turk J Pharm Sci.* 2010; 7: 21-28.
- Nyaa TLB, Barboni L, Tapondjou L, Tamokou J-D, Kuate J-R, Tane P, Park HJ. NMR assignment and antimicrobial/antioxidant activities of 1β-hydroxyeuscaphic acid from seeds of *Butyrospermum parkii*. *Nat Prod Sci.* 2009; 15:76-82.
- Oyaizu M. Studies of products of browning reaction antioxidative activities of products of browning reaction prepared from glucosamine. *Jap J Nutr.* 1986; 44: 307-315.
- Clark AM, Hufford CD, Robertson LW. Two metabolites from *Aspergillus flavipes*. *Lloydia.* 1977; 40: 146-151.



## Anti-inflammatory effect of Abyssinone V-4'-methyl ether on acute and chronic inflammation models

S.D. Sokeng<sup>1\*</sup>, E. Talla<sup>2</sup>, V. Jeweldai<sup>1</sup>, A.J.G Yaya<sup>3</sup>, J. Koube<sup>1</sup>, F. Dongmo<sup>1</sup>, M.Goulimé<sup>1</sup>, J.T. Mbafor<sup>4</sup>

1. Department of Biological Science, Faculty of Science, University of Ngaoundere, Cameroon
2. Department of Chemistry, Faculty of Science, University of Ngaoundere, Cameroon
3. Medical and Medicinal plants Institute (IMPM), Yaounde, Cameroon
4. Department of Organic Chemistry, University of Yaounde I, Cameroon

Article history: Received: 29 January 2013, revised: 20 February 2013, accepted: 5 March 2013, Available online: 3 April 2013

### Abstract

**Plan:** Anti-inflammatory evaluation of abyssinone V-4'-methyl ether.

**Prologue:** The anti-inflammatory activity of abyssinone V-4'-methyl ether, a natural prenylated flavonoid isolated from the bark of *Erythrina droogmansiana* (Leguminosae) was evaluated using acute and chronic inflammation models in vivo namely carrageenan-induced paw edema in rats, xylene induced-ear edema in mice and cotton pellets-induced granuloma formation in rats.

**Methodology:** Oral administration of abyssinone V-4'-methyl ether at doses of 2.5, 5 and 10 mg/kg produced a dose-related inhibition of edema formation in the carrageenan induced-paw edema test in rats.

**Outcome:** The highest dose (10 mg/kg) of the compound induced an inhibition of 71.43% compared to 61.90% inhibition obtained with dexamethasone (2.5 mg/kg). In the xylene induced-ear edema in mice, abyssinone V-4'-methyl ether also produced a dose-dependent effect with a maximum inhibition of 62.25% obtained with the dose 10 mg/kg. In the chronic test, abyssinone V-4'-methyl ether at similar doses strongly inhibited the granulomatous tissue formation in cotton pellet-induced granuloma model in rats. These results suggest the anti-inflammatory properties of abyssinone V-4'-methyl ether. This is the first time that the anti-inflammatory activity of this prenylflavanone is reported.

**Keywords:** Abyssinone V-4'-methyl ether, anti-inflammatory activity, carrageenan-induced paw edema, xylene induced ear edema, cotton pellet-induced granuloma.

### 1. Introduction

Over 50 flavonoids have been obtained during the last three decades from about 15 species of *Erythrina* genus<sup>1,4</sup>, with prenylated flavonone, isoflavones and pterocarpan being the major non alkaloid secondary metabolites isolates so far<sup>4,5</sup>. Among these metabolites, there are abyssinones which are prenylated flavonoids isolated from plant *Erythrina abyssinica*<sup>3</sup>. These molecules have gained attention since abyssinone II was reported to show aromatase inhibitory activity<sup>6</sup>. The antioxidant and cytotoxic activities of Abyssinone I, abyssinone II and related compounds have been reported<sup>7</sup>.



For Correspondance: dsokeng@yahoo.com, Contact: +23774959223 (Dr S. D. Sokeng)

Hygeia J.D.Med. Vol.5 (1), April 2013

© 2013, Hygeia journal for drugs and medicines, All rights reserved. 2229 3590, 0975622

Researcher id: C-1754-2013



They were provided with standard food pellets purchased from LANAVET, Garoua, Cameroon and tap water *ad libitum*. Experiments were carried out in accordance with the internationally accepted principles for laboratory animal use and as per the experimental protocols duly approved by the Institutional Ethical Committee (No. FWA-IRB00001954) and the current guidelines for the care of laboratory animals for investigations of experimental pain in conscious animals<sup>12</sup>.

Abyssinone V-4'-methyl ether and test drugs were given orally to experimental animals after suspending in a mixture of distilled water and 0.5% dimethylsulfoxide (DMSO). The control groups received the same experimental handling as those of the test groups except that the drug treatment was replaced with appropriate volumes of vehicle.

#### *2.4. Carrageenan-induced paw edema*

Inflammation of the paw in rats was induced as previously described<sup>13</sup>. Rats (n=6, per group) received orally the test compound (Abyssinone V-4'-methyl ether) at doses of 2.5, 5 and 10 mg/kg and dexamethasone (2.5 mg/kg, as positive control) or similar volume of vehicle (10 ml/kg, as negative control), 30 min prior to subplantar injection of 0.1 ml of freshly prepared 1% carrageenan suspension in normal saline into the right hind paw of each rat. The edema (inflammation) was assessed as the difference between zero time linear circumference of the injected paw and its circumference at different times after administration of carrageenan<sup>14</sup>. Measurements were carried out immediately before and thereafter at an interval of 1h for a period of 5h. Edema inhibitory activity was calculated according to the following formula<sup>15</sup>:

$$\text{Percentage inhibition} = \frac{[(C_t - C_0)_{\text{control}} - (C_t - C_0)_{\text{treated}}]}{[(C_t - C_0)_{\text{control}}]}$$

Where,  $C_t$  = mean paw circumference for each group at time  $t$ , and  $C_0$  = mean paw circumference for each group before carrageenan injection.

#### *2.5. Ear edema induced by xylene*

The experiment was conducted based on a previously described method<sup>16</sup>. Mice were divided into five groups of six each. Group 1: vehicle (10 ml/kg); Groups 2, 3 and 4: Abyssinone V-4'-methyl ether (2.5, 5 and 10 mg/kg respectively) and Group 5: Dexamethasone (5 mg/kg), reference drug. The vehicle and drugs were administered orally one hour before xylene application. Ear edema was induced by applying carefully a drop of xylene (0.03 mL) to the anterior and posterior surfaces of the right ear. The left ear remained untreated and considered as control. One hour after xylene application, the animals were killed under ether anesthesia and 9 mm punches were made in the right and left ears of each mouse using a borer. Each ear disc was weighed and the differences in weight of the right and left ear discs of mice were recorded as the edema level.

#### *2.6. Cotton pellet-induced granuloma*

Cotton pellet-induced granuloma in rats was conducted according to the method as previously described<sup>17</sup>. Granulomatous lesions were induced by surgically inserting sterile cotton pellets ( $15 \pm 1$  mg) subcutaneously in both axilla regions of each rat following a single incision which was thereafter closed by interrupted sutures.

Abyssinone V-4'-methyl ether (2.5, 5 and 10 mg/kg) and Dexamethasone (5 mg/kg) or vehicle (10 ml/kg) were given orally once daily for 7 consecutive days. On day 8, the cotton pellets were dissected out under ether anesthesia, cleaned of extraneous tissue, weighed and dried at 50°C to a constant weight. The mean weights for different groups were determined. The increase in dry weight of the pellets was taken as the measure of the granuloma formation.

### 2.7. Statistical analysis

The results were expressed as mean±SEM. and the data obtained was statistically analyzed using one-way ANOVA, followed by Dunnett's multiple comparison tests. Differences were considered significant when  $P \leq 0.05$ .

## 3. Results

Oral administration of Abyssinone V-4'-methyl ether obtained from *E. droogmansiana*, significantly inhibited in a dose-dependent manner the oedema formation after carrageenan injection to the rat hind paw. The compound at doses of 2.5, 5 and 10 mg/kg respectively produced a 21.88%, 25% and 56.25% inhibition of edema 3 h post carrageenan injection, compared with 46.88% of dexamethasone. The effect was more pronounced at 5 h with a maximal inhibitory ratio of anti-edema effect of 71.43% with the dose 10 mg/kg, compared with 61.90% of dexamethasone (Table 1).

The oral administration of Abyssinone V-4'-methyl ether significantly suppressed xylene-induced ear edema in mice (Table 2). The inhibition percentage at each dose of Abyssinone V-4'-methyl ether (2.5, 5 and 10 mg/kg) were 22.45%, 36.73% and 62.65% respectively compared with control. Dexamethasone (2.5 mg/kg), used as reference drug, exhibited a 59.08% inhibitory rate compared with control.

The effect of Abyssinone V-4'-methyl ether on cotton pellet-induced granuloma formation in rats is shown in Table 3. At doses of 2.5, 5 and 10 mg/kg, Abyssinone V-4'-methyl ether markedly inhibited the granulomatous tissue formation in a dose-dependent manner compared with the control group. The highest dose of the compound (10 mg/kg) exhibited a maximum inhibition of 61.32%, while 39.91% and 45.56% inhibition were observed with doses of 2.5 and 5 mg/kg respectively, when compared with 68.72% for dexamethasone (2.5 mg/kg).

## 4. Discussion

The present study was undertaken to assess the anti-inflammatory effect of Abyssinone V-4'-methyl ether using acute and chronic models of inflammation in rodents. Results obtained provided evidence that this compound isolated from *E. droogmansiana* possesses anti-inflammatory activity in both inflammation models. In the carrageenan-induced paw edema test in rats, Abyssinone V-4'-methyl ether significantly elicited inhibitory effect on edema formation at all assessment times. Based on this result, it can be suggested that this compound may act by inhibiting the release or synthesis of various inflammatory mediators including histamine, serotonin, bradykinin and prostaglandins. It is well established that carrageenan-induced paw edema formation is a classical model of acute inflammation which involves a biphasic event. The first phase is mediated by the release of histamine and serotonin and the second phase is the result of the release of kinins and prostaglandins<sup>18</sup>.

Plants of *Erythrina* genus are known to be a rich source of bioactive flavonoids, mainly isoflavones, pterocarpans, flavonone and isoflavanones<sup>19</sup>. Some of *Erythrina* extracts and isolated compounds have been found to display anti-inflammatory activity<sup>2, 8, 20, 21</sup>. The inhibition of cyclooxygenase activity by *Erythrina* species have been reported<sup>22</sup>. Abyssinones are prenylated flavonoids isolated from different species of *Erythrina*<sup>3</sup>.

The anti-oedematous activity of Abyssinone V-4'-methyl ether observed in this study may in part be mediated by the inhibition of cyclooxygenase path way. Other pharmacological properties of Abyssinone V have recently been reported<sup>4,9,10</sup>.

Xylene-induced edema is an acute inflammation model mediated by histamine, serotonin and bradykinin. In the present study, the increases in ear weight were dose-dependently inhibited by Abyssinone V-4'-methyl ether treatment. This compound may interfere with the secretion or the action of the above inflammatory mediators and thus confirming the anti-inflammatory effect observed during the first phase in the carrageenan-induced rat paw edema.

Cotton pellet-induced granuloma is an established chronic inflammatory model<sup>23</sup>. In the present study, Abyssinone V-4'-methyl ether exhibited marked antiproliferative activity at different doses. This isolated compound may act by inhibiting neutrophils and macrophages migration or may inhibit the activity of fibroblasts and the synthesis of collagen, which are natural proliferative events of granuloma formation<sup>24</sup>. The inhibition of neutrophils affluence into the skin and the reduction of leukocytes infiltration in the mouse ear inflammation induced by multiple topical applications of 12-O-tetradecanoylphorbol 13-acetate (TPA), have been reported with erycristagallin, a pterocarpane isolated from *E. mildbraedii*, have been reported<sup>2</sup>.

These results provide evidence that Abyssinone V-4'-methyl ether has acute and chronic anti-inflammatory properties. Further studies are needed to determine the exact mechanism of this action. This study opens additional perspectives for the study of the therapeutic action of abyssinones and provides the basis for the search of novel and safe drugs against inflammatory diseases.

#### Acknowledgments

The authors thank the Faculty of Science, University of Ngaoundere, Cameroon, for providing the necessary support for this study.



Figure 2: Mass Spectroscopy by IE spectrum of YG4

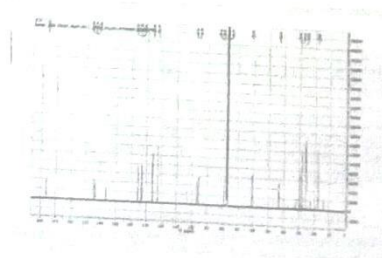


Figure 3: Carbon NMR spectrum of YG4

Table 1: YG4 proton NMR compared with literature data

H	YG <sub>4</sub> Spectral data	literature data <sup>11</sup>
2	5.27 <i>dd</i>	5.33 <i>dd</i>
3	2.75 <i>dd</i>	2.76 <i>dd</i>
	3.08 <i>dd</i>	3.11 <i>dd</i>
6	5.97 <i>s</i>	5.98 <i>s</i>
8	5.92 <i>s</i>	5.98 <i>s</i>
2'	7.09 <i>s</i>	7.09 <i>s</i>
6'	7.09 <i>s</i>	7.09 <i>s</i>
1''	3.37 <i>d</i>	3.39 <i>d</i>
2''	5.21 <i>t</i>	5.29 <i>t</i>
4''	1.71 <i>s</i>	1.73 <i>s</i>
5''	1.73 <i>s</i>	1.74 <i>s</i>
1'''	3.3 <i>d</i>	3.39 <i>d</i>
2'''	5.21 <i>t</i>	5.29 <i>t</i>
4'''	1.71 <i>s</i>	1.73 <i>s</i>
5'''	1.73 <i>s</i>	1.74 <i>s</i>
4'-OMe	3.73 <i>s</i>	3.80 <i>s</i>
5-OH	12.05 <i>s</i>	12.05 <i>s</i>

Table 2: YG4 carbon NMR compared with literature data

C	YG <sub>4</sub> Spectral data	literature data <sup>11</sup>
2	79.3	79.3
3	43.2	43.0
4	196.2	196.3
5	163.3	164.2
6	96.6	96.6
8	164.5	165.3
9	95.5	95.3
10	103.0	103.0
1'	133.7	133.7
2'	125.9	125.9
3'	135.4	135.4
4'	156.4	156.4
5'	135.4	135.4
6'	125.9	125.9
1''	28.4	28.4
2''	122.6	122.5
3''	133.0	133.0
4''	25.8	25.7
5''	17.9	17.9
1'''	28.4	28.4
2'''	122.6	122.5
3'''	133.0	133.0
4'''	25.7	25.7
5'''	17.9	17.9
OMe	60.9	60.9

Table 1. Effect of Abyssinone V-4'-methyl ether on carrageenan-induced rats paw edema.

Group	Dose (mg/kg)	Difference in paw circumference, cm (% of inhibition)				
		1 h	2 h	3 h	4 h	5 h
Control	-	0.26 ± 0.04	0.22 ± 0.02	0.32 ± 0.03	0.14 ± 0.02	0.21 ± 0.03
Abyssinone V-4'-methyl ether	2.5	0.21 ± 0.02 (19.23)	0.17 ± 0.03 (23.73)	0.25 ± 0.04 (21.88)	0.11 ± 0.03 (21.43)	0.14 ± 0.02* (33.33)
	5	0.20 ± 0.03 (23.08)	0.16 ± 0.02* (27.27)	0.24 ± 0.02* (25.00)	0.10 ± 0.01* (28.57)	0.12 ± 0.02# (42.86)
	10	0.14 ± 0.02# (46.15)	0.12 ± 0.04# (45.45)	0.14 ± 0.03# (56.25)	0.07 ± 0.03# (50.00)	0.06 ± 0.04# (71.43)
Dexamethasone	2.5	0.15 ± 0.04# (42.31)	0.13 ± 0.03# (40.91)	0.17 ± 0.04# (46.88)	0.07 ± 0.03# (50.00)	0.08 ± 0.03# (61.90)

Each value is the mean difference of paw circumference ± S.E.M. in cm (n=6). % inhibition of paw edema is shown in parenthesis. \*p<0.05; #p<0.01 and #p<0.001 when compared with control at the same time point.

Table 2. Effect of Abyssinone V-4'-methyl ether on xylene-induced ear edema in mice.

Group	Doses (mg/kg)	Ear edema (mg)	Inhibition (%)
Control	0	9.80 ± 0.60	-
Abyssinone	2.5	7.60 ± 0.54*	22.45
	5	6.20 ± 0.64#	36.73
	10	3.60 ± 0.53#	62.65
Dexamethasone	2.5	4.01 ± 0.36#	59.08

Each value is the mean ± S.E.M. (n = 6). \*p<0.05; #p<0.01 and #p<0.001 when compared with control group.

Table 3. Effect of Abyssinone V-4'-methyl ether on cotton pellet-induced granuloma in rats.

Group	Doses (mg/kg)	Granuloma weight (mg)	Inhibition (%)
Control	0	48.60 ± 0.86	-
Abyssinone	2.5	29.21 ± 0.74#	39.91
	5	26.60 ± 0.65#	45.26
	10	18.80 ± 1.02#	61.32
Dexamethasone	2.5	15.20 ± 0.72#	68.72

Each value is the mean granuloma weight ± S.E.M. (n = 6). #p<0.01 and #p<0.001 when compared with control group.

## References

- Kamat VS, Chuo FY, Kubo I, Nakanishi K, Anti-microbial agents from an East-African medicinal plant, *Erythrina abyssinica*, *Heterocycles* 1981;15: 1163-1170.
- Njamen D, Talla E, Mbafor JT, Fomum ZT, Kamanyi A, Mbanya JC, Cerda-Nicolas M, Giner MR, Recio CM, Rios JL, Anti-inflammatory activity of erycristagallin, a pterocarpene from *Erythrina midbraedii*, *Eur J Pharmacol* 2003;468: 67-74.
- Kebenei JS, Ndalut PK, Sabah AO, Synergism of artemisinin with abyssinone -V from *Erythrina abyssinica* (Lam. ex) against *Plasmodium falciparum* parasites: A potential anti-malarial combination therapy, *Journal of Medicinal Plants Research* 2011; 5(8):1355-1360.
- Mvondo MA, Njamen D, Tance FZ, Wandji J, Effects of alpinumisoflavone and abyssinone V-4'-methyl ether derived from *Erythrina lysistemon* (Fabaceae) on the genital tract of ovariectomized female Wistar rat. *Phytotherapy Res* 2012; 26(7): 1029-36.

5. Wandji J, Fomum ZT, Tillequin F, Seguin E, Koch M, *Erythrina* studies: Part 24. Two isoflavones from *Erythrina sesgalensis*, *Phytochemistry* 1994;35:245-248.
6. Maiti A, Cuendet M, Croy VL, Endringer DC, Pezzuto JM, Cushman M, Synthesis and biological evaluation of (+/-)-abyssinone II and its analogues as aromatase inhibitors for chemoprevention of breast cancer, *J Med Chem* 2007; 50(12): 2799-806.
7. Rao GV, Swamy BN, Chandregowda V, Reddy GC, Synthesis of (+/-)-Abyssinone I and related compounds: Their anti-oxidant and cytotoxic activities, *Eur J Med Chem* 2009; 44(5): 2239-45.
8. Njamen D, Mbafor JT, Fomum ZT, Kamanyi A, Mbanya JC, Recio MC, Giner RM, Manez S, Rios JL, Anti-inflammatory activities of two flavanones, sigmoidin A and sigmoidin B, from *Erythrina sigmoidea*, *Planta Med* 2004; 70(2): 104-107.
9. Na MK, Jang JP, Njamen D, Mbafor JT, Fomum ZT, Kim BY, Oh WK, Ahn JS, Protein Tyrosine Phosphatase-1B Inhibitory Activity of Isoprenylated Flavonoids Isolated from *Erythrina mildbraedii*, *J Nat Prod* 2006; 69(11):L 1572-1576.
10. Kone WM, Solange KN, Dosso M, Assessing sub-Saharan *Erythrina* for efficacy: traditional uses, biological activities and phytochemistry, *Pak J Biol Sci* 2011; 14(10): 560-71.
11. Yenesew A, Midiwo JC, Heydenreich M, Peter MG, Two prenylated flavonones from stem bark of *Erythrina burttii*, *Phytochemistry* 1998; 48: 1439-1443.
12. Zimmermann M, Ethical guidelines for investigations of experimental pain in conscious animals, *Pain*, 1983,16(2): 109-10.
13. Winter CA, Risley EA, Nuss GW, Carrageenin-induced oedema in hind paw of the rat as an assay for anti-inflammatory drugs, *Proceed Soc Exp Biol Med* 1962;111:544 -547.
14. Akah PA, Nwambie AI, Evaluation of Nigerian traditional medicines 1. Plants used for rheumatic (inflammatory) disorders, *J Ethnopharmacol* 1999;42:179 -182.
15. Sokeng DS, Koube J, Dongmo F, Sonnhaffou S, Nkono YNBL, Taiwe SG, Cherrah Y, Kamtehouing P, Acute and chronic anti-inflammatory effects of the aqueous extract of *Acacia nilotica* (L.) Del. (Fabaceae) pods, *Academia Journal of Medicinal Plants* 2013, 1(1):001-005.
16. Young JM, De Young LM, Cutaneous models of inflammation for the evaluation of topical and systemic pharmacological agents, In: Spector J and Back N [Eds.], *Pharmacological Methods in the Control of Inflammation*, Liss:New York, 1989, 215-231.
17. Ismail TS, Gopalakrishnan S, Begum VH, Elango V, Anti-inflammatory activity of *Salacia oblonga* Wall. and *Azima tetraacantha* Lam, *J Ethnopharmacol*, 1997; 56:145-152.
18. Crunkhorn P and Meacock SCR, Mediators of the inflammation induced in the rat paw by carrageenan, *Br J Pharmacol*, 1971,42: 392-402.
19. Chacha, M, Bojase-Moleta, G, & Majinda, RR, TAntimicrobial and radical scavenging flavonoids from the stem wood of *Erythrina latissima*, *Phytochemistry* 2005,66: 99-104.
20. Talla E, Njamen D, Mbafor JT, Fomum ZT, Kamanyi A, Mbanya JC, Giner RM, Recio MC, Manez S, & Rios JL, Warangalone, the isoflavonoid anti-inflammatory principle of *Erythrina addisonia* stem bark, *J Nat Prod* 2003;66(6): 891-893.
21. Oliveira MSG, Aquino AB, Silva DL, Aquino PGV, Santos MS, Porfirio APR, Sant'Ana, AEG, Santos BVO, Alexandre-Moreira MS & Araújo-Júnior JX, Antinociceptive and anti-inflammatory activity of hydroalcoholic extracts and phases from *Erythrina mulungu*. *Rev. Bras. Farmacogn, Braz J Pharmacogn* 2012; 22(1): 157-161.
22. Pillay CCN, Jager AK, Mulholland DA, & Van Staden J, Cyclooxygenase inhibiting and anti-bacterial activities of South African *Erythrina* species, *J Ethnopharmacol* 2001;74(3): 231-237.
23. Swingle KF, Shideman FE, Phases of the inflammatory response to subcutaneous implantation of cotton pellet and their modification by certain pharmacological agents, *J Pharmacol Exp Ther* 1972; 183: 226-234.
24. Lewis AJ, Gemmill DK, Stimson WH, The anti-inflammatory profile of dapsone in animal models of inflammation, *Agents Actions* 1978; 8(6): 578-86.

D. Sokeng, E. Talla, V. Jeweldai, A.J.G Yaya, J. Koube, F. Dongmo, M. Goulimé, J.T. Mbafor. Anti-inflammatory effect of abyssinone V-4'-methyl ether on acute and chronic inflammation models. *Hygeia.J.D.Med.* 2013; 5(1):121-128. Available at <http://www.hygeiajournal.com/> Article ID- Hygeia.J.D.Med/96/13